



LAPORAN AKHIR PKM-P

PEMANFAATAN DAUN KERING TEMULAWAK SEBAGAI SUMBER XANTORIZOL UNTUK BAHAN ANTIBAKTERI

Oleh:

Iren Julita	G44090040	2009	Ketua
SaimaM.P Manurung	G44090028	2009	Anggota
FebrinaMiharti	G44090031	2009	Anggota
WennyPermata Sari	G44090113	2009	Anggota
Dicky Annas	G44100015	2010	Anggota

Dibiayai oleh:

Direktorat Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat
Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi
Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan
sesuai dengan Surat Perjanjian Penugasan Program Kreativitas Mahasiswa
Nomor : 050/SP2H/KPM/Dit.Litabmas/V/2013, tanggal 13 Mei 2013

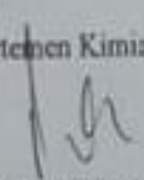
**INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2013**

LEMBAR PENGESAHAN

1. Judul Kegiatan : Pemanfaatan daun kering temulawak sebagai sumber xantorizol untuk bahan antibakteri
2. Bidang Kegiatan : (√) PKM-P () PKM-K
() PKM-T () PKM-M
3. Ketua Pelaksana Kegiatan
- a. Nama Lengkap : Iren Julita
b. NIM : G44090040
c. Jurusan : Kimia
d. Universitas/ Institut : Institut Pertanian Bogor
e. Alamat Rumah dan No. Telp/HP : Jl. Kali Baru Barat VIII No. 20. Jakarta / 085694878945
f. Alamat email : iren_julita@yahoo.com
4. Anggota Pelaksana Kegiatan/ Penulis : 4 (empat) orang
5. Dosen Pendamping
- a. Nama Lengkap dan Gelar : Dr. Irmanida Batubara
b. NIDN : 0001017409
c. Alamat Rumah dan No Tel/HP : Griya Melati Blok D3/7 Bubulak, Bogor / HP: 08121105101
6. Biaya Kegiatan Total
- a. Dikti : Rp 9.200.000,00
b. Sumber lain : -
7. Jangka Waktu Pelaksanaan : 3 bulan

Bogor, 23 Juli 2013

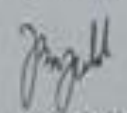
Menyetujui
Ketua Departemen Kimia


(Prof. Dr. Ir. Tun Tedja Irawadi, MS)
NIP 19501227 197603 2 002

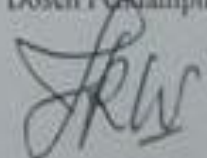
Wakil Rektor Bidang Akademik dan Kemahasiswaan


(Prof. Dr. Ir. Yonny Koesmaryono, MS)
NIP 19551228 98503 1 003

Ketua Pelaksana Kegiatan


(Iren Julita)
NIM G44090040

Dosen Pendamping


(Dr. Irmanida Batubara)
NIDN 0001017409

ABSTRAK

Temulawak (*Curcuma xanthorriza*) telah banyak digunakan masyarakat Indonesia dan industry, tetapi produk samping temulawak seperti daun, pelepah, dan bunga belum digunakan. Penelitian ini bertujuan menggali potensi produk samping temulawak khususnya minyak atsiri sebagai sumber xantorizol untuk bahan antibakteri. Isolasi minyak atsiri produk samping temulawak dilakukan dengan distilasi air. Minyak atsiri yang diperoleh dianalisis kuantitatif menggunakan GC-MS. Komponen utama minyak atsiri pelepah dan bunga temulawak adalah xantorizol (17.00% pada pelepah, 16.13% pada bunga) dan α -kurkumena (8.96% pada pelepah, 15.12% pada bunga). Komponen utama minyak atsiri daun (kering) temulawak adalah germakrona (18.64%) dan xantorizol (6.32%). Berdasarkan ujiantibakteri dan biofilm diperoleh bahwa minyak atsiri daun kering dan pelepah temulawak merupakan minyak teraktif dilihat dari nilai KHM dan KBM untuk antibakteri dan % inhibisi untuk biofilm. Pasta gigi dibuat dengan zat aktif yang berasal dari minyak atsiri daun kering dan pelepah temulawak. Pasta gigi yang diperoleh juga diuji aktivitas antibakterinya.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga laporan akhir PKM penelitian dengan judul Pemanfaatan Daun Kering Temulawak sebagai Sumber Xantorizol untuk Bahan Antibakteri berhasil diselesaikan. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kimia Analitik, Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam dan Pusat Studi Biofarmaka (PSB), Institut Pertanian Bogor selama periode bulan Maret-Juni 2013. Laporan akhir ini disusun sebagai pertanggungjawaban atas program PKM 2013 yang telah didanai oleh Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi.

Terima kasih penulis ucapkan kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi yang telah member kepercayaan pada kelompok PKM kami dengan mendanai program PKM penelitian ini. Terima kasih juga kami ucapkan kepada Dr Irmanida Batubara, MS selaku pembimbing yang telah memberikan bimbingan, arahan, motivasi dan doa selama proses penelitian dan penyusunan skripsi. Di samping itu, penulis juga mengucapkan terima kasih kepada seluruh laboran Kimia Analitik dan PSB atas bantuannya selama penelitian. Ungkapan terima kasih penulis ucapkan kepada Ayah, Ibu, Kakak, dan Adik kami atas segala dukungannya selama ini. Semoga hasil penelitian pada laporan akhir ini dapat berguna bagi penulis dan yang membacanya.

Bogor, Agustus 2013

Tim PKM

I. PENDAHULUAN

Latar Belakang

Kesehatan mulut merupakan hal yang penting bagi manusia dalam kehidupan sehari-hari. Masalah kesehatan mulut yang sering dihadapi adalah karies gigi dan penyakit jaringan pendukung gigi. Hal ini akan menimbulkan plak pada permukaan gigi sehingga menimbulkan karang gigi. Plak gigi merupakan lengketan yang berisi bakteri seperti *Streptococcus mutans*. Bakteri ini mempunyai kemampuan untuk memfermentasikan karbohidrat menjadi asam, menurunkan pH permukaan gigi menjadi 5,2-5,5 dan menyebabkan demineralisasi gigi (Kidd dan Bechal, 1992).

Sejak dulu manusia telah menggunakan bermacam-macam alat untuk membersihkan mulut dari sisa-sisa makanan, salah satunya dengan produk pembersih gigi yang dikenal dengan pasta gigi. Pasta gigi biasanya mengandung flourin sebagai unsur yang digunakan untuk memperkuat gigi dan menjadikan gigi lebih putih tetapi unsur ini dapat menyebabkan flourosis email pada kadar yang berlebihan serta tidak dapat membunuh bakteri gigi secara efektif. Untuk mengatasi hal tersebut, diperlukan bahan alami sebagai bahan alternatif pembuatan pasta gigi. Salah satu bahan alami yang dapat dan telah digunakan dalam pasta gigi adalah rimapng temulawak (*Curcuma Xanthorrhiza*).

Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) merupakan salah satu tumbuhan dari keluarga Zingiberaceae yang secara empirik banyak digunakan sebagai obat, baik dalam bentuk tunggal maupun campuran. Secara tradisional temulawak telah banyak digunakan masyarakat antara lain sebagai obat untuk mengatasi batu empedu, batu ginjal, demam, kolestrol tinggi, nyeri haid, nyeri sendi, pelancar ASI, sembelit, dan eksim. Seiring dengan kemajuan ilmu pengetahuan dan banyaknya penelitian alamiah, temulawak diketahui pula memiliki khasiat sebagai antioksidan (Masuda *et al.* 1992), antilipidemia (Yasni *et al.* 1994), antibakteri (Hwang *et al.* 2000, Darusman *et al.* 2006), dan antijamur (Rukayadi & Hwang 2007).

Umumnya bagian dari temulawak yang dimanfaatkan adalah rimpangnya karena mengandung mengandung komponen aktif utama yang berkhsiat, yaitu kurkuminoid dan minyak atsiri. Kurkuminoid memberikan warna kuning pada rimpang temulawak, yang terdiri atas kurkumin dan desmetoksikurkumin. Kandungan kimia minyak atsirinya antara lain feladren, kamfer, β -tumeron, dan xantorizol (Rahardjo & Rostiana 2005). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa komponen aktif utama dalam minyak atsiri temulawak yang merupakan senyawa khas adalah xantorizol. Pemanfaatan rimpang temulawak menyebabkan tanaman menjadi mati karena harus dicabut hingga ke akar dan tersisa limbah salah satunya berupa daun temulawak. Ketika daun kekurangan klorofil dan air maka daun kering dan bahkan rontok begitu saja sehingga menyebabkan adanya limbah di lingkungan.

Xantorizol merupakan antibakteri potensial yang memiliki spektrum luas terhadap aktivitas antibakteri, stabil terhadap panas, dan aman terhadap kulit manusia. Xantorizol dapat menghambat berbagai macam bakteri, misalnya *Streptococcus mutans*, *Bifidobacterium bifidum* dan beberapa bakteri lainnya (Hwang 2004). Oleh karena itu xantorizol dapat dimanfaatkan pada berbagai produk, misalnya pada pasta gigi, sabun, pembersih mulut, permen karet, kosmetik, dan industri farmasi.

Ciri xantorizol menurut Hwang (2000) antara lain termasuk seskuiterpena, BM 218 g/mol, tidak berwarna, tak atsiri, stabil terhadap suhu dan panas, sangat pahit, dan rumus molekulnya ialah $C_{15}H_{22}O$. Berdasarkan nilai BM xantorizol yang terbilang tinggi dan stabil terhadap suhu dan panas memungkinkan pada daun kering temulawak juga tetap terkandung xantorizol.

Selain itu, pemanenan temulawak yang dilakukan ketika daun temulawak kering, maka limbah daun temulawak semakin banyak. Pemanfaatan limbah daun temulawak sebagai alternatif penanganan limbah perlu dilakukan. Isolasi xantorizol pada temulawak dapat dilakukan dengan metode distilasi, kemudian dilakukan pengujian dengan kromatografi atau spektrofotometri.

Rumusan Masalah

Senyawa penyusun minyak atsiri pelepah temulawak hampir sama dengan penyusun rimpangnya, tetapi dengan kadar yang sangat berbeda. Senyawa yang dominan pada pelepah ialah xantorizol, sedangkan senyawa yang dominan dalam rimpang ialah diepi- α -sedrena dan α -kurkumena. Perbedaan komposisi diduga karena adanya perbedaan fungsional dari bagian tumbuhan tersebut

(Septyanti 2012). Ciri xantorizol menurut Hwang (2000) antara lain termasuk golongan seskuiterpena, BM 218 g/mol, tidak berwarna, tak atsiri, stabil terhadap suhu dan panas, sangat pahit, dan rumus molekulnya ialah $C_{15}H_{22}O$. Berdasarkan nilai BM xantorizol yang terbilang tinggi dan stabil terhadap suhu dan panas memungkinkan pada daun kering temulawak juga tetap terkandung xantorizol. Xantorizol dapat berguna sebagai bahan antibakteri.

Tujuan

Tujuan kegiatan ini adalah menghasilkan xantorizol dari limbah daun kering temulawak serta mendapatkan potensi minyak atsiri limbah daun kering temulawak sebagai antibakteri.

Luaran

Luaran yang diharapkan ialah hasil penelitian ini dapat dipatenkan dan informasi terdapatnya daun kering pada temulawak dipublikasikan ke dalam artikel ilmiah di bidang kimia sehingga dapat dijadikan peluang usaha bagi penggunanya.

Kegunaan

Program penelitian ini diharapkan dapat mengatasi masalah lingkungan, memanfaatkan berbagai sumber melimpah yang ada di Indonesia dan dapat dijadikan peluang usaha bagi industri maupun pemerintah untuk memproduksi dan memanfaatkan xantorizol dalam skala besar.

II. TINJAUAN PUSTAKA

Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.)

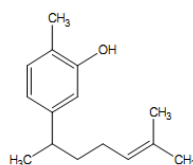
Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) merupakan tanaman obat berupa rumpun berbatang semu. Di Indonesia, temulawak dikenal dengan berbagai nama daerah, misalnya koneng gede (Jawa Barat), temulawak (Sumatra dan Jawa Timur), dan temo lobak (Madura). Berdasarkan taksonominya, temulawak termasuk ke dalam kingdom plantae, divisi *Spermatophyta*, sub divisi *Angiospermae*, kelas *Monocotyledonae*, ordo *Zingiberales*, famili *Zingiberaceae*, genus *Curcuma*, dan spesies *xanthorrhiza* Roxb (Darwis *et al.* 1991).

Temulawak merupakan tanaman terna berbatang semu berwarna hijau atau coklat gelap dengan ketinggian mencapai 1 m hingga 2 m. Akar rimpang terbentuk dengan sempurna dan bercabang kuat, serta berwarna hijau gelap. Tiap batang mempunyai daun sebanyak 2-9 helai dengan bentuk bundar memanjang sampai bangun lanset. Pembungaan tanaman temulawak termasuk pembungaan lateral, tangkai ramping dan sisik berbentuk garis. Panjang tangkai bunga berukuran 9-23 cm dan lebarnya 4-6 cm, berdaun pelindung banyak yang panjangnya melebihi atau sebanding dengan mahkota bunga. Kelopak bunga berwarna putih berbulu dengan panjang antara 8-13 mm. Mahkota bunga berbentuk tabung, dengan panjang keseluruhan 4.5 cm, helaian bunga berbentuk bundar memanjang, berwarna putih dan ujung helaian berwarna merah dadu atau merah dengan panjang 1.25-2 cm dan lebar sebesar 1 cm (Anonim 2005).

Rimpang adalah bagian batang dibawah tanah. Rimpang temulawak berukuran paling besar di antara semua rimpang genus *Curcuma* dengan diameter sampai 6 cm. Rimpang temulawak terdiri atas rimpang induk (empu) dan rimpang anakan (cabang). Rimpang ini aromanya tajam dan rasanya pahit agak pedas. Rimpang yang diambil adalah rimpang induk yang tumbuh dekat permukaan tanah dengan kedalaman 5-8 cm (Wahid & Soediarso 1985). Panen dilakukan setelah daunnya menguning dan kering, yaitu ketika tanaman berumur 11-12 bulan (Darwis *et al.* 1991). Daun temulawak berwarna hijau atau coklat keunguan terang sampai gelap, panjang daun berukuran 31-84 cm dan lebar daun 10-18 cm serta panjang tangkai daun (termasuk helaian daun) mencapai 43-80 cm. Daun termasuk tipe daun sempurna, artinya tersusun dari pelepah daun, tangkai daun dan helai daun (Sidik *et al.* 1995).

Xantorizol

Xantorizol adalah komponen khas minyak atsiri dari rimpang temulawak yang termasuk ke dalam kelompok terpena teroksidasi (Setiadji 1985, Sirait *et al.* 1985). Xantorizol juga merupakan anti bakteri potensial yang memiliki spektrum luas terhadap aktivitas anti bakteri, stabil terhadap panas, dan aman terhadap kulit manusia. Xantorizol dapat menghambat berbagai macam bakteri, misalnya *Streptococcus mutans*, *Bifidobacterium bifidum*, *Penicillium chrysogenum*, dan beberapa bakteri lainnya (Hwang 2004). Senyawa ini juga efektif untuk pengobatan *Candida glabrata* dan *parapsilosis* serta memiliki kemampuan untuk menghambat dan membunuh *C.parapsilosis* secara *in vitro* (Rukayadi *et al* 2006). Xantorizol (Gambar 1) dalam temulawak semakin banyak diteliti karena fungsinya yang banyak antara lain sebagai antionisiseptik (Devaraj *et al* 2010), antimetastatik (Choi *et al* 2004), antifungal (Rukayadi 2007), dan antioksidan (Kurniawan 2011). Ekstrak senyawa temulawak ini dapat melawan bakteri gram positif namun tidak dapat melawan bakteri gram negatif. Selain itu, dapat dimodifikasi dengan senyawa asetat dan benzilik tanpa menghilangkan fungsi antimikrobalnya.



Gambar 1 Struktur senyawa xantorizol.

Penyulingan Minyak Atsiri

Cara isolasi minyak atsiri dapat dilakukan dengan metode penyulingan/destilasi. Metode penyulingan terdiri atas penyulingan dengan air, penyulingan dengan uap dan air serta penyulingan dengan uap. Metode penyulingan dengan air dilakukan dengan adanya kontak langsung bahan dengan air mendidih. Bahan dapat menapung atau terendam sempurna di air, tergantung bobot jenis dan bahan yang akan disuling. Ciri khas metode ini yaitu adanya kontak langsung antara sampel dan air mendidih, maka dari itu disebut penyulingan langsung. Penyulingan dengan uap dan air, bahan diletakkan di atas saringan berlubang, katel suling diisi dengan air dibawah saringan, air dipanaskan dengan berbagai cara yaitu dengan uap jenuh dan bertekanan tinggi. Ciri khas metode ini yaitu uap selalu dalam keadaan basa, jenuh dan tidak terlalu panas. Bahan yang akan disuling hanya berhubungan dengan uap air dan tidak terkena air panas. Penyulingan dengan uap, air tidak diisikan dalam katel, uap yang digunakan adalah uap jenuh atau uap sangat panas pada tekanan lebih dari 1 atm. Uap dialiri melalui pipa uap melingkar yang berpori yang terletak di bawah bahan dan uap yang bergerak keatas melalui bahan yang terletak di atas jaringan (Lutoni & Rahmayati 2002).

Uji aktivitas antibakteri *Streptococcus mutans*

Pengujian terhadap aktivitas antimikroba dilakukan untuk mengetahui obat-obat yang paling berpotensi untuk kuman penyebab penyakit. Pengujian ini dapat dilakukan dengan beberapa cara, yaitu:

a. Difusi Agar

Media yang dipakai adalah agar Mueller Hinton. Pada metode difusi ini ada beberapa cara, yaitu:

1) Cara Kirby Bauer

Beberapa koloni kuman dari pertumbuhan 24 jam diambil, disuspensikan ke dalam 0,5 mL BHI cair, diinkubasikan 5-8 jam pada 37°C. Suspensi ditambah akuades steril hingga kekeruhan tertentu sesuai dengan standar Brown dengan konsentrasi bakteri 10⁸CFU per mL. Kapas lidi steril dicelupkan ke dalam suspensi bakteri lalu ditekan-tekan pada dinding tabung hingga kapasnya tidak terlalu basah, kemudian dioleskan pada permukaan media agar hingga rata.

Kemudian diletakkan kertas samir (disk) yang mengandung antibakteri di atasnya, diinkubasikan pada 37°C selama 18-24 jam, hasilnya dibaca:

- a. Zona radikal yaitu suatu daerah di sekitar disk dimana sama sekali tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri. Potensi antibakteri diukur dengan mengukur diameter dari one radikal.
- b. Zona iradikal yaitu suatu daerah di sekitar disk dimana pertumbuhan bakteri dihambat oleh antibakteri tetapi tidak dimatikan (Anonim 1993).

2) Cara Sumuran

Beberapa koloni kuman dari pertumbuhan 24 jam diambil, disuspensikan ke dalam 0,5 mL BHI cair, diinkubasi pada 37°C selama 5-8 jam. Suspensi ditambah akuades steril hingga kekeruhan tertentu sesuai dengan standar konsentrasi bakteri 10⁸CFU per mL. Kapas lidi steril dicelupkan ke dalam suspensi bakteri lalu ditekan-tekan pada dinding tabung hingga kapasitasnya tidak terlalu basah, kemudian dioleskan pada permukaan media agar hingga rata. Media agar dibuat sumuran dengan garis tengah tertentu, ke dalam sumuran diteteskan larutan antibakteri, diinkubasi pada 37°C selama 18-24 jam. Hasilnya dibaca seperti Kirby Bauer.

3) Cara *Pour Plate*

Beberapa koloni kuman dari pertumbuhan 24 jam diambil, disuspensikan ke dalam 0,5 mL BHI cair, diinkubasi 37°C selama 5-8 jam. Suspensi ditambah akuades steril hingga kekeruhan tertentu sesuai dengan standar konsentrasi bakteri 10⁸CFU per mL. Suspensi bakteri diambil satu mata ose dan dimasukkan ke dalam 4 mL agar base 1,5% yang mempunyai temperatur 50°C. Setelah suspensi kuman tersebut homogen dituang ke dalam media agar Mueller Hinton, ditunggu sebentar sampai agar tersebut membeku diletakkan disk di atas media dan diinkubasi 15-20 jam dengan temperatur 37° C. Hasil dibaca sesuai dengan standar masing-masing antibakteri.

b. Dilusi Cair atau Dilusi Padat

Pada prinsipnya antibakteri diencerkan sampai diperoleh beberapa konsentrasi. Pada dilusi cair, masing-masing konsentrasi obat ditambah suspensi kuman dalam media. Sedangkan pada dilusi padat tiap konsentrasi obat dicampur dengan media agar, lalu ditanami bakteri.

III. METODE PENDEKATAN

Analisis Kadar Air

Analisis kadar air berdasarkan metode AOAC 2007.

Penyulingan Langsung Daun Temulawak (Mughtaridi *et al.* 2004)

Daun temulawak yang telah kering dirajang kecil-kecil dan dimasukkan ke dalam katel yang berisi air. Katel dirangkai dengan alat distilasi, kemudian mantel penangas dinyalakan. Minyak atsiri yang diperoleh dipisahkan dengan minyak dan disimpan dalam botol vial cokelat yang telah diketahui bobot kosongnya. Minyak atsiri yang diperoleh ditimbang bobotnya untuk ditentukan rendemen yang diperoleh. Distilasi juga dilakukan pada daun segar temulawak dengan metode yang sama seperti distilasi limbah daun kering temulawak. Minyak atsiri yang diperoleh digunakan untuk perlakuan berikutnya. Sebagai pembanding digunakan daun temulawak segar yang diperlakukan sama seperti daun kering temulawak.

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{B}{A \times (1 - C)} \times 100$$

Keterangan: A = bobot contoh awal

B = bobot ekstrak

C = kadar air

Uji Kuantitatif dengan Menggunakan GC-MS

Sampel minyak atsiri daun kering dan daun segar dilarutkan dengan pelarut *n*-heksana. Larutan sampel kemudian diinjeksikan ke dalam GC-MS. Kromatogram yang diperoleh berupa waktu retensi, kelimpahan dan dicocokkan dengan *database/library* yang tersedia agar dapat diketahui senyawa-senyawa yang terkandung pada minyak atsiri.

Uji Aktivitas Antibakteri (Batubara *et al.* 2009)

Streptococcus mutans digunakan sebagai bakteri pada uji antibakteri ini. *S. mutans* merupakan bakteri gram positif karena xantorizol hanya melawan bakteri gram positif. Media yang digunakan yaitu *Trypticase Soy Broth* (TSB). Sebanyak 100 μL medium steril, 40 μL sampel dilarutkan dalam DMSO 20% atau kontrol dan 5 μL inokulum bakteri dimasukkan ke dalam masing-masing sumur (96-well plate). Inokulum telah dipisahkan pada konsentrasi 10^2 CFU/mL. *S. mutans* dan *S. aureus* diinkubasi dalam media selama 48 jam pada suhu 37°C . Konsentrasi ekstrak yang tidak menunjukkan pertumbuhan bakteri (bening) secara visual dideskripsikan sebagai Konsentrasi Hambat minimum (KMH) (Batubara *et al.* 2009).

Sebanyak 100 μL dari media yang tidak menunjukkan pertumbuhan bakteri diinokulasi pada 100 μL media yang baru. Konsentrasi yang tidak menunjukkan pertumbuhan bakteri setelah inokulasi kedua dideskripsikan sebagai Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO dan kontrol positifnya adalah tetrasiklin.

Uji Aktivitas Terhadap Biofilm *S. Mutans* (Rukayadi Y & Hwang JK 2006 modifikasi)

Streptococcus mutans digunakan sebagai bakteri pada uji biofilm ini. *S. mutans* merupakan bakteri gram positif karena xantorizol hanya melawan bakteri gram positif. Media yang digunakan yaitu *Trypticase Soy Broth* (TSB) dengan 3% glukosa.

Sebanyak 200 μL larutan saliva dimasukkan ke masing-masing sumur (96-well plate), lalu diinkubasi pada suhu ruang selama 2 jam dan dikewringudarkan setelah dihilangkan larutan saliva yang berlebihan. Pertumbuhan biofilm diinisiasi dengan menambahkan 175 μL inokulum dalam medium TSB dengan 3% glukosa pada setiap sumur dari 96-well plate. 96-well plate yang mengandung 175 μL diinokulasi dengan 25 μL suspensi inokulum yang telah disiapkan sebelumnya. Lalu ditambahkan sampel minyak atsiri yang dilarutkan dalam DMSO 1% dengan konsentrasi 15.625-1000 $\mu\text{g/mL}$. 96-well plate diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C .

Pembentukan biofilm ditentukan dengan pengujian kristal violet. Sisa larutan pada plate dibuang, lalu dibilas 2 kali dengan 200 μL buffer fosfat 50 mmol pH 7.0 dan dikewringudarkan selama 45 menit. Setelah itu, setiap sumur yang telah dicuci diwarnai dengan 110 μL larutan kristal violet 0.4% selama 45 menit. Selanjutnya, setiap sumur dicuci 2 kali dengan 350 μL air destilata steril dan dihilangkan warnanya dengan 200 μL etanol 95%. Setelah 45 menit dihilangkan warna, 100 μL larutan *destaining* dipindahkan ke plate baru dan jumlah pewarna kristal violet dalam larutan *destaining* diukur dengan *microplate reader* pada panjang gelombang 595 nm. Data absorbansi yang diperoleh digunakan untuk menentukan besarnya daya hambat sampel terhadap biofilm.

Pembuatan Pasta Gigi Antibakteri dan Penghilang Plak (Biofilm)

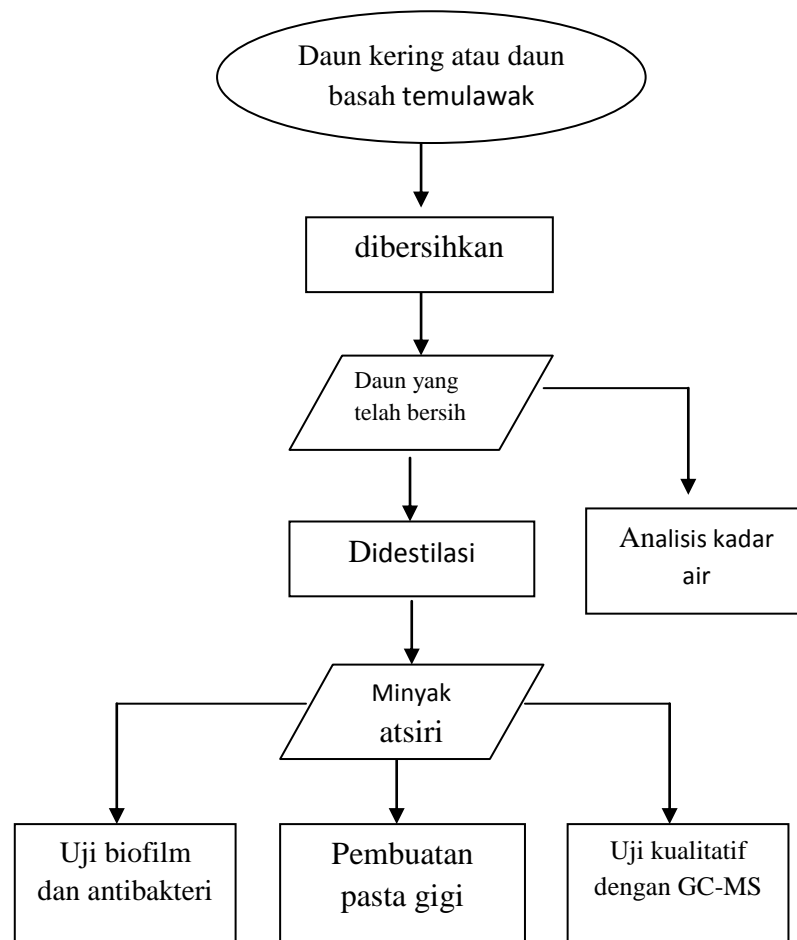
Pasta gigi dibuat menggunakan beberapa bahan, yaitu: gum arab 1%, sakarin 0.1%, gliserin 30%, CaCO_3 44%, Ca(OH)_2 3.5%, dan MgCO_3 2%. Gum arab dihaluskan, ditambahkan air destilata sedikit demi sedikit, ditambahkan sakarin dan dicampur hingga homogen. Setelah itu, ditambahkan gliserin dan bahan pasta gigi (CaCO_3 , Ca(OH)_2 , dan MgCO_3) yang telah dihaluskan kemudian dicampur dan diaduk hingga homogen. Formula pasta gigi ditambahkan xantorizol dengan variasi konsentrasi sebesar 0.10; 0.25; 0.5; 0.75; dan 1.00 (% b/b).

IV. PELAKSANAAN PROGRAM

1. Waktu dan Tempat Pelaksanaan

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia Analitik, Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor dari bulan Maret 2013 sampai dengan Juni 2013.

2. Diagram Alir Penelitian



3. Rekapitulasi dan Realisasi Biaya

No.	Keterangan kegiatan	Biaya (Rp)
1	Pembelian Sampel (daun dan pelepah temulawak)	400000
2	Sewa Laboratorium	1200000
3	Sewa Alat Distilasi	300000
4	GC-MS	960000
5	Uji Anti Bakteri	1270000
6	Pembuatan Pasta Gigi	270000
7	Pembuatan Proposal Paten	150000
8	Transportasi	500000
9	Diskusi	300000
10	Komunikasi	500000
11	Uji Anti Mikroba	1600000
12	Administrasi Seminar	600000
13	Penginapan	250000
14	Transportasi	500000
15	Pembuatan Laporan Akhir	400000

Total	9200000
-------	---------

V. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penentuan Kadar Air

Tabel 1 Kadar air dan rendemen minyak atsiri daun, pelepah dan bunga temulawak

Bagian Temulawak	Rendemen (%)	Kadar Air (%)
Daun segar	0.41	83.94
Daun Kering	0.16	17.36
Pelepah	0.35	91.47
Bunga	0.01	4.65

Penentuan kadar air berguna untuk mengetahui mutu dan daya simpan bahan sehingga terhindar dari pengaruh aktivitas mikroba serta digunakan sebagai koreksi rendemen minyak atsiri masing-masing produk samping temulawak yaitu daun, pelepah dan bunga temulawak. Rerata kadar air pada daun kering, daun segar, pelepah, dan bunga temulawak berturut-turut sebesar 17.36%, 83.94%, 91.47 dan 4.65% (b/b). Menurut Winarno (1997), yaitu bila kadar air yang terkandung dalam suatu bahan kurang dari 10%, maka kestabilan optimum bahan akan tercapai dan pertumbuhan mikroba dapat dikurangi. Bunga temulawak memiliki kadar air kurang dari 10% sehingga lebih tahan lama dalam penyimpanannya, tetapi perlu diperhatikan wadah dan tempat penyimpanan yaitu dengan wadah kedap udara dan ruangan dengan kelembapan yang tepat. Sampel daun (kering dan basah) dan pelepah memiliki kadar air melebihi 10% sehingga tidak akan tahan lama bila disimpan karena mikroba dapat tumbuh.

Uji Kuantitatif Minyak Atsiri dengan GC-MS

Minyak atsiri daun (kering dan basah), pelepah dan bunga diisolasi dengan cara distilasi air. Rendemen minyak atsiri daun kering, daun basah, pelepah dan bunga temulawak berturut-turut 0.16%, 0.41%, 0.35% dan 0.01%. Berdasarkan hasil yang diperoleh terlihat bahwa semakin besar kadar air suatu sampel, maka semakin besar rendemen yang diperoleh. Minyak atsiri yang telah diperoleh ditentukan komponen yang terkandung dan kadarnya dengan menggunakan instrument GC-MS. Komponen dan kadar masing-masing produk samping temulawak ditunjukkan pada Tabel 2. Komponen utama pada bunga dan pelepah temulawak adalah xantorizol (16.13% pada bunga, 17.00% pada pelepah) dan α -kurkumena (15.12% pada bunga, 8,96% pada pelepah). Komponen utama pada minyak atsiri daun kering dan daun segar temulawak adalah germakrona (20.18 pada daun kering, 18.64 pada daun segar) dan xantorizol (7.47 pada daun kering, 6.32 pada daun segar).

Xantorizol merupakan salah satu komponen yang terdapat pada minyak atsiri rimpang maupun produk samping tanaman temulawak. Xantorizol ini memiliki kemampuan sebagai antibakteri terhadap bakteri gram positif seperti *S. mutans*. Oleh karena itu, minyak atsiri produk samping temulawak juga dapat dimanfaatkan layaknya rimpang temulawak.

Tabel 2 Komponen pada minyak atsiri bagian-bagian tanaman temulawak

Komponen	Kadar (%)				
	Daun kering	Daun basah	Pelepah	Bunga	Rimpang*
α -pinena	4.03	4.51	1.94	-	0.67
Kamfena	1.39	1.59	0.38	-	1.45
Isoborneol	0.26	0.39	-	0.04	0.67
Kamfor	0.96	1.61	0.06	0.21	5.61
α -bergamotena	-	-	-	-	3.61
Trans-kariopilena	2.05	2.83	-	3.48	1.10
γ -elemena	3.28	3.38	0.97	-	1.48

β -farnesena	-	-	-	0.29	3.70
α -longipinena	-	-	-	-	2.03
germakrena d	1.36	1.72	1.46	-	1.51
α -kurkumena	2.53	4.00	8.96	15.12	19.43
diepi- α -sedrena	-	-	5.13	-	29.95
Germakrena b	-	-	-	-	4.42
Furanodiena	2.83	2.56	-	-	4.03
β -elemena	1.46	2.31	-	4.60	1.60
Germakrona	20.18	18.64	1.39	-	3.51
Xantorizol	7.47	6.32	17.00	16.13	7.10

Dan lain-lain hingga 100%

Keterangan: (-): tidak terdeteksi

(*): Sukrasno *et al.* 2012

Aktivitas Antibakteri dan Penghilang Plak (Biofilm)

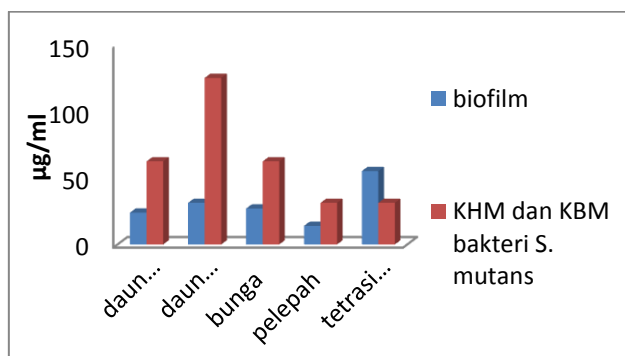
Uji aktivitas antibakteri dilakukan untuk mengetahui kemampuan minyak atsiri daun (kering dan segar), pelepah dan bunga temulawak yang memiliki komponen aktif xantorizol untuk menghambat atau pun membunuh bakteri uji yaitu *S. mutans*. Kemampuan sampel minimum untuk menghambat pertumbuhan bakteri ditunjukkan dengan nilai konsentrasi hambat minimum (KHM), sedangkan kemampuan sampel minimum untuk membunuh bakteri uji ditunjukkan dengan nilai bunuh minimum (KBM).

Nilai KHM dan KBM yang sama (62.5 $\mu\text{g/mL}$ untuk daun segar, 125 $\mu\text{g/mL}$ untuk daun kering, 62.5 $\mu\text{g/mL}$ untuk bunga dan 31.25 untuk pelepah). Minyak atsiri pelepah memiliki KHM dan KBM paling kecil karena kadar xantorizolnya paling tinggi yaitu sebesar 17.00%.

Pengujian aktivitas minyak atsiri produk samping temulawak terhadap biofilm *S. mutans* dilakukan untuk mengetahui kemampuan sampel untuk menghambat pertumbuhan bahkan membunuh (menghilangkan) biofilm (plak gigi). Pengukuran inhibisi masing-masing sampel dilihat berdasarkan nilai absorbansi pewarna bakteri yang tersisa pada lautan *destaining* yaitu etanol 95%. *S. mutans* merupakan bakteri gram positif sehingga akan menjerap pewarna yang diberikan yaitu kristal violet. Pemberian etanol akan melunturkan pewarna bakteri. Banyaknya warna yang luntur diukur absorbansinya dengan *microplate reader*. Semakin banyak bakteri yang tumbuh dan membentuk biofilm, semakin besar nilai absorbansinya karena bakteri tersebut menjerap warna tersebut. Begitu pula sebaliknya.

Ada beberapa laporan yang fokus tentang penghilang bakteri plak dengan bahan antibakteri. Marsh dan Bradshaw (1993) menemukan bahwa triklosan mampu mengekspon beberapa jenis biofilm (0.07 mmol/L) selama 1 jam mampu membunuh 40% kehadiran bakteri. Disamping itu, Wilson *et al.* melaporkan bahwa klorheksidin glukonat mampu membunuh 40% bakteri pada konsentrasi 2.23 mmol/L. pada realitanya, semua ini sulit dibandingkan karena perbedaan komposisi biofilm, bahan antibakteri dan konsentrasi yang digunakan. Rukayadi dan Hwang (2006) menunjukkan bahwa xantorizol yang diidolasi dari rimpang temulawak memiliki aktivitas yang baik untuk menghilangkan plak (biofilm) pada gigi. Untuk menghilangkan plak pada gigi dibutuhkan konsentrasi antibakteri yang relatif tinggi dan waktu ekspos yang panjang. Konsentrasi 50 $\mu\text{mol/L}$ xantorizol dengan waktu ekspos selama 60 menit mampu menghilangkan plak >70%.

Pada penelitian ini, minyak atsiri produk samping temulawak (daun, pelepah dan bunga temulawak) yang mengandung xantorizol digunakan untuk menghilangkan plak. Konsentrasi 125 $\mu\text{g/mL}$ telah mampu menghambat pertumbuhan bakteri sehingga pembentukan plak tidak terjadi. Minyak atsiri daun segar mampu menghambat 23.93% pertumbuhan biofilm, daun segarsebesar 31.25%, bunga sebesar 27.01%, dan pelepah temulawak mampu menghambat pertumbuhan biofilm sebesar 13.96% dengan kemampuan tetrasiklin sebagai kontrol positif sebesar 55.19%.



Gambar 1 Hasil uji antibakteri dan biofilm terhadap *S. Mutans*

Pembuatan Pasta Gigi

Pembuatan pasta gigi menggunakan bahan-bahan seperti CaCO_3 , Ca(OH)_2 , MgCO_3 , gum arab, gliserin, serta minyak atsiri yang didapat. Bahan-bahan tersebut dicampurkan dengan perbandingan gum arab 1%, sakarin 0.1%, gliserin 30%, CaCO_3 44%, Ca(OH)_2 3.5%, dan MgCO_3 2% dalam 100 gram. Bahan-bahan anorganik seperti CaCO_3 , Ca(OH)_2 dan MgCO_3 digunakan sebagai penghilang kotoran pada gigi. Penambahan gliserin pada pembuatan pasta gigi bertujuan mendispersikan bahan-bahan anorganik sehingga dapat tercampur secara homogen, sedangkan gum arab digunakan sebagai pengemulsi. Minyak atsiri ditambahkan pada pasta gigi dengan konsentrasi 5%. Pasta gigi ini dilanjutkan dengan uji anti mikroba.

VI. SIMPULAN DAN SARAN

Isolasi minyak atsiri produk samping temulawak dilakukan dengan distilasi air. Minyak atsiri yang diperoleh dianalisis kuantitatif menggunakan GC-MS. Komponen utama minyak atsiri pelepah dan bunga temulawak adalah xantorizol (17.00% pada pelepah, 16.13% pada bunga) dan α -kurkumena (8.96% pada pelepah, 15.12% pada bunga). Komponen utama minyak atsiri daun (kering) temulawak adalah germakrona (18.64%) dan xantorizol (6.32%). Berdasarkan ujiantibakteri dan biofilm diperoleh bahwa minyak atsiri daun kering dan pelepah temulawak merupakan minyak teraktif dilihat dari nilai KHM dan KBM untuk antibakteri dan % inhibisi untuk biofilm. Pasta gigi dibuat dengan zat aktif yang berasal dari minyak atsiri daun kering dan pelepah temulawak. Pasta gigi yang diperoleh juga diuji aktivitas antibakterinya. Pengujian pasta gigi untuk dikonsumsi oleh manusia dapat dilakukan untuk mengetahui aktivitas pasta gigi. Selain itu, uji toksisitas produk perlu dilakukan.

VII. DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2005. Temulawak. [terhubung berkala]. <http://www.iptek.net.id/> [25 Mei 2012].
- Batubara I, Mitsunaga T, Ohashi H. 2009. Screening Antiacne Potency of Indonesia Medicinal Plant: antibacterial, lipase inhibitor and antioxidant activities. *J Wood Sci* 55:230-235.
- Choi M, Kim S, Chung W, Hwang JK, Park K. 2004. Xanthorizol, a sesquiterpenoid from *Curcuma xanthorrhiza*, has an anti-metastatic potential in experimental mouse lung metastasis model. *Biochem. Biophys. Res. Commun* 326:210-217.
- Darusman LK, Djauhari E, Nurcholis W. 2006. Kandungan Xanthorrhizol Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) pada Berbagai Cara Budidaya dan Masa Tanam. Di dalam: *Prosiding Seminar Tumbuhan Obat Indonesia XXIX*; Surakarta, 24-25 Mar 2006. Surakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret. hlm 567-580.
- Darwis SN, Hiyah S, Madjo-Indo ABD. 1991. *Tumbuhan Obat Family Zingiberaceae*. Bogor: Pusat Pengembangan Tanaman Industri.
- Deveraj S, AS Esfahani, S Ismail, S ramanathan, MF Yam. 2010. Evaluation of the antinociceptive activity and acute oral toxicity of standardized ethanolic extract of the rhizome of *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. *Molecule* 15:2925-2934.

- Hwang JK. 2000. *Xanthorrhizol: A New Bioactive Natural Compound*. Seoul Department of Biotechnology, Yonsei University.
- Hwang JK. 2004. Xanthorrhizol: a potential antibacterial agent from *Curcuma xanthorrhiza* against *Streptococcus mutans*. *Planta Medica* 66:196-197.
- Kurniawan A. 2011. Aktivitas antioksidan dan potensi hayati dari kombinasi ekstrak empat jenis tanaman obat Indonesia. [skripsi]. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Marsh, P.D. and Bradshaw, D.J. (1993) Microbiological effects of new agents in dentifrices for plaque control. *Int Dent J* 43, 399–406.
- Masuda T, Isobe J, Jitoe A, Nakatawa N. 1992. Antioxidative curcuminoids from rhizomes of *Curcuma xanthorrhiza*. *Phytochemistry* 31:3645-3647.
- Nanthakumar R, Mutumani P, Giriya K. 2010. Anti-inflammatory and antibacterial activity study of some novel quinalizones. *Arab J. Chem*.
- Rahardjo M, Rostiana O. 2005. *Budidaya Tanaman Temulawak*. Bogor: Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatika. Sirkuler No.11.
- Rukayadi Y, Hwang JK. 2006. In vitro activity of xanthorrhizol against *Streptococcus mutans* biofilm. *J Compilation in Applied Microbiol.* 42:400-404.
- Rukayadi Y, Yong d, Hwang JK. 2006. In vitro anticandidal activity of xanthorrhizol isolated from *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. *Antimicrobial Chemotherapy*; doi:10.1093/jac/dk1132.
- Rukayadi Y, Hwang JK. 2007. In vitro antimycotic activity of xanthorrhizol isolated from *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. Against opportunistic filamentous fungi. *Phytochemistry Research*. <http://www.interscience.wiley.com/> [25 Mei 2012].
- Sidik, Mulyono MW, Mutadi A. 1995. *Temulawak (Curcuma xanthorrhiza Roxb.)*. Jakarta: Phyto Medika.
- Wahid P, Sudiarto. 1995. Pembudidayaan tanaman temulawak. Di dalam: *prosiding Symposium Nasional Temulawak*; tanggal 17-18 Sept 1985; Bandung. Bandung: Lembaga Penelitian Universitas Padjajaran. hlm 5-18.
- Wilson M., Patel H. dan Noar JH. (1998) Effect of chlorhexidine on multi-species biofilms. *Curr Microbiol* 36:13–18.
- Yasni S *et al.* 1994. Identification of an active principle in essential oils and hexane soluble fraction of *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. Showing triglyceride lowering action in rats. *Food and Chemical Toxicology* 32:273-278.

LAMPIRAN



Alat pengukur adsorban biofilm



GC-MS



Proses distilasi (isolasi) minyak atsiri



Minyak atsiri yang telah diisolasi



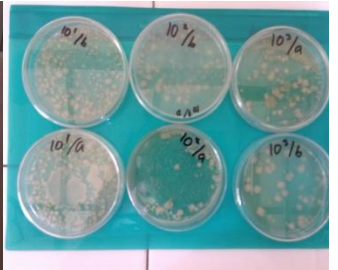
Preparasi distilasi (isolasi) minyak atsiri



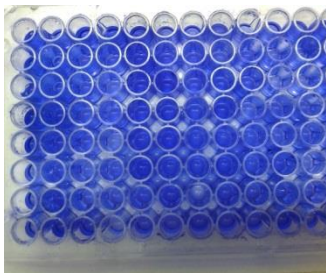
Proses pembuatan laporan kemajuan



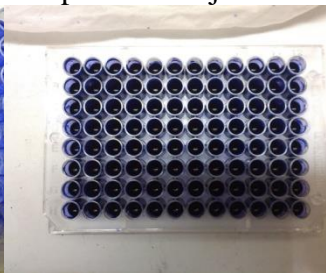
Preparasi uji antibakteri dan biofilm



Hasil penentuan jumlah kolonibiofilm



Uji biofilm



Pewarnaan biofilm



Alat autoclave



Pembacaan absorbans menggunakan *micro plate reader*



Pembacaan nilai kekeruhan larutan bakteri



Pasta gigi yang telah dibuat



Pasta gigi antiplak dan antibakteri
Mengandung ekstrak temulawak yang berkhasiat sebagai antibakteri dan antiplak