

**SKIM HIBAH : PENELITIAN MANDIRI**  
**BIDANG UNGGULAN : PERUBAHAN IKLIM DAN KEANEKARAGAMAN HAYATI**

## **LAPORAN AKHIR**



**IDENTIFIKASI KOMPONEN KIMIA, UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN ANTIOKSIDAN MINYAK ATSIRI RIMPANG KUNYIT (*Curcuma longa* L), TEMULAWAK (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) DAN TEMU GIRING (*Curcuma heyneana* Val) DARI JUMAPOLO KARANGANYAR**

**Research Group :**

**PRODUK ALAM, REKAYASA MOLEKUL, DAN PEMBELAJARAN KIMIA - K12171921**

**Ketua Penelitian :**

**Dr. Sri Retno Dwi Ariani, S.Si, M.Si - 197112161998022004**

**Anggota Penelitian :**

**Dr. rer.nat. Sri Mulyani, M.Si. - 196509161991032009**

**Dr. Elfi Susanti Vh, S.Si.,M.Si. - 197210231998022001**

**Dr. Endang Susilowati, S.Si.,M.Si. - 197001172000032001**

**UNIVERSITAS SEBELAS MARET  
NOVEMBER 2021**

**HALAMAN IDENTITAS LAPORAN AKHIR****No. Reg:****001612710229320210****Judul Penelitian**

: IDENTIFIKASI KOMPONEN KIMIA, UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN ANTIOKSIDAN MINYAK ATSIRI RIMPANG KUNYIT (*Curcuma longa* L), TEMULAWAK (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) DAN TEMU GIRING (*Curcuma heyneana* Val) DARI JUMAPOLO KARANGANYAR

**Bidang Ilmu / Grup Riset**

: MIPA / PRODUK ALAM, REKAYASA MOLEKUL, DAN PEMBELAJARAN KIMIA

**Bidang Kajian**

: Perubahan iklim dan keanekaragaman hayati

**SKIM**

: PENELITIAN MANDIRI

**Kat. Bidang / Bid. Penelitian**

: Natural Science / Chemical Sciences

**Kat. Tujuan / Tujuan Sosial**

: Plant Production and Plant Primary Products / Herbs, Spices and Medicinal Plants

**Technology Readiness Level (TRL) : 9****Tahun Usulan**

: 2021

**Identitas Ketua Penelitian**

A. Nama Ketua

: Dr. Sri Retno Dwi Ariani, S.Si, M.Si

B. NIP

: 197112161998022004

C. Jabatan Fungsional

: Lektor Kepala

D. Unit / Sub Unit

: Fakultas KIP / S-1 Pendidikan Kimia

E. Nomor HP

: 082137723769

F. Email

: sriretno71@staff.uns.ac.id

Lama Penelitian Keseluruhan

: 1 Tahun

Penelitian Tahun Ke-

: 1

Biaya usulan Tahun Berjalan

: Rp. 0,00

Biaya Yang Disetujui Tahun Berjalan

: Rp.

Biaya Sumber Lain

: Rp. 0,00

Asal Sumber Biaya Lain

: Rp. 0,00

Ketua,

**Prof. Dr. Okid Parama Astirin, M.S**

NIP. 196303271986012002

Surakarta,  
25 November 2021**Dr. Sri Retno Dwi Ariani S.Si, M.Si**  
**NIP. 197112161998022004**

**LAMPIRAN LAPORAN AKHIR****No. Reg:****001612710229320210**

- Judul Penelitian** : IDENTIFIKASI KOMPONEN KIMIA, UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN ANTIOKSIDAN MINYAK ATSIRI RIMPANG KUNYIT (*Curcuma longa* L), TEMULAWAK (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) DAN TEMU GIRING (*Curcuma heyneana* Val) DARI JUMAPOLO KARANGANYAR
- Anggota Penelitian**
- 1 . Nama / NIDN(Kode Reg.) : Sri Mulyani / 0016096504  
Grup Riset : PRODUK ALAM, REKAYASA MOLEKUL, DAN  
Persetujuan Anggota : PEMBELAJARAN KIMIA  
Setuju
- 2 . Nama / NIDN(Kode Reg.) : Elfi Susanti Vh / 0023107204  
Grup Riset : PRODUK ALAM, REKAYASA MOLEKUL, DAN  
Persetujuan Anggota : PEMBELAJARAN KIMIA  
Setuju
- 3 . Nama / NIDN(Kode Reg.) : Endang Susilowati / 0017017003  
Grup Riset : KIMIA ANALITIK, LINGKUNGAN, DAN  
Persetujuan Anggota : PEMBELAJARAN KIMIA  
Setuju
- Luaran Penelitian wajib** : 1. Publikasi minimal di jurnal ber-ISSN, atau Prosiding seminar
- Luaran Penelitian Tambahan** : 1. Inovasi IPTEKS-SOSBUD dan lainnya (teorema baru, produk, metode, teknologi tepat guna, blue print, prototipe, sistem, kebijakan, model, rekayasa sosial)

Surakarta,  
25 November 2021



Dr. Sri Retno Dwi Ariani S.Si, M.Si

**Keterlibatan Mahasiswa Dalam  
P2M**

- 1 . Nama / NIM : Febi Nur Aini Wijaya / K3317030  
Jurusan Pendidikan Kimia  
Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan
- 2 . Nama / NIM : Septian Dwi Budi Pra / K3316063  
Jurusan Pendidikan Kimia  
Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan

**Anggota P2M Luar**

Surakarta,  
25 November 2021



Dr. Sri Retno Dwi Ariani S.Si, M.Si

**Informasi Tugas Pengusul P2M :**

Skema P2M : PENELITIAN MANDIRI

Judul P2M : IDENTIFIKASI KOMPONEN KIMIA, UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN ANTIOKSIDAN MINYAK ATSIRI RIMPANG KUNYIT (*Curcuma longa* L), TEMULAWAK (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) DAN TEMU GIRING (*Curcuma heyneana* Val) DARI JUMAPOLO KARANGANYAR

Tahun P2M : 2021

Biaya Setujui : R-

No	Detail Pengusul	Tugas & Waktu	Posisi
1	Dr. Sri Retno Dwi Ariani S.Si, M.Si S-1 Pendidikan Kimia / Fakultas KIP NIP : 197112161998022004 ID SCOPUS : 57192805220 SINTA ID : 6670964 H-Index : 0	Sebagai Koordinator kegiatan penelitian dan bertanggung jawab pada kegiatan uji aktivitas antioksidan minyak atsiri 5 Jam/Minggu	Ketua
2	Dr. rer.nat. Sri Mulyani M.Si. S-1 Pendidikan Kimia / Fakultas KIP NIP : 196509161991032009 ID SCOPUS : 57192902669 SINTA ID : 6092138 H-Index : 3	Bertanggung jawab pada kegiatan uji aktivitas antibakteri minyak atsiri 5 Jam/Minggu	Anggota
3	Dr. Elfi Susanti Vh S.Si.,M.Si. S-1 Pendidikan Kimia / Fakultas KIP NIP : 197210231998022001 ID SCOPUS : 55532114500 SINTA ID : 5978717 H-Index : 3	Bertanggung jawab pada kegiatan identifikasi komponen kimia minyak atsiri dengan Metode GC-MS 5 Jam/Minggu	Anggota
4	Dr. Endang Susilowati S.Si.,M.Si. S-1 Pendidikan Kimia / Fakultas KIP NIP : 197001172000032001 ID SCOPUS : 57205552149 SINTA ID : 6653569 H-Index : 4	Bertanggung jawab pada kegiatan preparasi dan isolasi sampel 5 Jam/Minggu	Anggota

Surakarta,  
25 November 2021



Dr. Sri Retno Dwi Ariani S.Si, M.Si

**Ringkasan Dana Pengusul P2M :**

Skema P2M : PENELITIAN MANDIRI

Judul P2M : IDENTIFIKASI KOMPONEN KIMIA, UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN ANTIOKSIDAN MINYAK ATSIRI RIMPANG KUNYIT (Curcuma longa L), TEMULAWAK (Curcuma xanthorrhiza Roxb) DAN TEMU GIRING (Curcuma heyneana Val) DARI JUMAPOLO KARANGANYAR

Tahun P2M : 2021

Biaya : R-  
Setujui

No	Jenis RAB	Keterangan	Total (Rp)
1	<b>BELANJA BARANG NON OPERASIONAL LAINNYA</b>	Jasa/Sewa, Pelaporan, diseminasi hasil P2M, dll	Rp.0,-
2	<b>BELANJA BAHAN</b>	Bahan habis pakai, komponen atau peralatan	Rp.0,-
3	<b>BELANJA PERJALANAN LAINNYA</b>	Perjalanan/Transportasi	Rp.0,-
4	<b>HONORARIUM</b>	Narasumber dari luar UNS, pembantu peneliti, pembantu lapangan , surveyor	Rp.0,-
<b>Total</b>			<b>Rp.0,-</b>

Surakarta,  
25 November 2021



Dr. Sri Retno Dwi Ariani S.Si, M.Si

## RINGKASAN

Indonesia memiliki keanekaragaman hayati yang sangat berlimpah, merupakan negara penghasil minyak atsiri (sekitar 150-200 jenis) dan menduduki peringkat ke-9 eksportir minyak atsiri di dunia. Minyak Atsiri (*essential oil*) adalah golongan minyak nabati yang berwujud cairan kental pada suhu ruang, namun mudah menguap tanpa mengalami dekomposisi sehingga memberikan aroma yang khas. Untuk menjaga eksistensi Indonesia di pasar dunia, maka Indonesia perlu meningkatkan mutu minyak atsiri untuk diperdagangkan di pasar dunia. Salah satu familia dari tanaman rimpang yang biasa dimanfaatkan sebagai tanaman obat dan dapat diambil minyak atsirinya adalah familia *Zingiberaceae*. *Curcuma* merupakan salah satu genus dari familia *Zingiberaceae* yang terdistribusi luas di daerah tropis maupun sub tropis terutama di India, Thailand, Indochina dan Australia bagian Utara. Beberapa tanaman yang termasuk anggota genus *curcuma* antara lain kunyit (*Curcuma longa* L), temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) dan temu giring (*Curcuma heyneana* Val). Tujuan penelitian ini adalah melakukan isolasi, identifikasi komponen kimia, uji antibakteri dan antioksidan minyak atsiri rimpang kunyit, temulawak dan temu giring. Sampel dalam penelitian ini adalah rimpang kunyit, temulawak dan temu giring yang ditanam di daerah Jumapolo Karanganyar Jawa Tengah. Secara garis besar tahapan metode penelitian meliputi pengambilan sampel, preparasi sampel, isolasi minyak atsiri dengan metode destilasi uap dan air, uji sifat fisik, identifikasi komponen kimia dengan Metode GC-MS, uji antibakteri dengan Metode Difusi Kertas Cakram dan uji antioksidan dengan metode DPPH. Luaran yang ditargetkan pada penelitian ini adalah menghasilkan 1 buah paper yang dipublikasikan di *Chemistry and Biodiversity [abstracted/indexed in Scopus]* (2) menghasilkan 3 buah prototipe minyak atsiri yang diketahui kandungan kimia, aktivitas antibakteri dan aktivitas antioksidannya, (3) aspek pengembangan institusi, dimana penelitian ini memberi peluang tugas akhir untuk 2 orang mahasiswa S1 P.Kimia FKIP UNS. Hasil penelitian ini sudah mencapai Tingkat Kesiapan Teknologi (TKT) 9, sehingga dapat dikembangkan menjadi sebuah unit agribisnis baru (kegiatan Pengabdian Kepada Masyarakat) yaitu produksi dan pemasaran minyak atsiri dari rimpang kunyit, temulawak dan temu giring.

Kata kunci : minyak atsiri, kunyit, temulawak, temu giring, antibakteri dan antioksidan

## DAFTAR ISI

HALAMAN Sampul	.....	i
HALAMAN Identitas	.....	ii
RINGKASAN	.....	vii
DAFTAR ISI	.....	viii
BAB 1. PENDAHULUAN	.....	1
A. Latar Belakang	.....	1
B. Perumusan Masalah	.....	3
C. Tujuan dan Manfaat Penelitian	.....	3
BAB 2. METODE PENELITIAN	.....	5
BAB 3. HASIL DAN PEMBAHASAN	.....	8
A. Hasil Penelitian dan Pembahasan	.....	8
B. Status Luaran Penelitian	.....	17
BAB 4. KESIMPULAN DAN SARAN	.....	19
DAFTAR PUSTAKA	.....	21
LAMPIRAN	.....	23



# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Indonesia merupakan negara penghasil tanaman obat kedua terbesar di dunia setelah Brazil. Dari total sekitar 40.000 jenis tumbuhan obat yang dikenal di dunia, 30.000 diantaranya berada di Indonesia dan terdapat 7.500 jenis yang sudah diketahui khasiatnya. Salah satu tanaman biofarmaka yang sering dikonsumsi masyarakat adalah empon-empon atau biasa dikenal dengan tanaman rimpang (Salim, et al., 2017). Kementerian Pertanian (2019) menyatakan bahwa hasil produksi tanaman rimpang di Indonesia pada tahun 2018 sebesar 564.172.471 kg, meningkat 15,48% dibandingkan dengan tahun 2017.

Salah satu familia dari tanaman rimpang yang biasa dimanfaatkan sebagai tanaman obat adalah *Zingiberaceae*. *Curcuma* merupakan salah satu genus dari familia *Zingiberaceae* yang terdistribusi luas di daerah tropis maupun sub tropis terutama di India, Thailand, Indochina dan Australia bagian Utara. Genus *curcuma* beranggotakan sekitar 60 hingga 80 spesies (Sirirugsa et al., 2007). Di wilayah Jawa Tengah, salah satu daerah sentra pengembangan tanaman obat adalah di Kecamatan Jumapolo Karanganyar Jawa Tengah Indonesia. Tanaman obat yang dikembangkan adalah empon-empon, diantaranya kunyit (*Curcuma longa* L), temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) dan temu giring (*Curcuma heyneana* Val).. Hasil penelitian Widiyanto (2005) menyatakan bahwa pengelolaan tanaman obat di Jumapolo sebagian besar masih bersifat sambilan dan kurang intensif. Hal ini disebabkan karena masa panen tanaman obat seperti kunyit, temulawak dan temu giring relatif lama (8-9 bulan) padahal petani segera membutuhkan biaya untuk hidup. Kebanyakan tanaman obat dibudidayakan pada lahan pekarangan dengan tanaman tegakan seperti mangga atau jati dan sebagian lagi pada lahan tegalan dengan sistem tumpangsari. Selama ini penjualan hasil panen empon-empon masih dalam bentuk basah dan ada pula petani yang menjual dalam bentuk rajang kering (simplisia). Petani biasanya menjual langsung hasil panen kepada pedagang pengumpul atau ke pasar Jumapolo. Hasil wawancara penulis dengan petani empon-empon di Jumapolo pada saat ini (tahun 2021) juga masih sama (tidak ada perkembangan), yaitu budidaya tanaman obat masih dijadikan sebagai pekerjaan sambilan. Tidak adanya perkembangan *mindset* petani untuk menjadikan empon-empon sebagai komoditas utama yang dapat menopang perekonomian keluarga, padahal empon-empon sangat cocok ditanam di

daerah Jumapolo, mendorong penulis untuk melakukan penelitian secara spesifik yaitu terhadap empon-empon yang tumbuh di daerah Jumapolo khususnya kunyit, temulawak dan temu giring.

Rimpang kunyit, temulawak dan temu giring mengandung minyak atsiri. Minyak atsiri sering disebut sebagai minyak terbang karena minyak tersebut mudah menguap. Selain itu, minyak atsiri juga disebut *essential oil* (dari kata *essence*) karena minyak tersebut memberikan bau yang khas (Koensomardiyah, 2010). Harvey (2000) menyatakan bahwa minyak atsiri sebagai salah satu jenis metabolit sekunder dari tumbuhan merupakan sumber utama senyawa obat. Minyak atsiri merupakan salah satu komoditi yang memiliki prospek dalam perdagangan karena dibutuhkan di berbagai industri seperti industri parfum, kosmetika, industri farmasi/obat-obatan, industri makanan dan minuman.

Man et.al. (2012) menyatakan bahwa minyak atsiri dalam keluarga Zingiberaceae sangat bervariasi rendemen dan komposisinya tergantung dari spesies, varietas dan area geografis atau lokasi penanamannya. Selama ini belum ada penelitian tentang minyak atsiri dari kunyit, temulawak maupun temu giring yang tumbuh di wilayah Jumapolo. Terdapat beberapa penelitian terkait minyak atsiri kunyit, temulawak dan temu giring, tetapi berasal dari luar daerah Jumapolo. Komponen utama yang ditemukan dari minyak atsiri rimpang kunyit adalah ar-turmerone,  $\alpha$ -turmerone, and  $\beta$ -turmerone. Sampel dari Nigeria Utara-Tengah memiliki komponen kimia  $\beta$ -bisabolene, (E)- $\beta$ -ocimene,  $\beta$ -myrcene, 1,8-cineole,  $\alpha$ -thujene,  $\alpha$ -phellandrene, limonene, zingiberene, and  $\beta$ -sesquiphellandrene. Sampel dari Sri Lanka mengandung  $\alpha$ -phellandrene,  $\alpha$ -turmerone, 1,8-cineole, p-cymene, ar-turmerone,  $\beta$ -turmerone, and terpinolene. Sampel dari India mengandung 1,8-cineole,  $\alpha$ -turmerone,  $\beta$ -caryophyllene,  $\beta$ -elemene, ar-turmerone,  $\beta$ -sesquiphellandrene, camphor,  $\alpha$ -farnesene, and (Z, Z)-farnesol (Dosoky and Setzer, 2018; Avanco et al., 2017). Minyak atsiri rimpang temulawak didominasi oleh monoterpen (80–88%). Hasil hidrodestilasi dari temulawak segar dari India mengandung xanthorrhizol sebanyak 64.4% (Dosoky and Setzer, 2018). Pemanfaatan minyak atsiri dari rimpang kunyit, temulawak dan temu giring oleh masyarakat Indonesia, sebagian besar masih didasarkan pengalaman empiris yang diwariskan secara turun-menurun, sehingga masih disebut sebagai obat tradisional (Sari, 2006). Obat tradisional, apabila penggunaannya masih didasarkan pada pengalaman empiris saja tanpa didukung oleh data ilmiah suatu penelitian maka masih menimbulkan keraguan terhadap kualitasnya. Keterulangan khasiat dari obat

hanya dapat dicapai bila kandungan zat aktifnya diketahui dengan pasti (Moelyono, 2010).

Guna meningkatkan status minyak atsiri rimpang kunyit, temulawak dan temu giring dari obat tradisional menjadi obat herbal terstandar, salah satu aspek yang penting adalah diketahuinya komponen kimia penyusun yang terkandung dalam minyak atsiri tersebut. Selain itu juga penting dilakukan penelitian untuk mengetahui bioaktivitas dari minyak atsiri tersebut. Beberapa bioktivitas minyak atsiri rimpang kunyit, temulawak dan temu giring yang dapat kita teliti diantaranya adalah sebagai antioksidan dan antibakteri. Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron yang dapat menghambat terjadinya reaksi oksidasi, dengan cara mencegah terbentuknya radikal bebas. Antioksidan dapat mencegah penyakit degeneratif seperti diabetes, obesitas, kanker dan tumor. Antibakteri merupakan suatu zat yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen penyebab infeksi. Penyakit infeksi yang diakibatkan oleh bakteri sampai saat ini masih diatasi dengan menggunakan antibiotika. Pemanfaatan antibiotika yang tidak rasional dapat membuat bakteri pathogen menjadi resisten. Oleh sebab itu, diperlukan alternatif untuk mengatasi masalah ini dengan memanfaatkan bahan-bahan aktif antibakteri dari tanaman obat (Dermawati, 2015).

## **B. Perumusan Masalah**

Adapun perumusan masalah adalah sebagai berikut :

1. Apakah dapat dilakukan isolasi dan identifikasi komponen kimia minyak atsiri rimpang kunyit, temulawak dan temu giring yang ditanam di daerah Jumapolo Karanganyar Jawa Tengah ?
2. Bagaimana aktivitas antibakteri minyak atsiri rimpang kunyit, temulawak dan temu giring yang ditanam di daerah Jumapolo Karanganyar Jawa Tengah ?
3. Bagaimana aktivitas antioksidan minyak atsiri rimpang kunyit, temulawak dan temu giring yang ditanam di daerah Jumapolo Karanganyar Jawa Tengah ?

## **C. Tujuan dan Manfaat Penelitian**

Adapun tujuan dan manfaat penelitian ini adalah sebagai berikut :

### **1. Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian ini adalah melakukan isolasi, identifikasi komponen kimia, uji antibakteri dan antioksidan minyak atsiri rimpang kunyit, temulawak dan temu giring yang ditanam di daerah Jumapolo Karanganyar Jawa Tengah.

## **2. Manfaat Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan dalam upaya untuk mengetahui dan membandingkan kandungan kimia, aktivitas antibakteri dan antioksidan minyak atsiri dari 3 spesies yang masih dalam 1 genus yaitu, curcuma. Dari perbandingan yang didapat maka diharapkan pemanfaatannya akan lebih tepat dan terarah.

## **BAB II**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Alat**

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat gelas, botol vial, pincet, pembakar spirtus, mikropipet, *blue tip*, *yellow tip*, jangka sorong digital, cawan petri, neraca analitik, corong pisah, corong kaca, kertas saring, pipet tetes, pengaduk, kaca arloji, seperangkat alat Destilasi Air dan Uap, GC-MS Shimadzu QP2010 SE, dan spektrofotometer UV-Vis.

#### **B. Bahan**

Bahan penelitian meliputi rimpang kunyit, temulawak, temu giring, akuades,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidrat, asam askorbat, etanol 96%, DPPH, MH, NaCl, *Chloram phenicol*, *Stappy vancomycin*, *disk blank*, *E. coli* ATCC, dan *S. Aureus* ATCC.

#### **C. Prosedur Kerja**

##### **1. Penyediaan dan Preparasi Sampel**

Rimpang kunyit, temulawak dan temu giring ditanam di Kecamatan Jumapolo, Karanganyar, Jawa Tengah lalu disortir. Selanjutnya sampel berupa rimpang kunyit, temulawak dan temu giring dicuci, dirajang, disortir dan dijemur dengan sinar matahari tidak langsung (dengan diangin-anginkan) sampai kering. Pengeringan sampel yang terlalu lama dan suhu yang terlalu tinggi dapat menurunkan mutu karena dapat merusak komponen-komponen yang terdapat didalamnya (Hernani & Nurdjanah, 2009).

##### **2. Isolasi Minyak Atsiri dengan Destilasi Air-Uap**

Sebanyak 150 gram rimpang kunyit, temulawak dan temu giring rajang yang kering ditimbang dan dimasukkan ke dalam alat Destilasi Air dan Uap, tepatnya di atas sarangan yang pada bagian bawahnya sudah diberi akuades. Selanjutnya alat destilasi dirangkai dan kompor dinyalakan. Proses destilasi dihentikan pada saat cairan berhenti menetes ke dalam labu destilat. Minyak atsiri yang masih bercampur air dalam labu destilat dipisahkan dengan corong pisah. Lapisan atas yang merupakan minyak atsiri yang masih sedikit tercampur air lalu ditambahkan  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidrat dan disaring

dengan kertas saring. Minyak atsiri yang sudah murni diukur volumenya dan dimasukkan ke dalam botol vial. Minyak atsiri siap diidentifikasi dengan metode GC-MS.

### **3. Identifikasi Komponen Kimia Minyak Atsiri**

Minyak atsiri yang didapat kemudian diuji dengan metode GC-MS. Selanjutnya dilakukan analisis terhadap kromatogram dan spektra hasil identifikasi dengan GC-MS yang kemudian dibandingkan dengan data spektra massa pada Wiley7 Library hingga diperoleh jenis-jenis komponen kimia yang terkandung dalam minyak atsiri.

### **4. Uji Aktivitas Antibakteri**

Uji aktivitas antibakteri dilakukan pada seluruh sampel minyak atsiri dengan variasi konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25% dengan mengencerkan minyak atsiri menggunakan etanol 96%. Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi kertas cakram (Kirby Bauer). Suspensi bakteri *Staphylococcus Aureus* sebanyak 20 µL diuji pada media dalam petri kemudian digoreskan dengan wol kapas steril di atas media uji. Cakram kertas dengan diameter berukuran 6 mm. Kontrol positif berupa *Chloram phenicol* 50 µg, kontrol negatif berupa etanol 96%. Kemudian disk ditempatkan di atas permukaan media sesuai dengan kode sampel yang telah diberi tanda. Selanjutnya media diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam, pengukuran zona hambat dilakukan dengan menggunakan jangka sorong digital yang dinyatakan dalam satuan milimeter. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada permukaan media minyak atsiri. Pada bakteri *Eschericia Coli* dilakukan perlakuan yang sama, namun dengan kontrol positif yang berbeda, yaitu dengan menggunakan *Stapy vancomicycn* sebagai kontrol positif, dan etanol 96% sebagai kontrol negatif.

### **5. Uji Aktivitas Antioksidan**

#### **a. Pembuatan Larutan Uji**

Sampel yang akan diuji aktivitas antioksidannya adalah sampel minyak atsiri rimpang kunyit, temulawak, temu giring. Sebanyak 10 mg masing-masing sampel minyak atsiri dilarutkan dalam 20 ml etanol 96% (larutan induk 500 ppm). Kemudian dibuat pengenceran dengan variasi konsentrasi 100, 50, 25, 12,5, dan 6,25 ppm untuk minyak atsiri.

### **b. Pembuatan larutan DPPH 40 ppm, blanko, dan kontrol**

Larutan DPPH 40 ppm dibuat dengan cara menimbang 2mg padatan DPPH dan mengencerkannya dalam 50 ml etanol 96%. Kemudian larutan blanko terdiri dari 3 ml etanol 96% dan larutan kontrol dibuat dari 2 ml etanol 96% dengan 1 ml larutan DPPH.

### **c. Pengujian antioksidan**

Larutan kontrol yang telah dibuat kemudian dihomogenkan dan didiamkan selama 30 menit dan diukur serapannya dengan cara diambil sebanyak 2 ml etanol 70%, dimasukkan ke dalam kuvet, ditambah 1 ml larutan DPPH dalam etanol 70%, lalu dihomogenkan. Kemudian absorbansi dibaca menggunakan Spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 400-600 nm hingga diperoleh panjang gelombang maksimum

Untuk larutan blanko diambil sebanyak 3 ml etanol 70%, kemudian dimasukkan ke dalam kuvet dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum.

Kemudian larutan sampel sebanyak 2 ml yang telah dibuat pada konsentrasi 100; 50; 25; 12,5 dan 6,25 ppm pada masing-masing variasi dimasukkan ke dalam tabung reaksi tertutup, ditambah dengan larutan DPPH sebanyak 1 mL dan dihomogenkan. Larutan disimpan di dalam ruang gelap selama 30 menit. Selanjutnya larutan dimasukkan ke dalam kuvet dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang maksimumnya sebanyak tiga kali pengulangan.

### **d. Pengukuran IC<sub>50</sub>**

Nilai serapan DPPH terhadap sampel disebut sebagai %inhibisi.

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{A_c - A}{A_c} \times 100\%$$

Keterangan:

Ac = nilai absorbansi kontrol

A = nilai absorbansi sampel

Nilai ini kemudian dimasukkan kedalam persamaan linear ( $y = ax + b$ ) dengan konsentrasi sebagai absis (x) dan nilai inhibisi sebagai ordinatnya (y). Nilai IC<sub>50</sub> dapat diperoleh pada saat nilai % inhibisi mencapai 50%.

### BAB III HASIL DAN PEMBAHASAN

#### A. Hasil Penelitian dan Pembahasan

Minyak atsiri sampel rimpang kunyit, temulawak, dan temu giring diperoleh melalui proses destilasi air dan uap, sehingga didapatkan minyak atsiri yang berwarna secara berturut-turut bening kekuningan, bening kecokelatan, dan kuning. Minyak atsiri yang didapat kemudian ditambahkan  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidrat untuk mengikat air yang mungkin masih terkandung dalam minyak atsiri. Setelah minyak benar-benar bebas dari air maka minyak atsiri siap untuk diidentifikasi menggunakan alat GC-MS.

Setelah dilakukan identifikasi menggunakan alat GC akan didapatkan kromatogram sampel yang dilanjutkan dengan identifikasi dengan alat MS. Dari identifikasi menggunakan alat MS ini akan didapatkan spektramassa sampel yang kemudian dibandingkan dengan analisis pola fragmentasi yang didukung data *Wiley7 Library* sehingga dapat diidentifikasi komponen kimia apa sajakah yang terkandung dalam sampel rimpang kunyit, temulawak, dan temu giring. Adapun hasil destilasi air dan uap dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil destilasi air dan uap

Hasil	Rimpang Kunyit	Warna	Bening kekuningan	Bening Kecokelatan
Berat	1,26 mL dari 150 gram sampel kering	Bau gram sampel kering	Aromatik	Aromatik
		Kadar	0,84 %	1,33 %



Kromatogram dan spektra massa komponen kimia dari masing-masing minyak atsiri hasil identifikasi dengan metode GC-MS dianalisis, kemudian hasil analisis spektramassa dibandingkan dengan data spektra massa yang ada pada *Wiley7 Library* sehingga diperoleh nama-nama komponen kimia yang terkandung dalam minyak atsiri rimpang kunyit, temulawak, dan temu giring . Dari hasil perbandingan spektra massa sampel dengan data pada *Wiley7 Library* dapat diketahui jenis komponen kimia dalam sampel. Kandungan dalam minyak atsiri rimpang kunyit, temulawak, dan temu giring disajikan dalam Tabel 2.

Tabel 2. Komponen kimia minyak atsiri kunyit, temulawak dan temu giring

No	Senyawa	Minyak Atsiri Kulit Jeruk		
		Rimpang Kunyit	Rimpang Temulawak	Rimpang Temu Giring
1	$\alpha$ -Thujen	-	-	0,34
2	$\alpha$ -Pinen	0,48	0,61	1,31
3	Kamfen	-	1,76	0,65
4	$\beta$ -Pinen	-	0,28	3,09
5	1-Limonen	-	0,44	0,79
6	1,8-Sineol	3,32	1,33	7,34
7	Nonanol	-	-	4,50
8	Sinamil Tiglat	-	-	1,11
9	Asam-siklopropaneca-karbosiklik	-	-	3,38
10	Megastigma-3,7(E), 9-	-	-	1,39

	triene			
11	Kamfor	-	8,27	5,98
12	6,6-Dimetilbisiklo(3,1,1)- 2-heptena-2-etilol	-	-	7,25
13	$\beta$ -Tumerona	-	-	2,86
14	Isobornil Alkohol	-	-	6,86
15	Mesitilen	-	-	5,37
16	Borneol L	-	0,57	5,24
17	Ar-tumerona	-	-	12,08*
18	$\alpha$ -Terpineol	-	-	0,57
19	2-Undekanon	-	-	2,20
20	2-Undekanol	-	-	7,98
21	$\alpha$ -Tumerona	-	-	9,06
22	(-)- $\beta$ -Elemen	-	-	1,53
23	Trans- $\beta$ -kariofilen	-	0,94	1,23
24	Kalaren	-	-	0,37
25	$\alpha$ -Humulen	-	-	0,43
26	1H-indene, 2,2,3a,4,7,7a- heksahidro-2,2,4,4,7,7- heksametil	-	-	0,73
27	$\beta$ -Selinen	1,22	-	0,58
28	$\alpha$ -Selinen	-	-	1,08
29	Isolongifolol	-	-	0,53
30	Germakren D	-	1,53	0,42
31	$\Delta$ -kaldinen	-	-	0,57
32	Veridiflorol	-	-	2,05
33	$\gamma$ -Gurjunen	-	-	0,73
34	(-)-Kariofilen Oksida	1,46	-	0,38
35	$\beta$ -Mirsen	0,29	0,36	-
36	Linalool L	-	0,46	-
37	Isoborneol	-	1,16	-
38	$\beta$ -Elemen	-	0,92	-

39	Zingiberen	3,79	1,38	-
40	$\beta$ -Farnesen	-	2,51	-
41	$\alpha$ -Kurkumin	3,22	28,39	-
42	$\alpha$ -Longipinen	-	0,62	-
43	Kurzeren	-	3,57	-
44	$\alpha$ -Cedren	-	29,53*	-
45	$\alpha$ -Cedrol	0,69	0,47	-
46	Diepi- $\alpha$ -Cedren	-	2,03	-
47	Germakren B	-	4,99	-
48	$\beta$ -Himakalen	-	0,51	-
49	Leden	-	0,42	-
50	Boldenon	-	6,96	-
51	Felandren	10,94	-	-
52	$\Delta$ -3-karen	0,22	-	-
53	$\alpha$ -terpinen	0,27	-	-
54	P-simin	1,15	-	-
55	Bornilen	0,78	-	-
56	$\gamma$ -terpinen	0,43	-	-
57	$\alpha$ -terpinolen	3,00	-	-
58	Terpinen-4-ol	0,21	-	-
59	Germakron	19,14	-	-
60	(-)- $\Delta$ -kuparenol	24,92*	-	-
61	(6E,8E,10E)-2,6,11,15-Tetrametil-2,6,8,10,14-heksadekapentaena	1,25	-	-
62	$\alpha$ –Himakalen	2,05	-	-
63	$\beta$ -seskuifelandren	5,67	-	-
64	2,5,9-Trimetil-sikloundeka-4,8-dienone	0,61	-	-
65	2,3-Dibromo-8-fenil-p-metana	4,09	-	-
66	Disiklohexilmalononitril	0,34	-	-
67	Benzena,1-1'-(1,1,3,3-tetrametil-(1,3-propanadiyl) bis-	10,47	-	-

---

Keterangan : \* Komponen terbesar

Terdapat 25 komponen kimia yang terkandung dalam minyak atsiri rimpang kunyit yaitu:  $\alpha$ -pinen;  $\beta$ -mirsen;  $\alpha$ -felandren; delta-3-karen;  $\alpha$ -terpinen; para-simin; bornilen; 1,8-sineol;  $\gamma$ -terpinen;  $\alpha$ -terpinolen; terpinen-4-ol; germakron; (-)- $\Delta$ -kuparenol; (6E,8E,10E)-2,6,11,15-tetrametil-2,6,8,10,14 heksadepakentaena;  $\beta$ -selinen;  $\alpha$ -kurkumin; zingiberen;  $\alpha$ -himakalen;  $\beta$ -seskuifelandren; (-)-kariofilen oksida; 2,5,9-trimetil-sikloundeka-4,8-dienone; 2,3-dibromo-8-fenil-p-metana;  $\alpha$ -cedrol ; disikloheksil (CAS)disiklohexilmalononitril dan benzena, 1-1'-(1,1,3,3-tetrametil-1,3-propanadiyl)bis- (CAS).

Terdapat 25 komponen kimia yang terkandung pada minyak atsiri rimpang temulawak yaitu:  $\alpha$ -pinen; kamfen;  $\beta$ -pinen;  $\beta$ -mirsen; 1-limonen; 1,8-sineol; kamfor; linalool L; isoborneol; borneol L;  $\beta$ -elemen; zingiberen; trans- $\beta$ -kariofilen;  $\beta$ -farnesen;  $\alpha$ -kurkumin; germakren D;  $\alpha$ -longipinen; kurzeren;  $\alpha$ -cedrana;  $\alpha$ -cedrol; diepi- $\alpha$ -cedrana; germakren B;  $\beta$ -himakalen; leden dan boldenon. Terdapat 34 komponen kimia yang terkandung pada minyak atsiri rimpang temu giring yaitu:  $\alpha$ -thujen;  $\alpha$ -pinen; kamfen;  $\beta$ -pinen; 1-limonen; 1,8-sineol; nonanol; sinamil tiglat; asam-siklopropaneca-karbosiklik; megastigma-3,7(E), 9-triene; kamfor; 6,6-dimetilbisiklo(3,1,1)-2-heptena-2-etilol;  $\beta$ -tumerona; isobornil alkohol; mestilen; borneol L; ar-tumerona;  $\alpha$ -terpineol; 2-undekanon; 2-undekanol;  $\alpha$ -tumerona; (-)- $\beta$ -elemen; trans- $\beta$ -kariofilen; kalaren;  $\alpha$ -humulen; 1H-indene, 2,2,3a,4,7,7a-heksahidro-2,2,4,4,7,7-heksametil;  $\beta$ -selinen;  $\alpha$ -selinen; isolongifolol; germakren D;  $\Delta$ -kaldinen; veridiflorol;  $\gamma$ -gurjunen dan (-)-kariofilen oksida.

Komponen kimia terbesar yang terkandung pada minyak atsiri rimpang kunyit, temulawak dan temu giring, berturut-turut adalah (-)- $\Delta$ -kuparenol,  $\alpha$ -cedrena dan ar-tumerona dengan besar kadar berturut-turut adalah 24,92%; 29,53% dan 12,08%. Teridentifikasi 2 komponen kimia yang sama yang terkandung dalam minyak atsiri rimpang kunyit, temulawak dan temu giring, berturut-turut beserta kadarnya adalah sebagai berikut: 1,8-sineol (3,32%; 1,33%; 7,34%) dan  $\alpha$ -pinen (0,48%; 0,61%; 1,31%).

Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 sebagai bakteri gram positif dan *Escherichia coli* ATCC 25922 sebagai bakteri gram negatif digunakan pada uji antibakteri yang dilakukan pada seluruh sampel minyak atsiri rimpang empon-empon. Uji aktivitas antibakteri menggunakan difusi kertas cakram (*Kirby Bauer*). Suspensi bakteri *S. aureus* ATCC 25923 sebanyak 20 µL diuji pada media dalam petri. Cakram kertas dengan diameter berukuran 6 mm. Kontrol positif berupa *Chloram phenicol* 50 µg, kontrol negatif berupa etanol 96%. Kemudian disk ditempatkan di atas permukaan media sesuai dengan kode sampel yang telah diberi tanda. Selanjutnya media diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam, pengukuran zona hambat dilakukan dengan menggunakan jangka sorong yang dinyatakan dalam satuan milimeter. Pada bakteri *E. coli* ATCC 25922 diberikan perlakuan yang sama, namun dengan kontrol positif yang berbeda, yaitu dengan menggunakan *Stapy vancomicycn* sebagai kontrol positif, dan etanol 96% sebagai kontrol negatif. Hasil dari uji antibakteri minyak atsiri rimpang empon-empon dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Nilai daya hambat minyak atsiri rimpang empon-empon pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 sebagai bakteri gram positif dan *Escherichia coli* ATCC 25922 sebagai bakteri gram negatif

No	Minyak Atsiri	Mikroba	Zona Inhibisi (mm)						Kontrol -	Kontrol +
			6,25%	12,5%	25%	50%	100%			
1.	Rimpang	<i>S. aureus</i>	00,00 ±	00,00 ±	07,83 ±	07,92 ±	10,16 ±	00,00 ±	21,58 ±	
	Kunyit	ATCC 25923	00,00	00,00	00,01	00,02	00,02	00,00	00,03	
		<i>E. coli</i> ATCC 25922	00,00 ±	00,00 ±	00,00 ±	00,00 ±	00,00 ±	00,00 ±	24,67 ±	
2.	Rimpang	<i>S. aureus</i>	07,30 ±	07,09 ±	06,33 ±	06,89 ±	07,98 ±	00,00 ±	20,16 ±	
	Temulawak	ATCC 25923	00,01	00,02	00,02	00,02	00,01	00,00	00,02	
		<i>E. coli</i> ATCC 25922	00,00 ±	00,00 ±	00,00 ±	00,00 ±	00,00 ±	00,00 ±	25,51 ±	
3.	Rimpang	<i>S. aureus</i>	06,93 ±	07,17 ±	07,59 ±	09,22 ±	11,59 ±	00,00 ±	19,96 ±	
	Temu Giring	ATCC 25923	00,01	00,01	00,02	00,02	00,01	00,00	00,01	
		<i>E. coli</i> ATCC 25922	00,00 ±	00,00 ±	00,00 ±	00,00 ±	06,74 ±	00,00 ±	25,31 ±	
			00,00	00,00	00,00	00,00	00,01	00,00	00,01	

Adanya aktivitas antibakteri dapat dilihat dari terbentuknya zona hambat, yang merupakan zona bening yang terbentuk disekitar *paper disk*. Diameter zona hambat ini diukur menggunakan jangka sorong, kemudian dianalisis untuk mengetahui respon hambatan pertumbuhan bakteri. Cockreil (2012) menjelaskan bahwa kriteria kekuatan daya antibakteri ditentukan berdasarkan diameter zona hambat yang terbentuk, yaitu kategori lemah (diameter  $\leq 14$ mm), kategori sedang (diameter 15-19mm) dan kategori kuat (diameter  $\geq 20$ mm).

Sampel yang diujikan untuk mengetahui aktivitas antibakterinya adalah tiga jenis minyak atsiri rimpang empon-empon, yang terdiri dari kunyit, temu lawak, dan temu giring dengan variasi konsentrasi 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, dan 100% untuk bakteri uji *S. aureus* ATCC 25923 dan *E. coli* ATCC 25922. Pada Tabel 3 terlihat seluruh minyak atsiri memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* ATCC 25923. Minyak atsiri kunyit menunjukkan aktivitas antibakteri kategori lemah ( $\leq 14$  mm) pada konsentrasi 25%, 50%, dan 100%. Sedangkan pada konsentrasi 6,25% dan 12,5% tidak ada zona hambat yang terukur, menandakan tidak adanya aktivitas antibakteri. Adapun pada minyak atsiri temu lawak dan temu giring seluruh zona hambat pada seluruh konsentrasi menunjukkan aktivitas antibakteri kategori lemah ( $\leq 14$ mm).

Berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* ATCC 25923, rata-rata kekuatan aktivitas antibakteri semakin tinggi seiring bertambahnya konsentrasi. Dimana konsentrasi dari suatu senyawa antibakteri adalah salah satu faktor penentu besar-kecilnya kemampuan senyawa tersebut dalam menghambat pertumbuhan bakteri yang diuji. Namun, pada konsentrasi tertentu, diameter zona hambat tidak selalu meningkat mengikuti kenaikan konsentrasi. Kemungkinan hal ini terjadi karena perbedaan kecepatan difusi senyawa antibakteri pada media agar (Suryadi, et al., 2018).

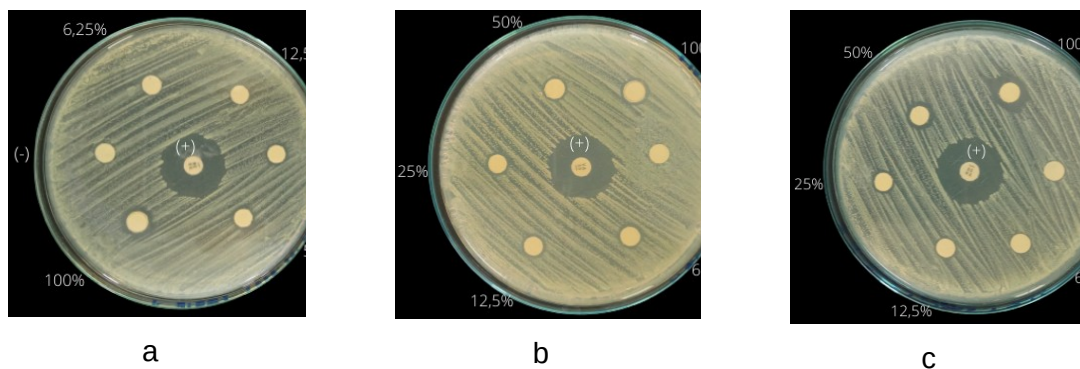
Hasil uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli* ATCC 25922 pada Tabel 3, terlihat hanya ada satu minyak atsiri yang menunjukkan adanya aktivitas antibakteri, yaitu minyak atsiri temu giring pada konsentrasi 100% dengan zona hambat yang dihasilkan adalah 6,74 mm, termasuk kategori lemah ( $\leq 14$ mm). Adapun minyak atsiri

rimpang empon-empon lainnya menunjukkan tidak ada zona hambat yang terbentuk, menandakan tidak adanya aktivitas antibakteri.

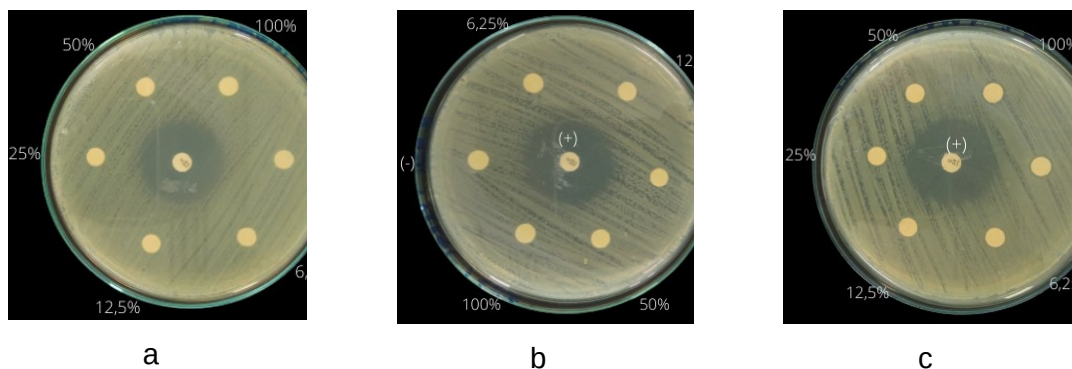
Sifat daya hambat masing-masing minyak atsiri empon-empon menunjukkan hasil yang berbeda terhadap kedua bakteri uji. Hal tersebut disebabkan adanya perbedaan kepekaan dari tiap-tiap bakteri terhadap zat antimikroba karena mempunyai struktur dan komposisi sel yang berbeda (Priya V., 2010).

*S. aureus* adalah bakteri gram positif yang mempunyai peptidoglikan pada dinding sel lebih tebal sehingga membentuk struktur yang kaku (Pelczar MJ dan ECS Chan, 2006). *S. aureus* memiliki struktur dinding sel yang relatif lebih sederhana sehingga memudahkan senyawa antibakteri untuk masuk ke dalam sel dan menemukan sasaran untuk bekerja (Muharni, et al., 2017).

Adapun *E. coli* merupakan bakteri gram negatif, dimana kelompok bakteri gram negatif memiliki sifat yang kurang rentan terhadap beberapa antibiotik. Hal ini disebabkan struktur dinding sel yang relatif lebih kompleks dan berlapis tiga, dengan lapisan luar berupa lipoprotein, lapisan tengah berupa lipopolisakarida, dan peptidoglikan sebagai lapisan dalam (Jawetz E, et al., 2008).



Gambar 1. Hasil uji antibakteri minyak atsiri terhadap bakteri *S.aureus* ATCC 25923 (a) Kunyit (b) Temulawak (c) Temu giring



Gambar 2. Hasil uji antibakteri minyak atsiri terhadap bakteri *E. coli* ATCC 25922  
 (a) Kunyit (b) Temulawak (c) Temu giring

Uji aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Uji aktivitas antioksidan secara kuantitatif menggunakan metode DPPH dipilih karena ujinya sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel. DPPH adalah salah satu radikal bebas yang secara komersial tersedia dalam bentuk radikal nitrogen dan mempunyai penghambatan maksimum pada panjang gelombang 515 nm. Penangkapan hidrogen dari antioksidan oleh radikal bebas, akan menyebabkan terjadinya perubahan warna dari ungu 1,1-difenil-2-pikrilhidrazin menjadi berwarna kuning (1,1-difenil-2-pikrilhidrazyl) yang kemudian dibandingkan dengan absorbansi kontrol (Cholisoh & Utami, 2008). Adanya atom hidrogen yang mengandung proton elektron yang mampu melepaskan elektron atau atom hidrogen pada radikal DPPH sehingga terbentuk senyawa radikal difenil pikrilhidrazin. Hal ini dibuktikan dengan berkurangnya absorbansi dari larutan DPPH dan diikuti perubahan warna dari ungu menjadi kuning (Molyneux P, 2004) Data aktivitas antioksidan minyak atsiri rimpang empon-empon dapat dilihat pada Tabel 4.



Tabel 4. Hasil uji aktivitas antioksidan pada minyak atsiri rimpang kunyit, temulawak dan temu giring

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Rata-Rata Aktivitas Antioksidan (%)	Standar Deviasi	Persamaan dan Nilai IC <sub>50</sub>	Kategori Antioksidan
Asam Askorbat	100	96,65	0,001	y = 0,744x + 32,069 R <sup>2</sup> = 0,713 IC <sub>50</sub> = 6,098 ppm	Sangat Kuat
	50	78,65	0,001		
	25	63,35	0,001		
	12,5	52,13	0,001		
	6,25	45,72	0,001		
Minyak Atsiri Rimpang Kunyit	100	54,131	0,265	y = 0,1597x + 39,565 R <sup>2</sup> = 0,8235 IC <sub>50</sub> = 66,082 ppm	Kuat
	50	48,354	0,173		
	25	47,660	0,173		
	12,5	41,421	0,173		
	6,25	36,742	0,173		
Minyak Atsiri Rimpang Temulawak	100	54,419	0,173	y = 0,253x + 29,123 R <sup>2</sup> = 0,9998 IC <sub>50</sub> = 82,764 ppm	Kuat
	50	41,594	0,173		
	25	35,529	0,173		
	12,5	32,062	0,347		
	6,25	31,023	0,173		
Minyak Atsiri Rimpang Temu Giring	100	67,938	0,173	y = 0,3627x + 31,665 R <sup>2</sup> = 0,9915 IC <sub>50</sub> = 50,232 ppm	Kuat
	50	49,971	0,265		
	25	40,150	0,265		
	12,5	38,475	0,347		
	6,25	32,756	0,173		

Nilai IC<sub>50</sub> dari minyak atsiri rimpang kunyit, rimpang temulawak, dan rimpang temu giring secara berturut-turut adalah 66,082 ppm; 82,764 ppm; dan 50,232 ppm. Nilai IC<sub>50</sub> tersebut menunjukkan aktivitas antioksidan pada tiap-tiap sampel. Semakin kecil nilai IC<sub>50</sub> berarti semakin tinggi aktivitas antioksidan. Secara lebih spesifik suatu senyawa dikategorikan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC<sub>50</sub> kurang dari 50 ppm, kategori kuat untuk IC<sub>50</sub> bernilai 50-100 ppm, kategori sedang jika bernilai 100-150 ppm, dan kategori lemah jika nilai IC<sub>50</sub> sebesar 150-200 ppm (Molyneux, 2004). Harga IC<sub>50</sub> berbagai sampel minyak atsiri rimpang empon-empon yang diperoleh tersebut disajikan dalam Gambar 3.



Gambar 3. Perbandingan Nilai IC<sub>50</sub> Ketiga Sampel Minyak Atsiri dan Asam Askorbat

Berdasarkan teori, jika nilai IC<sub>50</sub> semakin kecil, berarti aktivitas antioksidannya semakin tinggi, begitu juga sebaliknya jika nilai IC<sub>50</sub> semakin besar, berarti aktivitas antioksidannya semakin rendah. Data menunjukkan bahwa nilai IC<sub>50</sub> terkecil dimiliki oleh sampel minyak atsiri rimpang temu giring dengan nilai IC<sub>50</sub> 50,232 ppm. Hal itu menunjukkan minyak atsiri rimpang temu giring mempunyai aktivitas antioksidan tertinggi.

Minyak atsiri rimpang temu giring mempunyai nilai antioksidan yang lebih tinggi dibanding dua sampel lainnya. Nilai IC<sub>50</sub> asam askorbat adalah 6,098 ppm sedangkan nilai IC<sub>50</sub> minyak atsiri rimpang temu giring adalah 50,232 ppm. Minyak atsiri rimpang temu giring berpotensi menjadi sumber antioksidan alami dan tergolong dalam aktivitas antioksidan kuat, sedangkan asam askorbat tergolong sebagai antioksidan yang sangat kuat.

## B. Status Luaran yang Telah Dicapai

Adapun status luaran yang telah dicapai adalah sebagai berikut :

### 1. Luaran Penelitian Wajib

Luaran penelitian wajib sudah di submit di Jurnal Biodiversitas dan sekarang masih dalam proses pre review. Data-data dari Biodiversitas Journal Biological Journal of Diversity adalah :

Alamat link: Online [biodiversitas.mipa.uns.ac.id](http://biodiversitas.mipa.uns.ac.id), [smujo.id/biodiv](http://smujo.id/biodiv)

ISSN: 1412-033X, E-ISSN: 2085-4722

The journal has been indexed/registered in SCOPUS, DOAJ, Google Scholar, Crossref, EBSCO, Microsoft Academic Search, etc.

Berdasarkan SJR termasuk katagori Q3 dengan nilai 0,257.

Publisher: Society for Indonesian Biodiversity

Co-publisher: Department of Biology, FMNS, Universitas Sebelas Maret Surakarta

## **2. Luaran Tambahan**

Menghasilkan 3 buah produk/prototype/purwarupa yaitu minyak atsiri rimpang temu giring, minyak atsiri rimpang kunyit dan minyak atsiri rimpang temu lawak.

## BAB IV KESIMPULAN DAN SARAN

### A. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah disajikan sebelumnya, maka dapat disusun kesimpulan sebagai berikut:

1. Minyak atsiri atsiri rimpang kunyit, temulawak, dan temu giring berturut-turut mengandung sejumlah 25, 25, dan 34 komponen kimia serta telah teridentifikasi semua.
2. Komponen kimia terbesar yang terkandung pada minyak atsiri rimpang kunyit, temulawak dan temu giring, berturut-turut adalah (-)- $\Delta$ -kuparenol,  $\alpha$ -cedrena dan ar-tumerona dengan besar kadar berturut-turut adalah 24,92%; 29,53% dan 12,08%.
3. Teridentifikasi 2 komponen kimia yang sama yang terkandung dalam minyak atsiri rimpang kunyit, temulawak dan temu giring, berturut-turut beserta kadarnya adalah sebagai berikut: 1,8-sineol (3,32%; 1,33%; 7,34%) dan  $\alpha$ -pinen (0,48%; 0,61%; 1,31%).
4. Pada konsentrasi 100% daya antibakteri minyak atsiri rimpang kunyit, temulawak, dan temu giring terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dari yang paling tinggi hingga paling rendah berturut-turut adalah minyak atsiri rimpang temu giring (11,59mm), kunyit (10,16mm) dan temulawak (7,98mm).
5. Pada konsentrasi 100%, daya antibakteri minyak atsiri rimpang kunyit, temulawak, dan temu giring terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922 dari yang paling tinggi hingga paling rendah berturut-turut adalah minyak atsiri temu giring (6,74mm), kunyit (0mm), dan temulawak (0mm).
6. Aktivitas antioksidan ( $IC_{50}$ ) minyak atsiri rimpang kunyit, temulawak dan temu giring dari yang paling tinggi hingga paling rendah berturut-turut adalah minyak atsiri rimpang temu giring (50,232ppm), kunyit (66,082ppm) dan temulawak (82,764ppm).

## B. SARAN

Adapun saran dari penelitian ini adalah :

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk minyak atsiri temu giring, karena dari hasil penelitian menunjukkan bahwa minyak atsiri temu giring mempunyai sifat sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 25922 serta bersifat antioksidan.
2. Perlu dilakukan penelitian untuk menguji aktivitas antibakteri yang lain terhadap minyak atsiri kunyit, temulawak dan temugiring.
3. Perlu dikembangkan produk-produk baru seperti misalnya, hand sanitizer, sabun mandi, sabun cuci tangan berbasis minyak atsiri kunyit, temulawak dan temugiring.

## DAFTAR PUSTAKA

- Avanço, G.B., *et al.*, (2017). *Curcuma longa* L. Essential Oil Composition, Antioxidant Effect, and Effect on *Fusarium Verticillioides* and Fumonisin Production. *Food Control*. 73. 806–813.
- Dermawati, D.E. (2015). Potential Extract *Curcuma* (*Curcuma xanthorrhizal*, Roxb) as Antibacterial. *J. Majority*. 4(1). 5-11.
- Salim, Z., & Munadi, E. (2017). *Info Komoditi Tanaman Obat*. Jakarta: Badan Pengkajian dan Pengembangan Perdagangan Kementerian Perdagangan Republik Indonesia.
- Kementerian Pertanian. (2019). *Statistik Pertanian (Agricultural Statistics) 2019*. ISBN : 979-8958-65-9. Jakarta.
- Sirirugsa, P., Larsen, K., & Maknoi, C. (2007). The Genus *Curcuma* L. (Zingiberaceae): Distribution and Species Diversity of *Curcuma* in Thailand Gardens. *Bulletin Singapore*. 59(2). 203–220.
- Harvey, A. (2000). Strategies for Discovering Drugs From Previously Unexplored Natural Products. *Drug Discovery Today*. 5 (7), 294-300.
- Sari, L.O.R.K. (2006). Pemanfaatan Obat Tradisional Dengan Pertimbangan Manfaat dan Keamanan. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 3(1). 1-7.

- Mann, R.S., & Kaufman, P.E. (2012), Natural Product Peptocides : Their Development, Delivery and Use Against Insect Vectors, *Mini Rev. Org. Chem.* 9. 185-202.
- Moelyono. (2010). *Temulawak, Icon Of Indonesian Herbal Medicine*. Diperoleh 27 Agustus 2020. dari <https://farmasi.unpad.ac.id/temulawak-ikon-obat-herbal-indonesia>.
- Muniroh, L., Martini, S., & Nindya, T. S. (2011). *Curcuma Domestica Volatile Oil ( Curcuma domestica , Val ) as Anti Inflammation Agent on Gout Arthritis Patient with High Purin Diet*. *Makara Kesehatan*. 14(2). 57-64.
- Nuraeni, C., & Yunilawati, R. (2012) Identifikasi Komponen Kimia Minyak Atsiri Temu Giring (*Curcuma heyneana* Val. & V. Zijp) dan Temu Kunci (*Kaempheria pandurata* Roxb.) Hasil Distilasi Uap-Air. *Jurnal Kimia dan Kemasan*. 34 (1). 187-191.
- Safwan, S., Yuliani, S., & Pramono, S. (2014). Uji Aktivitas Minyak Atsiri Rimpang Kunyit (*Curcuma Longa* Linn) Pada Tikus Sprague Dawley Model Demensia (Kajian Penghambat Aktivitas Asetilkolinesterase). *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi*. 2(2). 20–26.
- Retno Hestningsih dan Bayu Widjasena. (2004). *Efek Cinnamyl Tiglate Minyak Atsiri Kunyit (Curcuma Longa L) Terhadap Gambaran Leukosit Tikus Putih Yang dibuat Radang Secara Eksperimental*. Yogyakarta: UGM.
- Sinambela, E. S. (2012). *Isolasi dan Analisis Kimia Minyak Atsiri dari Temulawak (Curcuma xanthorrhiza Roxb) dengan Gas Kromatografi Spektrometer Massa (GC-MS) dan Uji Aktivitas Anti Bakteri*. Tesis. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Meilaningrum, D. N., Tjiptasurasa, & Rahayu, W. S. (2009). Minyak Atsiri, Perbandingan Kadarnya pada Rimpang Temulawak (*Curcuma Xanthorrhiza* Roxb.) yang Dikeringkan dengan Metode Sinar Matahari dan Oven beserta Profil Kromatografi Gas Spektrometri Massa (KGSM). *Pharmacy*. 06(03). 115–125. ISSN 1693-3591.
- Alulyant, A. S., Hiles, H., & Heden, P. (1996). Analisis GC-MS Minyak Atsiri Rimpang *Curcuma Heyneana*. *Majalah Farmasi Indonesia*. 7.
- Siahaan, F N. (2014). *Isolasi dan Analisis Komponen Minyak Atsiri dari Rimpang Temu Giring (Curcuma Heyneana Valetton & Zijp) Segar dan Kering secara GC-MS*. Skripsi. Medan: Universitas Sumatera Utara.





# LAMPIRAN

## **Lampiran 1. Artikel Ilmiah yang sudah di submit**

1 **COVERING LETTER**

2  
3 Dear **Editor-in-Chief**,

4  
5 I herewith enclosed a research article,

6  
7 **Title:**

Chemical Composition and Antibacterial and Antioxidant Activities of Essential Oils from the Rhizomes of *Curcuma longa* L, *Curcuma xanthorrhiza* Roxb, and *Curcuma heyneana* Val Growing in Jumapolo, Karanganyar, Central Java, Indonesia

8  
9 **Author(s) name:**

Sri Retno Dwi Ariani  
Sri Mulyani  
Endang Susilowati  
Elfi Susanti VH  
Septian Dwi Budi Prakoso  
Febi Nur Aini Wijaya  
Muhammad Hizbul Wathon

10  
11 **Address**

12 (Fill in your institution's name and address, your personal cellular phone and email)

Department of Chemistry Education, Faculty of Teacher Training and Education,  
Sebelas Maret University, 57126, (Surakarta) Indonesia  
+6282137723769  
sriretno71@staff.uns.ac.id

13  
14 **For possibility publication on the journal:**

15 (fill in *Biodiversitas* or *Nusantara Bioscience* or mention the others)

Biodiversitas

16  
17 **Novelty:**

18 (state your claimed novelty of the findings versus current knowledge)

Chemical Composition and Antibacterial and Antioxidant Activities of Essential Oils from the Rhizomes of *Curcuma longa* L, *Curcuma xanthorrhiza* Roxb, and *Curcuma heyneana* Val Growing in Jumapolo, Central Java, Karanganyar, Indonesia have not been reported in literature. There are several studies related to the essential oils from those rhizomes; however, they were planted in other regions.

19  
20 **Statements:**

This manuscript has not been published and is not under consideration for publication to any other journal or any other type of publication (including web hosting) either by me or any of my co-authors.  
Author(s) has been read and agree to the Ethical Guidelines.

21  
22 **List of five potential reviewers**

23 (Fill in names of five potential reviewers **that agree to review your manuscript** and their **email** addresses. He/she should  
24 have Scopus ID and come from different institution with the authors; and from at least three different countries)

Mousa Khani , email: [khani@imp.ac.ir](mailto:khani@imp.ac.ir)  
Laid Ziane, email: [ziane.laid@univ-bechar.dz](mailto:ziane.laid@univ-bechar.dz)  
Harlinda Kuspradini, email: [alinkuspra@gmail.com](mailto:alinkuspra@gmail.com)  
Purnomo, email: [pakkencur@yahoo.com](mailto:pakkencur@yahoo.com)  
Waras Nurcholis, email [wnurcholis@apps.ipb.ac.id](mailto:wnurcholis@apps.ipb.ac.id)

25  
26 **Place and date:**

Surakarta, 16 November 2021

1

2 **Sincerely yours,**

3 (fill in your name, no need scanned autograph)

Sri Retno Dwi Ariani

4

# 1 Chemical Composition and Antibacterial and Antioxidant Activities of 2 Essential Oils from the Rhizomes of *Curcuma longa* L, *Curcuma* 3 *xanthorrhiza* Roxb, and *Curcuma heyneana* Val Growing in Jumapolo, 4 Karanganyar, Central Java, Indonesia

5 SRI RETNO DWI ARIANI<sup>1,\*</sup>, SRI MULYANI<sup>1</sup>, ENDANG SUSILOWATI<sup>1</sup>, ELFI SUSANTI VH<sup>1</sup>, SEPTIAN DWI  
6 BUDI PRAKOSO<sup>1</sup>, FEBI NUR AINI WIJAYA<sup>1</sup>, MUHAMMAD HIZBUL WATHON<sup>1</sup>

7 <sup>1</sup>Department of Chemistry Education, Faculty of Teacher Training and Education,  
8 Sebelas Maret University, 57126, (Surakarta) Indonesia, Mobile No.: +6282137723769, \*E-mail: sriretno71@staff.uns.ac.id.

9 Manuscript received: DD MM 2016 (Date of abstract/manuscript submission). Revision accepted: ..... 2021.

10 **Abstract.** The purpose of this study was to determine the chemical components and antibacterial and antioxidant activities of essential  
11 oils from the rhizomes of *Curcuma longa* L (turmeric), *Curcuma xanthorrhiza* Roxb (Javanese ginger), and *Curcuma heyneana* (temu  
12 giring) growing in Jumapolo, Karanganyar, Central Java, Indonesia. Essential oils from rhizomes of turmeric and Javanese ginger  
13 contained 25 components, while the essential oils from the temu giring's rhizome contained 34 components. All components were  
14 identified using GC-MS. (-)- $\Delta$ -kuparenon (24.92%), -cedrane (29.53%), and ar-turmerone (12.08 %) were found to be the largest  
15 chemical components of essential oils from the rhizome of turmeric, Javanese ginger, and temu giring, respectively. All *Curcuma*  
16 species contained 1,8-cineol with a concentration of 3.32, 1.33, 7.34% and -pinene with a concentration of 0.48; 0.61; 1.31% for the  
17 essential oils from the rhizome of turmeric, Javanese ginger, and temu giring, respectively. At a concentration of 100%, the inhibition  
18 zones of essential oils from the rhizome of turmeric, Javanese ginger and temu giring against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 were  
19 10.16, 7.98, and 11.59 mm. Furthermore, only the essential oil from the rhizome of temu giring at a concentration of 100% showed  
20 antibacterial activity against *Escherichia coli* ATCC 25922 with the inhibition zone of 6.74 mm. The antioxidant activities (IC<sub>50</sub>) of the  
21 essential oils from the rhizomes of turmeric, Javanese ginger, and temu giring were 66.08, 82.76, and 50.23 ppm, respectively.

22 **Key words:** Essential oil, antibacterial, antioxidant, turmeric, Javanese ginger, temu giring

23 **Running title:** Essential oils showed antibacterial and antioxidant activities

## 24 INTRODUCTION

25 Approximately 80% of the world's medicinal plants originate from Indonesia, leading to the second-largest producer of  
26 medicinal plants in the world after Brazil, which has the Amazon rain forest. Additionally, Indonesian people have utilized  
27 around 6,000 plant species as herbal medicines (Elfahmi, Woerdenbag, & Kayser, 2014). In Java Island, local people refer  
28 to herbal medicinal plants as "Empon-empon", or also known as herbs and spices in the local language. These Empon-  
29 empon usually consist of some rhizome of plants, which local people utilize to make "Jamu" or healthy drinks to maintain  
30 their health and treat diseases as these substances contain compounds with high biological activities (Avanço et al., 2017;  
31 Sumarni, Sudarmin, & Sumarti, 2019).

32 One of the families of rhizome plants commonly used as medicinal plants is *Zingiberaceae*. *Curcuma* is a genus of the  
33 *Zingiberaceae* family, consisting of about 70-80 species and mainly distributed throughout South East Asia, South Asia,  
34 and China (Dosoky & Setzer, 2018; Ewon & Bhagya, 2019; Subositi & Wahyono, 2019; Xia et al., 2005). The Ministry of  
35 Agriculture, Republic Indonesia reported that the production of rhizomes in Indonesia in 2018 was 564,172,471 kg, with  
36 an average increase of 15.5% compared to 2017 (BPS, 2019). The rhizomes of turmeric (*Curcuma longa* L), Javanese  
37 ginger (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) and temu giring (*Curcuma heyneana* Val) are some of the most utilized rhizomes  
38 from the genus *Curcuma* in Indonesia and have been reported to contain essential oils (Aspollah Sukari et al., 2010; BPS,  
39 2019; Funk, Frye, Oyarzo, Zhang, & Timmermann, 2010; Yasni et al., 1994).

40 Essential oils are volatile hydrophobic compounds extracted from plants through distillation, usually using steam  
41 (Masango, 2005). These compounds give a distinct smell depending on the plant materials from which they were  
42 extracted. Plants use these secondary metabolites to protect themselves from predators, attract pollinators, or seed dispersal  
43 (Wink, 2018). Because of the pleasant aroma of essential oils, these compounds have been used in various industries such  
44 as perfume, cosmetics, aromatherapy, household, food and beverage industries (Sarkic & Stappen, 2018; Sharmeen,  
45 Mahomoodally, Zengin, & Maggi, 2021). Furthermore, many researchers in literature have reported health benefits from  
46 essential oils from rhizomes, including antibacterial (Priyatmoko, Syafira, & Lestari, 2018), antioxidant (Avanço et al.,

1 2017), antitumor (Lakshmi, Padmaja, & Remani, 2011), anticancer (Chen et al., 2013), anti-inflammatory (Akinyemi &  
2 Adeniyi, 2018; Toden, Theiss, Wang, & Goel, 2017), which suggests another potential application of essential oils is in  
3 pharmaceutical or drug industries.

4 To the best of our knowledge, there has not been any research on the essential oils from turmeric, Javanese ginger or  
5 temu giring that grow in the Jumapolo district. There are several studies related to the essential oils from those rhizomes;  
6 however, they were planted in other regions (Dosoky & Setzer, 2018; Guimarães, Vinhas, Gomes, Souza, & Krepsky,  
7 2020; Jarikasem, Thubthimthed, Chawanoraseth, Suntornantasat, & Brophy, 2005; Sirat & Meng, 2009). Essential oils  
8 in the *Zingiberaceae* family vary greatly in yield and chemical composition, depending on the species, variety,  
9 geographical area and planting location (Angioni, Barra, Coroneo, Dessi, & Cabras, 2006; Masotti, Juteau, Bessière, &  
10 Viano, 2003). One of the centers for developing medicinal plants is in Jumapolo District, Karanganyar, Central Java,  
11 Indonesia. The developed medicinal plants in Jumapolo District include turmeric (*Curcuma longa* L), Javanese ginger  
12 (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb) and temu giring (*Curcuma heyneana* Val).

13 The use of essential oils from the rhizomes of turmeric, Javanese ginger and temu giring by the Indonesian people as  
14 herbal medicinal plants is generally based on practical experience passed down orally from generation to generation  
15 (Subositi & Wahyono, 2019). However, that application still raises doubts about its quality and safety as it is not supported  
16 and approved by scientific data (Ekor, 2014). As such, the information regarding the adverse effects of herbal medicines  
17 remains unclear and limited. The repeatability of the efficacy of standardized herbal medicines can be determined when  
18 the active ingredients have been standardized (Elfahmi et al., 2014).

19  
20 One of the efforts to improve the quality of the essential oils from rhizomes of turmeric, Javanese ginger, and temu  
21 giring as herbal medicines to standardized herbal medicines is to identify essential oils' chemical components. In addition,  
22 it is also important to determine the bioactivity of these essential oils, such as antibacterial and antioxidant. Therefore, this  
23 study aims to determine the chemical composition of essential oils from turmeric, Javanese ginger and temu giring and  
24 their antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Escherichia coli* ATCC 25922; and its  
25 antioxidant activity.

26

27

## MATERIALS AND METHODS

### 28 **Chemicals and Materials**

29 Rhizomes of turmeric (*Curcuma longa* L), Javanese ginger (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb), temu giring (*Curcuma*  
30 *heyneana* Val) were collected from Jumapolo District, Karanganyar, Central Java, Indonesia. *Staphylococcus aureus*  
31 ATCC 25923 and *Escherichia coli* ATCC 25922 were provided by the Microbiology Laboratory, Faculty of Medicine,  
32 Sebelas Maret University. All chemicals used in this research were purchased from Merck and Sigma-Aldrich without any  
33 further purification.

### 34 **Procedures**

#### 35 *Sample Preparation*

36 The rhizomes of turmeric (*Curcuma longa* L), Javanese ginger (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb), temu giring (*Curcuma*  
37 *heyneana* Val) were collected and sorted. Afterwards, those rhizomes were washed, chopped, sorted, and dried in indirect  
38 sunlight (with aerated) until overnight or until dry. Drying the rhizomes in direct sunlight could reduce the content of  
39 active compounds (Prathapan, Lukhman, Arumughan, Sundaresan, & Raghu, 2009).

40

#### 41 *Isolation of Essential Oils through Water-Steam Distillation*

42 Rhizomes of turmeric, Javanese ginger and temu giring (10 kg of each) were put into a water-steam distillation  
43 apparatus. This extraction method is suitable for extracting essential oils, which are labile compounds at high temperatures  
44 and may decompose at their boiling point (Božović, Navarra, Garzoli, Pepi, & Ragno, 2017). The distillation process was  
45 then carried out, and the collection of essentials was done through condensation. The distillation process was stopped  
46 when the liquid stopped dripping into the distillate flask. The fraction of essential oils mixed with water in the distillate  
47 flask was separated by a separating funnel. The top layer, which contains essential oil, was added with anhydrous Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>  
48 and filtered off. The volume of pure essential oil was measured and then stored in a brown vial prior to chemical analysis  
49 and use. Afterwards, the chemical component of the volatile oils was identified by GC-MS. The biological activities such  
50 as antibacterial and antioxidant were also determined.

51

#### 52 *Qualitative and Quantitative Analysis of Isolated Essential Oils by Gas Chromatography Coupled to A Mass Spectrometer*

53 The isolated essential oils were analyzed by GC-MS (Guimarães et al., 2020). The gas chromatography was coupled to  
54 a mass selective detector (MSD). Electron impact ionization mode (EI ionization) was used with a scan range of 40-400

1

1 amu. The ionization source was supplied with a voltage of 70 eV and a scan rate of 3 s per scan. The temperatures of the  
 2 ionization source and the injector were maintained at 200 °C and 250 °C, respectively. The MSD was operated in scan  
 3 mode. The GC was equipped with an RTX-5MS fused silica capillary column with 30 m length, 0.25 µm film thickness  
 4 and 0.25 mm inner diameter. The oven temperature program was 60 °C (4 min), 10 °C/min to 200 °C (14 min). The  
 5 injection was performed split. The injection volume was 1 µL. The injector temperature was 200 °C. The injection  
 6 pressure was 36.2 kPa. The transfer line temperature was maintained at 200 °C, and the carrier gas (He) flow rate was 1  
 7 mL/min. Subsequently, the GC chromatogram and MS spectra were analyzed and compared with the mass spectra data in  
 8 the Wiley7 Library in order to obtain the chemical components contained in the essential oil. All components obtained  
 9 from GC-MS analysis were then compared with data reported in the literature to confirm this finding.

#### 10 *Antibacterial Activity Assay*

11 An *in vitro* antibacterial activity assay was performed using a paper disc diffusion method (Kirby Bauer) (Bauer,  
 12 Kirby, Sherris, & Turck, 1966). Antibacterial activity assays were carried out on all volatile oil samples by varying  
 13 concentrations of 100%, 50%, 25%, 12.5%, and 6.25% by diluting the essential oil using 96% ethanol. A 20 µL suspension  
 14 of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 was tested on media in a petri dish then streaked with sterile cotton wool on the  
 15 test medium. A paper disc with a diameter of 6 mm was used. Positive control was Chloramphenicol, and negative control  
 16 was ethanol (96%). Then the media was incubated at 37 °C for 24 hours. The measurement of the inhibition zone was  
 17 carried out using a digital caliper which was expressed in millimeters. The clear area indicates the inhibition of the growth  
 18 of microorganisms by antibacterial agents on the surface of the essential oil medium. The antibacterial activity against  
 19 *Escherichia coli* ATCC 25922 was performed with the same methods, but Vancomycin was used instead as a positive  
 20 control.

#### 22 *Antioxidant Activity Assay*

23 Antioxidant activity of isolated volatile oils was determined using the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical  
 24 method, following the method reported by Marsden S. Blois (1958); Thaipong, Boonprakob, Crosby, Cisneros-Zevallos, &  
 25 Hawkins Byrne (2006). Initially, essential oils isolated from rhizomes of turmeric, Javanese ginger, and temu giring were  
 26 separately diluted with ethanol (70%) to give concentrations of 100, 50, 25, 12.5 and 6.25 ppm. A DPPH solution (0.2  
 27 mM) was prepared by dissolving 7.88 mg of DPPH with 100 ml of ethanol (70%). The control solution was incubated for  
 28 30 minutes; then, the absorbance was measured using a UV-VIS Spectrophotometer at a wavelength of 400-600 nm until  
 29 the maximum wavelength was obtained. Afterwards, 2 ml of sample solution with various concentrations were separately  
 30 added with 1 mL of DPPH solution and homogenized. The solution was stored in a dark room for 30 minutes; then, its  
 31 absorbance was measured using a UV-VIS spectrophotometer at its maximum wavelength (517 nm) for three replicates.  
 32 IC<sub>50</sub> measurement was performed by measuring the inhibition of the sample towards DPPH radicals. The DPPH uptake  
 33 value of the sample is referred to as % inhibition.

$$35 \quad \% \text{ Inhibition} = \frac{A_c - A}{A_c} \times 100\%$$

36 A<sub>c</sub> = control absorbance value. A = sample absorbance value. The percentage of inhibition was then substituted into a  
 37 linear equation (y = ax + b) with the concentration as the x-axis and the inhibition value as the y-axis. The IC<sub>50</sub> value can  
 38 be obtained when the % inhibition value reaches 50%.

## 39 RESULTS AND DISCUSSION

### 40 *Identification of Essential Oils Isolated from Turmeric, Javanese Ginger, and Temu Giring*

41 Rhizomes of turmeric, Javanese ginger, and temu giring were isolated through water-steam distillation using water as a  
 42 solvent to obtain yellowish clear, brownish clear, and yellow oils, respectively. Essential oils from rhizomes of Javanese  
 43 ginger was found higher (1.33 % mL/g DW) than in turmeric (0.84 % mL/g DW) and temu giring (0.57 % mL/g DW). All  
 44 isolated essential oils show aromatic odor (**Table 1**).

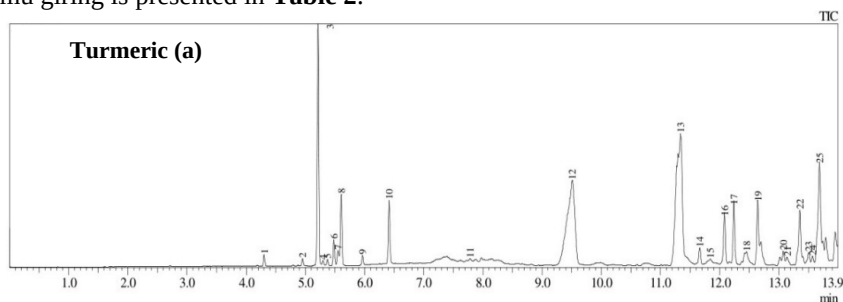
45 **Table 1.** Essential oils isolated from rhizomes of turmeric, Javanese ginger and temu giring by water-steam distillation

47 <b>Result</b>	<b>Turmeric</b>	<b>Javanese Ginger</b>	<b>Temu Giring</b>	
48 Yield	0.84 % (mL/g DW)	1.33 % (mL/g DW)	0.57 % (mL/g DW)	The
Colour	Yellowish clear	Brownish clear	Yellow	
Odour	Aromatic	Aromatic	Aromatic	

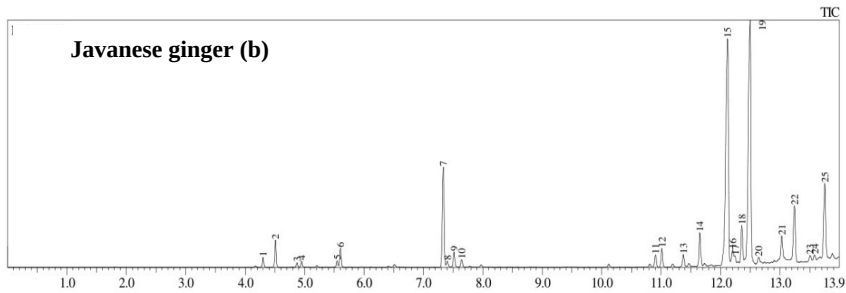
49 chemical components of volatile oils from rhizomes of turmeric, Javanese ginger and temu giring were determined using  
 50 the GC-MS technique. GC-MS analysis is a suitable method to analyze volatile compounds that are thermostable at high  
 51 temperatures (Akinyemi & Adeniyi, 2018). Peaks shown in the GC-MS chromatograms were then analyzed by comparing  
 52 their mass spectra with mass spectra recorded in the Wiley7 Library. They were further supported by comparing their GC  
 53 retention times (**Figure 1**) (Sirat & Meng, 2009). Quantitative analysis of each component was done by measuring the

1 peak areas of each component without the use of an internal standard and expressed as a relative percentage of essential  
 2 oils (%) (Masotti et al., 2003; Sirat & Meng, 2009). The chemical components of essential oils from rhizomes of turmeric,  
 3 Javanese ginger, and temu giring is presented in **Table 2**.

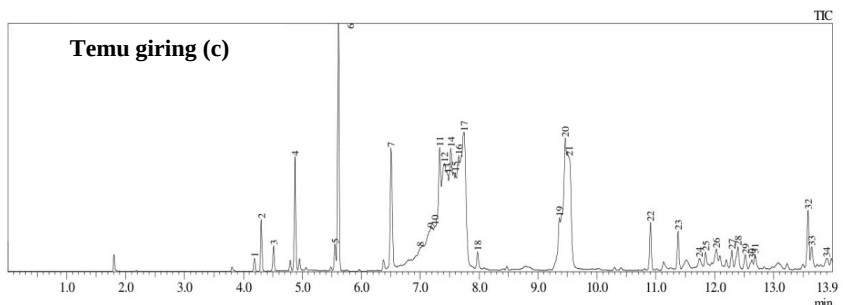
4



5



6



7 **Figure 1.** GC-MS chromatograms of the volatile oils from rhizomes of turmeric (a), Javanese ginger (b) and temu giring (c). All  
 8 compounds are summarized in **Table 2**.

9  
 10 **Table 2.** Chemical components of essential oils from rhizomes of turmeric, Javanese ginger, and temu giring by GC-  
 11 MS analysis

No	Compound	Relative Percentage of Essential Oils (%)		
		Turmeric	Javanese Ginger	Temu Giring
1	α-Thujene	-	-	0.34
2	α-Pinene	0.48	0.61	1,31
3	Camphene	-	1.76	0,65
4	β-Pinene	-	0.28	3.09
5	1-Limonene	-	0.44	0.79
6	1,8-Cineole	3.32	1.33	7.34
7	Nonanol	-	-	4.50
8	Cinnamyl Tiglate	-	-	1.11
9	Cyclopropanecarboxylic acid	-	-	3.38
10	Megastigma-3,7(E), 9-triene	-	-	1.39
11	Camphor	-	8.27	5.98
12	6,6-Dimethylbicyclo(3,1,1)-2-hepten-2-etilol	-	-	7.25



No	Compound	Relative Percentage of Essential Oils (%)		
		Turmeric	Javanese Ginger	Temu Giring
13	$\beta$ -Turmerone	-	-	2.86
14	Isobornyl alcohol	-	-	6.86
15	Mesitylene	-	-	5.37
16	L-Borneol	-	0.57	5.24
17	Ar-turmerone	-	-	12.08*
18	$\alpha$ -Terpineol	-	-	0.57
19	2-Undecanone	-	-	2.20
20	2-Undecanol	-	-	7.98
21	$\alpha$ -Turmerone	-	-	9.06
22	(-)- $\beta$ -Elemene	-	-	1.53
23	Trans- $\beta$ -caryophyllene	-	0.94	1.23
24	Calarene	-	-	0.37
25	$\alpha$ -Humulene	-	-	0.43
26	1H-indene, 2,2,3a,4,7,7a-hexahydro-2,2,4,4,7,7-hexamethyl	-	-	0.73
27	$\beta$ -Selinene	1.22	-	0.58
28	$\alpha$ -Selinene	-	-	1.08
29	Isolongifolol	-	-	0.53
30	Germacrene D	-	1.53	0.42
31	$\Delta$ -Cadinene	-	-	0.57
32	Veridiflorol	-	-	2.05
33	$\gamma$ -Gurjunene	-	-	0.73
34	(-)-Caryophyllene Oxide	1.46	-	0.38
35	$\beta$ -Myrcene	0.29	0.36	-
36	L-Linalool	-	0.46	-
37	Isoborneol	-	1.16	-
38	$\beta$ -Elemene	-	0.92	-
39	Zingiberene	3.79	1.38	-
40	$\beta$ -Farnesene	-	2.51	-
41	$\alpha$ -Curcumin	3.22	28.39	-
42	$\alpha$ -Longipinene	-	0.62	-
43	Curzerene	-	3.57	-
44	$\alpha$ -Cedrene	-	29.53*	-
45	$\alpha$ -Cedrol	0.69	0.47	-
46	Diepi- $\alpha$ -Cedrene epoxide	-	2.03	-
47	Germacrene B	-	4.99	-
48	$\beta$ -Himachalene	-	0.51	-
49	Ledene	-	0.42	-
50	Boldenone	-	6.96	-
51	Phellandrene	10.94	-	-
52	$\Delta$ -3-Carene	0.22	-	-
53	$\alpha$ -terpinene	0.27	-	-
54	p-Cymene	1.15	-	-
55	Bornylene	0.78	-	-
56	$\psi$ -Terpinene	0.43	-	-

No	Compound	Relative Percentage of Essential Oils (%)		
		Turmeric	Javanese Ginger	Temu Giring
57	$\alpha$ -Terpinolene	3.00	-	-
58	Terpinen-4-ol	0.21	-	-
59	Germacrone	19.14	-	-
60	(-)- $\Delta$ -Cuparenol	24.92*	-	-
61	(6E,8E,10E)-2,6,11,15-Tetramethyl-2,6,8,10,14-hexadecapentaene	1.25	-	-
62	$\alpha$ -Himacalene	2.05	-	-
63	$\beta$ -sesquiphellandrene	5.67	-	-
64	2,5,9-Trimethylcycloundeca-4,8-dienone	0.61	-	-
65	2,3-Dibromo-8-phenyl-p-metane	4.09	-	-
66	Dicyclohexylmalononitrile	0.34	-	-
67	Benzena,1-1'-(1,1,3,3-tetramethyl-(1,3-propanediyl) bis-(CAS)	10.47	-	-

1 Note : \* Major component

2

3

4

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

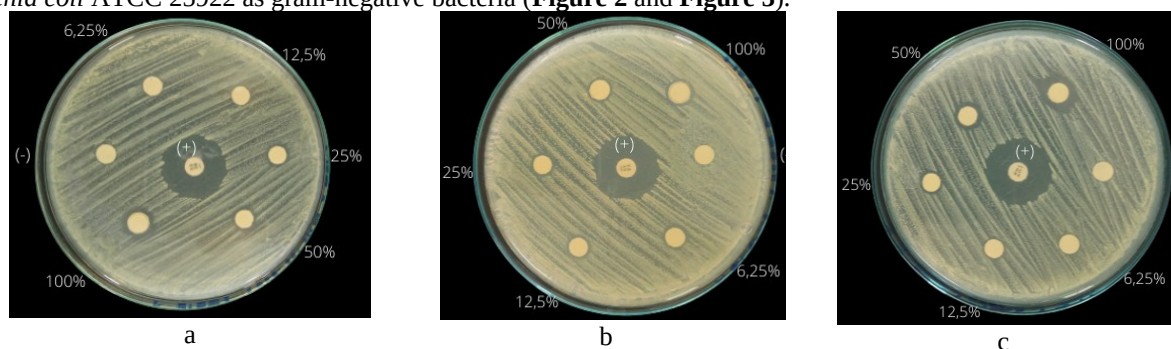
23

24

According to the GC-MS analysis presented in **Table 2**, there were 25 chemical compounds identified in volatile oils from rhizomes of turmeric and Javanese ginger. Meanwhile, there were 34 chemical components identified in essential oils from the rhizome of temu giring. The largest chemical components found in essential oils from rhizomes of turmeric, Javanese ginger and temu giring, respectively, were (-)- $\Delta$ -Cuparenol (**60**, 24.92%),  $\alpha$ -Cedrene (**44**, 29.53%) and ar-turmerone (**17**, 12.08%). Avançaço *et al.* reported that the component with the highest concentration found in turmeric's essential oil was  $\alpha$ -turmerone (42.6%), followed by  $\beta$ -turmerone (16.0%) and ar-turmerone (12.9%) (Avançaço *et al.*, 2017). However, these three compounds were not found in the rhizome of turmeric used in this study. Meanwhile, Jarikasem *et al.* (2005) reported that the major components of essential oils from Javanese ginger were 1,8-cineol (37.6%) and curzerenone (13.7%) where in this study, these two compounds were found as minor components. (Jarikasem *et al.*, 2005) Furthermore, Sirat *et al.* reported that rhizomes of temu giring contained curcumanolide (19.6%), dehydrocurdione (17.2%), isocurcumenol (16.5%), curcumenol (13.7%), curcumenone (6.4%), and germacrone (5.0%) (Sirat & Meng, 2009). These compounds were also not identified in the rhizome of temu giring used in this study. It suggests that the location where the rhizomes grow affects the chemical composition of the essential oils. Rafi, Septaningsih, & Heryanto (2018) also reported that the chemical composition was also affected by the length of harvesting time. Two components which are 1,8-cineole and  $\alpha$ -Pinene, were found in all rhizomes with various concentrations. This finding is in agreement with the data reported in the literature (Avançaço *et al.*, 2017).

#### 20 Antibacterial Assay

21 According to a paper disc diffusion method (Kirby Bauer), the presence of antibacterial activity can be seen from the formation of an inhibition zone which is a clear zone formed around the paper disk (Bauer *et al.*, 1966). This inhibition zone indicated the antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 as gram-positive bacteria and *Escherichia coli* ATCC 25922 as gram-negative bacteria (**Figure 2** and **Figure 3**).

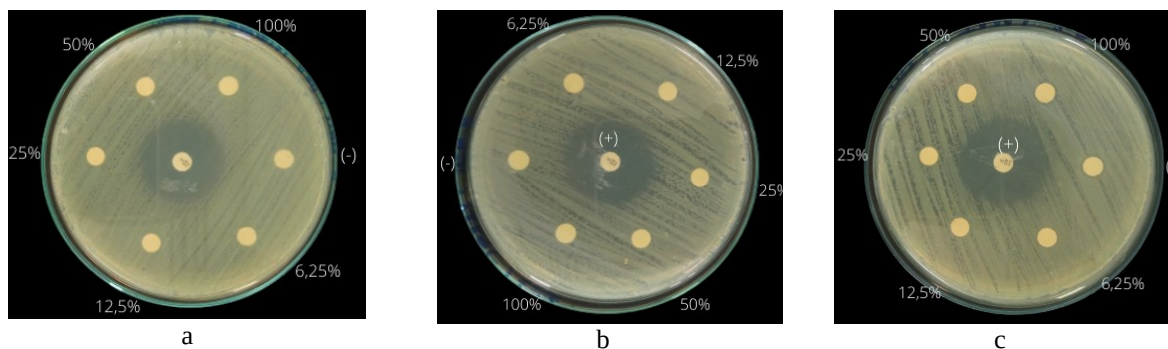


**Figure 2.** The antibacterial activity of the essential oils from rhizomes of (a) Turmeric (b) Javanese ginger (c) Temu giring against *S.aureus* ATCC 25923

25

26

27



**Figure 3.** The antibacterial activity of the essential oils from rhizomes of (a) Turmeric (b) Javanese ginger (c) Temu giring against *E. coli* ATCC 25922

The diameter of the inhibition zone was measured using a caliper, then analyzed to determine the response to bacterial growth inhibition. The concentrations of essential oils used in this antibacterial assay were 6.25%, 12.5%, 25%, 50%, and 100%. The results of the antibacterial test of essential oils from those rhizomes are summarized in **Table 3**.

**Table 3.** The inhibition of essential oils isolated from the rhizomes of turmeric, Javanese ginger, and temu giring on the growth of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 as gram-positive bacteria and *Escherichia coli* ATCC 25922 as gram-negative bacteria

No	Essential oil	Microbe	Inhibition zone (mm) at different concentrations							
			6.25%	12.5%	25%	50%	100%	Control -	Control +	
1.	Turmeric	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.01	7.83 ± 0.02	7.92 ± 0.02	10.16 ± 0.02	0.00 ± 0.00	21.58 ± 0.03	
		<i>E. coli</i> ATCC 25922	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	24.67 ± 0.02	
	Javanese ginger	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	7.30 ± 0.01	7.09 ± 0.02	6.33 ± 0.02	6.89 ± 0.02	7.98 ± 0.01	0.00 ± 0.00	20.16 ± 0.02	
		<i>E. coli</i> ATCC 25922	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	25.51 ± 0.02	
3.	Temu giring	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	6.93 ± 0.01	7.17 ± 0.01	7.59 ± 0.02	9.22 ± 0.02	11.59 ± 0.01	0.00 ± 0.00	19.96 ± 0.01	
		<i>E. coli</i> ATCC 25922	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	6.74 ± 0.01	0.00 ± 0.00	25.31 ± 0.01	
			0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.01	

**Table 3** shows that all essential oils from rhizomes of Javanese ginger and temu giring at all concentrations have antibacterial activity against *S. aureus* ATCC 25923. The highest inhibition zone of the essential oil of Javanese ginger was  $7.98 \pm 0.01$  mm at a concentration of 100%. The highest inhibition zone of essential oil of temu giring was also found at a concentration of 100%, giving the inhibition zone of  $11.59 \pm 0.01$  mm. Meanwhile, the essential oils from the rhizome of turmeric started showing an antibacterial activity when the concentration of 25% was used. The antibacterial activity increased with an increasing concentration of essential oil. It should be noted that an increase in the concentration of essential oils does not always correlate with an increase in antibacterial activity, as it is shown for the antibacterial activity of Javanese ginger. Davis and Stout reported that some factors affected the inhibition zone in the conventional disk plate diffusion assay (Davis & Stout, 1971). One of them was the differences in the diffusion rate of antibacterial compounds on the agar test. In addition, the type and concentration of antibacterial compounds also could give different inhibition zone at a certain time (Davis & Stout, 1971). The highest inhibition zone of essential oil of temu giring was also found at a concentration of 100%, giving the inhibition zone of  $10.16 \pm 0.01$  mm. Essential oils of turmeric at concentrations of 6.25 and 12.5% did not show antibacterial activity against *S. aureus* ATCC 25923. Overall, at a concentration of 100%, the antibacterial activity of essential oils from the rhizomes used in this study follows this order: temu giring > turmeric > Javanese ginger.

On the other hand, essential oils from rhizomes of turmeric and Javanese ginger did not show antibacterial activity against *Escherichia coli* ATCC 25922 at all concentrations. Meanwhile, at a concentration of 100%, essential oil from the rhizome of temu giring showed antibacterial activity against *Escherichia coli* ATCC 25922 with the inhibition zone of  $6.74 \pm 0.01$  mm. The essential oil from the rhizome of temu giring did not show an antibacterial activity at 50% and lower concentration.

Negi, Jayaprakasha, Rao, & Sakariah (1999) reported that the turmeric oil showed antibacterial activity against both gram-positive and gram-negative bacteria, while in this study, the essential oil from the rhizome of turmeric only showed antibacterial activity against gram-positive bacteria. They reported that the turmeric oil contained ar-turmerone and turmerone as the major component in their rhizome, while those compounds were not identified in this study. Mary et al.,

(2012) also reported that the essential oil from the rhizome of Javanese ginger showed antibacterial activity against both gram-positive and gram-negative bacteria, whereas in this study, it only showed antibacterial activity against gram-positive bacteria. Furthermore, Sirat & Meng (2009) reported that the essential oil from temu giring showed antibacterial activity against *S. aureus*, but it did not show antibacterial activity against *Escherichia coli*, whereas in this study, it showed antibacterial activity against both bacteria.

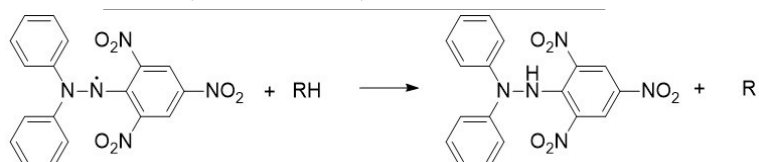
In general, essential oils from rhizomes of turmeric, Javanese ginger and temu giring were more effective to inhibit *S. aureus* ATCC 25923 than *Escherichia coli* ATCC 25922. This result agrees with Akarchariya, Sirilun, Julsrigival, & Chansakaowa (2017) who also reported that the essential oils from *Curcuma* species showed higher antibacterial activity against gram-positive bacteria than gram-negative bacteria. As such, it suggests that essential oils from rhizomes of turmeric, Javanese ginger and temu giring can be utilized as alternative antimicrobial agents derived from nature.

#### Antioxidant Assay

The antioxidant activity test was carried out using the DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) method because this method is simple, easy, fast and sensitive and only requires a small sample (Marsden S. Blois, 1958; Thaipong et al., 2006). DPPH is one of the free radicals commercially available in the form of nitrogen radicals and has maximum inhibition at a wavelength of 515 nm. The capture of hydrogen from antioxidants by free radicals will cause a color change from purple 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazine to yellow (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), which is then compared with the control absorbance (Scheme 1) (Behrendorff, Vickers, Chrysanthopoulos, & Nielsen, 2013; Benvenuti, Pellati, Melegari, & Bertelli, 2004). The antioxidant activity of the essential oils isolated from rhizomes used in this study can be seen in Table 4.

**Table 4.** Antioxidant activity on essential oils isolated from rhizomes of turmeric, Javanese ginger, and temu giring

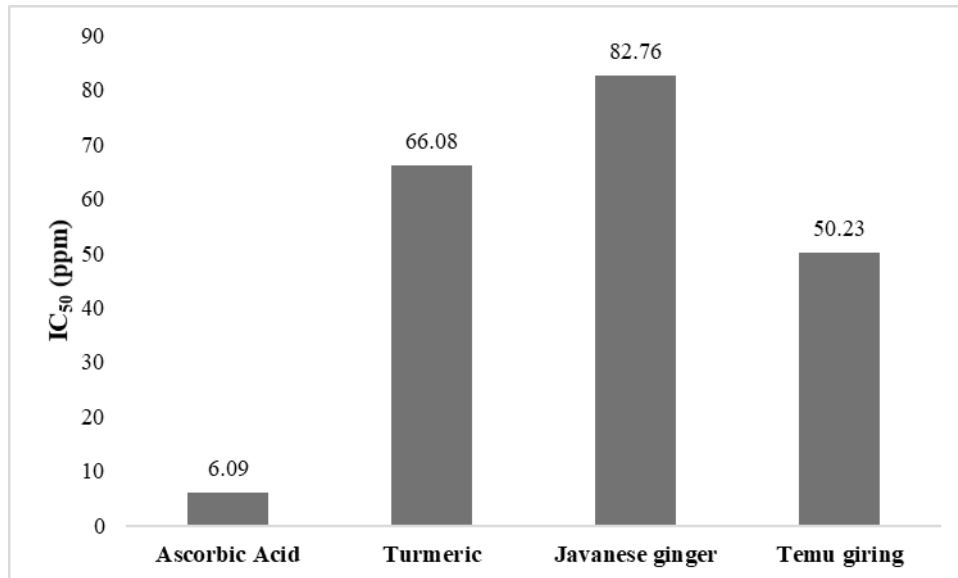
Sample	Conc. (ppm)	%RScA	SD	IC <sub>50</sub>
Ascorbic acid	5	42.64	0.177	$y = 5.6527x + 15.524$ $R^2 = 0.9752$
	2.5	32.29	0.021	
	1	20.98	0.055	IC <sub>50</sub> = 6.09 ppm
	0.5	17.06	0.021	
Turmeric	100	54.13	0.265	$y = 0.1597x + 39.565$ $R^2 = 0.8235$
	50	48.35	0.173	
	25	47.66	0.173	IC <sub>50</sub> = 66.08 ppm
	12.5	41.42	0.173	
	6.25	36.74	0.173	
Javanese ginger	100	54.42	0.173	$y = 0.253x + 29.123$ $R^2 = 0.9998$
	50	41.59	0.173	
	25	35.53	0.173	IC <sub>50</sub> = 82.76 ppm
	12.5	32.06	0.347	
	6.25	31.02	0.173	
Temu Giring	100	67.94	0.173	$y = 0.3627x + 31.665$ $R^2 = 0.9915$
	50	49.97	0.265	
	25	40.150	0.265	IC <sub>50</sub> = 50.23 ppm
	12.5	38.475	0.347	
	6,25	32,756	0.173	



**Scheme 1.** DPPH and antioxidant reaction. (Behrendorff et al., 2013; Benvenuti et al., 2004)

Antioxidant activity (%RScA) value where the concentration of the sample is required to scavenge 50% of total free DPPH radicals is defined as the inhibitory concentration 50 or IC<sub>50</sub> (Hossain et al., 2014). The lower IC<sub>50</sub> value shows the higher antioxidant activity as it requires the lower concentration to inhibit the initial free radical concentration by 50%. The IC<sub>50</sub> values of the essential oils from rhizomes of turmeric, Javanese ginger, and temu giring were 66.08 ppm, 82.76 ppm, and 50.23 ppm. These results were higher than the data reported in the literature. Zhang et al., (2017) reported that

1 the radical scavenging activity ( $IC_{50}$ ) of the essential oils from the rhizome of turmeric collected in China ranged from 4.37  
2 to 9.31 ppm. To the best of our knowledge, the DPPH radical scavenging of essential oils from Javanese ginger and temu  
3 giring have not been reported in the literature. Most of the literature reported the antioxidant activity of the extract from  
4 those rhizomes, not the antioxidant of essential oil. For comparison, the antioxidant activity of ascorbic acid was also  
5 determined, and the  $IC_{50}$  of ascorbic acid was 6.09 ppm (**Figure 4**). The polarity of essential oils might affect the  
6 antioxidant activity as the essential oils act as hydrogen donors antioxidant (Avanço et al., 2017).



8 **Figure 4.**  $IC_{50}$  of essential oils from rhizomes of turmeric, Javanese ginger and temu giring. Ascorbic acid is also given for  
9 comparison.  
10

11  
12 In conclusion, the quality of herbal medicines can be improved by standardizing herbal medicines through the  
13 identification of their chemical composition. Essential oils from rhizomes of turmeric, Javanese ginger, and temu giring  
14 collected from Jumapolo, Central Java, Indonesia, contained 25 to 34 chemical components. The largest chemical  
15 components of essential oils from rhizomes of turmeric, Javanese ginger, and temu giring were (-)- $\Delta$ -kuparenol, -cedrene  
16 and ar-turmerone with a relative percentage of 24.92%; 29.53% and 12.08%, respectively. All those rhizomes contained  
17 1,8-cineol and -pinene with varying percentages. All essential oils from the rhizomes of turmeric, Javanese ginger, and  
18 temu giring showed antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. However, only essential oil from  
19 the rhizome of temu giring showed antibacterial activity against coli ATCC 25922. Furthermore, all essential oils from  
20 rhizomes used in this study have the potential as natural antioxidants where  $IC_{50}$  of the essential oils from the rhizomes of  
21 turmeric, Javanese ginger, and temu giring were 66.08, 82.76, and 50.23 ppm, respectively.  
22

#### 23 ACKNOWLEDGEMENTS

24 The authors would like to thank Universitas Sebelas Maret (UNS) for financial support according to Surat Perjanjian  
25 Penugasan Pelaksanaan Penelitian Mandiri 2021 No. 1996.1/UN27.22/PT.01.03/2021. We would also like to thank  
26 Chemistry Education Laboratory, FKIP UNS, for providing the equipment during this research.

#### 27 REFERENCES

- 28 Akarchariya, N., Sirilun, S., Julsrigival, J., & Chansakaowa, S. 2017. Chemical profiling and antimicrobial activity of  
29 essential oil from *Curcuma aeruginosa* Roxb., *Curcuma glans* K. Larsen & J. Mood and *Curcuma cf. xanthorrhiza* Roxb.  
30 collected in Thailand. *Asian Pac. J. Trop. Biomed* 7: 881–885.  
31 Akinyemi, A. J., & Adeniyi, P. A. 2018. Effect of Essential Oils from Ginger (*Zingiber officinale*) and Turmeric  
32 (*Curcuma longa*) Rhizomes on Some Inflammatory Biomarkers in Cadmium Induced Neurotoxicity in Rats. *J. Toxicol*  
33 2018: 1–7.  
34 Angioni, A., Barra, A., Coroneo, V., Dessi, S., & Cabras, P. 2006. Chemical composition, seasonal variability, and  
35 antifungal activity of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* essential oils from stem/leaves and Flowers. *J. Agric. Food*  
36 *Chem.* 54: 4364–4370.

- 1 Aspollah Sukari, M., Wah, T. S., Saad, S. M., Rashid, N. Y., Rahmani, M., Lajis, N. H., & Hin, T. Y. Y. 2010.  
2 Bioactive sesquiterpenes from *Curcuma ochrorhiza* and *Curcuma heyneana*. *Nat. Prod. Res.* 24: 838–845.
- 3 Avanço, G. B., Ferreira, F. D., Bomfim, N. S., Santos, P. A. de S. R. dos, Peralta, R. M., Brugnari, T., ... Machinski,  
4 M. 2017. *Curcuma longa* L. essential oil composition, antioxidant effect, and effect on *Fusarium verticillioides* and  
5 fumonisin production. *Food Control* 73: 806–813.
- 6 Bauer, A. W., Kirby, W. M. M., Sherris, J. C., & Turck, M. 1966. Antibiotic Susceptibility Testing by A Standardized  
7 Single Disk Method. *Am. J. Clin. Pathol.* 45: 493–496.
- 8 Behrendorff, J., Vickers, C. E., Chrysanthopoulos, P., & Nielsen, L. K. 2013. 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl as a  
9 screening tool for recombinant monoterpene biosynthesis. *Microb. Cell Fact.* 12: 1–11.
- 10 Benvenuti, S., Pellati, F., Melegari, M., & Bertelli, D. 2004. Acid, and Radical Scavenging Activity of *Rubus*, *Ribes*,  
11 and *Aronia*. *J. Food Sci* 69: 164–169.
- 12 Božović, M., Navarra, A., Garzoli, S., Pepi, F., & Ragno, R. 2017. Essential oils extraction: a 24-hour steam distillation  
13 systematic methodology. *Nat. Prod. Res.* 31: 2387–2396.
- 14 BPS. (2019). *Statistics of Medicinal Plants Indonesia 2018* (Vol. 148).
- 15 Chen, C. C., Chen, Y., Hsi, Y. T., Chang, C. S., Huang, L. F., Ho, C. T., ... Kao, J. Y. 2013. Chemical constituents and  
16 anticancer activity of *Curcuma zedoaria roscoe* essential oil against non-small cell lung carcinoma cells in vitro and in  
17 vivo. *J. Agric. Food Chem.* 61: 11418–11427.
- 18 Davis, W. W., & Stout, T. R. 1971. Disc plate method of microbiological antibiotic assay. II. Novel procedure offering  
19 improved accuracy. *Appl. Microbiol.* 22: 666–670.
- 20 Dosoky, N. S., & Setzer, W. N. 2018. Chemical composition and biological activities of essential oils of *curcuma*  
21 species. *Nutrients*, 10: 10–17.
- 22 Ekor, M. 2014. The growing use of herbal medicines: Issues relating to adverse reactions and challenges in monitoring  
23 safety. *Front. Neurol.* 4: 1–10.
- 24 Elfahmi, Woerdenbag, H. J., & Kayser, O. 2014. Jamu: Indonesian traditional herbal medicine towards rational  
25 phytopharmacological use. *J. Herb. Med.* 4: 51–73.
- 26 Ewon, K., & Bhagya, A. S. 2019. A review on golden species of *Zingiberaceae* family around the world: Genus  
27 *Curcuma*. *African J. Agric. Res.* 14: 519–531.
- 28 Funk, J. L., Frye, J. B., Oyarzo, J. N., Zhang, H., & Timmermann, B. N. 2010. Anti-Arthritic Effects and Toxicity of  
29 the Essential Oils of Turmeric (*Curcuma longa* L.). *J. Agric. Food Chem.* 58: 842–849.
- 30 Guimarães, A. F., Vinhas, A. C. A., Gomes, A. F., Souza, L. H., & Krepsky, P. B. 2020. Essential Oil of *Curcuma*  
31 *longa* L. Rhizomes Chemical Composition, Yield Variation and Stability. *Quim. Nova* 43: 909–913.
- 32 Hossain, S. J., Sultana, S., Taleb, M. A., Basar, M. H., Sarower, M. G., & Hossain, A. 2014. Antioxidant activity of  
33 ethanol and lipophilic extracts of common fruity vegetables in Bangladesh. *Int. J. Food Prop.* 17: 2089–2099.
- 34 Jarikasem, S., Thubthimthed, S., Chawananaseth, K., Suntornanaset, T., & Brophy, J. J. 2005. Essential oils from  
35 three *Curcuma* species collected in Thailand. *Acta Hort.* 675: 37–40.
- 36 Lakshmi, S., Padmaja, G., & Remani, P. 2011. Antitumour Effects of Isocurcumenol Isolated from *Curcuma zedoaria*  
37 Rhizomes on Human and Murine Cancer Cells. *Int. J. Med. Chem.* 2011: 1–13.
- 38 Marsden S. Blois. 1958. Determinations, Antioxidant Radical, Stable Free. *Nature*, 181: 1199–1200.
- 39 Mary, H. P., Susheela, G. K., Jayasree, S., Am, N., Rajagopal, B., & Jeeva, S. 2012. Phytochemical characterization  
40 and antimicrobial activity of *Curcuma*. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* 2: 637–640.
- 41 Masango, P. 2005. Cleaner production of essential oils by steam distillation. *J. Clean. Prod.* 13: 833–839.
- 42 Masotti, V., Juteau, F., Bessière, J. M., & Viano, J. 2003. Seasonal and Phenological Variations of the Essential Oil  
43 from the Narrow Endemic Species *Artemisia molinieri* and Its Biological Activities. *J. Agric. Food Chem.* 51: 7115–7121.
- 44 Negi, P. S., Jayaprakasha, G. K., Rao, L. J. M., & Sakariah, K. K. 1999. Antibacterial Activity of Turmeric Oil : A  
45 Byproduct from Curcumin Manufacture. *J. Agric. Food Chem.* 47: 4297–4300.
- 46 Prathapan, A., Lukhman, M., Arumughan, C., Sundaresan, A., & Raghu, K. G. 2009. Effect of heat treatment on  
47 curcuminoid, colour value and total polyphenols of fresh turmeric rhizome. *Int. J. Food Sci. Technol.* 44: 1438–1444.
- 48 Prijatmoko, D., Syafira, N. L., & Lestari, P. E. 2018. Antibacterial activity of essential oil extracts from *Curcuma*  
49 *xanthorrhiza* roxb. rhizomes against bacteria causing pulp necrosis. *Int. J. Food Sci. Technol.* 3: 144-148.
- 50 Rafi, M., Septaningsih, D. A., & Heryanto, R. 2018. Metabolite Profiling of Java Turmeric (*Curcuma xanthoriza*)  
51 Essential Oil with Different Harvest Times. *J. Kim. Sains dan Apl.* 21: 237–241.
- 52 Sarkic, A., & Stappen, I. 2018. Essential oils and their single compounds in cosmetics—a critical review. *Cosmetics* 5:  
53 1–21.
- 54 Sharmeen, J. B., Mahomoodally, F. M., Zengin, G., & Maggi, F. 2021. Essential oils as natural sources of fragrance  
55 compounds for cosmetics and cosmeceuticals. *Molecules*, 26(3), 1–24.
- 56 Sirat, H. M., & Meng, L. L. 2009. Chemical components of the rhizome oil of *Curcuma Heyneana* val. *Malaysian J.*  
57 *Sci.* 28: 323–328.
- 58 Subositi, D., & Wahyono, S. 2019. Study of the genus *curcuma* in Indonesia used as traditional herbal medicines.  
59 *Biodiversitas* 20: 1356–1361.

- 1 Sumarni, W., Sudarmin, S., & Sumarti, S. S. 2019. The scientification of jamu: A study of Indonesian's traditional  
2 medicine. *J. Phys. Conf. Ser.* 1321: 1–7.
- 3 Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., & Hawkins Byrne, D. 2006. Comparison of ABTS,  
4 DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *J. Food Compos. Anal.* 19:  
5 669–675.
- 6 Toden, S., Theiss, A. L., Wang, X., & Goel, A. 2017. Essential turmeric oils enhance anti-inflammatory efficacy of  
7 curcumin in dextran sulfate sodium-induced colitis. *Sci. Rep.* 7: 1–12.
- 8 Wink, M. 2018. Plant secondary metabolites modulate insect behavior-steps toward addiction? *Front. Physiol.* 9: 1–9.
- 9 Xia, Q., Zhao, K. J., Huang, Z. G., Zhang, P., Dong, T. T. X., Li, S. P., & Tsim, K. W. K. 2005. Molecular genetic and  
10 chemical assessment of rhizoma *curcuma* in China. *J. Agric. Food Chem.* 53: 6019–6026.
- 11 Yasni, S., Imaizumi, K., Sin, K., Sugano, M., Nonaka, G., & Sidik. 1994. Identification of an active principle in  
12 essential oils and hexane-soluble fractions of *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. Showing triglyceride-lowering action in rats.  
13 *Food Chem. Toxicol.* 32: 273–278.
- 14 Zhang, L., Yang, Z., Chen, F., Su, P., Chen, D., & Pan, W. 2017. Industrial Crops & Products Composition and  
15 bioactivity assessment of essential oils of *Curcuma longa* L. collected in China. *Ind. Crop. Prod.* 109: 60–73.

## SUBMISSION CHECKLIST

1  
2  
3  
4  
5

Ensure that the following items are present:

The first corresponding author must be accompanied with contact details:

**Give mark (X)**

<ul style="list-style-type: none"><li>E-mail address</li></ul>	X
<ul style="list-style-type: none"><li>Full postal address (incl street name and number (location), city, postal code, state/province, country)</li></ul>	X
<ul style="list-style-type: none"><li>Phone and facsimile numbers (incl country phone code)</li></ul>	X

All necessary files have been uploaded, and contain:

<ul style="list-style-type: none"><li>Keywords</li></ul>	X
<ul style="list-style-type: none"><li>Running titles</li></ul>	X
<ul style="list-style-type: none"><li>All figure captions</li></ul>	X
<ul style="list-style-type: none"><li>All tables (incl title and note/description)</li></ul>	X

Further considerations

<ul style="list-style-type: none"><li>Manuscript has been “spell &amp; grammar-checked” Better, if it is revised by a professional science editor or a native English speaker</li></ul>	X
<ul style="list-style-type: none"><li>References are in the correct format for this journal</li></ul>	X
<ul style="list-style-type: none"><li>All references mentioned in the Reference list are cited in the text, and vice versa</li></ul>	X
<ul style="list-style-type: none"><li>Colored figures are only used if the information in the text may be losing without those images</li></ul>	X
<ul style="list-style-type: none"><li>Charts (graphs and diagrams) are drawn in black and white images; use shading to differentiate</li></ul>	X

6  
7



## **Lampiran 2. Bukti Status Submisi**



Sri Retno Dwi Ariani &lt;sriretno71@staff.uns.ac.id&gt;

---

**[biodiv] Submission Acknowledgement**

1 message

---

**Ahmad Dwi Setyawan** <smujo.id@gmail.com>  
To: Sri Retno Dwi Ariani <sriretno71@staff.uns.ac.id>

Tue, Nov 16, 2021 at 3:48 PM

Sri Retno Dwi Ariani:

Thank you for submitting the manuscript, "Chemical Composition and Antibacterial and Antioxidant Activities of Essential Oils from the Rhizomes of *Curcuma longa* L, *Curcuma xanthorrhiza* Roxb, and *Curcuma heyneana* Val Growing in Jumapolo, Karanganyar, Central Java, Indonesia" to Biodiversitas Journal of Biological Diversity. With the online journal management system that we are using, you will be able to track its progress through the editorial process by logging in to the journal web site:

Submission URL: <https://smujo.id/biodiv/authorDashboard/submission/9887>

Username: ariani

If you have any questions, please contact me. Thank you for considering this journal as a venue for your work.

Ahmad Dwi Setyawan

---

[Biodiversitas Journal of Biological Diversity](#)

**Lampiran 3. Bukti Status Pre Review**

## Pre-review



## Participants

Agustina Putri (aputri1)

Sri Retno Dwi Ariani (ariani)

## Messages

Note	From
<p>Dear Sir/Ma'am,</p> <p>Thank you very much for your manuscript submission.</p> <p>Unfortunately, your manuscript does not meet our requirements:</p> <ol style="list-style-type: none"><li>1. This manuscript has outdated references. At least, you need to compose a minimum of 80% of scientific journals published in the last 10 years (2011-2021) and maximum 10% of reference in Indonesian.</li><li>2. Please write the citation and references based on the author's guidelines, include DOI. Kindly check the author's guidelines here <a href="https://smujo.id/biodiv/guidance-for-author">https://smujo.id/biodiv/guidance-for-author</a>.</li></ol> <p>Kindly check, correct accordingly and resubmit your revised paper in this discussion.</p> <p>Thank you,</p> <p>Regards,</p> <p>Agustina Putri</p>	<p>aputri1 2021-11-16 01:33 PM</p>

## Message \*

		<b>B</b>	<i>I</i>	<u>U</u>						

## Pre-review



## Participants

Agustina Putri (aputri1)

Sri Retno Dwi Ariani (ariani)

## Messages

Note	From
<p>Dear Sir/Ma'am,</p> <p>Thank you very much for your manuscript submission.</p> <p>Unfortunately, your manuscript does not meet our requirements:</p> <ol style="list-style-type: none"><li>1. This manuscript has outdated references. At least, you need to compose a minimum of 80% of scientific journals published in the last 10 years (2011-2021) and maximum 10% of reference in Indonesian.</li><li>2. Please write the citation and references based on the author's guidelines, include DOI. Kindly check the author's guidelines here <a href="https://smujo.id/biodiv/guidance-for-author">https://smujo.id/biodiv/guidance-for-author</a>.</li></ol> <p>Kindly check, correct accordingly and resubmit your revised paper in this discussion.</p> <p>Thank you,</p> <p>Regards,</p> <p>Agustina Putri</p>	<p>aputri1 2021-11-16 01:33 PM</p>

## Message \*

		<b>B</b>	<i>I</i>	<u>U</u>						

## Lampiran 4. Informasi Produk Penelitian



**Gambar 1. Produk Minyak Atsiri Rimpang Temu Giring**



**Gambar 2. Produk Minyak Atsiri Rimpang Temulawak**



**Gambar 3. Produk Minyak Atsiri Rimpang Kunyit**