

# Uji Sitoksisitas, Fitokimia Kualitatif, dan Antibakteri pada Lima Genotipe Rimpang Temu Hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb)

<sup>1,2\*</sup>Waras Nurcholis, <sup>1</sup>Nelly Marliani, <sup>1</sup>Faris Adam, <sup>1</sup>Kamilah Da'inawari, <sup>1</sup>Seliani Fitria Mukti, <sup>1</sup>Khalissa Sekar Amanda Sudarjat, <sup>1</sup>Tiara Rizky Utami

<sup>1</sup>Departemen Biokimia, Institut Pertanian Bogor, Indonesia

<sup>2</sup>Pusat Studi Biofarmaka Tropika, Institut Pertanian Bogor, Indonesia

[wnurcholis@apps.ipb.ac.id](mailto:wnurcholis@apps.ipb.ac.id)

## ARTICLE INFO

### Article History:

Diterima : 12-12-2022

Disetujui : 25-01-2023

### Keywords:

Rimpang Temu hitam;

Fitokimia; Toksisitas;

Antibakteri



## ABSTRACT

**Abstract:** *Curcuma aeruginosa* Roxb. is one of the most widespread medicinal plants in Southeast Asia, one of which is Indonesia. The purpose of this study was to determine the phytochemical content, antibacterial activity against *Escherichia coli*, and the level of cytotoxicity in the rhizome of *C. aeruginosa* from five different genotypes. The maceration technique was utilized to extract samples. Using qualitative techniques, the presence of secondary metabolites in the sample extract was assessed. While the extract's cytotoxicity was verified using the brine shrimp lethality test, its antibacterial activity against *E. coli* was determined using the disc diffusion method. The qualitative phytochemical analysis revealed that the five rhizome genotypes included triterpenoids but lacked phenols, quinones, and alkaloids. Increasing the concentration of extract samples increased the lethality against *Artemia salina* shrimp larvae, but resulted in an LC<sub>50</sub> value high enough to render it cytotoxically ineffective. Compared to the positive control, the antibacterial activity test resulted in a very tiny diameter of the clear zone, indicating that the *C. aeruginosa* had limited antibacterial activity against *E. coli*.

**Abstrak:** Temu hitam termasuk ke dalam salah satu tanaman obat yang tersebar luas di Asia Tenggara, salah satunya Indonesia. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui kandungan fitokimia, aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*, dan tingkat toksisitas pada rimpang temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb.) dari lima genotipe yang berbeda. Ekstraksi sampel dilakukan dengan metode maserasi. Ekstrak sampel ditentukan adanya senyawa metabolit sekunder dengan metode kualitatif. Sementara sitotoksitas ekstrak ditentukan dengan metode *brine shrimp lethality test*, sementara untuk antibakteri terhadap *E. coli* dilakukan dengan metode difusi cakram. Hasil uji fitokimia kualitatif menunjukkan kelima genotipe rimpang temu hitam mengandung triterpenoid dan tidak mengandung fenol, kuinon serta alkaloid. Peningkatan konsentrasi sampel temu hitam meningkatkan daya bunuh terhadap larva udang *Artemia salina*, namun menghasilkan nilai LC<sub>50</sub> yang cukup tinggi sehingga memiliki sitotoksitas yang rendah. Uji aktivitas antibakteri menghasilkan diameter zona bening yang sangat kecil dibandingkan kontrol positifnya, dengan demikian rimpang temu hitam memiliki aktivitas antibakteri pada *E. coli* yang rendah.



<https://doi.org/10.31764/justek.vXIY.ZZZ>



This is an open access article under the [CC-BY-SA](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/) license

## A. LATAR BELAKANG

Indonesia merupakan negara tropis yang kaya akan keanekaragaman hayati, di antaranya tanaman herbal. Namun, iklim di Indonesia dapat memicu adanya berbagai penyakit tropis yang disebabkan oleh bakteri, seperti diare, gangguan saluran pencernaan, infeksi kulit, dan disentri. Pengobatan untuk mengatasi infeksi yang disebabkan oleh bakteri biasanya dilakukan dengan pemberian antibiotik. Namun, penggunaan antibiotik yang tidak benar akan membuat bakteri menjadi resisten dan tetap memperbanyak diri dalam inangnya (Puspasari et al., 2020). Hal tersebut mendorong pentingnya penemuan sumber obat-obatan alami yang dapat mengatasi berbagai masalah yang muncul dalam terapi antibiotik khususnya yang berasal dari tumbuhan.

Tumbuhan merupakan sumber senyawa aktif yang berpotensi sebagai tanaman obat diantaranya sebagai antibakteri. Pemanfaatan tumbuhan yang kurang termanfaatkan diharapkan berpotensi sebagai antibiotik alami. Aktivitas antibakteri suatu tanaman disebabkan oleh senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalamnya. Senyawa ini berfungsi sebagai pertahanan tanaman terhadap kondisi lingkungannya (Handayani et al., 2020). Senyawa ini dikelompokkan menjadi beberapa kelompok yaitu golongan fenolik, alkaloid, terpenoid, dan poliketida. Senyawa metabolit sekunder dihasilkan oleh banyak tanaman, salah satunya yaitu temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb.).

Temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb.) yang termasuk ke dalam famili Zingiberaceae merupakan salah satu tanaman obat yang tersebar luas di Asia Tenggara termasuk di Indonesia (Setiadi et al., 2017). Tanaman ini dapat mengobati berbagai macam penyakit, seperti gangguan pencernaan, gangguan otot, penyakit kulit, penyakit dalam, gangguan pernapasan, demam, masuk angin, menghilangkan bau badan, penambah nafsu makan, kolesterol, keputihan, cacingan, dan sakit gigi (Mustariani et al. 2017). Temu hitam diduga memiliki aktivitas sitotoksik karena mengandung minyak atsiri, kurkuminoid, alkaloid, lemak, tanin, amilum, saponin, polifenol dan flavonoid.

Sebagai skrining awal untuk mendeteksi kemampuan ekstrak rimpang temu hitam sebagai antikanker maka dilakukan uji sitoksisitas. Toksisitas diartikan sebagai potensi dari suatu senyawa kimia untuk dapat menyebabkan kerusakan ketika senyawa tersebut masuk ke dalam tubuh manusia (Zulfiah et al., 2020), namun dengan uji sitotoksisitas dimaksudkan untuk mendapatkan senyawa yang potensial sebagai obat. Berdasarkan uraian-uraian sebelumnya, tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui kandungan fitokimia, aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*, dan tingkat sitoksisitas pada rimpang temu hitam.

## B. METODE PENELITIAN

### Persiapan/Preparasi Sampel

Sampel temu hitam dari beberapa genotipe yang berbeda pertama-tama di blender terlebih dahulu menggunakan blender (Miyako BL-152). Hasil sampel yang sudah diblender selanjutnya diayak menggunakan ayakan dengan size 80 mesh. Setelah itu, sampel yang sudah dipreparasi menjadi simplisia disimpan dan dapat diuji.

## Ekstraksi Sampel

Sampel simplisia temu hitam diekstraksi dengan metode maserasi, yang dilakukan dengan menimbang sebanyak 4 gr sampel simplisia dan ditambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 80 mL. Maserat disaring dengan kertas saring sehingga didapatkan filtrat dan residu yang kemudian ditempatkan dalam botol *rotary evaporator*. Semua filtrat dievaporasi dengan alat *rotary evaporator* pada suhu 45°C dengan kecepatan 65 rpm sehingga terbentuk pasta. Pasta yang didapatkan kemudian disimpan dalam botol untuk digunakan dalam uji-uji berikutnya. Penghitungan nilai persentase rendemen diperoleh dari persamaan:

$$\text{Persentase rendemen} = \frac{\text{bobot ekstrak}}{\text{bobot simplisia}} \times 100\%$$

**Analisis Fitokimia (Harborne, 1987).** Senyawa yang diidentifikasi pada penelitian ini adalah senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, fenol, kuinon, dan triterpenoid.

**Uji Alkaloid.** Sebanyak 0.1 g ekstrak temu hitam dilarutkan dengan 5 mL kloroform dan 3 tetes H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Fraksi kloroform dipisahkan dan diasamkan dengan 2 tetes H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2 M. Lapisan atas (asam) diambil, lapisan ini diteteskan pada lempeng tetes dan ditambahkan 3 tetes reagen Dragendorff, Mayer dan Wagner yang akan menimbulkan endapan dengan warna berturut-turut merah jingga, putih dan coklat.

**Uji Flavonoid.** Sebanyak 1 mL ekstrak sampel temu hitam yang telah dilarutkan dengan etanol 70% ditambahkan dengan serbuk Mg sebanyak seujung sudip dan HCl 2N sebanyak 10 tetes. Setelah itu, dipanaskan di atas penangas air dan dikocok hingga tercampur rata. Hasil positif dilihat dari perubahan warna menjadi kuning-merah. Warna merah ditunjukkan karena penambahan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> menunjukkan adanya flavonoid.

**Uji Fenol.** Sebanyak 1 mL ekstrak cair temu hitam yang telah dilarutkan dengan etanol 70% ditambahkan dengan 3 tetes larutan FeCl<sub>3</sub> 5%. Adanya perubahan warna menjadi ungu kehitaman menunjukkan adanya senyawa fenol.

**Uji Kuinon.** Sebanyak 1 mL ekstrak cair ditambahkan dengan ditambahkan dengan 1-3 tetes larutan NaOH. Hasil positif ditunjukkan oleh perubahan warna campuran menjadi warna merah.

**Uji Saponin.** Sebanyak 1 mL ekstrak cair sampel temu hitam yang telah dilarutkan etanol 70% dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 10 mL air panas, didinginkan dan kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik (jika zat yang diperiksa berupa sediaan cair, diencerkan 1 mL sediaan yang diperiksa dengan 10 mL air dan dikocok kuat-kuat selama 10 menit). Reaksi positif jika terbentuk buih yang stabil selama tidak kurang dari 10 menit, setinggi 1 cm sampai 10 cm.

**Uji Triterpenoid.** Sebanyak 1 mL ekstrak sampel temu hitam yang telah dilarutkan dengan etanol 70% ditambah dengan pereaksi Lieberman Bu\*chard (3 tetes m asetat anhidrat dan 1 tetes asam sulfat pekat). Selanjutnya, sampel dikocok dan dibiarkan beberapa menit. Warna merah atau ungu menunjukkan adanya senyawa triterpenoid.

## Analisis Aktivitas Sitotoksik Metode BSLT (Fitria et al., 2022)

**Persiapan Sampel.** Lima sampel hasil ekstraksi ditimbang sebanyak 0.02 g, kemudian diencerkan dengan air laut menjadi 2000 ppm dalam 20 mL volume total. Dari

konsentrasi 2000 ppm, sampel-sampel tersebut diencerkan kembali dalam lima konsentrasi yang berbeda, 20 ppm, 100 ppm, 250 ppm, 500 ppm, dan 1000 ppm dalam 10 mL volume total melalui persamaan:

$$\text{Konsentrasi sampel}_1 \times \text{Volume total}_1 = \text{Konsentrasi sampel}_2 \times \text{Volume total}_2$$

**Penumbuhan Larva Udang.** Sebanyak 1,5 L air laut dimasukkan ke dalam tabung besar. Kemudian, telur-telur larva *Artemia salina* Leach. dimasukkan ke dalam tabung sebanyak 1 sendok teh. Tabung yang sudah berisi telur tersebut di aerasi menggunakan aerator dan diberikan pencahayaan yang cukup kemudian didiamkan selama 48 jam hingga larva menetas.

**Pengujian BSLT.** Pengujian dilakukan dengan media *microplate* 24 sumur. Setiap sumur diisi dengan 10 ekor larva *Artemia salina* dalam 1 mL air laut. Kemudian, well yang sudah terisi larva, diisi sampel dengan konsentrasi 1000, 500, 250, 100, dan 20 ppm sebanyak 1 mL sehingga isi setiap sumur memiliki volume 2 mL. Pengujian sampel dilakukan secara *triplo*. Setelah sampel dimasukkan ke setiap sumur yang berbeda, *microplate* disimpan dibawah cahaya selama 24 jam. Jumlah larva yang mati dibanding dengan yang hidup di setiap sumur dihitung sebagai persentase mortalitas sementara LC<sub>50</sub> dihitung melalui kurva regresi berdasarkan probit.

### Analisis Aktivitas Antibakteri

**Persiapan media TSA padat.** Disiapkan 12 g media TSA ke dalam 300 mL akuades, lalu dipanaskan di atas *hot plate*. Setelah media larut dalam aquades, media di autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit. Kemudian, media dituang ke cawan petri sebanyak ±15 mL dan didiamkan hingga memadat agar dapat digunakan untuk uji selanjutnya.

**Pengujian terhadap sampel.** Sebanyak 50 µL suspensi bakteri *E. coli* ditambahkan ke media TSA yang telah memadat dalam cawan petri dan disebar dengan alat sebar. Lalu, disiapkan kertas cakram yang telah ditambahkan kelima sampel, ampicilin sebagai kontrol positif, dan aquades sebagai kontrol negatif, masing-masing sejumlah 10 µL. Selanjutnya, kertas cakram diletakkan pada media yang telah diinokulasikan bakteri uji, dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Uji ini dilakukan dengan 3 kali pengulangan setiap sampelnya. Setelah diinkubasi 24 jam, zona bening yang terdapat pada media diukur dengan jangka sorong dan dilakukan secara 2 kali pengulangan. Seluruh pengerjaan pengujian ini dilakukan dalam laminar air flow dalam keadaan steril.

## C. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 1. Rendemen Ekstrak Rimpang Temu Hitam

Penelitian ini menggunakan temu hitam yang diambil dari Kebun Percobaan Cikabayan IPB University, Desa Babakan, Kecamatan Dramaga, Kabupaten Bogor, Provinsi Jawa Barat. Rimpang temu hitam yang digunakan berbentuk simplisia kering yang telah dihaluskan dengan tujuan mempermudah proses ekstraksi. Proses ekstraksi dilakukan untuk memisahkan senyawa-senyawa aktif yang ada pada suatu bahan dengan pelarut tertentu (Mustariani et al., 2017). Ekstraksi rimpang temu hitam dilakukan dengan metode maserasi 24 jam. Maserasi adalah proses sederhana mengekstraksi senyawa kimia dengan merendam tanaman dalam pelarut yang sesuai pada suhu kamar

untuk melunakkan dan melarutkan bahan (Zulfiah et al., 2020). Metode ini dipilih karena, seperti yang dikutip dari Mustariani et al. (2017), prosesnya sederhana dan dapat digunakan untuk mengekstraksi bahan yang tidak tahan maupun tahan panas sehingga dapat menghindari kerusakan sampel. Pada penelitian ini, metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Sebelum dan setelah dilakukan ekstraksi dilakukan penimbangan serbuk simplisia, kemudian dihitung persentasenya. Perolehan rendemen dari kelima genotipe rimpang temu hitam ditunjukkan pada Tabel 1. Hasil rendemen kelima sampel berkisar antara 2.11% hingga 9.08%. Penelitian lain yang telah dilakukan Sari dan Cikta (2016) melakukan ekstraksi rimpang temu hitam menghasilkan rentang rendemen yang antara 2.33% hingga 7.83%. Hasil ekstraksi temu hitam sesuai dengan Kemenkes RI (2017), yaitu berwarna coklat tua dan berbau khas.

**Tabel 1.** Hasil Ekstraksi Rimpang Temu Hitam

Sampel	Bobot Simplisia (g)	Bobok Ekstrak (g)	Rendemen (% massa)
TH-IPB-02	15.0048	1.0108	6.736510983
TH-IPB-04	15.003	0.4828	3.218023062
TH-IPB-05	15.0078	0.5158	3.436879489
TH-IPB-06	15.0002	1.3634	9.089212144
TH-IPB-09	15.0064	0.3167	2.110432882

## 2. Uji Fitokimia Kualitatif

Skrining fitokimia merupakan metode yang digunakan untuk mempelajari komponen senyawa aktif yang terdapat pada suatu sampel. Skrining fitokimia mengetahui perihal struktur kimia, biosintesis, penyebaran secara alamiah dan fungsi biologis, isolasi dan perbandingan komposisi senyawa kimia dari bermacam-macam jenis tanaman (Mariyah, 2020). Sampel tanaman yang digunakan dalam uji fitokimia dapat berupa daun, batang, buah, bunga, umbi dan akarnya yang berkhasiat sebagai obat dan digunakan sebagai bahan mentah dalam pembuatan obat modern maupun obat-obatan tradisional (Agustina, 2016).

Analisis fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder, dalam penelitian ini dilakukan pada lima genotipe rimpang temu hitam secara kualitatif. Jenis senyawa-senyawa metabolit sekunder yang diuji pada sampel ini adalah flavonoid, saponin, triterpenoid, fenol, kuinon, dan alkaloid. Hasil uji yang telah dilakukan ditunjukkan pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Hasil Pengamatan Uji Fitokimia Ekstrak Rimpang Temu Hitam

Sampel	Uji Fitokimia					
	Flavonoid	Saponin	Triterpenoid	Fenol	Kuinon	Alkaloid
TH-IPB-02	+	+	+	-	-	-
TH-IPB-04	+	+	+	-	-	-
TH-IPB-05	+	-	+	-	-	-
TH-IPB-06	-	+	+	-	-	-
TH-IPB-09	+	-	+	-	-	-

Berdasarkan hasil uji flavonoid pada Tabel 2, hasil positif terdapat pada sampel TH-IPB-02, TH-IPB-04, TH-IPB-05, dan TH-IPB-09, yang diketahui setelah keempat sampel mengalami perubahan warna menjadi merah kehitaman. Perubahan warna yang terjadi

pada pengujian flavonoid menunjukkan adanya flavonoid akibat reduksi oleh asam sulfat. Sedangkan sampel TH-IPB-06 tidak menunjukkan perubahan warna, maka sampel TH-IPB-6 negatif flavonoid.

Pada uji saponin, terdapat tiga sampel yang menunjukkan hasil positif, yaitu sampel TH-IPB-02, TH-IPB-04, dan TH-IPB-06, yang ditandai dengan adanya buih yang stabil setinggi 1-5 cm selama tidak kurang dari 10 menit (Mustariani et al., 2017). Sedangkan sampel TH-IPB-05 dan TH-IPB-09 tidak menunjukkan adanya buih, maka dapat disimpulkan sampel TH-IPB-09 negatif atau tidak mengandung senyawa saponin.

Dari hasil uji triterpenoid pada Tabel 3, seluruh sampel menunjukkan hasil positif dengan adanya endapan berwarna merah. Hal tersebut menunjukkan bahwa telah terjadinya kondensasi atau pelepasan H<sub>2</sub>O dan penggabungan karbokation. Prinsip uji yang menggunakan pereaksi Liebermann-Burchard ini diawali dengan adanya proses asetilasi pada gugus hidroksil oleh asetat anhidrat. Gugus asetil ini mengakibatkan terbentuknya ikatan rangkap. Pembentukan ikatan rangkap ini mengakibatkan pelepasan gugus hidrogen beserta elektronnya. Senyawa tersebut mengalami resonansi dan bertindak sebagai elektrofil atau karbokation. Karbokation ini menyerang dan menyebabkan terjadinya adisi elektrofilik yang diikuti pelepasan hidrogen. Gugus hidrogen dan elektron yang lepas mengalami perpanjangan konjugasi yang menyebabkan munculnya warna merah (Siadi, 2012).

Kelima sampel menunjukkan hasil negatif pada uji fenol, kuinon, dan alkaloid. Pada uji fenol, sampel direaksikan dengan FeCl<sub>3</sub> dan menghasilkan warna ungu kehitaman apabila sampel mengandung senyawa fenolik. Ciri khas dari senyawa fenolik ini adalah membentuk kompleks dengan ungu kehitaman dengan besi (III) klorida. Namun berdasarkan uji fenol yang dilakukan, kelima sampel tidak menunjukkan warna ungu kehitaman. Pada uji kuinon, kelima sampel direaksikan dengan NaOH dan menghasilkan warna merah apabila sampel mengandung senyawa kuinon. Namun, berdasarkan uji kuinon yang dilakukan kelima sampel tidak menunjukkan perubahan warna larutan menjadi warna merah.

Reagen yang digunakan pada uji alkaloid ini adalah reagen Dragendorff, Mayer dan Wagner. Apabila sampel mengandung alkaloid, maka sampel akan bereaksi dengan reagen Dragendorff, Mayer serta Wagner dan akan menimbulkan endapan dengan warna berturut-turut merah jingga, putih dan coklat. Setelah penambahan reagen, kelima sampel tidak menunjukkan adanya perubahan warna. Berdasarkan hasil tersebut, dapat disimpulkan bahwa kelima sampel tidak mengandung alkaloid. Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan untuk dapat mengetahui jenis senyawa dari golongan triterpenoid, flavonoid dan saponin yang terkandung pada rimpang temu hitam.

### 3. Uji Sitoksisitas dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

*Brine Shrimp Lethality Test* atau yang umumnya dikenal sebagai uji BSLT adalah uji praskrining aktivitas biologis sederhana untuk menentukan tingkat toksisitas suatu ekstrak secara akut menggunakan hewan uji larva udang jenis *Artemia salina* Leach. Metode ini banyak digunakan karena ujinya cepat, mudah, sederhana, murah, tidak memerlukan peralatan tertentu, memenuhi kebutuhan validasi statistik dengan jumlah

sampel yang kecil, serta hasil yang representatif dan terpercaya (Kurniawan dan Ropiqa, 2021). Parameter yang digunakan dalam uji ini adalah jumlah kematian larva udang akibat pengaruh pemberian senyawa dengan dosis yang telah ditentukan. Hasil pengujian toksisitas rimpang temu hitam dari lima genotipe dengan metode BSLT ditunjukkan pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Hasil Pengamatan Kematian Larva Udang Setelah Diberikan Ekstrak Rimpang Temu Hitam Dari Lima Genotipe Berdasarkan Metode Probit

Sampel	Konsentrasi (ppm)	% Mortalitas	LC <sub>50</sub> (ppm)
TH-IPB-02	20	0%	5095.98
	100	0%	
	250	3%	
	500	7%	
	1000	60%	
TH-IPB-04	20	0%	39112.46
	100	0%	
	250	0%	
	500	13%	
	1000	33%	
TH-IPB-05	20	0%	173724.18
	100	0%	
	250	0%	
	500	0%	
	1000	93%	
TH-IPB-06	20	3%	22198.13
	100	0%	
	250	3%	
	500	10%	
	1000	10%	
TH-IPB-09	20	0%	
	100	0%	
	250	3%	

500	7%	5095.98
1000	60%	

Pengujian ini dilakukan dengan lima konsentrasi ekstrak etanol temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb.) yang berbeda setiap sampelnya, yaitu 20 ppm, 100 ppm, 250 ppm, 500 ppm, dan 1.000 ppm serta konsentrasi 0 ppm sebagai kelompok kontrol. Jumlah larva uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah 750 larva dengan 30 larva per 5 konsentrasi dari 5 sampel yang digunakan, dimana setiap perlakuan konsentrasi menggunakan 10 larva dan terdapat 3 kali pengulangan. Rata-rata kematian dari ketiga pengulangan dihitung dengan menghitung total kematian dan membagi dengan jumlah pengulangan, kemudian dikali dengan seratus persen (100%) untuk menentukan persentase mortalitas.

Hasil uji pada Tabel 3 menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi berbanding lurus dengan persentase kematian larva udang, yang berarti peningkatan konsentrasi meningkatkan daya bunuh. Suatu senyawa dinyatakan memiliki toksisitas yang akut apabila memiliki nilai LC50 lebih rendah dari 1000 ppm. LC50 (Lethal Concentration 50) adalah tingkat konsentrasi suatu zat yang dapat mematikan 50% populasi hewan percobaan, yang dalam uji ini menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach. (Kurniawan dan Ropiqa, 2021).

Pada hasil uji sitotoksitas terhadap lima genotipe rimpang temu hitam, nilai LC50 dari kelima genotipe berkisar antara 5095.98 ppm hingga 173724.18 ppm, yang berarti kelima genotipe rimpang temu hitam yang digunakan sebagai sampel memiliki sitotoksitas yang rendah. Menurut Zulfiah et al. (2020), senyawa-senyawa yang diidentifikasi menyebabkan toksik pada rimpang temu hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb.) terhadap larva udang adalah alkaloid, flavonoid, dan saponin. Cara kerja senyawa-senyawa tersebut untuk mematikan larva udang adalah dengan menjadi racun perut dan penghambat reseptor perasa pada daerah mulut larva sehingga menyebabkannya mati kelaparan. Sedangkan pada uji fitokimia kualitatif yang telah dijelaskan sebelumnya, kelima genotipe rimpang temu hitam diketahui tidak menunjukkan hasil positif pada uji alkaloid. Hal tersebut dimungkinkan sebagai penyebab rendahnya nilai sitotoksitas sampel ekstrak yang diuji.

#### 4. Uji Antibakteri

Aktivitas antibakteri pada lima sampel genotipe rimpang temu hitam diujikan pada bakteri *E. coli*, yang merupakan bakteri gram negatif. Pengujian aktivitas antibakteri kali ini menggunakan metode difusi cakram. Menurut Prayoga (2013) kelebihan metode ini yaitu tidak memerlukan peralatan khusus, mudah dilakukan, dan relatif murah. Metode difusi cakram merupakan metode penentuan sensitivitas bakteri dengan suatu zat tertentu yang memiliki kemungkinan menghambat aktivitas antibakteri dengan menempatkan kertas cakram pada permukaan media yang dikulturkan bakteri. Aktivitas antibakteri dianalisis dengan mengamati dan mengukur diameter dari zona bening yang terdapat pada media perlakuan (Permatasari, 2021). Media kultur bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah media TSA (*tryptic soy agar*). Kontrol positif yang



digunakan dalam penelitian ini adalah antibiotik ampisilin (sanpicillin), dan yang bertindak sebagai kontrol negatif adalah aquades. Hasil pengukuran zona bening dari uji aktivitas antibakteri *E. coli* terhadap ekstrak rimpang temu hitam ditunjukkan pada Tabel 4.

**Tabel 4.** Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat pada Uji Antibakteri Ekstrak Rimpang Temu Hitam

Sampel	Diameter zona bening (mm)
Kontrol positif	21.66
Kontrol negatif	0
TH-IPB-02	2.657
TH-IPB-04	1.747
TH-IPB-05	2.020
TH-IPB-06	1.640
TH-IPB-09	3.827

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada Tabel 4, aktivitas antibakteri ekstrak rimpang temu hitam terhadap *E. coli* dilihat dari rata-rata zona hambat lima genotipe temu hitam berkisar pada 1.640 hingga 3.827 mm. Diameter zona hambat lebih kecil dari 5 mm maka respon hambatan pertumbuhannya dikategorikan lemah. Ukuran diameter zona hambat ini ditunjukkan dengan adanya zona bening yang tidak ditumbuhi bakteri pada media agar. Zona bening merupakan daerah difusi ekstrak rimpang temu hitam yang memengaruhi pertumbuhan bakteri. Besar diameter dari zona hambat yang terbentuk menunjukkan kekuatan antibakteri dari ekstrak rimpang temu hitam.

Ekstrak etanol rimpang temu hitam mengandung senyawa aktif berupa flavonoid. Flavonoid merusak dan menghancurkan membran sel bakteri sehingga tidak dapat diperbaiki kembali. Flavonoid melakukan pembentukan kompleks baru dengan protein ekstraseluler (Ningsih et al., 2013). Hal ini sejalan dengan data hasil penelitian yang terdapat pada Tabel 2 dan 4, TH-IPB-06 tidak mengandung flavonoid sehingga memiliki zona hambat yang paling rendah yaitu 1.640 mm. Diameter zona hambat paling besar yaitu TH-IPB-09 sebesar 3.827 mm.

Kontrol negatif yang digunakan pada penelitian ini adalah aquadest yang tidak memiliki efek sama sekali terhadap bakteri. Kontrol positif yang digunakan pada penelitian ini adalah ampisilin yang memiliki zona hambat lebih besar dibandingkan dengan lima genotipe ekstrak etanol rimpang temu hitam. Penggunaan ampisilin sebagai kontrol positif lebih efektif dibandingkan lima genotipe ekstrak etanol rimpang temu hitam digunakan sebagai antibakteri karena menggunakan senyawa tunggal, sedangkan lima genotipe ekstrak etanol rimpang temu hitam menggunakan ekstrak kasar.

#### D. SIMPULAN DAN SARAN

Senyawa triterpenoid teridentifikasi pada lima genotipe temu hitam yang diteliti, sementara senyawa fenol, kuinon, dan alkaloid tidak terdeteksi dalam sampel ekstrak. Berdasarkan uji BSLT, ekstrak lima genotipe temu hitam yang diteliti memiliki nilai sitotoksitas yang rendah. Aktivitas antibakteri pada *E. coli* menunjukkan zona hambat pertumbuhan yang rendah. Genotipe TH-IPB-09 memiliki aktivitas antibakteri tertinggi

dengan nilai besarnya zona hambat mencapai 3.827 mm. Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder yang bertanggung jawab sebagai antibakteri dari rimpang temu hitam.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Departemen Biokimia, Institut Pertanian Bogor yang telah memfasilitasi seluruh alat dan bahan yang digunakan sehingga penelitian ini dapat berjalan dengan lancar.

### REFERENSI

- Agustina, S, Ruslan, Wiraningtyas, A. (2016). Skrining Fitokimia Tanaman Obat di Kabupaten Bima. *Cakra Kimia*, 4(1), 71-76.
- Fitria, A, Seno, D. S. H, Prisoeryanto, B. P, Najmah, Nurcholis, W. (2022). Cytotoxic Activity of Volatile Compounds in *Cymbopogon nardus*' Essential Oils. *Jurnal Sains dan Teknologi*, 5(2), 90-100.
- Handayani, S. N, Purwanti, A, Windasari, Ardian, M. N. (2020). Uji Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kencana Ungu (*Ruellia tuberosa* L.). *Walisongo Journal of Chemistry*, 3(2), 66-70. DOI:10.21580/wjc.v3i2.6119.
- Harborne, H. (1987). *Metode Fitokimia*. Bandung: ITB.
- Kurniawan, H, Ropiqa, M. (2021). Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Ekor Kucing (*Acalypha hispida* Burm.f.) dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*, 3(2), 52-62.
- Kemkes RI. (2017). *Farmakope Herbal Indonesia Edisi II*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Mariyah, Y. (2020). Uji Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kesambi (*Schleichera oleosa* (Lour.) Oken) dengan Pelarut Metanol [skripsi]. <http://etheses.uin-malang.ac.id/24086/1/16620051.pdf>
- Mustariani, B. A. A, Izuddin, A, Hasyim, D. M, Batubara, I. (2017). Uji Toksisitas dan Aktivitas Antimakan Ekstrak Rimpang Temu Hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb). *Jurnal Farmasetis*, 6(1), 1-8.
- Ningsih, A., Subehan, & Djide, M. N. (2013). Potensi Antimikroba Dan Analisis Spektroskopi Isolat Aktif Ekstrak n-Heksan Daun Sungkai (*Peronema canescens*.Jack) Terhadap Beberapa Mikroba [tesis]. <http://pasca.unhas.ac.id/jurnal/files/7525bb97eeec033efca9bf37ac523ba.pdf>
- Permatasari, C. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* serta Uji Toksisitas Ekstrak Air Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.) Hasil Sonikasi [skripsi]. <http://etheses.uin-malang.ac.id/28227/>
- Prayoga, E. (2013). Perbandingan Efek Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) dengan Metode Difusi Disk dan Sumuran Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* [skripsi]. <https://repository.uinjkt.ac.id/dspace/bitstream/123456789/26368/1/EKO%20PRAYOGA-fkik.pdf>
- Puspasari, S, Nurhamidah, Amir, H. (2020). Uji Sitotoksik dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Pandan Laut (*Pandanus odorifer*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. *Alotrop*, 4(1), 42-50. DOI:10.33369/atp.v4i1.13708.

- Sari, A. M, Cikta, E. V. (2016). Ekstraksi Flavonoid dari Temu Ireng (*Curcuma aeruginosa* Roxb.) dan Aplikasinya pada Sabun Transparan. *Konversi*, 1(1), 15-22. DOI: 10.24853/konversi.5.1.17-23.
- Setiadi, A, Khumaida, N, Ardie, S. W. (2017). Keragaman Beberapa Aksesori Temu Hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb.) Berdasarkan Karakter Morfologi. *Jurnal Agronomi Indonesia*, 45(1), 71-78. DOI:10.24831/jai.v45i1.13773.
- Siadi, K. (2012). Ekstrak Bungkil Biji Jarak Pagar *Jatropha curcas* sebagai Biopestisida yang Efektif dengan Penambahan Larutan NaCl. *Jurnal MIPA*, 35(1), 77-83.
- Zulfiah, Megawati, Herman, Lau, S. H. A, Hasyim, M. F, Murniati, Roosevelt, A, Kadang, Y, Izza, N, Patandung, G. (2020). uji Toksisitas Ekstrak Rimpang Temu Hitam (*Curcuma aeruginosa* Roxb.) Terhadap Larva Udang (*Artemia salina* Leach) Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Jurnal Farmasi Sandi Karsa*, 6(1), 44-49. DOI:10.36060/jfs.v6i1.67.