

Antibacterial Activity Of Extract Ethanol White Turmeric (*Curcuma mangga Val*) Test On *Bacillus subtilis* Causes Diarrhea

Ferlia Setianifah Putri¹, Titi Pudji Rahayu², Laeli Fitriyati

¹ Department of Pharmacy, Universitas Muhammadiyah Gombong, Indonesia

² Department of Pharmacy, Universitas Muhammadiyah Gombong, Indonesia

³ Department of Pharmacy, Universitas Muhammadiyah Gombong, Indonesia

✉ ferliasetianifahputri@gmail.com

Abstract

Diarrhea is one of the digestive problems that can have an impact on human health. The bacterium that is often found in the human digestive tract that causes diarrhea is *Bacillus subtilis*. White turmeric is one of the plants that has the potential as an antibacterial that causes diarrhea. Purposes to determine the optimal concentration of ethanol extract of white turmeric (*Curcuma mangga Val*) which can be used to inhibit the growth of *Bacillus subtilis* bacteria that causes diarrhea. This research is an experimental study which varies the concentration of 15; 30; 50; 75; dan 100% ethanol extract of white turmeric rhizome extracted using the reflux method in inhibiting *Bacillus subtilis* with the Sumuran method. Based on the research concentration of 15; 30; dan 50% there was no significant change because at the time of replication it was only carried out 3 times, it should have been repeated 5 times, so the hypothesis was not answered. At concentrations of 75 and 100% there was a significant difference, while the negative control and positive control had a significant difference. White turmeric rhizome extract (*Curcuma mangga Val*) which produces a very weak diameter at a concentration of 15% with a diameter of 3,63 mm, for very good and strong results against the growth of *Bacillus subtilis* bacteria, namely at a concentration of 75% with a diameter of 13,63 mm with a strong category while the concentration of 100% with a diameter of 21,33 mm with a very strong category. Development for the manufacture of antibacterial formulations, and the combination of antibacterials with other herbal plants that function as antibacterials.

Keywords: Extract; White Turmeric; Antibacterial Activity

Uji Aktivitas Anti Bakteri Ekstrak Etanol Kunir Putih (*Curcuma mangga Val*) Terhadap Bakteri *Bacillus subtilis* Penyebab Diare

Abstrak

Masalah diare merupakan salah satu masalah pencernaan yang dapat berdampak pada kesehatan manusia. Bakteri yang sering ditemukan pada saluran pencernaan manusia yang menyebabkan penyakit diare yaitu *Bacillus subtilis*. Kunir putih merupakan salah satu tanaman yang berpotensi sebagai antibakteri penyebab diare. Tujuannya untuk mengetahui konsentrasi optimal ekstrak etanol kunir putih (*Curcuma mangga Val*) yang dapat digunakan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* penyebab diare. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dimana memvariasikan konsentrasi 15; 30; 50; 75; dan 100% ekstrak etanol rimpang kunir putih yang di ekstraksi menggunakan metode *refluks* dalam menghambat *Bacillus subtilis* dengan metode sumuran. Berdasarkan penelitian konsentrasi 15; 30; dan 50% tidak adanya perubahan yang signifikan karena pada saat replikasi hanya dilakukan 3 kali, seharusnya dilakukan sebanyak 5 kali pengulangan, sehingga hipotesa tidak terjawab. Pada konsentrasi 75 dan 100% memiliki perbedaan yang signifikan, sedangkan kontrol

negatif dan kontrol positif terdapat perbedaan yang signifikan. Ekstrak rimpang kunir putih (*Curcuma mangga Val*) yang menghasilkan diameter sangat lemah pada konsentrasi 15% dengan diameter 3,63 mm, untuk hasil yang sangat baik dan kuat terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* yaitu pada konsentrasi 75% berdiameter 13,63 mm dengan kategori kuat sedangkan konsentrasi 100% berdiameter 21,33 mm dengan kategori sangat kuat. Pengembangan untuk pembuatan formulasi antibakteri, dan pengkombinasian antibakteri dengan tanaman herbal yang lain yang berfungsi sebagai antibakteri.

Kata kunci: Ekstrak; Kunir Putih; Aktivitas Antibakteri

1. Pendahuluan

Diare merupakan keadaan buang air besar dengan konsentrasi yang lembek ataupun cair, terlebih lagi dapat berbentuk air saja dengan frekuensi selalu lebih dari rata-rata adalah 3 kali ataupun lebih dalam satu hari. Banyak sebab efek yang diduga sebagai pemicu terbentuknya penyakit diare, ialah mengenai kebersihan area yang kurang baik, persediaan air yang tidak higienis serta sedikitnya pengetahuan. Diare juga dapat disebabkan oleh beberapa bakteri seperti *Bacillus subtilis*, *Clostridium botulinum*, dan *Escherichia coli*. Berdasarkan penelitian Hartono *et al.*, (2020) senyawa flavonoid merupakan salah satu jenis metabolit sekunder pada kunir putih (*Curcuma mangga Val*) yang memiliki aktivitas yang dapat menghambat penyebab diare dengan memperlambat gerakan peristaltik usus, dan membantu memperbaiki konsistensi feses menuju ke bentuk normal. Mekanisme kerja flavonoid adalah dengan cara menghambat motilitas usus sehingga dapat mengurangi cairan dan elektrolit. Kuersetin sebagai salah satu jenis flavonoid pada kunir putih (*Curcuma mangga Val*) yang berkontribusi terhadap efek antidiare dengan cara merelaksasi otot polos usus, menghambat kontraksi usus, dan bersifat antispasmodik. Aktivitas flavonoid jenis kuersetin adalah dengan menghambat pelepasan asetilkolin pada saluran cerna manusia. Pemilihan pelarut untuk senyawa flavonoid sangat penting karena setiap pelarut memiliki sifat dan kemampuan yang berbeda-beda, didasarkan pada tingkat kepolaran senyawa yang di ekstrak dan pelarut. Senyawa flavonoid merupakan senyawa polar sehingga pelarut yang digunakan juga harus memiliki sifat polar agar menghasilkan kandungan flavonoid yang dihasilkan tinggi. Air, etanol, dan metanol merupakan pelarut yang bersifat polar.

Berdasarkan uraian latar belakang, peneliti akan melakukan penelitian mengenai aktivitas antibakteri ekstrak etanol kunir putih (*Curcuma mangga Val*) terhadap bakteri *Bacillus subtilis* penyebab diare yang belum banyak di Indonesia.

2. Metode

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yaitu menguji aktivitas antibakteri ekstrak etanol kunir putih (*Curcuma mangga Val*). Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Universitas Muhammadiyah Gombong. Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan Januari-April 2022.

2.1. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian adalah autoklaf (GEA), bejana maserasi, cawan petri (normax), Erlenmeyer (Pyrex), tabung reaksi (Pyrex), gelas kimia (Pyrex), inkubator (memmert), jangka sorong (Mitutoyo), jarum ose, *Laminar Air Flow* (LAF), batang pengaduk, pipet ukur (Pyrex), bunsen spiritus, mikropipet (Drawell), oven, pinset, kertas cakram swab, spuit 1 cc (Onemed), spuit 10cc (Onemed), timbangan analitik (Fujitsu), mortir dan stamper, cawan porselen (Haldenwanger), kaca arloji (Watch Glass), penjepit tabung, rak tabung, chamber

(Pyrex), lampu UV-Vis 256 dan 366 nm, termometer, waterbath (memmert), botol reagen, cawan petri, bunsen, aluminium foil, pinset, spatula, jarum ose, neraca analitis, shaker, rotary evaporator (Buchi), dan Spektrofotometri UV-Vis (Amtast).

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah ekstrak etanol 70% kunir putih (*Curcuma mangga Val*), akuades, antibiotik kotrimoksazol, reagen dragendorf, reagen mayer, serbuk Mg, HCl pekat, NaCl 10%, gelatin 0,5%, FeCl₃ 5%, kloroform, metanol, suspensi bakteri *Bacillus subtilis*, serbuk *Mueller Hinton Agar*, kertas saring, silika gel GF₂₅₄, kuersetin, dan NaCl 0,9%.

2.2. Prosedur Penelitian

2.2.1 Pembuatan Ekstrak

Ditimbang serbuk kunir putih (*Curcuma mangga Val*) 1000 gram kemudian dimasukkan ke dalam labu ekstraksi dan ditambah pelarut etanol 70% sebanyak 5 liter. Ekstraksi dilakukan pada suhu 60°C dengan waktu ekstraksi 3 jam. Ekstrak hasil ekstraksi didinginkan dan disaring. Ekstrak yang diperoleh dimasukkan ke dalam *rotary evaporator*. Untuk pemekatan yaitu ekstrak dipanaskan selama lebih kurang pada suhu 45-50°C

2.2.2 Standarisasi Ekstrak

Susut pengeringan ekstrak yaitu ekstrak dengan berat 1 gram dimasukkan kedalam cawan porselen yang sudah dipanaskan selama 30 menit pada suhu 105°C. Kemudian dimasukkan kedalam oven pada suhu 105°C sampai bobotnya tetap. Parameter standar susut kering pada ekstrak tidak boleh lebih dari 11%.

Kadar Sisa Etanol Ekstrak, Ekstrak timbang sebanyak 2 gram dilarutkan dalam akuades sampai 25 ml, kemudian dimasukkan ke dalam labu destilasi pada suhu 78,5°C selama +- 3 jam, lalu diukur volume destilat dan ditandabatkan dalam labu ukur 100 ml. kadar sisa etanol ditentukan dengan metode berat jenis,

Kadar Air. Ekstrak sebanyak 1 gram diletakkan ke cawan yang sudah ditara dan ditimbang, kemudian dimasukkan ke dalam oven pada suhu 105°C selama 5 jam, setelah kering ditimbang. Parameter standar untuk kadar air ekstrak tidak boleh lebih dari 10%, karena jika melebihi dapat membuat ekstrak mudah ditumbuhi jamur.

Kadar Abu Total. Ekstrak sebanyak 2 gram digerus dan ditimbang seksama, diletakkan didalam krus silikat, kemudian diarangkan dengan cara dipijar dengan suhu secara bertahap hingga arang habis, lalu ditimbang Kembali. Parameter standar kadar abu total ekstrak yaitu tidak boleh lebih dari 16,6%.

Kadar Abu Tidak Larut Asam. Abu yang didapat dari uji kadar abu total ditambahkan dengan 25 ml asam sulfat encer dan dididihkan selama 5 menit, bagian abu yang tidak larut dikumpulkan dan disaring menggunakan kertas saring, setelah itu ekstrak dipijar hingga mendapat bobot yang tetap. Parameter standar untuk kadar abu tidak larut asam pada ekstrak tidak boleh lebih dari 0,7%.

2.2.3 Skrining Fitokimia

Alkaloid. Disiapkan 2 tabung reaksi masing-masing diisi dengan 2 ml ekstrak dan ditambahkan 5 ml akuades, kemudian tabung pertama direaksikan dengan reagen dragendorf 1 tetes, dan tabung kedua direaksikan dengan reagen mayer. Jika adanya endapan berwarna coklat atau hitam maka dikatakan mengandung alkaloid pada kunir putih (*Curcuma mangga Val*).

Flavonoid. Ekstrak dicampur dengan 2 ml etanol 70% lalu dikocok, lalu dipanaskan kemudian ditambahkan dengan serbuk Magnesium 0,1 gram dan

ditetesi HCl pekat sebanyak 2 tetes. Adanya warna merah pada lapisan etanol menunjukkan adanya senyawa flavonoid.

Tanin. Hasil ekstraksi dididihkan dengan 20 ml akuades lalu disaring, ditambahkan beberapa tetes FeCl_3 1%. Terbentuknya coklat kehijauan atau biru kehitaman menunjukkan adanya tanin.

2.2.4 Uji Kromatografi Lapis Tipis

Uji flavonoid dilakukan dengan membuat fase gerak yaitu kloroform:methanol dengan perbandingan 19,5:0,5 ml di dalam chamber glass diamkan hingga jenuh, kejenuhan dari fase gerak dapat di cek dengan memasukkan kertas saring yang sudah dipotong dan dimasukkan ke dalam bejana KLT dalam posisi berdiri. Apabila cairan tertarik hingga bagian atas kertas saring maka fase gerak dikatakan sudah jenuh. Uji KLT dilakukan dengan cara menotolkan ekstrak kunir putih dan dengan pembanding kuersetin pada plat silika gel GF254 lalu dimasukkan kedalam chamber glass. Kemudian jika sudah sampai atas, plat KLT di keringkan terlebih dahulu, lalu diuapkan dengan amoniak agar bercak terlihat lebih jelas. Ekstrak yang mengandung flavonoid dapat dilihat dibawah lampu UV 365 nm berfluorosensi hijau kekuningan. Hasil pada lampu UV 254 nm akan berfluorosensi warna gelap.

2.3. Uji Aktivitas Antibakteri

2.3.1 Pewarnaan Gram Bakteri

Pewarnaan gram dilakukan dengan dibuat preparat ulas dari suspensi bakteri *Bacillus subtilis*, dilakukan fiksasi dengan hati-hati, genangi preparat dengan kristal ungu dan dibiarkan selama 3 detik, preparat dicuci dengan air mengalir dan dikering anginkan, genangi preparat dengan kalium iodide dan dibiarkan selama 45 detik, kemudian preparat dicuci dengan air mengalir, cuci dengan alkohol aseton sampai warna ungu hilang dan keringkan, genangi preparat dengan safranin dan dibiarkan selama 30 detik, dan amati preparat dengan mikroskop. Bila hasil pewarnaan diperoleh warna merah maka bakteri tersebut adalah bakteri gram negatif, sedangkan bila diperoleh warna ungu maka bakteri tersebut adalah bakteri gram positif.[2]

2.3.2 Pembuatan Media

Mueller Hinton Agar dibuat dengan cara timbang media 2,8 gram dan dilarutkan 100 ml akuades, kemudian dipanaskan diatas hotplate hingga homogen, kemudian disterilkan pada autoklaf suhu 121°C selama 15 menit guna menghindari tumbuhnya mikroorganisme yang tidak diinginkan. Setelah sterilisasi, media dapat dituang secara aseptis pada tabung reaksi secara miring dengan steril untuk penggunaan.

2.3.3 Perbanyak Kultur Bakteri Uji

Membuat media agar *Mueller Hinton* miring dalam tabung kultur kemudian digoreskan 1 ose biakan *Bacillus subtilis* secara zig-zag, inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama 1x24 jam.

2.3.4 Pembuatan Standar Mc Farland

Komposisinya Mc Farland 0,5 adalah BaCl_2 0,048 M sebanyak 0,5 ml dan H_2SO_4 0,18 M sebanyak 99,5 ml.

2.3.5 Pembuatan Suspensi Bakteri

Pembuatan suspensi bakteri *Bacillus subtilis* yaitu satu ose biakan bakteri yang telah diremajakan disuspensikan ke dalam tabung berisi 5 ml *Mueller Hinton Agar* dan diinkubasi selama 34 jam pada suhu 37°C . Suspensi bakteri tersebut diencerkan menggunakan NaCl 0,9% steril sampai kekeruhannya setara dengan larutan standar 0,5 *Mc Farland* I (biakan cair

yang kekeruhannya setara dengan 0,5 *Mc Farland I* mempunyai populasi 1×10^7 CFU/ml – 1×10^8 CFU/ml.

2.3.6 Uji Antibakteri

Metode yang digunakan pada uji antibakteri ini adalah dengan menggunakan metode difusi sumuran. Pembuatan lubang pada media *Mueller Hinton Agar* yang telah diinokulasi menggunakan bakteri dengan tabung yang memiliki diameter sama dengan diameter kertas cakram. Larutan stok konsentrasi uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol kunir putih dimasukkan ke dalam lubang pada media *Mueller Hinton Agar* menggunakan mikropipet, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C dalam waktu 24 jam lalu diamati dan diukur diameter zona hambat yang terbentuk pada sekitar lubang menggunakan jangka sorong. Kontrol positif menggunakan kotrimoksazol dan kontrol negatif berupa akuades. Uji daya hambat ekstrak kunir putih (*Curcuma mangga Val*) pada konsentrasi 15, 30, 50, 75, dan 100% b/v menggunakan metode sumuran.

3. Hasil dan Pembahasan

I. Hasil

3.1. Pembuatan Rendemen Simplisia dan Ekstrak

Hasil pembuatan simplisia rimpang kunir putih ditunjukkan pada [Tabel 1](#).

Tabel 1. Hasil Pembuatan Simplisia Rimpang Kunir Putih.

Rendemen Simplisia	Berat Basah 6 kg	Berat Kering 2,5 kg	Rendemen 42%
Rendemen Ekstrak	Berat Simplisia Kering 1000 g	Berat Ekstrak 110 g	Rendemen 11%

3.2. Standarisasi Ekstrak

Hasil standarisasi ekstrak etanol rimpang kunir putih ditunjukkan pada [Tabel 2](#).

Tabel 2. Hasil Standarisasi Ekstrak Etanol Rimpang Kunir Putih

No	Uji Standarisasi	Hasil	Standar
1	Organoleptis	Bau : Khas ekstrak Warna : Kecoklatan Rasa : Khelat Bentuk : Kental Homogen : Homogen	Bau : Khas ekstrak Warna : Kecoklatan Rasa : Khelat Bentuk : Kental Homogen : Homogen
2	Kadar air	6%	<10%
3	Kadar abu total	16,25%	<16,5%
4	Kadar abu tidak larut asam	0,1%	<0,7%

3.3. Skrining Fitokimia

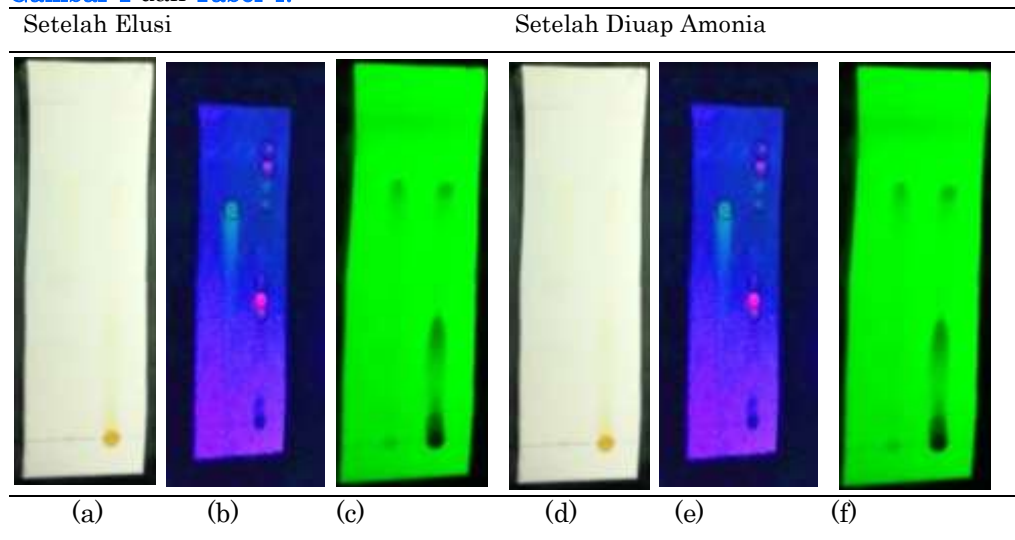
Hasil uji tabung ekstrak etanol rimpang kunir putih ditunjukkan pada [Tabel 3](#).

Tabel 3. Hasil Uji Tabung Ekstrak Etanol Kunir Putih

Uji Fitokimia	Pereaksi	Hasil	Kesimpulan
Alkaloid	a.Reagen Mayer b.Reagen Dragendorf	a.Terdapat Endapan Coklat b.Terdapat Endapan Coklat	Positif
Flavonoid <i>Wilstater</i>	Serbuk magnesium 0,1 gram dan HCl pekat 2 tetes	Jingga	Positif
Tanin	FeCl ₃ 1%	Coklat Kehijauan	Positif

3.4 Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Hasil uji kromatografi lapis tipis (KLT) rimpang kunir putih ditunjukkan pada [Gambar 1](#) dan [Tabel 4](#).



Gambar 1. Hasil KLT Ekstrak Etanol Rimpang Kunir Putih
 Keterangan: (a) Pengamatan pada sinar tampak, (b) Pengamatan pada sinar UV 365 nm, (c) Pengamatan pada sinar UV 254 nm, (d) Pengamatan pada sinar tampak setelah diuap amonia, (e) Pengamatan pada sinar UV 365 nm setelah diuap amonia, (f) Pengamatan pada sinar UV 254 nm setelah diuap amonia.

Tabel 5. Hasil Uji KLT Ekstrak Etanol Kunir Putih

Sampel	Rf	Setelah Elusi			Setelah Diuap Ammonia		
		Sinar Tampak	Uv 254 nm	Uv 365 nm	Sinar Tampak	Uv 254 nm	Uv 365 nm
Kuersetin (A)	0,46	Hijau	Hitam	Kuning	Kuning	Hitam	Kuning
Ekstrak (B)	0,56	Kuning	Hitam	Ungu	Kuning	Hitam	Ungu
	0,53	Kuning	Hitam	Merah	Kuning	Hitam	Merah
	0,50	Kuning	Hitam	Ungu	Kuning	Hitam	Ungu
	0,46	Hijau	Hitam	Kuning	Kuning	Hitam	Kuning
	0,31	Kuning	Hitam	Ungu	Kuning	Hitam	Ungu
	0,27	Kuning	Hitam	Merah	Kuning	Hitam	Merah
	0,25	Kuning	Hitam	Merah	Kuning	Hitam	Merah

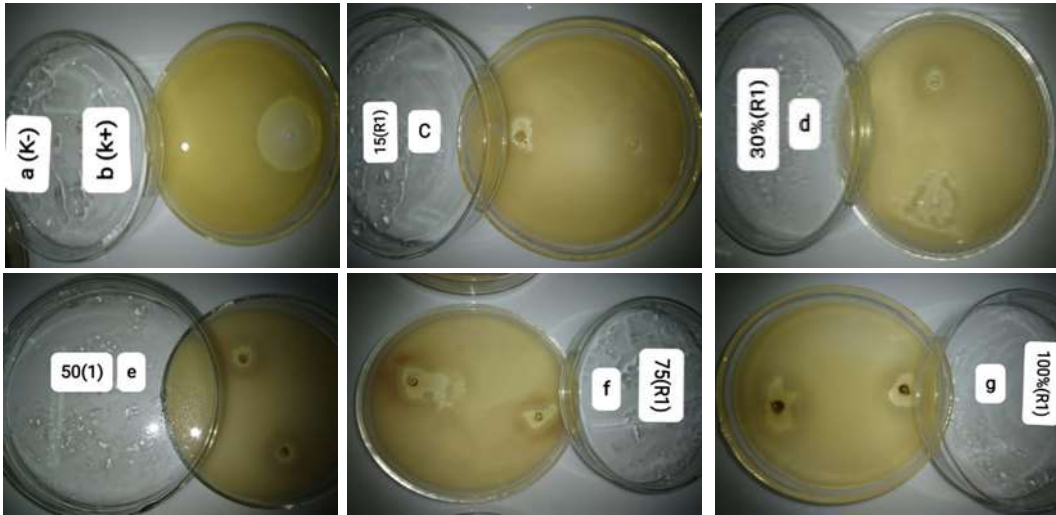
3.5 Hasil Uji Antibakteri

Hasil uji identifikasi bakteri ditunjukkan pada [Gambar 2](#).



*Ket: Hasil pewarnaan gram positif berwarna ungu pada perbesaran 100x16 (1600 kali)
Gambar 2. Hasil Identifikasi Bakteri

Hasil Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Kunir Putih ditunjukkan pada **Gambar 3** dan **Tabel 6**.



Keterangan: (a) Kontrol (-); (b) Kontrol (+); (c) Konsentrasi 15%; (d) Konsentrasi 30%; (e) Konsentrasi 50%; (f) Konsentrasi 75%; (g) Konsentrasi 100%.

Gambar 3. Zona Hambat Kontrol Positif, Negatif, dan Ekstrak Etanol Kunir Putih (*Curcuma mangga Val*)

Tabel 6. Hasil Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Kunir Putih

Konsentrasi (%)	Zona hambat (mm)			Rata-rata (mm)	Standar Deviasi	Kategori
	R1	R2	R3			
15%	3,2	3,45	4,25	3,63	0,548	Lemah
30%	3,5	3,95	4,0	3,81	0,275	Lemah
50%	6,15	10,5	11,05	9,23	2,684	Sedang
75%	12,75	14,0	14,15	13,63	0,768	Kuat
100%	21,40	21,15	21,45	21,33	0,160	Sangat kuat
Kontrol +	24,0	24,35	24,55	24,30	0,278	Sangat kuat
Kontrol -	0,08	1,0	2,2	1,33	1,063	Lemah

II. Pembahasan

Indonesia merupakan negara tropis dengan keanekaragaman hayati yang sangat besar di bidang hasil pertanian, termasuk tanaman tradisional, salah satunya adalah tanaman kunir putih (*Curcuma mangga Val*). Tanaman kunir putih dapat digunakan sebagai antiinflamasi, antidiare, dan antibakteri. Rimpang kunir putih mengandung banyak senyawa kimia antara lain kurkumin, flavonoid, polifenol, alkaloid, tanin, dan minyak atsiri.

Penelitian ini menggunakan rimpang kunir putih yang di dapatkan dari desa Patemon Gombong. Tanaman yang digunakan dilakukan determinasi tanaman, yang bertujuan untuk mendapatkan kebenaran identitas dengan jelas dari tanaman yang diteliti dan menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan utama penelitian. Hasil determinasi yang telah dilakukan menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan sesuai dengan tanaman uji yang diperlukan yaitu *Curcuma mangga Val*.

Antibakteri merupakan senyawa yang dihasilkan oleh mikroorganisme dalam konsentrasi kecil yang dapat menghambat dan menghancurkan proses kehidupan mikroba. Rimpang kunir putih yang digunakan dipanen dari desa Patemon Kabupaten Kebumen, rimpang kunir putih berbentuk bulat, lonjong, ringan, dan mudah rapuh, dengan batang tegak semu dan batang yang lunak di tanah, daunnya tunggal, berpelepah, berbentuk lonjong, tepi daun rata, ujung dan pangkal meruncing, panjang daun kurang lebih 1 meter dan lebar 10-20 cm, rimpang kunir putih yang sudah benar-

benar tua yang digunakan untuk penelitian, daun kunir putih memiliki pertulangan menyirip dan berwarna hijau.

Prosedur selanjutnya yaitu rimpang kunir putih kemudian dibuat dalam bentuk simplisia kering terlebih dahulu, yang bertujuan untuk memperoleh simplisia yang awet dan tidak mudah rusak selama penyimpanan. Pembuatan simplisia diawali dengan pengumpulan bahan baku, kemudian dilakukan sortasi basah yang bertujuan untuk memisahkan bahan-bahan asing yang menempel dari bahan simplisia, kemudian pencucian dengan air mengalir, simplisia yang sudah bersih selanjutnya dilakukan perajangan yang bertujuan mempermudah proses pengeringan karena semakin tipis bahan yang dikeringkan, semakin cepat penguapan air sehingga mempercepat proses pengeringan. Pembuatan simplisia rimpang kunir putih dilakukan dengan cara dijemur dibawah sinar matahari dengan ditutup kain hitam selama 7 hari bertujuan agar kandungan senyawa kimia pada rimpang kunir putih tidak ikut menguap dan rusak selama proses pengeringan, setelah dilakukan pengeringan dilakukan sortasi kering bertujuan memisahkan kotoran-kotoran yang menempel, kemudian dilakukan penyerbukan, penyerbukan bertujuan memperkecil ukuran partikel simplisia sehingga luas permukaan partikel menjadi besar sehingga cairan penyari yang akan mudah melarutkan senyawa aktif dari simplisia tersebut.

Pembuatan ekstrak rimpang kunir putih dilakukan dengan metode refluks. Berdasarkan penelitian Utami *et al.*, (2019) digunakan metode *refluks* karena hasil ekstraksi metode refluks lebih banyak hal ini dikarenakan ekstraksi *refluks* melibatkan gerakan sampel dan pelarut berputar melewati pendingin balik karena proses konveksi yang dipengaruhi oleh suhu, metode *refluks* membutuhkan waktu yang sangat cepat, dan tahan pemanasan secara langsung. Metode refluks memiliki prinsip kerja yaitu pelarut yang digunakan menguap pada suhu tinggi, namun akan didinginkan dengan kondensor sehingga pelarut yang tadinya dalam bentuk uap akan mengembun pada kondensor dan turun lagi ke wadah reaksi sehingga pelarut akan tetap ada selama reaksi berlangsung. Berdasarkan penelitian Muchtaromah *et al.*, (2020) kunir putih (*Curcuma mangga Val*) cocok dalam pelarut etanol 70% karena untuk melihat zona hambat lebih lebar dan kategori zona hambatnya kuat.

Faktor yang harus diperhatikan pada saat proses ekstraksi adalah temperatur. Pada suhu yang terlalu tinggi harus dihindari agar kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam ekstrak rimpang kunir putih (*Curcuma mangga Val*) tidak rusak ataupun hilang. Suhu yang disarankan untuk kandungan senyawa kimia selama proses ekstraksi *refluks* yaitu berkisar antara 45-60°C. Ekstrak yang dihasilkan memiliki bentuk tekstur kental dengan warna hitam kecoklatan serta bau khas aromatik. Rendemen ekstrak yang dihasilkan pada penelitian yaitu 11% yang dapat dilihat pada [Tabel 4.1](#). Hasil rendemen yang didapat memiliki perbedaan dengan penelitian yang dilakukan oleh Malahayati *et al.*, (2021), rendemen ekstrak rimpang kunir putih yang didapat adalah 9,17% pada pelarut etanol 96%, memiliki perbedaan yaitu karena faktor dari umur panen rimpang kunir putih serta cara mengekstraksinya, semakin tinggi rendemen maka semakin tinggi kandungan zat yang tertarik pada suatu bahan baku.

Pada penelitian ini dilakukan standarisasi tanaman yang terdiri dari standarisasi ekstrak, standarisasi ekstrak meliputi pemeriksaan organoleptis, pemeriksaan kadar sisa etanol ekstrak, pemeriksaan kadar air, pemeriksaan kadar abu total, kemudian pemeriksaan kadar abu yang tidak larut asam [6]. Parameter kadar air dilakukan dengan tujuan menentukan kualitas mutu dan memberi batasan minimal kandungan air sehingga dapat mencegah kemungkinan pertumbuhan mikroba pada ekstrak, sedangkan pengujian kadar abu bertujuan untuk mengoksidasi suhu tinggi serta mengevaluasi nilai gizi produk dan juga memberikan gambaran kandungan mineral yang berasal dari proses awal sampai menjadi ekstrak yang berkaitan dengan

kontaminasi dan kemurnian, pengujian kadar abu yang tidak larut asam bertujuan untuk mengetahui jumlah kadar abu yang diperoleh dari fungsi eksternal yang berasal dari pengotor yang berasal dari pasir atau tanah, dan pengujian yang terakhir yaitu uji kadar sisa etanol bertujuan untuk mengetahui kadar sisa etanol ekstrak saat ekstraksi [7]. Tujuan standarisasi yaitu untuk mendapatkan ekstrak yang bermutu dan berkualitas sehingga dapat menjamin suatu produk akhir yang akan dibuat. Berdasarkan penelitian Susilawati *et al.*, (2022) hasil standarisasi ekstrak kunir putih (*Curcuma mangga Val*) menunjukkan hasil organoleptis berbau khas ekstrak, warna kecoklaan, rasa khelat, bentuk khelat dan homogen, untuk pemeriksaan kadar air 5,80%, pemeriksaan kadar abu 3,21%, dan pemeriksaan kadar abu tidak larut asam 0,3%. Untuk hasil penelitian yang dilakukan bahwa standarisasi ekstrak terdapat pada tabel 4.2 yang menunjukkan bahwa ekstrak etanol rimpang kunir putih (*Curcuma mangga Val*) telah memenuhi persyaratan. Ekstrak kunir putih tidak terdapat mikroba sehingga dapat digunakan untuk penelitian.

Ekstrak kental hasil ekstraksi selanjutnya dilakukan pengujian kandungan senyawa metabolit sekunder dengan uji tabung dan uji KLT (Kromatografi Lapis Tipis). Uji tabung berupa uji *Wilstater* untuk flavonoid, uji alkaloid, dan uji tanin. Berdasarkan penelitian Imron (2021) mekanisme uji tabung flavonoid yaitu dengan menggunakan ekstrak etanol kunir putih, magnesium dan HCl pekat yang menghasilkan warna jingga, pemeriksaan alkaloid yaitu ekstrak etanol kunir putih, yang masing-masing tabung diberikan pereaksi reagen mayer dan dragendorf yang mana hasilnya menunjukkan adanya endapan coklat, dan untuk mekanisme uji tanin yaitu ekstrak etanol kunir putih yang diberikan dengan $FeCl_3$ 1% dengan hasil warna coklat kehijauan. Pada penelitian yang dilakukan hasil uji tabung pada gambar 4.1 dan tabel 4.3 menunjukkan bahwa ekstrak etanol rimpang kunir putih (*Curcuma mangga Val*) mengandung senyawa flavonoid, tanin, dan alkaloid. Pada uji alkaloid dengan pereaksi mayer dan dragendorf akan membentuk endapan karena berinteraksi dengan ion tetraiodobismutat.

Uji kandungan senyawa dalam ekstrak selanjutnya adalah uji KLT (Kromatografi Lapis Tipis). Fase diam yang digunakan pada uji KLT adalah silika gel GF₂₅₄, pemilihan silika gel GF₂₅₄ karena analit tidak berwarna dan mampu berfluorosensi dengan baik pada sinar ultraviolet, sedangkan fase gerak yang digunakan yaitu kloroform: metanol (19,5:0,5), perubahan jumlah volume fase gerak dikarenakan sebelumnya (9,5:0,5) tidak terlihat tolotan sehingga ditambahkan jumlah volumenya. Pemilihan fase gerak harus memperhatikan karakteristik dan menyesuaikan kandungan zat aktif yang akan diuji. Pemilihan fase gerak kloroform: metanol karena kloroform sebagai fase gerak non polar. Fase gerak yang digunakan berfungsi sebagai pengikat komponen yang akan dipisahkan sehingga noda dalam fase diam memiliki nilai R_f yang sesuai dalam rentang yang dipersyaratkan, selain itu fase gerak juga memberikan selektivitas yang tinggi pada senyawa yang dipisahkan. Pembanding yang digunakan yaitu kuersetin, menggunakan kuersetin karena bersifat polar dan juga merupakan flavonoid golongan flavonol yang mempunyai gugus keto pada C-4 dan memiliki gugus hidroksi pada atom C-3 atau C-5 sehingga dapat membentuk kompleks warna. Flavonoid pada tanaman kunir putih memilih sifat polar yang berfungsi sebagai antidiare yang termasuk dalam golongan senyawa fenolik, kerangka flavonoid terdiri atas satu cincin aromatik A dan B dan cincin tengah berupa heterosiklik. Aktivitas 3,4 hidroksil pada cincin C flavonoid membentuk kompleks dengan protein pada bakteri dan melisiskan membran bakteri tersebut sehingga berpotensi pada agen anti diare. Pada penelitian hasil uji KLT flavonoid dapat dilihat pada gambar 4.2 dan tabel 4.4 dimana menunjukkan bahwa ekstrak etanol rimpang kunir putih mengandung senyawa flavonoid. Pada sampel ekstrak kunir putih dengan lampu sinar UV 365 nm berwarna kuning dengan R_f 0,46,

sedangkan perbandingan kuersetin dengan nilai Rf 0,46, maka untuk perbandingan antara sampel dan ekstrak dinyatakan sama. Berdasarkan penelitian Susiloningrum & Sari, (2021) hasil kromatografi lapis tipis menggunakan fase gerak yang sama yaitu kloroform:metanol, tetapi untuk volumenya berbeda yaitu (14:1) dengan noda berwarna kuning dengan nilai rf kuersetin 0,68 serta ekstrak 0,68. Menurut Susiloningrum & Indrawati, (2020) nilai Rf yang didapat dalam penelitian ini telah memenuhi ketentuan karena syarat nilai Rf yang baik antara 0,2-0,8 yang dapat diterima untuk suatu metode analisis yang valid.

Ekstrak etanol rimpang kunir putih sebagai pengobatan diare akan diujikan pada bakteri *Bacillus subtilis*. Identifikasi bakteri melalui pewarnaan gram bertujuan untuk mengidentifikasi spesies bakteri pada berbagai penyakit infeksi, diindikasikan untuk memperoleh karakteristik dan klasifikasi bakteri yang berasal dari spesimen, dan untuk memastikan bakteri tersebut tidak terkontaminasi mikroorganisme lain. Hasil pewarnaan gram dapat dilihat pada gambar 4.2 bahwa bakteri uji sesuai dengan literatur *Bacillus subtilis* merupakan gram positif, sel berwarna ungu, sel berbentuk batang dengan berkoloni seperti rantai [12].

Ekstrak etanol rimpang kunir putih (*Curcuma mangga Val*) dilakukan uji aktivitas antibakteri pada *Bacillus subtilis* dengan konsentrasi 15, 30, 50, 75, dan 100% Yuliati, (2017). Kontrol positif yang digunakan adalah kotrimoksazol dengan dosis sulfamethoxazol 400 mg dan trimetoprim 80 mg, sedangkan kontrol negatif yang digunakan adalah akuades. Antibiotik kotrimoksazol dipilih karena merupakan antibiotik yang bersifat bakterisidal dengan spektrum kerja luas yang dapat membunuh bakteri gram positif maupun bakteri gram negatif. Kotrimoksazol dapat digunakan untuk diare karena memiliki mekanisme kerja menghambat sintesis DNA/RNA akibatnya adalah berhentinya sintesa asam folat yang merupakan bahan pangkal untuk sintesa purin dan DNA/RNA dapat menghentikan pembelahan sel bakteri. Menurut Rahmawati & Bintari (2014), kotrimoksazol dapat memusnahkan bakteri *Bacillus subtilis* yaitu dengan cara melisiskan dan menghambat motilitas usus sehingga dapat mengurangi cairan dan elektrolit. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol rimpang kunir putih (*Curcuma mangga Val*) dapat dilihat pada gambar 4.3 dan tabel 4.7. Hasil uji menunjukkan bahwa ekstrak etanol rimpang kunir putih (*Curcuma mangga Val*) dengan kategori kuat pada konsentrasi 75% dan sangat kuat konsentrasi 100% semakin tinggi konsentrasi suatu zat antibakteri maka semakin banyak zat aktif yang terkandung di dalamnya sehingga daya antibakteri semakin kuat pula.

Menurut penelitian sebelumnya Yuliati (2017) untuk konsentrasi 15; 30; 50; 75; dan 100% didapatkan rata-rata diameter zona hambat 11; 12,3; 13,3; 13,7; dan 14,7 mm. Berdasarkan tabel 4.6 menunjukkan bahwa diameter zona hambat yang paling lemah di konsentrasi 15% yaitu 3,63 mm, dan diameter zona hambat yang sangat kuat pada konsentrasi 100% yaitu 21,33 mm. Penelitian pada kontrol negatif terdapat zona hambat dikarenakan akuades yang digunakan kurang steril dan ditumbuhi mikroba dengan diameter zona hambat 1,33 mm, sedangkan pada kontrol positif didapatkan diameter sangat baik yaitu 24,30 mm. Perbedaan hasil diameter daya hambat ini kemungkinan disebabkan oleh faktor lingkungan atau tempat tumbuh dari tanaman kunir putih (*Curcuma mangga Val*), kemudian dikarenakan pada saat penyeterilan kurang steril, dan faktor suhu yang kurang baik.

Hasil diameter zona hambat dilakukan uji statistik. Data uji normalitas menunjukkan data normal karena nilai P lebih dari 0,05 dan uji homogenitas pada diameter zona hambat *Bacillus subtilis* menunjukkan bahwa data normal dengan nilai 0,001 yaitu homogen karena nilai $p > 0,05$. Uji statistika selanjutnya adalah uji *One Way Anova* dengan nilai signifikan 0,000 yaitu terdapat perbedaan yang signifikan, dan dilakukan uji *Post Hoc Games Howell*. Uji *Games Howell* digunakan untuk melihat

apakah ada perbedaan daya hambat yang signifikan pada kontrol positif, kontrol negatif, dan konsentrasi sampel ekstrak. Apabila $p < 0,05$ menunjukkan adanya perbedaan bermakna antar perlakuan kelompok sedangkan $p > 0,05$ menunjukkan tidak adanya perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan. Berdasarkan penelitian yang dilakukan jika *mean difference* bernilai negatif, maka kontrol positif mempunyai kekuatan antibakteri lebih besar dari konsentrasi, kontrol negatif menunjukkan bahwa konsentrasi mempunyai zona hambat kekuatan antibakteri lebih besar. Pada konsentrasi 15; 30; dan 50% tidak adanya perubahan yang signifikan karena pada saat replikasi hanya dilakukan 3 kali, seharusnya dilakukan sebanyak 5 kali pengulangan, sehingga hipotesa tidak terjawab. Pada konsentrasi 75 dan 100% memiliki perbedaan yang signifikan karena kontrol negatif dan kontrol positif memiliki kekuatan zona hambat yang besar. Hasil uji *Post Hoc Games Howel* pada diameter zona hambat terhadap bakteri *Bacillus subtilis* (tabel 4.10) memiliki perbedaan yang signifikan dengan $p < 0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa kontrol positif memiliki daya hambat yang hampir sama dengan konsentrasi 75 dan 100%. Hasil uji statistik *games howell* menunjukkan bahwa kontrol negatif mempunyai perbedaan yang signifikan dengan kontrol positif dan konsentrasi ekstrak terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dengan $p < 0,05$.

Berdasarkan penelitian Hartono *et al.*, (2020) aktivitas antibakteri yang terdapat dalam rimpang kunir putih (*Curcuma mangga Val*) yang mengandung ekstrak etanol kunir putih dapat digunakan sebagai pengobatan diare karena adanya senyawa flavonoid. Mekanisme flavonoid dalam menghambat bakteri *Bacillus subtilis* adalah dengan cara menghambat motilitas usus sehingga dapat mengurangi cairan dan elektrolit serta menghambat pelepasan asetilkolin pada saluran cerna manusia, penghambatan pelepasan asetilkolin akan menyebabkan berkurangnya aktivasi reseptor asetilkolin nikotinik yang memperantarai terjadinya kontraksi otot polos dan teraktivasinya reseptor asetilkolin muskarinik yang mengatur motilitas gastrointestinal dan kontraksi otot polos [15]. Penelitian ini menggunakan rimpang kunir putih sebagai zat aktif karena rimpang kunir putih mengandung senyawa sekunder seperti flavonoid, tanin, alkaloid, dan kurkumin [9]. Berdasarkan penelitian Hartono *et al.*, (2020) kandungan flavonoid, alkaloid, dan tanin mempunyai aktivitas antibakteri, baik bakteri gram positif maupun gram negatif. Mekanisme antibakteri pada flavonoid, alkaloid, dan tanin yaitu merusak dinding sel, mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, dan menginaktifkan enzim bakteri serta mengganggu jalannya protein pada lapisan dalam sel [16].

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan yang diperoleh, dapat ditarik kesimpulan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol kunir putih maka semakin tinggi diameter zona hambat yang dihasilkan. Untuk hasil statistik tidak adanya perbedaan yang signifikan antara konsentrasi 15; 30; dan 50%, namun terdapat perbedaan yang signifikan antara konsentrasi 75, 100%, kontrol negatif dan kontrol positif. Ekstrak rimpang kunir putih (*Curcuma mangga Val*) yang menghasilkan hasil sangat baik dan kuat terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* yaitu pada konsentrasi 75% berdiameter 13,63 mm dengan kategori kuat sedangkan konsentrasi 100% berdiameter 21,33 mm dengan kategori sangat kuat.

Ucapan Terima Kasih

Peneliti mengucapkan terimakasih kepada:

1. apt. Naelaz Zukhruf W K, M. Pharm., Sci selaku Kepala Prodi Program Sarjana Farmasi Universitas Muhammadiyah Gombong.

2. apt. Titi Pudji Rahayu., M.Farm Selaku Dosen Pembimbing I
3. apt. Laeli Fitriyati., M.Farm Selaku Dosen Pembimbing II
4. Kedua orang tua yang telah melahirkan saya dan memberikan berbagai dukungan, motivasi, serta senantiasa mendoakan
5. Laboran Farmasi Universitas Muhammadiyah Gombong
6. Lembaga Penelitian Dan Pengabdian Masyarakat (LPPM) Universitas Muhammadiyah Gombong.

Referensi

- [1] Y. I. Hartono, I. Widyastuti, H. Z. Luthfah, R. Islamadina, A. T. Can, and A. Rohman, "Total Flavonoid Content and Antioxidant Activity of Temu Mangga (*Curcuma mangga* Val. & Zijp) and its Classification with Chemometrics," *J. Food Pharm. Sci.*, vol. 8, no. 1, p. 4, 2020, doi: 10.22146/jfps.650.
- [2] D. Ambarwati and M. Ibrahim, "Aktivitas Antibakteri Metabolit Ekstraseluler *Bacillus subtilis* terhadap *Shigella dysenteriae* secara In Vitro In Vitro Antibacterial Activity of The Extracellular Metabolites of *Bacillus subtilis* towards *Shigella dysenteriae*," *Lentera Bio*, vol. 10, no. 1:25-32, pp. 25–32, 2021.
- [3] N. F. Utami, O. Komala, and E. Andaresta, "Aktivitas Antibakteri *Shigella dysenteriae* Dari Daun Jeruk Bali (*Citrus maxima*) Berdasarkan Perbedaan Metode Ekstraksi," *Prosiding Pokjanas*, vol. 57, no. 1, pp. 173–180, 2019.
- [4] B. Muchtaromah, E. S. Safitri, P. D. Fitriasari, and J. Istiwandhani, "Antibacterial activities of curcuma mangga val. extract in some solvents to staphylococcus aureus and *Escherichia coli*," *AIP Conf. Proc.*, vol. 2231, no. April, pp. 1–7, 2020, doi: 10.1063/5.0002490.
- [5] N. Malahayati, T. W. Widowati, and A. Febrianti, "Karakterisasi Ekstrak Kurkumin dari Kunyit Putih (*Kaemferia rotunda* L.) dan Kunyit Kuning (*Curcuma domestica* Val.)," *agriTECH*, vol. 41, no. 2, p. 134, 2021, doi: 10.22146/agritech.41345.
- [6] Depkes RI, "Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat," pp. 1–112, 2000.
- [7] K. Ngibad, "Uji Kadar Sisa Etanol Dan Abu Total Ekstrak Etanol 80% Daun Bunga Matahari (*Helianthus annuus*) Dan Tanaman Anting-Anting (*Acalypha indica* Linn)," *J. Kim. Sains Teknol.*, vol. 1, no. 1, pp. 1–6, 2018, doi: 10.31227/osf.io/4fv6a.
- [8] Susilawati, S. Rizal, F. Nurainy, and A. Syafita, "Formulasi Ekstrak Temu Mangga (*Curcuma Mangga* Val.) dan Sari Buah Mangga Arumanis (*Mangifera Indica* Permen Jelly Selama Penyimpanan Suhu Ruang," *J. Agrotechnology Res.*, vol. 1, no. 1, pp. 149–166, 2022.
- [9] Imron, "Combination of White Turmeric Rhizome Ethanol Extract (*Curcuma Mango* Val) and Galangal Rhizome Ethanol Extract (*Alpinia Galanga*)," *Urecol J. Heal. Sci.*, vol. 1, no. 1, pp. 17–23, 2021.
- [10] D. Susiloningrum and D. E. M. Sari, "Uji Aktivitas Antioksidan Dan Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Temu Mangga (*Curcuma mangga* Valetton & Zijp) Dengan Variasi Konsentrasi Pelarut," *Cendekia J. Pharm.*, vol. 5, no. 2, pp. 117–127, 2021.
- [11] D. Susiloningrum and D. Indrawati, "Penapisan Fitokimia Dan Analisis Kadar Flavonoid Total Rimpang Temu Mangga (*Curcuma mangga* val) Dengan Perbedaan Polaritas Pelarut," *J. Keperawatan dan Kesehatan. Masy. Cendekia Utama*, vol. 9, no. 2, p. 126, 2020, doi: 10.31596/jcu.v9i2.593.
- [12] D. Purwaningsih and D. Wulandari, "Uji Aktivitas Antibakteri Hasil Fermentasi Bakteri Endofit Umbi Talas (*Colocasia esculenta* L) terhadap Bakteri *Pseudomonas*

- aeruginosa Potential of Antibacterial Compound Fermentation of Endophytic Bacteria from Taro Tuber (*Colocasia esculenta* L.) againsts,” *J. Sains Kes. 2021*, vol. 3, no. 5, p. 750, 2021.
- [13] Y. Yuliati, “Uji Efektivitas Ekstrak Kunyit Sebagai Antibakteri Dalam Pertumbuhan *Bacillus* sp dan *Shigela dysenteriae* Secara In Vitro,” *J. Profesi Med. J. Kedokt. dan Kesehat.*, vol. 10, no. 1, 2017, doi: 10.33533/jpm.v10i1.11.
- [14] F. Rahmawati and S. H. Bintari, “Studi Aktivitas Antibakteri Sari Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) Terhadap Pertumbuhan *Bacillus cereus* dan *Salmonella enteriditis*,” *Unnes J. Life Sci.*, vol. 3, no. 2, pp. 103–111, 2014.
- [15] R. N. Lina and M. D. Astutik, “Efek antidiare ekstrak etanol umbi rumput teki (*Cyperus rotundus* L.) Terhadap mencit putih,” *J. Ilmu Farm. dan Farm. Klin.*, vol. 17, no. 1, pp. 8–13, 2020.
- [16] N. Uyo, “Granul Ekstrak Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.) dan Rimpang Temu Mangga (*Curcuma mangga* Val & Zijp.) sebagai Antibakteri,” *J. Biol. Papua*, vol. 10, no. 1, pp. 11–16, 2018, doi: 10.31957/jbp.127.