



**KOVALEN: Jurnal Riset Kimia**

<https://bestjournal.untad.ac.id/index.php/kovalen>



## Identifikasi Senyawa Fraksi Larut *n*-Heksana Rimpang Temu Mangga (*Curcuma mangga* Val) Menggunakan LC-MS/MS dan Review Potensinya sebagai Antibakteri

[Identification of Compounds Soluble *n*-Hexane Fraction of Rhizome of *Temu Mangga* (*Curcuma mango* Val) Using LC-MS/MS and Review of its Potential as Antibacterial]

Purwantiningsih Sugita<sup>1✉</sup>, Risda Fardilya Nihayah<sup>2</sup>, Moch Ikkbal Aditya Kasmaran<sup>2</sup>, Gustini Syahbirin<sup>1</sup>, Auliya Ilmiawati<sup>1</sup>, Budi Arifin<sup>1</sup>, Luthfan Irfana<sup>1</sup>

<sup>1)</sup> Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, IPB University, Bogor 16680, Indonesia

<sup>2)</sup> Mahasiswa Program Studi Sarjana Kimia, Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, IPB University, Bogor 16680, Indonesia

**Abstract.** Plants are like the pharmaceutical industry that provides products that have the potential as active medicinal ingredients. In order to search for compounds useful for health, the purpose of this study was to identify secondary metabolites of *Curcuma mango* (*temu mango*) growing in the experimental garden of Biopharmaka LPPM IPB and review its activity as antibacterial. Identification begins with phytochemical screening, then separation and purification by chromatographic techniques. Intersection mango simplicia was extracted with methanol, and the crude extract of methanol was partitioned with *n*-hexane, ethyl acetate, and methanol, respectively. The *n*-hexane soluble fraction was carried out by phytochemical tests, fractionation by vacuum liquid chromatography (KCV) and radial (KR), and the selected fractions was analyzed by LC-MS/MS. The results of the phytochemical test of the soluble *n*-hexane fraction showed a positive presence of alkaloids and terpenoids through successive tests with Mayer, Wagner, Dragendorff (alkaloid) and Lieberman-Burchard reagents. Fractionation of the *n*-hexane soluble fraction with KCV resulted in 9 fractions (H1-H9) and the H5 fraction showed good separation between spots in the *n*-hexane: ethyl acetate eluent mixture (97:3). Purification of H5 with KR obtained 7 fractions (H5.1-H5.7). Based on LC-MS/MS, the H5.2 fraction was dominated by the terpenoid group, and the results of the literature review showed the contribution of terpenoids as antibacterial compounds.

**Keywords:** *Curcuma mango*, *n*-hexane soluble fraction, terpenoids

**Abstrak.** Tumbuhan ibarat industri farmasi yang menyediakan produk yang berpotensi sebagai bahan aktif obat. Dalam rangka pencarian senyawa-senyawa berguna untuk kesehatan, tujuan penelitian ini melakukan identifikasi metabolit sekunder dari *Curcuma mangga* (*temu mangga*) yang tumbuh di kebun percobaan Biofarmaka LPPM IPB, dan review aktivitasnya sebagai antibakteri. Identifikasi diawali dengan penapisan fitokimia, kemudian pemisahan dan pemurnian dengan teknik kromatografi. Simplisia temu mangga diekstraksi dengan metanol, ekstrak kasar metanol dipartisi berturut-turut dengan *n*-heksana, etil asetat, dan metanol. Fraksi larut *n*-heksana dilakukan uji fitokimia, fraksinasi dengan kromatografi cair vakum (KCV) dan radial (KR) serta fraksi terpilih dianalisis dengan LC-MS/MS. Hasil uji fitokimia fraksi larut *n*-heksana menunjukkan positif adanya alkaloid dan terpenoid melalui uji berturut-turut dengan pereaksi Mayer, Wagner, Dragendorff (alkaloid) dan Lieberman-Burchard. Fraksinasi fraksi larut *n*-heksana dengan KCV menghasilkan 9 fraksi (H1-H9) dan fraksi H5 menunjukkan keterpisahan antar spot yang baik pada campuran eluen *n*-heksana:etil asetat (97:3). Pemurnian H5 dengan KR diperoleh 7 fraksi (H5.1-H5.7). Berdasarkan LC-MS/MS, fraksi H5.2 didominasi kelompok terpenoid dan dari kajian literatur menunjukkan kontribusi terpenoid sebagai senyawa antibakteri.

**Kata kunci:** *Curcuma mangga*, fraksi larut *n*-heksana, terpenoid

Diterima: 18 Mei 2022, Disetujui: 13 Juli 2022

Sitasi: Sugita, P., Nihayah, R.F., Kasmaran, M.I.A., Syahbirin, G., Ilmiawati, A., Arifin, B., dan Irfana, L. (2022). Identifikasi Senyawa Fraksi Larut *n*-Heksana Rimpang Temu Mangga (*Curcuma mangga* Val) Menggunakan LC-MS/MS dan Review Potensinya sebagai Antibakteri. *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia*, 8(2): 99-112.

✉ Corresponding author

E-mail: [purwantiningsih@apps.ipb.ac.id](mailto:purwantiningsih@apps.ipb.ac.id)

<https://doi.org/10.22487/kovalen.2022.v8.i2.15897>



2477-5398/© 2022 Sugita et al.  
This is an open-access article under the CC BY-SA license.

## LATAR BELAKANG

Tingkat prevalensi penyakit infeksi di Indonesia tergolong tinggi. Penyakit infeksi masih menjadi penyebab kematian terbanyak. Infeksi dapat disebabkan oleh bakteri, virus, jamur, dan parasit. Bakteri merupakan salah satu mikroorganisme yang paling sering menyebabkan infeksi. Angka kejadian penyakit infeksi bakteri pada tingkat layanan Rawat Inap Tingkat Lanjut sampai Desember 2014 mencapai 148.703 kasus (Kementerian Kesehatan RI. 2015).

Pemberian antibiotika merupakan salah satu pilihan terapi dalam menangani penyakit infeksi. Penggunaan antibiotika yang tidak terkontrol dapat memicu terjadinya resistensi terhadap pemberian antibiotik (Ibrahim et al. 2011). Salah satu upaya pengobatan untuk menghindari terjadinya resistensi melalui *back to nature* dengan penggunaan herbal. Pendekatan pengobatan dengan menggunakan herbal masih sangat diminati sehingga pencarian metabolit sekunder antibakteri berasal dari tanaman sangatlah penting. Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan obat antibakteri yaitu temu mangga

Temu mangga (*C. mangga* Val.) merupakan tanaman yang berasal dari Benggala India, selanjutnya tersebar ke Malaysia dan Indonesia. Temu mangga (*C. mangga* Val.) dimanfaatkan sebagai bumbu masakan, suplemen, dan obat tradisional (Liu & Nair 2012). Philip et al. (2009) melaporkan bahwa pada konsentrasi 50 mg/mL ekstrak metanol, *n*-heksana, dan etil asetat temu mangga menunjukkan penghambatan pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* dengan zona hambat antara 7,0–11,3 mm dan

dengan menaikkan konsentrasinya menjadi 500 mg/mL terjadi peningkatan zona hambat berkisar 9,0 -19,3 mm. Perasan temu mangga segar pada konsentrasi 20 µl, menghambat *Escherichia coli* dan *S. aureus* dengan zona hambat berturut-turut 10,47 dan 9,26 mm (Adila et al. (2013). Sementara ekstrak diklorometana pada konsentrasi 15 µl mampu menghambat bakteri *S. aureus*, *Bacillus cereus*, *P. aeruginosa* dan *E. coli* dengan zona hambat berturut-turut 10,00; 13,50; 9,00 dan 7,00 mm (Kamazeri et al. 2012).

Kamazeri et al. (2012) melaporkan bahwa terdapat 27 senyawa yang terkandung dalam ekstrak temu mangga yang tergolong pada senyawa terpenoid, 2 diantaranya memiliki aktivitas antibakteri paling tinggi yaitu kariofilena dan kariofilena oksida. Terpenoid lainnya yang pernah diidentifikasi pada temu mangga diantaranya linalil asetat, geraniol, linalool (Wong et al. 1999), farnesen (Kamazeri et al. 2012), mirsen dan neral (Wahab et al. 2011). Yuandani & Yuliasmi (2018) melaporkan bahwa komponen utama ekstrak etanol temu mangga asal Medan adalah tiga senyawa turunan kurkuminoid yaitu kurkumin, demetoksikurkumin (DMC) dan bisdemetoksikurkumin (BDMC). Sementara Wong et al. (1999) melaporkan bahwa minyak atsiri temu mangga asal Penang mengandung 91,7% hidrokarbon monoterpenoid, 3,4% monoterpenoid yang mengandung oksigen, 1,1% seskiterpenoid, 0,2% komponen lain dan senyawa mayor yang teridentifikasi berupa 78,6% mirsen; 2,9% α-pinen; 3,7% β-pinen dan 5,1% osimen.

Meskipun telah banyak publikasi senyawaan metabolit sekunder dari temu mangga dan potensi ekstrak temu mangga sebagai antibakteri, namun studi komprehensif tentang senyawa bioaktif yang bertanggung-

jawab sebagai antibakteri masih terbatas. Perbedaan tempat tumbuh, letak geografis, variasi fisiologis, evolusi, perubahan genetik, penyimpanan, serta kondisi lingkungan lainnya akan mempengaruhi keberadaan metabolit sekunder pada suatu tanaman (Figueiredo et al. 2008). Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan melakukan identifikasi metabolit sekunder dari temu mangga yang tumbuh di kebun percobaan Biofarmaka LPPM IPB, dan review aktivitasnya sebagai antibakteri.

## METODE PENELITIAN

### Bahan dan Peralatan

Bahan yang digunakan ialah rimpang temu mangga dari perkebunan Biofarmaka di Cikabayan Bogor, pelarut seperti etil asetat (EtOAc), *n*-heksana, aseton, kloroform (CHCl<sub>3</sub>), metanol (MeOH), silika gel Merck 60 GF254 (untuk KLT), silika gel 60 G (untuk KCV), silika gel Merck 60 PF254 (untuk KR), etanol (EtOH), diklorometana (DCM), FeCl<sub>3</sub>, aquades, serbuk Mg, HCl pekat, amil alkohol, Liberman Burchard, HCl 2N, amonia 10%, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2M, pereaksi Dragendroff, Wagner dan Mayer.

Alat yang digunakan ialah peralatan gelas, radas distilasi, *rotatory evaporator*, lampu ultraviolet merek UVP 95-0007-06 model UVGL-58, kromatografi lapis tipis (KLT) GF254 (Merck®), kromatografi radial (KR), kromatografi kolom vakum (KCV) dan LC-MS/MS dengan LC sistem *Ultra Performance Liquid Chromatography* (UPLC) dan spektrometer massa XEVO-G2SQTOF (Waters, USA).

### Prosedur Penelitian

#### **Ekstraksi simplisia Temu Mangga (C. mangga Val.)**

Prosedur ekstraksi merujuk penelitian Purwantiningsih et al. (2019). Ekstraksi

dilakukan dengan teknik maserasi menggunakan pelarut MeOH. Sebanyak 1870,59 g simplisia rimpang temu mangga dimasukkan ke dalam bejana dan ditambahkan pelarut MeOH (perbandingan sampel dengan pelarut 1:3), lalu dimaserasi selama 3x24 jam. Hasil maserasi dipekatkan dengan *rotatory evaporator*. Sebanyak 157,45 g ekstrak kasar MeOH selanjutnya diekstraksi cair-cair dengan *n*-heksana (1:1), fraksi larut heksana dipisahkan dan ekstraksi diulangi sebanyak 3 kali. Fraksi larut *n*-heksana dipekatkan, kemudian diuji fitokimianya sesuai protokol (Shaikh & Patil 2020) dan selanjutnya dipisahkan dan dimurnikan dengan metode kromatografi, KCV dan KR.

#### **Fraksinasi fraksi larut n-heksana temu mangga**

Fraksi larut *n*-heksana temu mangga sebanyak 10 g dilarutkan dengan diklorometana dan diimpregnasi dalam 30 g silika gel 60 (0,2-0,5 mm). Selanjutnya kolom KCV disiapkan dengan mengemas silika gel 60 G sebanyak 100 g ke dalam kolom dalam keadaan vakum. Sampel terimpregnasi dimasukkan diatas kolom kemas dan ditutup dengan kertas saring diatasnya. Sampel dielusi dengan eluen berturut-turut *n*-heksana:DCM yang dinaikkan kepolarannya, kemudian DCM 100% dan dicuci dengan metanol 100% dalam keadaan kolom divakum. Eluat dikonfirmasi dengan KLT dengan eluen terbaik yaitu *n*-heksana:DCM (7:3) dan eluat yang memiliki profil mirip digabungkan. Fraksinasi dengan metode ini menghasilkan 9 fraksi (H1-H9). Fraksi H5 menunjukkan profil pemisahan dengan keterpisahan antar spot yang baik, selanjutnya dimurnikan dengan metode KR. Pelat radial disiapkan dengan melarutkan serbuk silika gel 60GF<sub>254</sub> dalam aquades dingin

dan dikocok kuat hingga terbentuk bubur. Bubur silika dituangkan dalam pelat kaca radial, dikeringudarkan dan dibuat dengan ketebalan 1 mm. Selanjutnya, pelat KR ditempatkan pada rotor KR dan elusi dilakukan dalam lemari asam. Fraksi H5 sebanyak 122,6 mg dilarutkan dengan EtOAc, kemudian diinjeksikan dalam pelat dan dielus dengan eluen n-heksana:EtOAc kemudian dinaikkan tingkat kepolaranya secara bertahap. Eluat yang keluar kemudian ditampung setiap 5 ml dalam vial, dan profil eluat di KLT dengan eluen n-heksana:EtOAc (97:3). Profiling eluat diamati dengan menggunakan lampu UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Eluat dengan profiling yang mirip digabungkan. Pemisahan dengan metode KR menghasilkan 7 sub fraksi (H5.1-H5.7), kemudian fraksi H5.2 dianalisis dengan LC-MS/MS. Potensi senyawa yang teridentifikasi sebagai antibakteri dilakukan melalui studi literatur jurnal yang diterbitkan pada rentang tahun 2005-2020 dari *Google Scholar*, *Sciencedirect*, dan *Researchgate*.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Rendemen Ekstrak Temu Mangga dan Hasil Uji Fitokimia Fraksi Larut n-heksana

Ekstrak kasar MeOH berwarna coklat tua, dan beraroma seperti jamu. Rendemen ekstrak kasar temu mangga ditampilkan pada Tabel 1 dan dibandingkan hasilnya dengan peneliti lainnya. Rendemen ekstrak temu mangga pada penelitian ini diperoleh 8,94% berdasarkan bobot kering dengan faktor koreksi kadar air 11%, sedangkan rendemen fraksi larut n-heksananya diperoleh 2,35%. Perbedaan *yield* mungkin karena umur rimpang dan pelarut yang digunakan (Salamah *et al.* 2015).

Hasil uji fitokimia ekstrak metanol temu mangga menunjukkan keberadaan kelompok senyawa fenolik, flavonoid, alkaloid dan terpenoid, sedangkan fraksi larut n-heksana teridentifikasi senyawa alkaloid dan terpenoid. Berbeda dengan temu mangga lainnya, pada uji fitokimia selain menunjukkan keberadaan senyawa tersebut, juga terdeteksi adanya steroid dan saponin (Tabel 2).

**Tabel 1.** Rendemen ekstrak hasil penelitian dan komparasi temu mangga di berbagai daerah.

Asal Tanaman	Metode dan lamanya Ekstraksi	Pelarut	Rendemen (%)	Pustaka
Kebun Biofarmaka IPB	Maserasi (3x24 jam)	MeOH	8,94	
Yogyakarta	Maserasi (7x24 jam)	MeOH	35,85	Kusmiyati <i>et al.</i> (2011)
Yogyakarta	Maserasi (3x24 jam)	MeOH	10,6	Malek <i>et al.</i> (2011)
Thailand	Maserasi (3x24 jam)	EtOH	21,7	Kaewkroek <i>et al.</i> (2010)
Medan	Maserasi (3x24 jam)	EtOH	11,0	Yuandani & Yuliasmi (2018)

Perbedaan hasil uji ini diduga tempat tanam temu mangga yang beragam oleh beberapa faktor, seperti *environment stress*,

umur tanaman, *growing area* dan faktor fisik seperti cuaca, kelembaban, dan suhu (Figueiredo *et al.* 2008).

**Tabel 2.** Hasil uji fitokimia dari penelitian dan komparasi temu mangga di berbagai daerah

Asal temu mangga	Ekstrak	Metabolit Sekunder						Pustaka
		Flavonoid	Fenolik	Alkaloid	Triterpenoid	Steroid	Saponin	
Kebun Biofarmaka IPB	MeOH	+	+	+	+	-	-	-
	Fraksi larut <i>n</i> -heksana	-	-	+	+	-	-	
	Aseton	+	+	+	+	-	-	Ganur et al. (2021)
Sumatera Utara	<i>n</i> -heksana	-	x	-	+	+	-	
	EtOAc	+	x	-	-	-	+	Yuandani et al. 2019
	EtOH	+	x	-	+	+	+	
Taman Nasional Lore Lindu (TNLL), Sulawesi Tengah	EtOH	-	-	-	-	-	-	Ramadanil et al. 2019
Pasar Angso duo Jambi	<i>n</i> -heksan	+	x	-	+	+	+	
	MeOH (Soxhlet)	+	x	-	+	-	-	Yurleni 2018
	MeOH (refluks)	+	x	-	+	-	+	
Garut	EtOH I	-	x	+	-	+	-	Henjani et al. 2018

Keterangan: (+) terdeteksi, (-) tidak terdeteksi, (x) tidak diuji

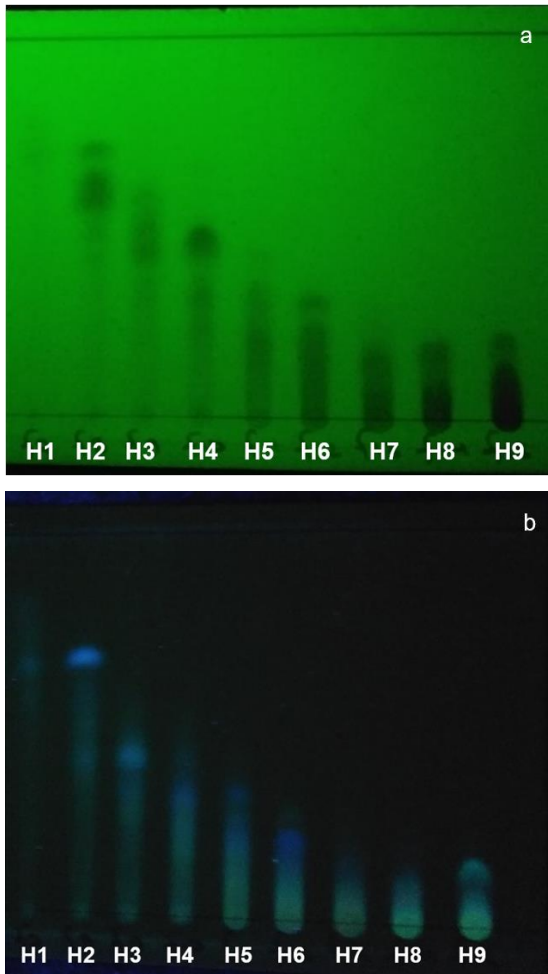
### Hasil Fraksinasi Fraksi Larut *n*-Heksana

Fraksi larut *n*-heksana dipisahkan menggunakan kromatografi cair vakum (KCV). Fraksinasi fraksi *n*-heksana sebanyak 10 g dilakukan menggunakan eluen *n*-heksana 100% dan dilanjutkan elusi bertingkat menggunakan eluen *n*-heksana:DCM dengan perbandingan 8:2 (2x100 mL); 7:3 (2x100 mL); 6:4 (3x100 mL); 4:6 (3x100 mL) kemudian dengan DCM 100% dan dibersihkan menggunakan metanol 100%. Fraksinasi fraksi larut *n*-heksana menghasilkan 24 eluat dan dari hasil KLT eluat yang memiliki spot yang sama digabungkan dan diperoleh 9 fraksi (H<sub>1</sub>-H<sub>9</sub>). Profil KLT dari hasil KCV fraksi larut *n*-heksana

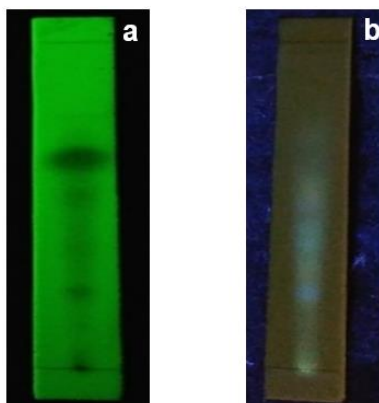
ditampilkan pada Gambar 1, sedangkan massa fraksi hasil KCV disajikan pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Massa fraksi larut *n*-heksana temu mangga hasil KCV

Fraksi	Massa (mg)
H <sub>1</sub>	4,8
H <sub>2</sub>	233,6
H <sub>3</sub>	190,4
H <sub>4</sub>	164,1
H <sub>5</sub>	141,5
H <sub>6</sub>	240,6
H <sub>7</sub>	243,8
H <sub>8</sub>	1041,2
H <sub>9</sub>	TS (Tidak Tuntas)



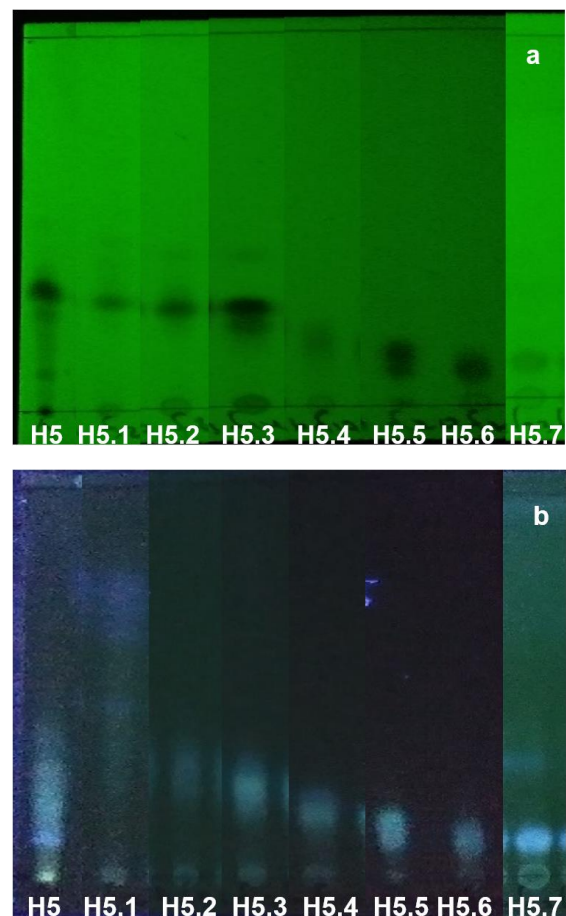
**Gambar 1.** Kromatogram fraksi larut *n*-heksana temu mangga hasil KCV pada panjang gelombang 254 nm (a) dan 366 nm (b) yang dielusi dengan *n*-heksana:DCM (7:3)



**Gambar 2.** Tampilan kromatogram fraksi H5 pada 254 nm (a) dan 366 nm (b) pada eluen *n*-heksana:EtOAc (97:3)

**Tabel 4.** Massa fraksi H5 hasil KR dengan eluen *n*-heksana:EtOAc (97:3)

Fraksi	Massa (mg)
H5.1	47,9
H5.2	31,1
H5.3	92,8
H5.4	12,9
H5.5	30,5
H5.6	66,0
H5.7	103,2



**Gambar 3.** Kromatogram fraksi H5 hasil KR pada panjang gelombang 254 nm (a) dan 366 nm (b) pada eluen *n*-heksana:EtOAc (97:3)

Fraksi dengan pola pemisahan sederhana dan massa yang memadai dipilih untuk dilakukan tahap fraksinasi selanjutnya. Berdasarkan profil KLT menggunakan eluen *n*-heksana:etil asetat (97:3), fraksi H5

menunjukkan keterpisahan spot yang baik (Gambar 2). Fraksinasi fraksi H5 dengan metode KR menghasilkan 45 eluat dan dari hasil KLT eluat yang memiliki keterpisahan spot yang mirip digabungkan dan diperoleh 7 fraksi (H5.1–H5.7). Profil KLT fraksi H5 hasil KR ditampilkan pada Gambar 3, sedangkan massa fraksi hasil KR disajikan pada Tabel 4.

### Hasil Identifikasi Fraksi Larut *n*-heksana H5.2 dengan LC-MS dan Potensinya sebagai Antibakteri

Fraksi larut *n*-heksana H5.2 ekstrak metanol temu mangga dianalisis menggunakan LC-MS/MS dengan LC sistem *Ultra Performance Liquid Chromatography* (UPLC) dan spektrometer massa XEVO-G2SQTOF (Waters, USA). Kondisi pengukuran yang digunakan adalah kolom C18 (1,8 $\mu$ m 2,1x100 mm) HSS, suhu 50°C (kolom) dan 25°C (ruangan), fase gerak air, 5 mM amonium format dan asetonitril, dan 0,05% asam format, laju alir 20  $\mu$ l/menit (*gradien-step*) selama 23 menit, volume injeksi 250  $\mu$ L dengan sistem MS ES (*electrospray ionization*) dalam mode ion positif, suhu desolvasi 350°C dan deteksi pada 50 eV.

Analisis kromatogram fraksi H5.2 diperoleh banyak puncak dengan 4 puncak utama pada waktu retensi menit ke 11,34; 12,02; 12,97 dan 15,27 yang diduga merupakan kelompok terpenoid dan berdasarkan penelusuran literatur serta basis data *PubChem* berturut-turut diduga sebagai gwikurkulakton (**1**); curzerenon (**2**); 6-(1-hidroksimetilvinil)-4,8a-dimetil-3,5,6,7,8, 8a-heksahidro-1H-naftalen-2-on (**3**) dan (E)-15,16-bisnorlabda-8(17),11-dien-13-on (**4**).

Senyawa **1** dilaporkan sebelumnya terdapat pada *C. wenyujin* (Wang *et al.* 2008) dan baru pertama kali dilaporkan pada temu

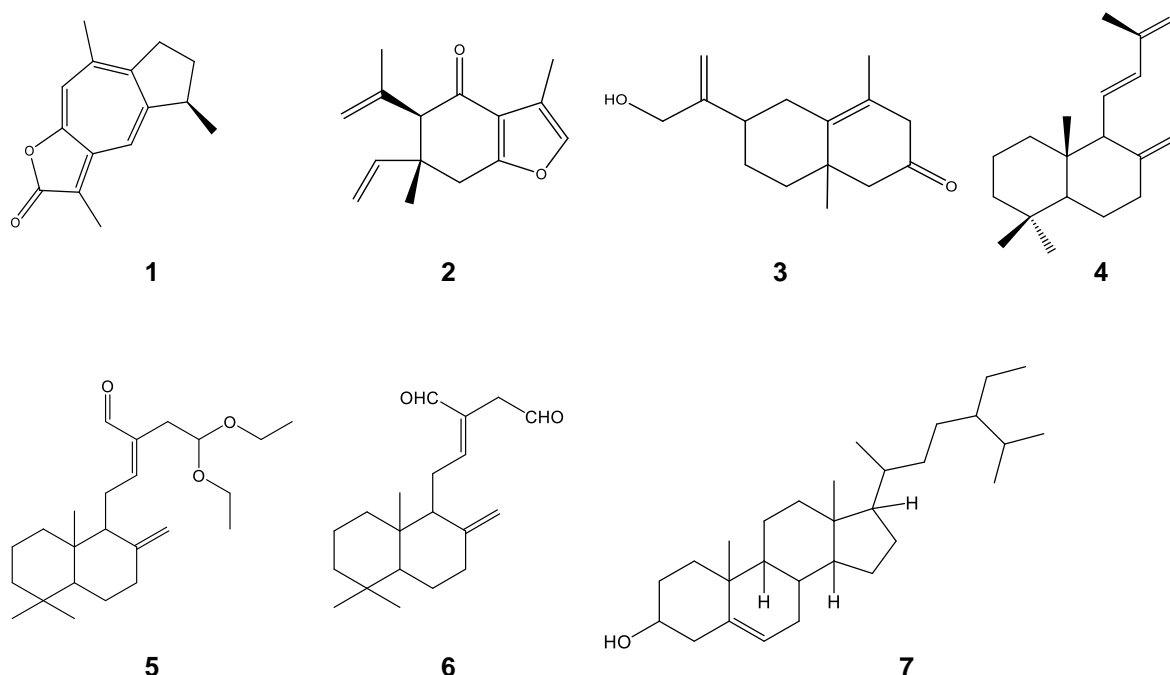
mangga. Senyawa **2** pernah dilaporkan sebelumnya terdapat pada minyak atsiri temu mangga yang berasal dari Congo-Brazzaville (Bikindou *et al.* 2020) dan pada spesies curcuma lainnya seperti pada *C. zedoaria* (Makabe *et al.* 2006, Singh *et al.* 2013, Purkayastha *et al.* 2006, Jarikasem *et al.* 2005, Bordoloi *et al.* 1999), pada minyak atsiri *C. aromatica* (Herath *et al.* 2017), *C. inodora* Blatt (Malek *et al.* 2006), dan *C. kwangsiensis* (Zeng *et al.* 2009). Curzerenone merupakan seskuiterpen tipe elemen dan Li *et al.* (2015) melaporkan bahwa fragmentasi curzerenone cenderung kehilangan ion fragmen utama sekaligus etilen dan air  $[M+H^+-C_2H_4-H_2O]^+$  dan teridentifikasi pada  $m/z$  185.1334. Dalam genus *Curcuma*, telah ditemukan 12 seskuiterpen tipe elemene, antara lain  $\beta$ -elemene,  $\gamma$ -elemene,  $\delta$ -elemene, *curzerene*, dan *curzerenone* yang tersebar luas di seluruh spesies *Curcuma*. Senyawa **3** teridentifikasi sebelumnya pada minyak atsiri temu mangga yang berasal dari Malaysia (Kamazeri *et al.* 2012), sedangkan senyawa **4** teridentifikasi sebelumnya pada fraksi heksana temu mangga asal Songkhla Province, Thailand (Kaewkroek *et al.* 2010) dan Yogyakarta (Malek *et al.* 2011).

Pada temu mangga asal Thailand teridentifikasi juga (E)-15,15-dietoksilabda-8(17),12-dien,16-al (**5**), sedangkan temu mangga asal Yogyakarta teridentifikasi senyawa (E)-labda-8(17)-12-dien-15,16-dial (**6**) dan steroid  $\beta$ -sitosterol (**7**) (Malek *et al.* 2011). Pratiwi *et al.* (2020) melaporkan bahwa ekstrak metanol dan *n*-heksana *C. mangga* asal Padang, Sumatera Barat menunjukkan aktivitasnya sebagai antibakteri terhadap *M. tuberculosis* strain H<sub>37</sub>Rv dengan konsentrasi berturut-turut sebesar 0,5  $\mu$ g/mL dan 1  $\mu$ g/mL. Singh *et al.* (2010) melaporkan senyawa

diterpenoid kerangka labdane senyawa **6** dari fraksi kloroform *C. amada* asal Jadopur, India berpotensi menghambat bakteri *M. tuberculosis* strain H<sub>37</sub>Rv dengan nilai minimum inhibitory concentration (MIC) sebesar 500 µg/mL. Struktur senyawa **1-7** ditampilkan pada Gambar 4.

Penelitian sebelumnya, Ganur et al. (2021) melaporkan bahwa analisis LC-MS/MS senyawa pada fraksi larut n-heksana dari ekstrak aseton teridentifikasi sebagai 13-

*Hydroxygermacrone* (**8**), *curcumenone* (**9**), *curcumenol* (**10**), dan *zedoaronidiol* (**11**). Senyawa **8** telah dilaporkan sebelumnya teridentifikasi pada *C. zedoaria* (Shiobara et al. 1986), dan *C. xantoriza* (Zhang et al. 2015). Senyawa **9** dan **10** teridentifikasi bersama pada *C. longa*, *C. wenyujin*, *C. phaeocaulis* dan *C. kwangsiensis* (Liu et al. 2016, Chen et al. 2018), *C. zedoaria* (Shiobara et al. 1986, Zhang et al. 2020), *C. aeruginosa* (Rahayu et al. 2018, Purwantiningsih et al. 2019).



**Gambar 4.** Dugaan senyawa **1-4** pada fraksi H5.2 dari ekstrak metanol temu mangga asal Bogor dan senyawa **5-7** dari temu mangga asal Thailand dan Yogyakarta

Selain itu, senyawa **9** telah dilaporkan sebelumnya pada *C. caesia* (Vairappan et al. 2013), sedangkan senyawa **10** juga telah dilaporkan pada *C. wenyujin* (Wang et al. 2008), *C. heyneana* (Sugita et al. 2018), *C. aeruginosa* (Awin et al. 2016) dan *C. kwangsiensis* (Yang et al. 2005), sedangkan Senyawa **11** pernah diisolasi sebelumnya dari *C. heyneana* (Cho et al. 2009), *C. aeruginosa* (Thainaa et al. 2009), *C. longa* (Matsuda et al. 2011), dan *C. zedoaria* (Kouno & Kawano 1985). Rahayu et al. (2018) melaporkan

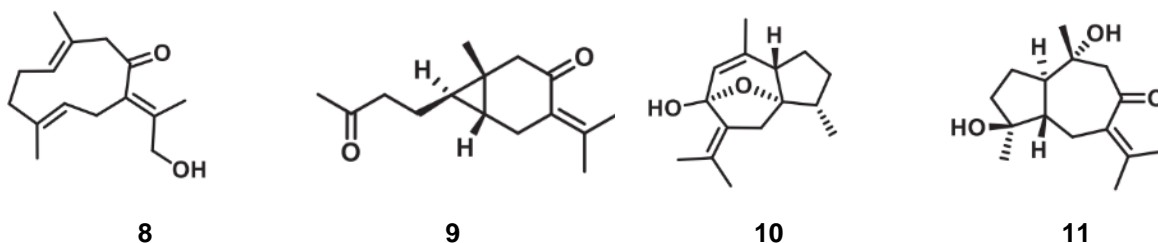
aktivitas antibakteri senyawa **10** dan ekstrak metanol *C. aeruginosa* asal Pusat Studi Biofarmaka IPB, Jawa Barat terhadap 2 bakteri *Salmonella typhi* dan *E. coli*. Hasil pengujiannya menunjukkan zona penghambatan senyawa **10** dan ekstrak metanol *C. aeruginosa* berturut-turut sebesar 8,0 dan 7,0 mm (*S. typhi*) dan 5,0 dan 6,0 mm (*E. coli*). Struktur senyawa **8-11** ditampilkan pada Gambar 5.



Wong *et al.* (1999) melaporkan bahwa pada minyak atsiri rimpang temu mangga terdiri dari 91,7% monoterpen hidrokarbon, 3,4% monoterpen beroksigen, 1,1% seskuiterpen dan 0,3% senyawa lain dengan senyawa dominan mirsena sebanyak 78,6%, sedang dari temu mangga lainnya teridentifikasi 78,6% monoterpen, 5,9% diterpen, 4,8% seskuiterpen dan 0,2% senyawa lain dengan komponen utama yang teridentifikasi adalah mirsena (46,5%) dan  $\beta$ -pinena (14,6%) (Wahab *et al.* 2011). Sementara penelitian Kamazeri *et al.* (2012) melaporkan bahwa minyak atsiri *C. mangga* asal pasar lokal di Kuantan, Pahang memiliki zona inhibisi tertinggi terhadap bakteri *P. Aeruginosa*, *E. Coli*, *S. aureus* dan *B. Cereus* dengan zona inhibisi berturut-turut  $9\pm 0$  mm,  $7\pm 0$  mm,  $10\pm 0$  mm,  $13\pm 0,7$  mm dibandingkan minyak atsiri *C. aeruginosa* dan *Z. cassumunar*. Nilai MIC dan *minimum bactericidal*

*concentration* (MBC) minyak atsiri *C. mangga* terhadap bakteri *S. aureus* dan *B. Cereus* berturut-turut sebesar 11,1  $\mu\text{L/mL}$  dan 1,2  $\mu\text{L/mL}$ . Berdasarkan analisis GC-MS, senyawa yang teridentifikasi pada minyak atsirinya terdiri dari 52,67% seskuiterpen dengan senyawa utama kariofilena oksida (18,71%) dan kariofilena (12,69%), 31,44% monoterpen dan 15,89% diterpen dengan senyawa utama 2,6,11,15-tetrametil-heksadeka-2,6,8,10,14-pentaena (8,06%).

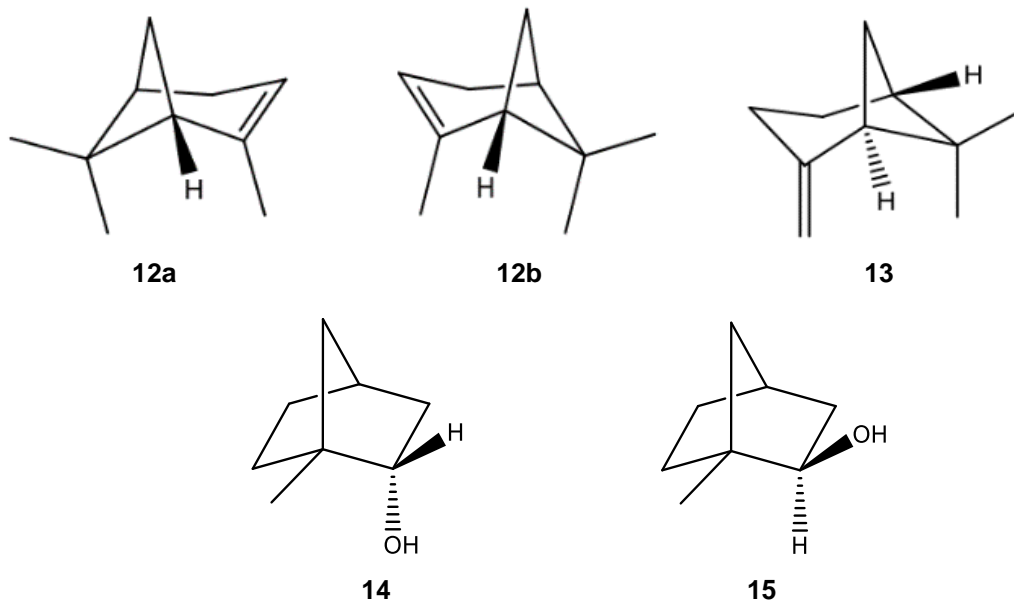
Baharudin *et al.* (2015) menyatakan bahwa aktivitas antibakteri minyak atsiri berkaitan dengan komponen kimia utama yang terkandung didalamnya. Komponen minyak atsiri secara umum dikelompokkan dalam golongan monoterpen rantai hidrokarbon, monoterpen beroksigen, seskuiterpen rantai hidrokarbon, dan seskuiterpen beroksigen.



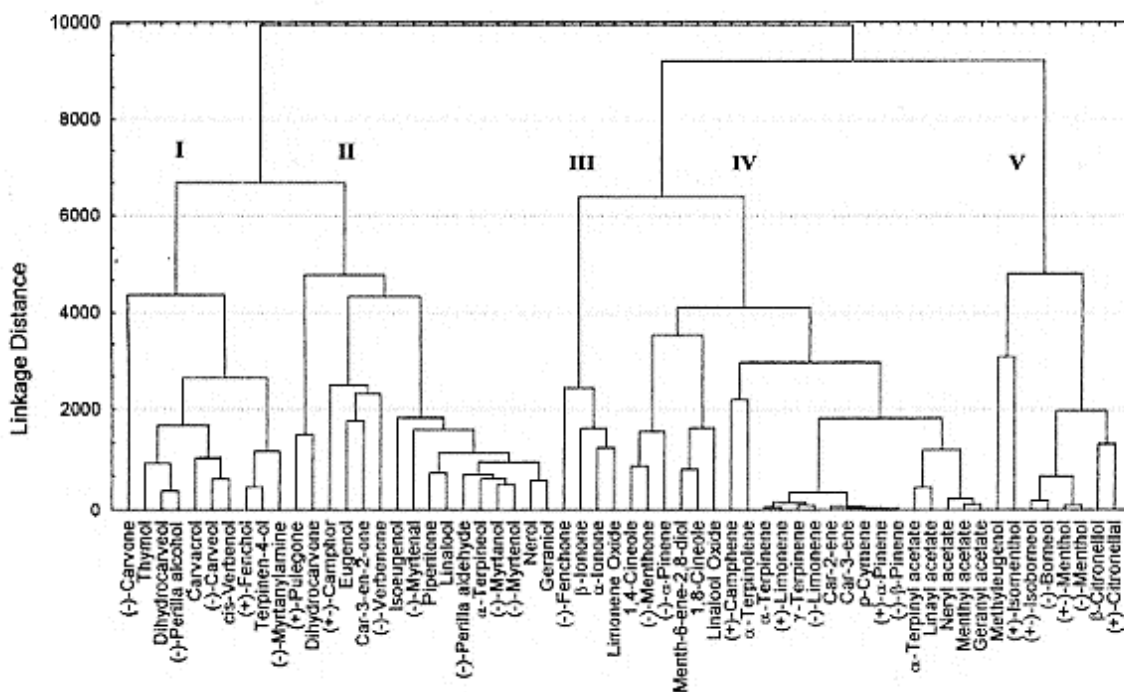
**Gambar 5.** Senyawa terpenoid yang teridentifikasi pada fraksi larut *n*-heksana dari ekstrak aseton temu mangga

Komponen utama pada minyak atsiri temu mangga adalah  $\alpha$ -pinena (**12**) dan  $\beta$ -pinena (**13**) yang diduga berkontribusi dalam aktivitasnya menghambat pertumbuhan bakteri. Bentuk  $\beta$ -isomer lebih aktif dibandingkan bentuk  $\alpha$ -isomernya. Dhar *et al.* (2014) melaporkan bahwa keoptikan stereisomer juga berperan dalam kontribusinya terhadap sifat antibakteri, (+)- $\alpha$ -pinena (**12a**) memiliki aktivitas lebih tinggi dibandingkan bentuk (-)- $\alpha$ -pinena

(**12b**). Dari penelusuran Pustaka lainnya melaporkan bahwa senyawa borneol (**14**) memiliki daya hambat bakteri kategori sedang dengan diameter zona hambat sebesar 6 mm terhadap bakteri *S. aureus* (Al-Farhan *et al.* 2010), sedangkan senyawa isoborneol (**15**) memiliki daya hambat bakteri kategori kuat dengan diameter zona hambat sebesar 19,5 mm terhadap bakteri yang sama (Zhu *et al.* 2013). **12-15** ditampilkan pada Gambar 6.



Gambar 6. Struktur kimia 12-15 komponen minyak atsiri temu mangga



Gambar 7. Kalsterisasi 60 terpenoid berdasarkan metode hierarki melalui penentuan nilai MIC pada bakteri *E. coli*, *P. aeruginosa* dan *S. aureus* (Griffin, 2000)

Griffin (2000) mengidentifikasi hubungan antara struktur 60 terpenoid dengan aktivitas antibakterinya berdasarkan nilai MIC terhadap 3 bakteri yaitu *E. coli*, *P. aeruginosa* dan *S. aureus*. Berdasarkan metode hirarki (Gambar 7) menunjukkan bahwa 60 terpenoid tersebut

terbagi menjadi 5 golongan berdasarkan aktivitas antibakterinya. Golongan terpenoid yang memiliki aktivitas antibakteri yang tinggi (grup I, II dan V) terdiri dari alkohol, keton dan aldehida sedangkan golongan yang tidak aktif (grup IV) kebanyakan terdiri dari hidrokarbon

dan asetat. Grup III memiliki aktivitas antibakteri yang sedang terdiri dari oksida dan eter. Analisis aktivitas senyawa yang terdiri dari 5 grup ini memiliki kesamaan dengan hasil yang telah dilaporkan oleh Knobloch *et al.* (1989) yaitu secara umum peningkatan efek antibakteri terpenoid mengandung gugus keton, aldehid, alkohol, fenol lebih kuat berturut-turut dari eter dan eter siklik (oksida), serta hidrokarbon dan asetat.

Kajian hubungan struktur kelompok terpenoid terhadap aktivitasnya sebagai antibakteri secara eksperimen masih sangat terbatas. Oleh karenanya, kajian perlu dikembangkan dengan bantuan metode lainnya yaitu secara *in silico*. *In silico*, suatu aplikasi teknologi komputer yang digunakan untuk memecahkan permasalahan biologis. Dengan teknik ini dapat dilakukan penapisan senyawa terpenoid yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri dan memprediksi aktivitasnya.

## KESIMPULAN

Frakasi heksana H5.2 dari ekstrak metanol temu mangga diduga mengandung senyawa utama gwikurkulakton (1); kurzerenon (2); 6-(1-hidroksimetilvinil)-4,8a-dimetil-3,5,6,7,8,8a-heksahidro-1H-naftalen-2-on (3) dan (E)-15,16-bisnorlabda-8(17),11-dien-13-on (4) berdasar analisis LC-MS/MS. Senyawa teridentifikasi sebagai senyawa terpenoid beroksigen, grup I, II, III atau IV. Hasil studi literatur menunjukkan bahwa grup terpenoid ini memiliki aktivitas sebagai antibakteri kuat atau sedang. Selain gugus fungsi pada kerangka atau rantai hidrokarbonnya, parameter yang juga berkontribusi dalam menentukan aktivitas adalah stereokimia dan sifat optis aktif dari strukturnya

## UCAPAN TERIMAKASIH

Penelitian ini bagian dari penelitian yang didanai LPPM IPB University, Bogor Indonesia. melalui Hibah Penelitian Dasar Unggulan Perguruan Tinggi (PDUPT) 2020 RISTEK-IPB No. 1/E1/KP.PTNBH/2020 dan amandemen kontrak No. 1/AMD/E1/KP.PTNBH/2020.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adila R, Nurmiati, Agustien A. (2013). Uji antimikroba *Curcuma* spp. Terhadap pertumbuhan *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *J Bio UA*. 2(1): 1-7. ISSN: 2303-2162.
- Al-Farhan KA, Warad I, Al-Resayes SI, Fouda MM, Ghazzali M. (2010). Synthesis, structural chemistry and antimicrobial activity of -(-) borneol derivative. *Cent Eur J Chem*. 8(5):1127-1133. doi:10.2478/s11532-010-1093-0.
- Awin T, Mediani A, Maulidiani, *et al.* (2016). Phytochemical profiles and biological activities of *Curcuma* species subjected to different drying methods and solvent systems: NMR-based metabolomics approach. *Ind Crops Prod*. 94:342-352. doi:10.1016/j.indcrop.2016.08.020
- Baharudin M, Hamid S, Susanti D. (2015). Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from three aromatic plants of the Zingiberaceae family in Malaysia. *Journal of Physical Science*. 26(1): 71-81
- Bikindou K, Bitemou E, Bounkou-Tsona G, Bounkoso HM, Loumouamou A, Chalard P, Figueredo G. (2020). Physico-chemical characterization and chemical profile of *Curcuma mangga* (Valeton & Zipp) essential oils acclimated in Congo-Brazzaville. *Adv Med Plant Res*. 8(3): 43-52. ISSN: 2354-2152. doi: 10.30918/AMPR.83.20.024.
- Bordoloi AK, Sperkova J, Leclercq PA. (1999). Essential oils of curcuma aromatica Salisb. From northeast India. *J Essent Oil Res*. 11(5):537-540. doi:10.1080/10412905.1999.9701209
- Chen C, Long L, Zhang F, *et al.* (2018). Antifungal activity, main active components and mechanism of *Curcuma longa* extract against *Fusarium*

- graminearum*. *PLoS One*. 13(3):1-19. doi:10.1371/journal.pone.0194284
- Cho, W., Nam, J. W., Kang, H. J., Windono, T., Seo, E. K. and Lee, K. T. (2009). Zedoarondiol isolated from the rhizoma of *Curcuma heyneana* is involved in the inhibition of iNOS, COX-2 and pro-inflammatory cytokines via the down regulation of NF- $\kappa$ B pathway in LPS-stimulated murine macrophages. *Int. Immunopharmacol.* 9(9):1049-1057.
- Dhar P, Chan P, Cohen DT, Khawam F, Gibbons F, Synder-Leiby T, Dickstein E, Rai PK, Watal G. (2014). Synthesis, antimicrobial evaluation, and structureactivity relationship of  $\alpha$ -pinene derivatives. *Agricultural and Food Chemistry*. 62:3548-3552.
- Figueiredo AC, Barroso JG, Pedro LG, Scheffer JJC. (2008). Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. *FLAVOUR FRAG J.* 23:213-226. doi: 10.1002/ffj.1875.
- Ganur A.N.A., D.U.C. Rahayu, H. Dianhar, I. Irwanto and P. Sugita. (2021). Terpenoid from Indonesian temu mangga (*Curcuma mangga*, Val) rhizomes and review of its anticancer towards MCF-7 breast cells. *AIP Conf. Proc.* 2349, 020044-1–020044-7; <https://doi.org/10.1063/5.0051538>
- Griffin S. (2000). Aspects of antimicrobial activity of terpenoids and the relationship to their molecular structure. New South Wales (AU): University of Western Sydney.
- Henjani N. Fathurrahman. Hadi Z. (2018). Efektivitas ekstrak temu mangga (*Curcuma mangga*) sebagai senyawa sitotoksik dalam kemopreventif dan strategi kemoterapi. *Dinamika Kesehatan*. 9(2): 458-466.
- Herath HMIC, Wijayasiriwardene TDCMK, Premakumara GAS. (2017). Comparative GC-MS analysis of all *Curcuma* species grown in Sri Lanka by multivariate test. *Ruhuna J Sci.* 8(2):103. doi:10.4038/rjs.v8i2.29
- Ibrahim TA, Opawale BO, Oyinloye JMA. (2011). Antibacterial activity of herbal extracts against multi drug resistant strains of bacterial from clinical origin. *Life Sci Leaflet*. 15:490-498.
- Jarikasem S, Thubthimthed S, Chawanoraseth K, Suntornatanasat T, Brophy JJ. (2005). Essential oils from three *Curcuma* species collected in Thailand. *Acta Hort.* 675:37-40. doi:10.17660/ActaHortic.2005.675.4
- Kaewkroek K, Wattanapiromsakul C, Tewtrakul S. (2010). Anti-inflammatory mechanisms of compounds from *Curcuma mangga* rhizome using RAW264.7 macro phage cells. *Nat Prod Com.* 5(10): 1547-1550
- Kamazeri T, Samah O, Taher M, Susanti D, Qaralleh H. (2012). Antimicrobial activity and essential oils of *Curcuma aeruginosa*, *Curcuma mangga*, and *Zingiber cassumunar* from malaysia. *Asian Pasific Journal of Tropical Medicine*. 5(3): 202-209. ISSN: 1995-7645. doi: 10.1016/S19957645(12)60025-X.
- Kementerian Kesehatan RI. (2015). Pusat Data dan Informasi. Jakarta selatan.
- Knobloch K, Pauli A, Iberl B, Weigand H, Weis N. (1989). Antibacterial and antifungal properties of essential oil components. *J Essent Oil Res.* 1(3):119–128. doi:10.1080/10412905.1989.9697767.
- Kouno I, Kawano N. (1985). Structure of a guaiane from *Curcuma zedoaria*. *Phytochemistry*. 24(8):1845- 1847. doi:10.1016/S0031-9422(00)82567-4
- Li P, Su W, Xie C, Zeng X, Peng W, Liu M. (2015). Rapid Identification and Simultaneous Quantification of Multiple Constituents in Nao-Shuan-Tong Capsule by Ultra-Fast Liquid Chromatography/Diode-Array Detector/Quadrupole Time-of-Flight Tandem Mass Spectrometry. *J Chromatogr Sci.* 53(6):886-897. doi:10.1093/chromsci/bmu137
- Liu F, Bai X, Yang FQ, et al. (2016). Discriminating from species of *Curcumae radix* (Yujin) by a UHPLC/QTOFMS-based metabolomics approach. *Chinese Med (United Kingdom)*. 11(1):1-11. doi:10.1186/S13020-016-0095-8
- Liu Y, Nair MG. (2012). *Curcuma longa* and *Curcuma mangga* leaves exhibit functional food property. *Food Chem*. 135: 634-640.
- Makabe H, Maru N, Kuwabara A, Kamo T, Hirota M. (2006). Anti-inflammatory sesquiterpenes from *Curcuma zedoaria*. *Nat Prod Res.* 20(7):680-685. doi:10.1080/14786410500462900
- Malek SN, Lee GS, Hong SL, Yaacob H, Wahab NA, Faizal WJB, Shah SA. (2011). Phytochemical and cytotoxic investigation

- of *Curcuma mangga* rhizome. *Molecules*. 16(6): 4539-4548.
- Malek N, Seng CK, Zakaria Z, Ali NA, Ibrahim H, Jalil MN. (2006). The essential oil of *Curcuma inodora* aff. blatter from malaysia. *J Essent Oil Res*. 18(3):281-283. doi:10.1080/10412905.2006.9699088
- Matsuda H, Tewtrakul S, Morikawa T, Nakamura A, Yoshikawa M. (2004). Anti-allergic principles from Thaizeoary: Structural requirements of curcuminoids for inhibition of degranulation and effect on the release of TNF- $\alpha$  and IL-4 in RBL-2H3 cells. *Bioorganic Med Chem*. 12(22):5891-5898. doi:10.1016/j.bmc.2004.08.027
- Philip, K., Malek, S. N. A., Sani, W., Shin, S. K., Kumar, S., Lai, H. S., Serm, L. G. & Rahman, S. N. (2009). Antimicrobial Activity of Some Medicinal Plants from Malaysia. *American Journal of Applied Sciences*, 6(8), 1613-1617. <https://doi.org/10.3844/ajassp.2009.1613.1617>
- Pratiwi R, Alam G, Rante H, Massi N. 2020. Anti *Mychobacterium tuberculosis* activity strain H37Rv and MDR (*Multi Drug Resistant*) from *Curcuma mangga* Val. Rhizome extract. *GALENIKA J Pharm*. 6(1): 70-76. Doi: 10.22487/j24428744.2020.v6.il.13102.
- Purkayastha J, Nath SC, Klinkby N. 2006. Essential oil of the rhizome of *Curcuma zedoaria* (christm.) rose. native to northeast India. *J Essent Oil Res*. 18(2):154-155. doi:10.1080/10412905.2006.9699050
- Purwantiningsih, Hartono, Firdaus SO, et al. 2019. Sesquiterpenes from Indonesian of *Curcuma aeruginosa* rhizome and its antibacterial activities. *Drug Invent Today*. 11(2):386-390
- Rahayu DUC, Hartono, Sugita P. 2018. Antibacterial activity of curcumenol from rhizomes of Indonesian *Curcuma aeruginosa* (Zingiberaceae). *RASAYAN J Chem*. 11(2): 762-765. ISSN: 0974-1496.
- Ramadanil, Damry, Rusdi, Hamzah B, Zubair MS. 2019. Traditional usage and phytochemical screenings of selected Zingiberaceae from central Sulawesi, Indonesia. *Pharmacogn J*. 11(3): 505-510
- Salamah, Nina, Widyasari, Erlinda. 2015. Aktivitas antioksidan ekstrak metanol daun kelengkeng (*Euphoria longan* (L) Steud.) dengan metode penangkapan radikal 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil. *Pharmaciana*. 5(1): 25-34.
- Shiobara Y, Asakawa Y, Kodama M, Takemoto T. 1986. Zedoarol, 13-hydroxygermacrone and curzeone, three sesquiterpenoids from *Curcuma zedoaria*. *Phytochemistry*. 25(6):1351-1353. doi:10.1016/S0031-9422(00)81288-1
- Singh S, Kumar JK, Saikia D, Shanker K, Thakur JP, Negi AS, Banerjee S. 2010. A bioactive labdane diterpenoid from *Curcuma amada* and its semisynthetic analogues as antitubercular agents. *Eur J Med Chem*. 45: 4379-4382. DOI: 10.1016/j.ejmech.2010.06.006.
- Singh P, Singh S, Kapoor IPS, Singh G, Isidorov V, Szczepaniak L. 2013. Chemical composition and antioxidant activities of essential oil and oleoresins from *Curcuma zedoaria* rhizomes, part-74. *Food Biosci*. 3:42-48. doi:10.1016/j.fbio.2013.06.002
- Sugita P, Firdaus SO, Ilmiawati A, Rahayu DUC. 2018. Curcumenol : A Guaiane-Type Sesquiterpene from Indonesian *Curcuma heyneana* Rhizome and it's Antibacterial Activity Towards *Staphylococcus Aureus* and *Escherichia Coli*. *J Chem Pharm Res*. 10(6):68- 75.
- Thainaa P., P. Tungcharoena, M. Wongnawaa, W. Reanmongkol, S. Subhadhirasakul. 2009. Uterine relaxant effects of *Curcuma aeruginosa* Roxb. rhizome extracts. *Journal of Ethnopharmacology* 121: 433–443. DOI:10.1016/j.jep.2008.10.022
- Vairappan, C. S., Elias, U. M., Ramachandram, T. R. and Kamada, T. 2013. Secondary metabolites from rhizome of *Curcuma caesia* Roxb. (Zingiberaceae). *Biochem. Syst. Ecol*. 48, 107-110
- Wahab I, Blagojevic P, Radulovic N, Boylan F. 2011. Volatiles of *Curcuma mangga* Val. and Zijp (Zingiberaceae) from Malaysia. *Chemistry & Biodiversity*. 8(1): 2005-2014.
- Wang D, Huang W, Shi Q, Hong C, Cheng Y, Ma Y, Qu H. 2008. Isolation and cytotoxic activity of compound from the root tuber of *Curcuma wenyujin*. *Natural Product Communications*. 3(6): 861-864.
- Wong KC, Chong TC, Chee GS. 1999. Essential oil of *Curcuma mangga* Val. And van Zijp rhizomes. *J Essent Oil Res*. 11: 349-351.
- Yang FQ, Li SP, Chen Y, et al. 2005. Identification and quantitation of eleven sesquiterpenes in three species of

- Curcuma rhizomes by pressurized liquid extraction and gas chromatography-mass spectrometry. *J Pharm Biomed Anal.* 39(3-4):552-558.  
doi:10.1016/j.jpba.2005.05.001
- Yuandani, Y. and Yuliasmi, S. 2018. "CURCUMINOIDS ANALYSIS IN *Curcuma mangga* RHIZOMES", *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 11(13): 129–131. doi: 10.22159/ajpcr.2018.v11s1.26586.
- Yuandani, Yuliasmi S, Satria D, Dongoran RF, Sinaga MS, Merpaung NHA. 2019. Correlation between the phytochemical constituents of *Curcuma mangga* and its immunomodulatory effect. *RASAYAN J Chem.* 12(1): 1-6. Doi: 10.31788/RJC.2019.1215050.
- Yurleni. 2018. Penggunaan beberapa metode ekstraksi pada rimpang *Curcuma* untuk memperoleh komponen aktif secara kualitatif. *Biospecies.* 11(1): 48-56.
- Zeng JH, Xu GB, Chen X. 2009. Application of the chromatographic fingerprint for quality control of essential oil from Guangxi *Curcuma kwangsiensis*. *Med Chem Res.* 18(2):158-165. doi:10.1007/s00044-008-9115-2
- Zhang, C., Ji, J., Ji, M. and Fan, P. 2015. Acetylcholinesterase inhibitors and compounds promoting SIRT1 expression from *Curcuma xanthorrhiza*. *Phytochemistry Letters.* 12: 215–219.
- Zhang, Y.; T. Xiaoping; Tu Xiao; L. Fei; Wang.Gaoxue. 2020. Efficacy and antiparasitic mechanism of curdione from *Curcuma zedoaria* against *Gyrodactylus kobayashii* in goldfish. *Aquaculture*, 523(), 735186–  
. doi:10.1016/j.aquaculture.2020.735186
- Zhu J, Lower-Nedza AD, Hong M, Jiec S, Wang Z, Yingmao D, Tschiggerl C, Bucar F, Brantner AH. 2013. Chemical composition and antimicrobial activity of three essential oils from *Curcuma wenyujin*. *Nat Prod Commun.* 8(4):523–526.  
doi:10.1177/1934578x1300800430.