

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI MINYAK ATSIRI DARI KOMBINASI DAUN
KEMANGI (*Ocimum basilicum* L.) DAN DAUN JERUK PURUT
(*Citrus hystrix* DC.) TERHADAP *Staphylococcus aureus*
ATCC 25923**



oleh :

Doni Wijaya
19133774 A

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI MINYAK ATSIRI DARI KOMBINASI DAUN
KEMANGI (*Ocimum basilicum* L.) DAN DAUN JERUK PURUT
(*Citrus hystrix* DC.) TERHADAP *Staphylococcus aureus*
ATCC 25923**

SKRIPSI

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
derajat Sarjana Farmasi (S.Farm)
Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi*

Oleh:

**Doni Wijaya
19133774 A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI MINYAK ATSIRI DARI KOMBINASI DAUN
KEMANGI (*Ocimum basilicum* L.) DAN DAUN JERUK PURUT (*Citrus hystrix* DC.)
TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

Oleh

**Doni Wijaya
19133774 A**

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada Tanggal : 12 Juni 2017

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi
Dekan,



Oetari, SU., MM., MSc., Apt.

Pembimbing Utama,

Fransiska Leviana, M.Sc., Apt.

Pembimbing Pendamping,

Destik Wulandari, S. Pd., M.Si

Penguji :

1. Dr. Titik Sunarni, M. Si., Apt
2. Dra. Noni Puspawati, M. Si
3. Sunarti, M. Sc., Apt
4. Fransiska Leviana, M. Sc., Apt

1.

2.

3.

4.

PERSEMBAHAN

Kesuksesan selalu disertai dengan kegagalan.

Sukses bukanlah sebuah akhir dan *Kegagalan* bukanlah sebuah awal.

Untuk mendapatkan kesuksesan, *Keberanianmu* harus

lebih besar daripada *Ketakutanmu*.

Sukses tidak diukur menggunakan *Kekayaan*, sukses adalah sebuah pencapaian yang kita inginkan.

Lakukan apapun yang kamu sukai, jadilah konsisten, dan sukses akan datang dengan sendirinya.

“Think big, and act now!!!”

Jangan takut melangkah, karena jarak 1000 km dimulai dari satu langkah. Sebuah tindakan adalah dasar dari sebuah kesuksesan.

Kupersembahkan Skripsi ini untuk :

- ♥ *Allah SWT. Terima Kasih Ya Allah, telah beri hamba kesehatan dan ridho-Nya untuk menyelesaikan kuliah dengan ditutup karya skripsi ini.*
- ♥ *My beloved family, Bapak dan mamaku tercinta yang senantiasa mendidik, memberikan dorongan materi, doa, perhatian serta kasih sayangnya yang tiada tara hingga anakmu ini bisa lulus.*
- ♥ *Dosen pembimbingku mami ismi & mami vivin. Terima kasih sudah membimbing dan meluangkan waktu untuk membagikan ilmunya.*
- ♥ *Spesial thanks Tersayangku(M.UZ) yang telah banyak membantu dan memberikan semangat dan motivasinya.*
- ♥ *Teman seperjuanganku *Stafylococcus aureus* dilaboratorium(Ria,Josevin,Adityo,Syahdad,Lalu januar) yang saling membantu dan bersemangat setiap hari.*
- ♥ *Teman seangkatan seperjuanganku yang gak bisa disebutin satu-satu*
For everyone who have supported me, Thanks All.
 - ♥ *Almamater Kebanggaanku Fakultas Farmasi USB 2012.*
 - ♥ *Agama, Bangsa dan Negara ku Indonesia.*

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka. Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, 13 April 2016



Nur Widyawati Ningsih Rahayu

KATA PENGANTAR

Assalammu'alaikum Wr.Wb

Puji syukur kehadirat Allah SWT, karena atas segala rahmat dan hidayahNya, Penulis dapat menyelesaikan Skripsi guna memenuhi persyaratan untuk mencapai derajat Sarjana Farmasi (S.Farm) di Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

Alhamdulillahirobbil'alamin, akhirnya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI MINYAK ATSIRI DARI KOMBINASI DAUN KEMANGI (*Ocimum basilicum* L.) DAN DAUN JERUK PURUT (*Citrus hystrix* DC.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923”** diharapkan dapat memberikan sumbangan bagi ilmu pengetahuan dalam bidang teknologi farmasi.

Penyusunan Skripsi ini tidak bisa lepas dari bantuan banyak pihak baik secara langsung maupun tidak langsung, oleh karena itu Penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. Allah SWT yang senantiasa memberikan anugerah, nikmat serta petunjuk disetiap langkah hidupku.
2. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA., selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
3. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.
4. Fransiska Leviana, M.Sc., Apt. selaku Dosen Pembimbing yang telah banyak memberikan ilmu, masukan, pengarahan dan bimbingan selama penyusunan Skripsi ini.

5. Destik Wulandari, S. Pd., M.Si. selaku Dosen Pembimbing yang telah banyak memberikan ilmu, masukan, pengarahan dan bimbingan selama penyusunan Skripsi ini.
6. . selaku Dosen Penguji yang telah meluangkan waktu untuk menguji dan memberikan masukan untuk Skripsi ini.
7. . selaku Dosen Penguji yang telah meluangkan waktu untuk menguji dan memberikan masukan untuk Skripsi ini.
8. Segenap dosen, instruktur laboratorium yang banyak memberikan bantuan dan kerjasama selama penyusunan penelitian Skripsi ini.
9. B2P2TOOT yang telah berkenan memberikan kesempatan kepada penulis untuk memperoleh tanaman Kulit kayu manis dan Sereh yang berguna untuk penelitian Skripsi ini.
10. Orang tuaku (Alm. Slamet Yulianto&Sri Fatonah) tercinta, adikku, semua saudara dan teman yang telah membantu, mendukung, dan memberi semangat serta doa.

Tak ada gading yang tak retak, begitu pula dengan penyusunan Skripsi ini. Penulis menyadari banyak kekurangan dan masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu Penulis mengharap segala saran dan kritik dari pembaca untuk menyempurnakan Skripsi ini. Semoga Skripsi ini bisa berguna bagi siapa saja yang membacanya.

Wallaikumsalam Wr.Wb

Surakarta, 13 April 2016

Doni Wijaya

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
PENGESAHAN SKRIPSI	ii
PERSEMBAHAN.....	iii
PERNYATAAN.....	iv
DAFTAR ISI.....	vii
INTISARI.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Kegunaan Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
A. Daun Kemangi.....	5
1. Sistematika daun kemangi.....	5
2. Nama daerah.....	5
3. Morfologi kemangi.....	5
4. Kandungan kimia	6
5. Kegunaan tanaman	6
B. Daun Jeruk Purut	6
1. Sistematika jeruk purut.....	6
2. Nama daerah.....	6
3. Morfologi jeruk purut.....	7
4. Kandungan kimia	7
5. Kegunaan.....	7
C. Simplisia	7
1. Pengertian simplisia	7
2. Pengumpulan simplisia.....	8
3. Cara pembuatan simplisia	8
4. Pengemasan dan penyimpanan.....	8
D. Destilasi	9
E. Minyak Atsiri.....	10
1. Pengertian.....	10
2. Sifat minyak atsiri	11
3. Metode isolasi minyak atsiri.....	11

4.	Identifikasi minyak atsiri.....	12
5.	Penetapan bobot jenis minyak atsiri.....	12
6.	Uji kelarutan dalam alkohol 70%.....	12
F.	<i>Staphylococcus aureus</i>	12
1.	Sistematika <i>Staphylococcus aureus</i>	12
2.	Morfologi dan sifat.....	13
3.	Patogenesis.....	14
G.	Antibakteri.....	15
H.	Siprofloksasin.....	16
I.	Metode Difusi.....	16
J.	Kombinasi Obat.....	17
K.	Landasan Teori.....	18
L.	Hipotesis.....	19
BAB III METODE PENELITIAN.....		20
A.	Populasi dan Sampel.....	20
1.	Populasi.....	20
2.	Sampel.....	20
B.	Variabel Bebas.....	20
1.	Identifikasi variabel utama.....	20
2.	Klasifikasi variabel utama.....	20
3.	Definisi operasional variabel utama.....	21
C.	Alat dan Bahan.....	22
1.	Alat.....	22
2.	Bahan.....	22
D.	Jalannya Penelitian.....	23
1.	Determinasi tanaman.....	23
2.	Pengambilan bahan.....	23
3.	Isolasi minyak atsiri.....	23
4.	Analisis minyak atsiri.....	24
4.1	Pengamatan organoleptik.....	24
4.2	Identifikasi minyak atsiri.....	24
4.3	Penetapan indeks bias minyak atsiri.....	24
4.4	Penetapan bobot jenis minyak atsiri.....	24
4.5	Penetapan kelarutan dalam alkohol.....	25
4.6	Karakterisasi komponen senyawa penyusun minyak atsiri dengan <i>Gas Chromatography-Mass Spectrometry</i> (GC-MS).....	25
5.	Sterilisasi.....	25
6.	Pembuatan suspensi bakteri uji <i>Staphylococcus aureus</i>	25
7.	Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	26
7.1	Identifikasi berdasarkan koloni.....	26
7.2	Identifikasi mikroskopis secara morfologi.....	26
7.3	Identifikasi biokimia.....	26
8.	Pengujian aktivitas antibakteri.....	27
E.	Analisis Hasil.....	27

BAB IV	HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	32
A.	Hasil Penelitian.....	32
1.	Determinasi tanaman.....	32
2.	Pengambilan bahan.....	32
3.	Isolasi minyak atsiri.....	32
4.	Analisi minyak atsiri	33
5.	Pembuatan suspensi bakteri uji	37
6.	Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 berdasarkan koloni	37
7.	Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 berdasarkan mikroskopis	37
8.	Hasil Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 berdasarkan fisiologi-katalase	38
9.	Hasil Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 berdasarkan fisiologi-koagulasi.....	38
10.	Hasil pengujian aktivitas antibakteri minyak atsiri daun jeruk purut dan kemangi secara difusi.....	39
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN	42
A.	Kesimpulan.....	42
B.	Saran.....	42
	DAFTAR PUSTAKA	43
	LAMPIRAN.....	49

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Skema isolasi minyak atsiri daun kemangi	28
Gambar 2. Skema isolasi minyak atsiri daun jeruk purut	29
Gambar 3. Skema pembuatan suspensi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	30
Gambar 4. Skema pengujian aktivitas antibakteri secara difusi	31

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Rendemen minyak atsiri daun kemangi	32
Tabel 2. Rendemen minyak atsiri daun jeruk purut	33
Tabel 3. Hasil pemeriksaan organoleptik minyak daun kemangi	33
Tabel 4. Hasil pemeriksaan organoleptik minyak atsiri daun jeruk purut	33
Tabel 5. Identifikasi minyak atsiri daun kemangi	34
Tabel 6. Identifikasi minyak atsiri daun jeruk purut	34
Tabel 7. Indeks bias minyak atsiri.....	34
Tabel 8. Hasil penetapan bobot jenis minyak atsiri daun kemangi.....	35
Tabel 9. Hasil penetapan bobot jenis minyak atsiri daun jeruk purut.....	35
Tabel 10. Hasil analisis komponen utama minyak kemangi dengan GC-MS	36
Tabel 11. Hasil analisis komponen utama minyak atsiri jeruk purut dengan GC-MS	36
Tabel 12. Diemeter hambat tunggal dari uji difusi minyak atsiri	40

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil determinasi tanaman kemangi.....	50
Lampiran 2. Hasil determinasi tanaman daun jeruk purut.....	51
Lampiran 3. Kemangi, daun jeruk purut dan destilasi.....	52
Lampiran 4. Minyak atsiri kemangi, daun jeruk purut dan alat.....	53
Lampiran 5. Alat sterilisasi.....	54
Lampiran 6. Bahan uji antibakteri.....	55
Lampiran 7. Identifikasi minyak atsiri dan kelarutan dalam alkohol.....	56
Lampiran 8. Penetapan indeks bias minyak atsiri.....	57
Lampiran 9. Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	58
Lampiran 10. Hasil uji aktivitas antibakteri dengan difusi.....	59
Lampiran 11. Perhitungan kadar minyak atsiri kemangi dan daun jeruk purut...	61
Lampiran 12. Perhitungan bobot jenis minyak atsiri.....	62
Lampiran 13. Hasil analisis GCMS minyak atsiri.....	65
Lampiran 14. Perhitungan dosis kombinasi minyak atsiri konsentrasi 50% dan 25% dalam 1 ml.....	71
Lampiran 15. Diameter daya hambat tunggal dan kombinasi dari uji difusi minyak atsiri.....	72
Lampiran 16. Hasil analisis dengan SPSS.....	76
Lampiran 17. Komposisi media.....	80

INTISARI

WIJAYA D, 2017, UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI KOMBINASI MINYAK ATSIRI DAUN KEMANGI (*Ocimum basilicum* L.) DAN DAUN JERUK PURUT (*Citrus hystrix*) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Penyakit infeksi yang disebabkan *Staphylococcus aureus* merupakan penyebab infeksi piogenik (menghasilkan pus) dengan tanda-tanda khas yaitu peradangan dan pembentukan abses. Pengobatan penyakit infeksi dapat menggunakan obat modern maupun tradisional yang dikombinasikan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas dari kombinasi minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) yang khasiat sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah difusi. Konsentrasi yang digunakan pada difusi adalah 50%, 25% dengan perbandingan kombinasi daun kemangi dan daun jeruk purut (1:1; 1:2; 1:3; 2:1; 3:1). Data yang diperoleh diolah dengan analisis statistik *Analysis of Variance* (ANOVA) dengan metode dua jalur, sehingga didapat hasil signifikansi dari data tersebut.

Hasil dari uji difusi dengan cakram kombinasi yang paling efektif pada daun kemangi dan daun jeruk purut ialah perbandingan 1:1 dan 1:3 dengan diameter rata-rata adalah $16,96 \pm 0,6806$. Berdasarkan hasil uji aktivitas yang telah dilakukan, pemberian kombinasi minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kata kunci: Antibakteri, *Staphylococcus aureus*, Kombinasi, Minyak Atsiri, *Ocimum basilicum* L, *Citrus hystrix*.

ABSTRACT

WIJAYA D, 2017, ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST COMBINATION OF ESSENTIAL OIL *Ocimum basilicum* L. AND *Citrus hystrix* AGAINST *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, SKRIPSI, FACULTY OF PHARMACY, UNIVERSITY OF SETIA BUDI, SURAKARTA.

Infectious disease caused by *Staphylococcus aureus* is the leading cause pyogenic infections (pus) with typical signs that inflammation and the formation of abscesses. Treatment of infectious diseases can use modern medicine and traditional combined. This study was aimed to determine the activity of the combination of essential oils of *Ocimum basilicum* L. and *Citrus hystrix* which efficacious as an antibacterial against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

The method used in this study was the diffusion. The concentration used in diffusion were 50% with a ratio the combination of *Ocimum basilicum* L. and *Citrus hystrix* (1: 1; 1: 2; 1: 3; 2: 1; 3: 1). The data obtained were processed with statistical analysis Analysis of Variance (ANOVA) with a two-track method, so the significance of the results obtained from these data.

The results of disc diffusion test with the most effective combination of *Ocimum basilicum* L. and *Citrus hystrix* was a ratio of 1:1 and 1: 3 with diameter average of $16,96 \pm 0,6806$. Based on the test results of the activities that have been done, giving a combination of essential oils of *Ocimum basilicum* L. and *Citrus hystrix* could inhibit the growth of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Keywords: Antibacterial, *Staphylococcus aureus*, Combination, Essential Oils, *Ocimum basilicum* L. and *Citrus hystrix*.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Penyakit infeksi merupakan penyakit yang menjadi masalah serius dikalangan masyarakat sekarang. Penggunaan antibiotik dari beberapa kombinasi semula dipercaya dapat memusnahkan bakteri penyebab infeksi, ternyata dapat menimbulkan masalah baru yaitu timbulnya bakteri yang resisten. Masalah ini mendorong para peneliti untuk mencari obat baru yang lebih efektif untuk mengatasi penyakit infeksi salah satunya dengan memanfaatkan bahan-bahan yang berasal dari alam. Mengingat kandungan khasiat tanaman obat yang sangat bermanfaat bagi kesehatan dan terbukti efektif, efisien, ekonomis, maka sudah saatnya pemanfaatan tanaman obat dioptimalkan (Wijayakusuma *et al* 1992; Saepudin *et al* 2007).

Infeksi terjadi akibat mikroorganisme patogen seperti bakteri, virus, parasit, dan jamur (Jawet *et al* 2001) yang masuk ke dalam tubuh inang dan mengadakan pertumbuhan atau replikasi (Pratiwi 2008). Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri normal pada mulut dan saluran pernafasan tetapi dalam keadaan tidak normal bersifat patogen, menyebabkan infeksi pada kulit gejala yang disebabkan *Staphylococcus aureus* spesifik yaitu peradangan (Jawetz *et al* 2001). Bakteri *Staphylococcus aureus* ini mudah tumbuh di permukaan kulit yang mengalami radang, kulit yang terluka menyebabkan infeksi mengalami proses-proses bernanah. Masalah tersebut menyebabkan, diperlukannya penelitian pengembangan antibakteri dari bahan alam, khususnya tanaman. Penggunaan tanaman dalam terapi berbagai keuntungan diantaranya mengenai keamanan dan keefektifan (Viswanad *et al* 2011) dan mempunyai efek samping yang relatif lebih kecil dibanding penggunaan obat-obat kimia (Sudewo 2005).

Daun kemangi dan daun jeruk purut merupakan salah satu tanaman yang potensial untuk menghasilkan minyak atsiri di Indonesia tetapi belum dikembangkan, banyak digunakan masyarakat sebagai bahan masakan mempunyai aroma khas pada makanan. Daun kemangi dan daun jeruk purut

tersebut memiliki kandungan minyak atsiri dan potensi antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* (Ratna *et al* 2011; Maryati *et al* 2007).

Daun kemangi adalah tanaman yang mudah didapatkan tersebar hampir diseluruh Indonesia karena dapat tumbuh liar maupun dibudidayakan (Sudarsono *et al* 2002). Secara tradisional tanaman kemangi digunakan sebagai obat sakit perut, obat demam, menghilangkan bau mulut, dan sebagai sayuran. Daun kemangi memiliki senyawa aktif seperti minyak atsiri, alkaloid, saponin, flavonoid, triterpenoid, steroid, tannin dan fenol. Beberapa golongan kandungan kimia tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Klebsiella pneumonia* seperti senyawa alkaloid, minyak atsiri dan fenol. Sifat dari penghambatan ini disebut sebagai bakteriostatik atau bakteriosida (Hadipoentyanti & Wahyuni 2008).

Banyak dilakukan penelitian tentang kemampuan ekstrak maupun minyak atsiri tumbuhan sebagai agen antibakteri (Ramesh & Satakopan 2010). Minyak atsiri adalah minyak eteris (*essential oils*) yang merupakan ekstrak alami dari berbagai jenis tumbuhan (Gunawan 2009). Minyak atsiri di dalam genus *ocinum* mengandung senyawa eugenol, osimen, pinen, linalool, sineol, geraniol, metil kavikol, metil sinamat, sitral, kamfor, timol, benzyl, sitronella, lineon, dan lain-lain (Martono *et al* 2004). Minyak atsiri dari daun kemangi memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dengan KBM 0,4% sebanding dengan ampicillin trihidrat 150 mg/ml dengan metode difusi agar (Marianne & sinaga K.R 2006) dan nilai KHM sebesar 3,12-25% (Adeola *et al.*, 2012).

Penelitian Hussain *et al* (2008) membuktikan bahwa minyak atsiri daun kemangi mempunyai komponen utama linalool (56,7-60,6%) dimana mampu melawan 9 mikroorganisme patogen diantaranya pada bakteri *Staphylococcus aureus* dengan diameter zona hambat sebesar 22,2-24,4 mm. Penelitian (Maryati *et al* 2007; Lestarie 2014) menunjukkan daun kemangi memiliki aktivitas antibakteri dengan nilai KBM 0,5% dan KHM 100 % dengan diameter 4,85 mm terhadap *Staphylococcus aureus*. Penelitian Pratiwi (2016) menggunakan kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan kayu manis memiliki aktivitas

antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dengan nilai KBM 1,56% dan KHM 100% yaitu perbandingan kombinasi 1:1 dengan diameter hambat 17,16 mm.

Tanaman jeruk purut merupakan salah satu yang memiliki aktivitas antibakteri adalah buah jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.). Minyak atsiri buah jeruk purut mengandung sitronelal, sitronelol, linalol dan geraniol. Ekstrak etil asetat dari buah jeruk purut memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*, *Bacillus sereus*, *Listeria monocytogenes*, dan *Saccharomyces cerevisiae* var. *sake* (Chanthapon *et al* 2008). Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa minyak atsiri daun jeruk purut mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dengan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) berturut-turut sebesar 1 dan 2% (Ratna *et al.* 2011). Komponen utama minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) adalah β -sitronelal, monoterpen (66,85% dari total minyak atsiri) yang diikuti oleh β -sitronelol, linalool, dan sitronelol (Loh *et al* 2011). Sitronelal memiliki aktivitas antibakteri yang tinggi ditunjukkan dengan zona hambat sebesar 19 mm dan nilai KHM dan KBM sebesar 1,1 mg/ml (Vimol *et al* 2012).

Berdasarkan uraian tersebut, penulis tertarik melanjutkan penelitian dengan melakukan minyak atsiri dari kombinasi daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) untuk mengetahui aktivitas dari minyak atsiri tanaman tersebut yang berkhasiat sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan menggunakan metode difusi.

B. Rumusan Masalah

Permasalahan yang dihadapi adalah :

Apakah minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) atau kombinasi dari keduanya memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ?

Manakah dari minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) atau kombinasi dari keduanya yang

memiliki aktivitas antibakteri paling efektif terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah :

Mengetahui apakah minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) atau kombinasi dari keduanya memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Mengetahui minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) atau kombinasi dari keduanya yang memiliki aktivitas paling efektif terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

D. Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat dijadikan bukti ilmiah tentang efek kombinasi dari tanaman daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Penelitian ini dapat pula memberikan informasi bagi ilmu pengetahuan khususnya di bidang tanaman obat tradisional yang saat ini masih berdasarkan pengalaman, serta kepada khalayak masyarakat tentang kombinasi penggunaan daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) sebagai salah satu alternatif dalam pengobatan infeksi akibat *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Daun Kemangi

1. Sistematika daun kemangi

Ocimum basilicum L. atau yang sering dikenal di Indonesia dengan nama kemangi mempunyai sistem klasifikasi seperti berikut ini :

Kingdom	: Plantae
Super divisi	: Angiospermae
Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Dicotyledone
Ordo	: Euphorbiales
Family	: Euphorbiaceae
Genus	: Acalypha
Spesies	: <i>Ocimum basilicum</i> L. (Depkes 1985)

2. Nama daerah

Setiap daerah mempunyai bermacam-macam nama untuk tanaman kemangi (*Ocimum basilicum* L.). Berikut ini adalah nama-nama tanaman kemangi berbagai daerah Indonesia.

Jawa : lampes (Sunda), kemangi, rook-roko (Madura). Bali: uku-uku, Maluku : Lufe-lufe (Ternate), Sumatera : balakama, kemangi utan, ruku-ruku (Depkes 2011).

3. Morfologi kemangi

Tanaman kemangi mempunyai deskripsi morfologi : batang tegak bercabang, tinggi 0,6 - 0,9 m, batang dan cabang hijau atau kadang-kadang keunguan. Daun *Ocimum basilicum* panjangnya mencapai 2,5 - 5 cm atau lebih, bentuk bulat telur, seluruh atau lebih atau kurang bergigi. Tangkai daun panjangnya 1,3 - 2,5 cm. Daun memiliki banyak titik seperti kelenjar minyak yang mengeluarkan minyak atsiri sangat wangi. Tangkai penunjang, lebih pendek dari kelopak, ovate dan akut. Kelopak panjangnya 5 mm, pembesaran dalam buah. Bibir bawah dengan dua gigi tengah lebih panjang dari bibir atas. Corolla

panjangnya 8 - 13 mm berwarna putih, merah muda atau keunguan. Filamen atas benang sari sedikit bergigi (Bilal *et al* 2012).

4. Kandungan kimia

Minyak kemangi mengandung sejumlah senyawa terpen seperti *linalool*, *cineole*, *eugenol*, *isocaryophyllene*, *methyl cinnamate*, dan *a-cubebene* (Ismail 2006). Menurut Sastry *et al.* (2012) minyak kemangi juga mengandung *methyl chavicol*, *limonene*, dan β -*carophyllene*.

5. Kegunaan tanaman

Kemangi telah digunakan sebagai obat tradisional untuk sejumlah besar penyakit termasuk kebosanan, kanker, kejang, tuli, diare, epilepsi, asam urat, cegukan, impotensi, kegilaan, mual, sakit tenggorokan, sakit gigi, dan batuk rejan (Sullivan 2009). *Ocimum basilicum* juga mempunyai aktivitas farmakologi sebagai antivirus, larvasida, dan antimikroba (Kashyap *et al* 2011).

B. Daun Jeruk Purut

1. Sistematika jeruk purut

Citrus hystrix termasuk ke dalam suku jeruk-jerukan (Rutaceae).

Klasifikasi *Citrus hystrix* menurut USDA (2015) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Superdivisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Sapindales
Family	: Rutaceae
Genus	: <i>Citrus</i>
Spesies	: <i>Citrus hystrix</i> D.C.

2. Nama daerah

Sumatera : unte mukur, u.pangir (Batak), lemau purut, Isarakan (Lampung), lemao puruik (Minangkabau), dema kafalo (Nias). Jawa : limau purut, jeruk purut (Sunda,Jawa). Bali : jeruk linglang, jeruk purut. Flores : mude matang

busur, mude nelu. Sulawesi : ahusi lepea (Seram), lemo puru (Bugis). Maluku: munte kereng (Alfuru), usi ela (Ambon), lemo jobatai, warna faleela (Halmahera).

3. Morfologi jeruk purut

Tanaman Jeruk purut dapat tumbuh hingga 2-12 meter, batangnya kecil, bengkok, dan bercabang rendah. Batang yang sudah tua bentuknya bulat, hijau tua, polos atau berbintik. Daunnya majemuk, menyirip, beranak daun satu. Tangkai daun melebar menyerupai anak daun. Anak daun berbentuk bulat telur sampai lonjong, pangkal membulat atau tumpul, ujung tumpul sampai meruncing, tepi beringgit, panjang 8-15 cm, lebar 2- 6 cm, kedua permukaan licin dengan bintik-bintik kecil berwarna jernih, permukaan atas warnanya hijau tua agak mengkilap, permukaan bawah hijau muda atau hijau kekuningan, buram, apabila diremas berbau harum. Bunga berbentuk bintang, berwarna putih kemerahan atau putih kekuningan. Buah berbentuk bulat telur, keras, kulitnya tebal dan berkerut, warna kulit hijau, berbenjol-benjol, rasanya sangat masam dan agak pahit. Buah matang berwarna sedikit kuning (Dalimartha 2006).

4. Kandungan kimia

Daun jeruk purut mengandung tanin 1,8%, steroid triterpenoid, dan minyak atsiri 1-1,5%. Kulit jeruk purut mengandung saponin, tanin dan minyak atsiri 2-2,5%. Minyak atsiri jeruk purut mengandung sitronelal, sitronelol, linalol dan geraniol (Anonim 1995).

5. Kegunaan

Jeruk purut memiliki banyak manfaat antara lain air perasan daging buah jeruk purut dapat digunakan sebagai obat batuk, obat kulit, dan antiseptik. Buah jeruk purut banyak digunakan untuk menghilangkan bau amis pada ikan, pengharum tepung tawar, dan pencuci rambut (Anonim 2010).

C. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia adalah bahan alami yang digunakan untuk obat dan belum mengalami perubahan proses apapun, dan kecuali dinyatakan lain umumnya berupa bahan yang telah dikeringkan. Berdasarkan hal itu maka simplisia dibagi

menjadi tiga golongan, yaitu simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia pelikan atau mineral (Gunawan & Mulyani 2004).

Simplisia nabati adalah simplisia yang dapat berupa tanaman utuh, bagian tanaman, eksudat tanaman, atau gabungan antara ketiganya. Eksudat tanaman adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanamannya atau dengan cara tertentu sengaja dikeluarkan dari selnya. Simplisia hewani adalah berupa hewan utuh atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa bahan kimia murni. Simplisia pelikan atau mineral adalah simplisia berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa bahan kimia murni (Gunawan & Mulyani 2004).

2. Pengumpulan simplisia

Simplisia berdasarkan bahan baku biasanya diperoleh dari tanaman liar atau dari tanaman yang dibudidayakan. Simplisia yang diambil dari tanaman budi daya maka keseragaman umur, masa panen dan galur (asal-usul, garis keturunan) tanaman dapat dipantau. Pengambilan simplisia dari tanaman liar akan banyak kendala dan variabilitas yang tidak bisa dikendalikan seperti asal tanaman, umur dan tempat tumbuh (Depkes RI 2007).

3. Cara pembuatan simplisia

Proses pembuatan simplisia memiliki beberapa tahapan. Tahapan itu dimulai dari pengumpulan bahan baku untuk menentukan kualitas bahan baku. Langkah selanjutnya sortasi basah yaitu pemilihan hasil panen ketika tanaman masih segar. Lalu tahap pencucian yang berguna untuk membersihkan kotoran yang melekat terutama untuk bahan-bahan yang tercemar peptisida. Pengubahan bentuk dilakukan untuk memperluas permukaan bahan baku. Pengeringan bertujuan untuk menurunkan kadar air sehingga bahan tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri, menghilangkan aktivitas enzim yang bisa menguraikan lebih lanjut kandungan aktif. Langkah berikutnya sortasi kering yaitu pemilihan bahan setelah mengalami proses pengeringan. Langkah terakhir adalah pengepakan dan penyimpanan, disimpan dalam rak pada gudang penyimpanan (Depkes RI 2007).

4. Pengemasan dan penyimpanan

Pengemasan simplisia dapat menggunakan wadah yang inert, tidak beracun, melindungi simplisia dari cemaran serta mencegah adanya kerusakan.

Penyimpanan simplisia sebaiknya ditempat yang kelembabannya rendah, terlindung dari sinar matahari, gangguan serangga maupun tikus (Amalina 2008).

D. Destilasi

Minyak atsiri pada umumnya diisolasi dengan empat metode yang lazim digunakan. Pertama, metode destilasi/ penyulingan terhadap bagian tanaman yang mengandung minyak. Dasar dari metode ini adalah memanfaatkan perbedaan titik didih. Kedua, metode peyarian dengan menggunakan pelarut penyari yang cocok. Dasar dari metode ini adalah adanya perbedaan kelarutan. Minyak atsiri sangat mudah larut dalam pelarut organik dan tidak larut dalam air. Ketiga, metode pengepresan dan pemerasan. Metode ini hanya bisa dilakukan terhadap simplisia yang mengandung minyak atsiri dalam kadar yang cukup besar. Bila tidak, nantinya hanya akan habis didalam proses. Keempat, metode perlekatan bau dengan menggunakan media lilin. Cara ini memanfaatkan aktifitas enzim yang diyakini masih terus aktif selama sekitar 15 hari sejak bahan minyak atsiri dipanen (Gunawan & Mulyani 2004).

Metode yang paling lebih lazim dilakukan adalah metode destilasi/ penyulingan. Metode ini meliputi destilasi kering dan destilasi air. Metode destilasi kering paling sesuai untuk bahan tanaman yang kering dan untuk minyak-minyak yang tahan pemanasan (tidak mengalami perubahan bau dan warna saat dipanaskan). Metode destilasi air digunakan untuk bahan kering maupun bahan segar dan terutama digunakan untuk minyak-minyak yang kebanyakan dapat rusak akibat panas kering (Gunawan & Mulyani 2004).

Dalam industri minyak atsiri dikenal 3 macam metode penyulingan, meliputi : Penyulingan dengan air, penyulingan dengan air dan uap, penyulingan uap. Penyulingan dengan air, memiliki ciri khas yaitu bahan yang akan disuling kontak langsung dengan air mendidih. Jenis bahan yang disuling dengan metode ini misalnya bubuk buah badam, bunga mawar, orange blossoms harus disuling dengan metode ini. Digunakan metode uap langsung, bahan ini akan merekat dan membentuk gumpalan besar yang kompak, sehingga uap tidak dapat berpenetrasi ke dalam bahan (Guenther 2010). Penyulingan dengan air dan uap, bahan olah

diletakkan di atas rak-rak atau saringan berlubang. Ketel suling diisi dengan air sampai permukaan air benda tidak jauh dibawah saringan. Air dapat dipanaskan berbagai cara yaitu dengan uap jenuh yang basah dengan bertekanan rendah. Ciri khas dari penyulingan ini adalah uap selalu dalam keadaan basah, jenuh dan tidak terlalu panas, bahan yang disuling hanya berhubungan dengan uap dan tidak dengan air panas (Guenther 2010). Penyulingan dengan uap, sering disebut penyulingan uap langsung, memiliki kesamaan prinsip dengan metode yang lain hanya dari penyulingan ini adalah air tidak diisikan dalam ketel.

E. Minyak Atsiri

1. Pengertian

Minyak atsiri adalah zat berbau yang terkandung dalam tanaman. Minyak ini juga disebut minyak menguap, minyak eteris, atau minyak esensial karena pada suhu biasa (kamar) mudah menguap di udara terbuka. Istilah esensial dipakai karena minyak atsiri mewakili bau dari tanaman asalnya (Gunawan & Muyani, 2004). Minyak atsiri adalah salah satu kandungan tanaman yang sering disebut “minyak terbang” (*volatile oil*). Minyak atsiri dinamakan demikian karena minyak tersebut muda menguap. Minyak atsiri juga disebut *essential oil* (dari kata *essence*) karena minyak tersebut memberikan bau pada tanaman (Koensoemardiyah 2010).

Minyak atsiri merupakan minyak yang berasal dari bahan nabati yang mudah menguap tanpa mengalami penguraian dan memiliki bau khas. Minyak tidak berwarna, tetapi dapat berubah menjadi gelap karena proses oksidasi dan pendamaran. Kemampuan daya tahan minyak atsiri cukup lama namun akan teroksidasi menjadi resin apabila tepapar cahaya dan udara. Minyak atsiri dapat disuling dari sumber alami tumbuhan karena tidak disusun oleh ester gliserol asam lemak (Astuthi *et al* 2012). Minyak atsiri hampir semua ditemukan diseluruh bagian tumbuhan. Minyak ini dibentuk *Oil cells*, ada 2 tipe *Oil cells* yaitu *Superficial cells* dan *Cells embedded in plant tissue*. Lokasi *Superficial cells* dilapisi permukaan misalnya kelenjar rambut, sedangkan *Cells embedded in plant*

tissue terletak di *Intercellular space* (Buchbauer 2010). Aroma tumbuhan bergantung pada komposisi dan susunan senyawa kimia minyak atsiri.

2. Sifat minyak atsiri

Adapun sifat-sifat minyak atsiri antara lain tersusun oleh bermacam-macam komponen senyawa, memiliki bau khas. Bau yang dihasilkan umumnya mewakili bau tanaman aslinya, mempunyai rasa getir, kadang-kadang terasa tajam, mengigit, memberi kesan hangat sampai panas, atau justru dingin ketika terasa dikulit, tergantung dari jenis komponen penyusunnya, dalam keadaan murni (belum tercemar oleh senyawa lain) mudah menguap pada suhu kamar, bersifat tidak bias disabunkan dengan alkali dan tidak biasa berubah menjadi tengik, pada umumnya tidak dapat bercampur dengan air, tetapi cukup dapat larut hingga dapat memberikan baunya kepada air walaupun kelarutannya sangat kecil, sangat mudah larut dalam pelarut organik (Gunawan & Mulyani 2004).

Minyak atsiri ini berupa cairan jernih, tidak berwarna, selama penyimpanan akan mengental dan berwarna kekuningan atau kecoklatan. Hal tersebut terjadi karena adanya pengaruh oksidasi dan resinifikasi (berubah menjadi damar atau resin). Upaya untuk mencegah atau memperlambat proses oksidasi dan resinifikasi tersebut, minyak atsiri harus dilindungi dari pengaruh sinar matahari yang dapat merangsang terjadinya oksidasi. Minyak atsiri tersebut sebaiknya disimpan dalam wadah berbahan dasar kaca yang berwarna gelap (misalnya, botol berwarna coklat atau biru gelap) untuk mengurangi sinar yang masuk. Botol penyimpan minyak atsiri harus terisi penuh agar oksigen udara yang ada dalam ruang udara tempat penyimpanan tersebut kecil (Koensoemardiyah 2010).

Terdapat beberapa jenis minyak atsiri yang memiliki aroma yang mirip, tetapi tidak persis sama dan sangat bergantung pada komponen kimia penyusun minyak tersebut. Jenis tumbuhan menghasilkan minyak atsiri, hanya tumbuhan yang memiliki sel glandula sajalah yang biasa menghasilkan minyak atsiri (Agusta 2000).

3. Metode isolasi minyak atsiri

Metode isolasi yang paling lazim digunakan adalah metode destilasi. Metode destilasi yang populer dilakukan perusahaan industri penyulingan minyak

atsiri, antara lain metode destilasi kering (langsung dari bahannya tanpa menggunakan air) dan metode destilasi air. Metode destilasi kering paling sesuai untuk bahan kering dan untuk minyak yang tahan pemanasan (tidak mengalami perubahan bau dan warna saat dipanaskan). Metode destilasi air. Metode ini dapat digunakan untuk bahan kering maupun bahan segar dan terutama digunakan untuk minyak-minyak yang kebanyakan dapat rusak akibat panas kering. Seluruh bahan dihaluskan kemudian dimasukkan kedalam bejana yang bentuknya mirip dandang (Gunawan & Mulyani 2004).

4. Identifikasi minyak atsiri

Minyak atsiri diteteskan pada permukaan air, minyak atsiri akan menyebar dan permukaan air tidak keruh. Minyak atsiri diteteskan sebanyak 1 tetes pada kertas saring dan diamkan beberapa menit minyak atsiri akan menguap dengan sempurna tanpa meninggalkan noda transparan (Guenther 1990).

5. Penetapan bobot jenis minyak atsiri

Menimbang botol timbang kosong, memasukan 1ml minyak atsiri ke dalam botol timbang tersebut, kemudian minyak atsiri dan botol timbang dengan teliti dan akurat lalu dibaca bobot jenis minyak atsiri tersebut. Bobot jenis minyak atsiri adalah perbandingan bobot minyak atsiri dengan bobot air pada suhu dan volume yang sama. Penetapan bobot jenis dilakuan 3 kali pengulangan (Ansel 2006).

6. Uji kelarutan dalam alkohol 70%

Menurut Badan Standar Nasional Indonesia (2001), uji kelarutan minyak atsiri dalam alkohol dilakukan dengan cara memipet minyak sebanyak 1 ml ke dalam gelas ukur 10 ml, ditambahkan alkohol 70% 1 ml dengan cara bertahap. Pada setiap penambahan alkohol kocok dan amati kejernihannya.

F. *Staphylococcus aureus*

1. Sistematika *Staphylococcus aureus*

Sistematika bakteri *Staphylococcus aureus* menurut (Garrity *et al* 2007) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Bacteria

Filum	: Firmicutes
Class	: Bacili
Ordo	: Bacillales
Famili	: Staphylococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>

2. Morfologi dan sifat

Staphylococcus berasal dari perkataan *staphyle* yang berarti kelompok buah anggur dan kokus yang berarti benih bulat. Kuman ini merupakan gram positif yang berbentuk sferis, tidak bergerak, berspora dan menggerombol dalam susunan yang tidak teratur dengan diameter masing-masing antara 0,8-1,0 mikron (Jawetz *et al* 2001).

Staphylococcus aureus normal terdapat pada kulit, mulut, tenggorokan, dan hidung manusia. *Staphylococcus aureus* dapat masuk kedalam tubuh melalui kerusakan kulit atau melalui rusaknya folikel rambut dan saluran pada jaringan penghasil keringat. Selain dapat menyebabkan intoksikasi, *Staphylococcus aureus* juga dapat menyebabkan bermacam-macam infeksi seperti jerawat, bisul, meningitis, osteomielitis, pneumonia dan mastitis pada manusia dan hewan (Jawetz *et al* 2001).

Staphylococcus aureus mempunyai warna khas kuning keemasan hanya intensitas warnanya dapat bervariasi, koloni yang masih sangat muda tidak berwarna, tetapi dalam pertumbuhannya terbentuk pigmen yang larut dalam alkohol, eter, kloroform, dan benzol. Pigmen ini termasuk dalam golongan lipolirum dengan alam tetap dalam koloni tidak meresap dalam pembersihan, tetapi larut dalam eksudat jaringan-jaringan sehingga nanah berwarna sedikit kuning keemasan yang merupakan petunjuk tentang adanya infeksi oleh kuman ini. Setiap jaringan atau alat tubuh dapat diinfeksi oleh bakteri *Staphylococcus aureus* dan menyebabkan timbulnya penyakit dengan tanda-tanda khas yaitu peradangan dan pembentukan abses (Jawetz *et al* 2001).

Staphylococcus aureus dapat meragikan banyak karbohidrat dengan lambat, menghasilkan asam laktat tapi tidak menghasilkan gas. Aktivitas protolitik

sangat bervariasi, tetapi katalase dihasilkan secara tetap. *Staphylococcus aureus* relatif resisten terhadap pengeringan dan terhadap panas (tahan pada suhu 90°C selama 30 menit). Banyak strain resisten terhadap penisilin karena membentuk beta-laktamase, suatu enzim yang merusak penisilin dengan memecahkan cincin beta-laktam. Pembentukannya diatur oleh plasmid yang dapat dipindahkan oleh bakteriofage (transduksi). Plasmid juga membawa kontrol genetik resistensi terhadap antibiotik lainnya, misalnya tetrasiklin dan eritromisin. *Staphylococcus aureus* tumbuh dengan mudah pada sebagian besar media bakteriologis dengan kondisi aerob atau mikroaerofilik, tumbuh paling cepat pada 37°C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada temperature ruang (20-25°C). Koloni pada media solid berbentuk bulat, halus, timbul, dan mengkilat (Jawetz *et al* 2012).

3. Patogenesis

Staphylococcus aureus merupakan penyebab infeksi yang bersifat *pyogenes* (pembentuk pus/nanah). Bakteri ini masuk kedalam tubuh melalui folikel rambut, *sebaceous gland* (kelenjar keringat) atau luka-luka kecil. *Staphylococcus aureus* patogen mempunyai sifat dapat menghemolisa darah, menghasilkan koagulasi, membentuk pigmen berwarna kuning emas, dan dapat memecah manitol menjadi asam. Infeksi yang ditimbulkan oleh *Staphylococcus aureus* dapat meluas ke jaringan sekitarnya melalui darah dan limfe. Peranahan yang bersifat manahun atau timbul radang yang disebut *osteomyelitis*. Perluasan lain juga dapat sampai ke paru-paru, selaput otak dan sebagainya (Suryono 2009).

Staphylococcus aureus terdapat dihidung pada 20-50% manusia. Kapasitas patogenik suatu galur *Staphylococcus aureus* adalah efek kombinasi faktor ekstraseluler dan toksin bersama dengan sifat invasif galur itu. *Staphylococcus aureus* yang invasif dan patogenik menghasilkan koagulase dan cenderung menghasilkan pigmen kuning serta bersifat hemolitik. Sekitar 50% galur *Staphylococcus aureus* dapat menghasilkan satu atau lebih jenis enterotoksin, seperti TSST-1, enterotoksin merupakan antigen super. Enterotoksin bersifat stabil panas dan resisten terhadap kerja enzim usus (Jawetz *et al* 2012).

G. Antibakteri

Antibakteri adalah zat atau senyawa kimia yang digunakan untuk membasmi bakteri, khususnya bakteri yang merugikan manusia. Definisi ini kemudian berkembang menjadi senyawa yang dalam konsentrasi tertentu mampu menghambat bahkan membunuh proses kehidupan suatu mikroorganisme (Jawetz *et al* 2001).

Secara umum kemungkinan situs suatu zat antibakteri dapat diduga dengan mengenali struktur serta sel bakteri. Kerusakan pada salah satu situs dapat mengawali terjadinya perubahan-perubahan yang menunjukkan kepada matiya sel tersebut. Perubahan-perubahan yang terjadi yaitu :

1. Kerusakan pada dinding sel

Struktur dinding sel dapat rusak dengan cara menghambat pembentukannya atau setelah selesai terbentuk (Jawetz *et al* 2001).

2. Perubahan permeabilitas sel

Membran sitoplasma mempertahankan bagaian-bagian tertentu dalam sel serta mengatur aliran keluar masuknya bahan-bahan lain, kemudian memelihara integrasi komponen-komponen seluler. Kerusakan pada membrane ini akan mengakibatkan terambatnya pertumbuhan sel (Jawetz *et al* 2001).

3. Perubahan molekul protein dan asam nukleat

Hidup suatu sel tergantung pada terpeliharanya molekul-molekul protein dan asam nukleat dalam keadaan alamiahnya. Suatu antibakteri dapat mengubah keadaan ini dengan mendenaturasikan protein dan asam-asam nukleat sehingga merusak sel tanpa dapat diperbaki lagi (Jawetz *et al* 2001).

4. Penghambatan kerja enzim

Sulfonamid merupakan zat kemoterapi sintesis yang bekerja dengan cara bersain dengan PABA, sehingga dapat menghalangi sintesis asam folat yang merupakan asam esensial yang berfungsi dalam sintesis purin dan pirimidin. Dengan demikian karena tidak adanya enzim, maka aktivitas seluler yang normal akan terganggu (Jawetz *et al* 2001).

5. Penghambatan sintesis asam nukleat dan protein

DNA, RNA, dan protein memegang perubahan amat penting didalam proses kehidupan normal sel. Hal ini berarti bahwa gangguan apapun yang terjadi

pada pembentukan sel atau pada fungsi sel zat-zat tersebut mengakibatkan kerusakan total pada sel (Jawetz *et* 2001).

H. Siprofloksasin

Siprofloksasin adalah senyawa bakterisid turunan fluorokuinolon. Strukturnya berhubungan dengan nalidiksat tetapi mempunyai aktivitas antibakteri yang lebih besar dan spektrum yang lebih luas dibanding asam tersebut.

Mekanisme kerja dari obat golongan kuinolon adalah dengan menghambat secara selektif sintesis asam deoksiribose nukleat (DNA) bakteri dengan memblok sub unit A enzim DNA-girase, suatu tipe II topoisomerase. Hambatan tersebut menyebabkan sintesa ADN bakteri terganggu, sehingga menyebabkan bakteri mati. Siprofloksasin digunakan untuk pengobatan infeksi yang disebabkan bakteri Gram-negatif, seperti *Escherichia coli*, *Pseudomonas. Mirabillis*, *Klebsiela sp*, *Shigella sp*, *Enterobacter* dan *Pseudomonas aeruginosa*, serta bakteri Gram positif tertentu, seperti *Staphylococcus sp*, dan *Streptococcus sp*. Dosis oral untuk infeksi saluran seni dan saluran napas : 250-500 mg 2 dd, selama 7 hari. Untuk infeksi saluran cerna : 500 mg 1 dd, selama 7 hari (Siswandono & Soekardjo 2008). Penggunaan antibiotik Siprofloksasin sebagai pembanding (kontrol positif) karena memiliki spektrum yang luas sebagai antibakteri.

I. Metode Difusi

Metode difusi adalah suatu uji aktifitas dengan menggunakan cakram yang berliang renik atau suatu silinder tidak beralas yang mengandung obat dalam jumlah tertentu ditempatkan pada pembenihan padat yang telah ditanami dengan biakan bakteri yang akan diperiksa. Setelah inkubasi, garis tengah daerah hambatan jernih yang mengelilingi obat dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan terhadap bakteri yang diperiksa. Metode ini zat yang akan ditentukan aktivitas anti mikrobya berdifusi pada lempeng agar *Muller Hinton* yang telah ditanami mikroba yang akan diuji. Dasar penggunaannya adalah terbentuk atau tidaknya zona hambatan pertumbuhan bakteri di sekeliling cakram atau silinder

yang berisi zat anti mikroba (Harminta 2004). Keuntungan dari metode difusi yaitu fleksibilitas yang lebih besar dalam memilih obat yang akan diperiksa, kemudian mengenali biakan campuran dan biaya yang relatif murah (Sacher & Pherson 2004).

Metode yang paling sering digunakan adalah metode difusi agar/cakram/sumuran. Cawan petri diisi dengan media MHA (*Mueler Hinton Agar*), menginokulasikan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada media tersebut, menunggu sampai bakteri menyerap pada media. Membuat sumuran dengan menggunakan boorprop, memasukkan larutan uji dengan konsentrasi yang berbeda-beda kedalam sumuran yang telah dibuat tadi, menginkubasi selama 24 jam, dan mengamati diameter hambatan. Diameter daerah hambatan ini tergantung pada daya resap larutan uji yang digunakan ke dalam agar dan kepekaan kuman terhadap obat tersebut (Bonang & Koeswardono 2004).

J. Kombinasi Obat

Kombinasi obat-obat dengan efek-efek yang serupa diberikan bersamaan, biasanya tampak suatu respon aditif atau sinergis. Kedua obat tidak atau dapat bekerja pada reseptor yang sama untuk menimbulkan efek. Sebaliknya, obat-obat dengan efek yang berlawanan dapat menurunkan respon dari satu atau kedua obat tersebut (Katzung 2002).

Teori kombinasi dapat dibagi menjadi 3 jenis interaksi antara dua agen yaitu efek aditif, sinergisme dan antagonis, yang masing-masing memberikan efek kombinasi yang sama, lebih besar atau lebih kecil dari efek individu setiap agen. Interaksi antara dua obat dengan kerja yang serupa diberikan jumlah dari efek kedua obat dapat menjadi diinginkan atau tidak diinginkan disebut efek aditif. Efek sinergis adalah dua obat atau lebih diberikan bersama-sama, obat yang satu dapat memperkuat terhadap obat yang lain. Efek antagonis adalah interaksi dua obat apabila dikombinasikan mempunyai kerja yang berlawanan, maka efek obat-obat itu akan saling meniadakan atau kerja obat dari kedua obat itu akan hilang (Joyce & Evelyn 2006).

K. Landasan Teori

Penyakit infeksi merupakan penyakit yang menjadi masalah serius dikalangan masyarakat sekarang. Penggunaan antibiotik dari beberapa kombinasi semula dipercaya dapat memusnahkan bakteri penyebab infeksi, ternyata dapat menimbulkan masalah baru yaitu timbulnya bakteri yang resisten. Minyak atsiri dari daun kemangi memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dengan KBM 0,4% sebanding dengan ampisillin trihidrat 150 mg/ml dengan metode difusi agar (Marianne & sinaga 2006) dan nilai KHM sebesar 3,12-25% (Adeola *et al.* 2012). Penelitian (Maryati *et al.* 2007; Lestarie 2014) menunjukkan daun kemangi memiliki aktivitas antibakteri dengan nilai KBM 0,5% dan KHM 100 % dengan diameter 4,85 mm terhadap *Staphylococcus aureus*. Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa minyak atsiri daun jeruk purut mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dengan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) berturut-turut sebesar 1 dan 2% (Ratna *et al.* 2011).

Minyak atsiri merupakan zat yang memberikan aroma pada tumbuhan. Keadaan segar dan murni tanpa pencemaran, minyak atsiri umumnya tidak berwarna. Penyimpanan lama minyak atsiri dapat teroksidasi dan membentuk resin serta warnanya berubah menjadi lebih tua (gelap). Mencegah supaya tidak berubah warna, minyak atsiri harus terlindungi dari cahaya, misalnya disimpan dalam bejana gas yang berwarna gelap. Sifat minyak atsiri ialah tersusun oleh bermacam-macam komponen senyawa, memiliki bau khas, rasa getir, kadang-kadang berasa tajam, menggigit, memberi kesan hangat sampai panas, atau dingin terasa dikulit, terkandung komponen penyusunnya (Gunawan & Mulayani 2004).

Staphylococcus aureus adalah bakteri bersifat gram positif, biasanya tersusun dalam rangkaian tidak beraturan seperti buah anggur. Beberapa diantaranya tergolong flora normal pada kulit dan selaput mukosa manusia, menyebabkan penanahan, abses, berbagai infeksi pirogen. *Staphylococcus aureus* mengandung polisakarida dan protein yang berfungsi sebagai antigen dan merupakan substansi penting didalam struktur dinding sel, tidak membentuk spora, dan tidak membentuk flagel (Jawetz *et al* 2005).

Metode pengujian pada penelitian ini menggunakan metode difusi dan dilusi. Metode difusi digunakan untuk menentukan diameter zona hambatan. Metode difusi merupakan uji aktivitas dengan menggunakan cakram kertas yang berisi jumlah tertentu obat yang kemudian ditempatkan pada permukaan medium padat yang sebelumnya telah diinokulasi bakteri uji pada permukaannya, setelah di inkubasi garis tengah daerah hambatan jernih yang mengelilingi larutan uji dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan terhadap terhadap bakteri uji (Jawetz *et al* 2001).

Penelitian ini menggunakan kombinasi karena kombinasi dapat dilakukan untuk mengatasi toleransi bakteri, mencegah resistensi, mengurangi toksisitas, dan dapat untuk mencegah inaktivasi oleh enzim (Mulyono & Isman 2011). Penelitian minyak atsiri dari kombinasi daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.), diharapkan ini memberikan efek sebagai antibakteri yang lebih optimal dari pada bentuk tunggal minyak atsiri masing-masing tersebut. Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

L. Hipotesis

Berdasarkan uraian di atas, maka dapat disusun suatu hipotesis yaitu :

Pertama, minyak atsiri dari kombinasi daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) maupun kombinasi dari keduanya memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kedua, kombinasi dari minyak atsiri dari kombinasi daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) memiliki aktivitas antibakteri lebih efektif terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 daripada tunggalnya.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi adalah semua obyek yang menjadi sasaran penelitian. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah atsiri dari kombinasi daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) yang diambil secara acak dari Pasar Legi Surakarta, Jawa Tengah.

2. Sampel

Sampel adalah sebagian kecil dari populasi yang digunakan dalam melakukan penelitian. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kemangi dan daun jeruk purut, segar berwarna hijau dan wangi, bebas dari penyakit, serta bersih yang diambil secara acak.

B. Variabel Bebas

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama dalam penelitian ini adalah minyak atsiri dari daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.), beserta kombinasinya.

Variabel utama kedua penelitian ini adalah aktivitas antibakteri minyak atsiri dari daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.), beserta kombinasinya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama yang telah diidentifikasi dapat diklasifikasikan dalam berbagai macam variabel yaitu variabel bebas, variabel terkontrol dan variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian adalah variabel yang direncanakan untuk diteliti pengaruhnya terhadap variabel tergantung sedangkan pengertian variabel tergantung dalam penelitian ini adalah pusat persoalan yang merupakan pengaruh selain variabel bebas.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi dari minyak atsiri daun kemangi, daun jeruk purut, dan kombinasi keduanya dengan perbandingan (1:1), (1:2), (1:3), (2:1), (3:1).

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah minyak atsiri daun kemangi, minyak atsiri daun jeruk purut, bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, sterilisasi, suhu, kondisi peneliti, kondisi laboratorium, media dan metode penelitian.

Variabel terikat dari penelitian ini adalah aktivitas antibakteri minyak atsiri daun kemangi, daun jeruk purut, dan kombinasi keduanya dengan dilihat pertumbuhannya pada media uji.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, daun kemangi yang diambil secara acak dari Pasar Legi Surakarta, Jawa Tengah, dengan ciri-ciri populasi dan sampel yang segar dan berwarna hijau.

Kedua, daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.), yang diambil secara acak dari Pasar Legi, Surakarta, Jawa Tengah, dengan ciri-ciri populasi dan sampel daun jeruk purut yaitu yang segar dan yang tidak berpenyakit.

Ketiga, minyak atsiri daun kemangi dan daun jeruk purut, adalah minyak atsiri hasil destilasi daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.), dengan menggunakan metode destilasi uap air.

Keempat, bakteri uji dalam penelitian ini adalah *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi.

Kelima, kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan daun jeruk purut, (1:1) adalah kombinasi dari minyak atsiri daun kemangi dan daun jeruk purut yaitu satu bagian minyak atsiri daun kemangi dan satu bagian minyak atsiri daun jeruk purut.

Keenam, kombinasi minyak atsiri dengan perbandingan (1:2) adalah kombinasi dari minyak daun kemangi dan daun jeruk purut yaitu satu bagian minyak atsiri daun kemangi dan dua bagian minyak atsiri daun jeruk purut.

Ketujuh, kombinasi minyak atsiri dengan perbandingan (2:1) adalah kombinasi dari minyak atsiri daun kemangi dan daun jeruk purut yaitu dua bagian minyak atsiri daun kemangi dan satu bagian minyak atsiri daun jeruk purut.

Kedelapan, kombinasi minyak atsiri dengan perbandingan (1:3) adalah kombinasi dari minyak atsiri daun kemangi dan daun jeruk purut yaitu satu bagian minyak atsiri daun kemangi dan tiga bagian minyak atsiri daun jeruk purut.

Kesembilan, kombinasi minyak atsiri dengan perbandingan (3:1) adalah kombinasi dari minyak atsiri daun kemangi dan daun jeruk purut yaitu tiga bagian minyak atsiri daun kemangi dan satu bagian minyak atsiri daun jeruk purut.

Kesepuluh, kontrol positif adalah cakram atau disk siprofloksasin dengan dosis 5 µg mampu hambat pertumbuhan bakteri dalam media uji.

Kesebelas, kombinasi minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) dengan menggunakan metode difusi 50% dan 25% dengan cakram atau disk aktivitas antibakteri dengan melihat diameter zona hambat pertumbuhan bakteri dalam media uji.

Keduabelas uji aktivitas antibakteri adalah uji aktivitas dengan metode difusi dengan cakram dengan mengukur diameter zona hambat.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi alat untuk pembuatan minyak atsiri yaitu kondensor dan dandang besar. Peralatan untuk uji mikrobiologi yaitu lampu spiritus, jarum ose tangkai panjang, tabung reaksi steril, rak tabung reaksi, cawan petri steril, kapas lidi steril, inkubator, cakram ukuran 6mm, mikropipet, autovortex mixer, gelas ukur, pipet volume steril, botol vial steril, inkas, autklaf, oven, pinset, neraca analitik dan penggaris.

2. Bahan

Bahan sampel yang digunakan dalam uji mikrobiologi antibakteri adalah minyak atsiri dalam daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) dengan konsentrasi 50% dan 25% untuk uji difusi.

Bahan kimia yang digunakan antara lain aseton dan siprofloksasin 5 µg. Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Mueler Hilton Agar* (MHA), *Vogel Johnson Agar* (VJA), *Brain Heart Infusion* (BHI), kalium tellurit dan plasma sitrat.

Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman

Tahap pertama penelitian ini adalah menetapkan kebenaran sampel daun kemangi dan daun jeruk purut yang berkaitan dengan ciri-ciri mikroskopis dan makroskopis. Mencocokkan ciri-ciri morfologis yang ada pada tanaman daun kemangi dan daun jeruk purut terhadap kepustakaan di Laboratorium Biologi, Fakultas Farmasi, Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

2. Pengambilan bahan

Daun kemangi dan daun jeruk purut yang diperoleh dari Pasar Legi, Surakarta, Jawa Tengah. Daun kemangi dan daun jeruk purut yang diambil yang berwarna hijau yang masih segar dan wangi, lalu dibersihkan dari lumut dan kotoran lain yang menempel. Sebelum diproses, dirajang dahulu menjadi potongan-potongan kecil.

3. Isolasi minyak atsiri

Isolasi minyak atsiri dilakukan Universitas Gajah Mada (UGM). Daun kemangi dan daun jeruk purut masing-masing yang telah dipotong kecil-kecil dimasukkan ke dalam alat penyulingan minyak dan air yang menyerupai dandang dengan penyangga berlubang yang telah berisi air. Penyulingan dilakukan di atas api sampai air mendidih. Uap air yang dihasilkan dialirkan pada pipa ke bagian kondensor dan mengalami kondensasi, bersama dengan uap air tersebut terbawa dengan minyak atsiri. Pemanasan dilakukan dengan api sampai penyulingan dihentikan setelah tidak ada penambahan minyak, kemudian tampung destilat dan ukur volume yang dihasilkan.

Minyak yang diperoleh kemudian dilakukan pemisahan fase air dan minyak menggunakan corong pisah dengan penambahan Na_2SO_4 eksikatus untuk memisahkan antara minyak dan air, seberat kurang dari 1% dari volume minyak atsiri sehingga didapat hasil sulingan minyak daun kemangi dan daun jeruk purut

murni. Minyak diperoleh kemudian disimpan dalam botol coklat dan di tempat yang sejuk, hal ini dilakukan untuk menghindari minyak atsiri yang didapat tidak rusak atau teroksidasi (Depkes 2003).

4. Analisis minyak atsiri

4.1 Pengamatan organoleptik. Pengamatan organoleptik terhadap minyak atsiri meliputi warna, aroma, bentuk dan rasa dari minyak. Warna minyak atsiri hasil destilasi masing-masing sampel diambil volume sama dan ditempatkan dalam sebuah tempat kaca yang bersih dan jernih. Bau dan rasa minyak atsiri memiliki bau dan rasa yang khas sesuai dari tanaman asalnya. Organoleptik minyak atsiri daun kemangi dan daun jeruk purut memiliki bau aromatik, rasa membakar dan seperti rempah (Stahl 2008).

4.2 Identifikasi minyak atsiri. Identifikasi minyak atsiri daun kemangi dan daun jeruk purut seperti identifikasi minyak atsiri pada umumnya yaitu minyak atsiri daun kemangi dan daun jeruk purut diteteskan permukaan air, minyak atsiri akan menyebar dan permukaan tidak akan keruh. Minyak atsiri ditetesi pada kertas saring, jika dibiarkan minyak akan menguap sempurna tanpa meninggalkan noda lemak (Gunawan & Mulyani 2004).

4.3 Penetapan indeks bias minyak atsiri. Penetapan indeks bias ditetapkan dengan alat refraktometer dan diulang sebanyak tiga kali. Badan prisma dibuka dan kemudian dibersihkan dengan kapas yang telah dibasahi alkohol. Refraktometer diatur sehingga garis dan skala tampak jelas, mencatat suhu ruang tempat bekerja kemudian meneteskan cairan yang diukur pada prisma dan menutup kembali. Pemutar sebelah kanan diatur sehingga batas gelap dan terang pada garis, dibaca skala catat indeks biasanya (Stahl 2008).

4.4 Penetapan bobot jenis minyak atsiri. Penetapan bobot jenis ditetapkan dengan cara botol ditimbang dikeringkan dengan cara dioven, kemudian ditimbang botol kosong dan dicatat hasilnya. Minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) dengan volume 1 ml ditimbang dalam botol timbang dan dicatat hasilnya, penimbangan diulang sebanyak tiga kali. Data hasil penimbangan botol ditimbang dan minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrix*

DC.) dikurang bobot botol timbang kosong sehingga didapat bobot jenis dari minyak atsiri. Bobot minyak atsiri = bobot botol timbang berisi minyak atsiri - bobot botol timbang kosong.

4.5 Penetapan kelarutan dalam alkohol. Uji kelarutan minyak atsiri dalam alkohol dilakukan dengan cara memipet minyak sebanyak 1 ml ke dalam gelas ukur 10 ml, ditambah alkohol 70% dengan cara bertahap, pada setiap penambahan alkohol kocok dan amati kejernihannya.

4.6 Karakterisasi komponen senyawa penyusun minyak atsiri dengan Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS). Pengujian komponen senyawa penyusun minyak atsiri daun kemangi dan daun jeruk purut menggunakan GC-MS Shimadzu GCMS-QP2010S (Shimadzu, Corporation, Kyoto, Japan) Shimadzu GCMS-QP2010S (Shimadzu, Corporation, Kyoto, Japan) dilengkapi dengan Capillary Column Model Number : Agilent 19091S-433 HP-5MS 5% Phenyl Methyl Siloxane (diameter dalam 200 μm , panjang 30 m, dan ketebalan 0.25 μm) dan detektor yang digunakan FID. Kondisi GC: suhu awal 60 $^{\circ}\text{C}$ dinaikan sampai 250 $^{\circ}\text{C}$ (4 $^{\circ}\text{C}/\text{menit}$) kemudian pada suhu 250 $^{\circ}\text{C}$ dipertahankan selama 20 menit, gas pembawa Helium dengan kecepatan aliran 20 ml/min. Senyawa diidentifikasi dengan membandingkan retention index dan membandingkan mass spectra dengan yang ada di database *wiley library* dan *NIST library* (Adams 2004).

5. Sterilisasi

Media yang digunakan dalam penelitian ini disterilkan terlebih dahulu dengan autoklaf pada suhu 121 $^{\circ}\text{C}$ selama 15 menit. Gelas ukur dan beker glass disterilkan dengan oven pada suhu 170-180 $^{\circ}\text{C}$ selama 2 jam, sedangkan alat seperti jarum ose disterilkan dengan pemanas api langsung dan inkas disterilkan dengan menggunakan formalin (Suriawiria 2005)

6. Pembuatan suspensi bakteri uji *Staphylococcus aureus*

Pembuatan suspensi untuk difusi dengan mengambil biakan murni kurang lebih 2 ose bakteri *Staphylococcus aureus*. Suspensi dibuat dalam tabung yang berisi media *Brain Heart Infusion* (BHI) dan kekeruhannya disesuaikan dengan kekeruhan standar Mc Farland 0,5 setara dengan jumlah $1,5 \times 10^8$ cfu/mL. Tujuan

disesuainya suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* dengan media standar Mc Farland 0,5 yaitu agar jumlah bakteri yang digunakan sama selama penelitian dan mengurangi kepadatan bakteri saat pengujian.

7. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus*

7.1 Identifikasi berdasarkan koloni. Suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 diinokulasi pada media *Vogel Jhonson Agar* (VJA) yang telah ditetesi 3 tetes kalium terurit 1% dalam cawan petri dan diinkubasi selama 24 jam pada 37°C. Hasil pengujian yaitu beberapa koloni dengan warna hitam, karena *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat mereduksi telurit menjadi metalik warna medium di sekitar koloni berwarna kuning karena fermentasi manitol.

7.2 Identifikasi mikroskopis secara morfologi. Pewarna Gram positif *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menggunakan Gram A (cat kristal violet sebagai cat utama), Gram B (lugol iodine sebagai mordan), Gram C (etanol aseton = 1 : 1 sebagai peluntir), dan Gram D (cat sarfania sebagai cat lawan atau penutup). Pewarna gram dilakukan dengan cara, buat preparat ulas yang telah difiksasi kemudian ditetesi dengan Gram A sampai semua ulasan terwanai, diamkan selama kurang lebih 1 menit, dicuci dengan aquadestilata mengalir dan keringkan, preparat dilunturkan dengan Gram C dan diamkan selama kurang lebih 30 detik, dicuci dengan aquadestilata mengalir kemudian ditetesi Gram D dan diamkan selama kurang lebih 1 menit. Cuci dengan aquadestilata mengalir, tahap selanjutnya keringkan preparat. Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dinyatakan positif apabila berwarna ungu, berbentuk bulat dan bergerombol seperti buah anggur ketika diamati di bawah mikroskop.

7.3 Identifikasi biokimia. Identifikasi secara biokimia ada dua yaitu uji katalase dan koagulase. Uji katalase menggunakan suspensi bakteri uji yang ditanam pada medium nutrisi cair ditambah dengan 2 tetes hidrogen peroksida 3%. Penambahan H₂O₂ hasil dinyatakan positif bila terlihat gelembung udara di sekitar koloni, hal ini disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 memiliki enzim katalase (Jawets *et al.* 2007).

Uji koagulase menggunakan plasma darah kelinci yang diberi asam sitrat, diencerkan (1:5) ditambah ose biakan bakteri, diinkubasi pada suhu 37°C. Tabung diperiksa dengan melihat pembentukan selama 1-4 jam. Hasil positif kuat bila tabung dibalik, gumpalan plasma tidak terlepas dan tetap melekat pada dinding tabung (Jawetz *et al.* 2007).

8. Pengujian aktivitas antibakteri

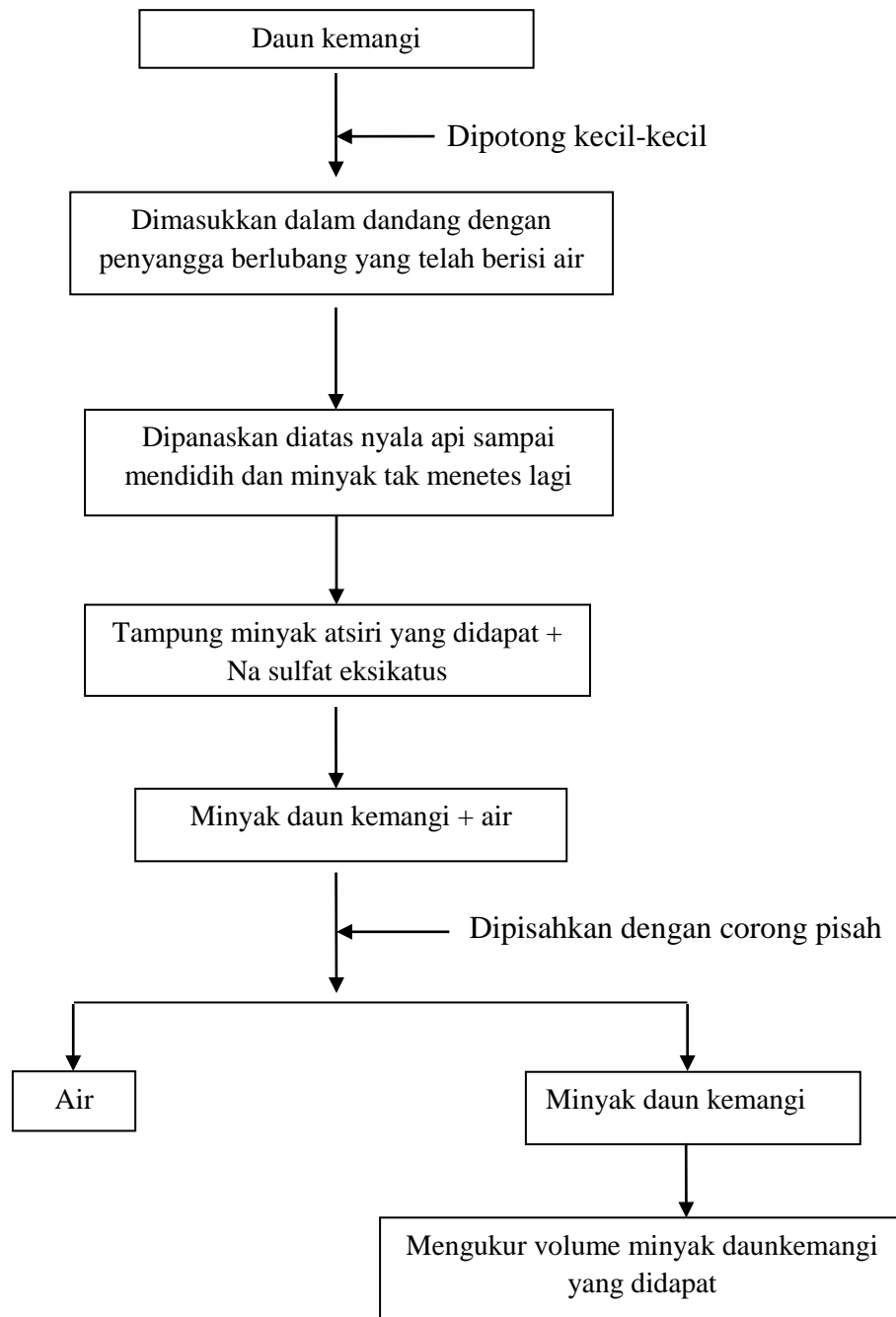
Pengujian antibakteri secara difusi. Metode difusi digunakan untuk menentukan diameter zona hambat terhadap bakteri uji. Penelitian ini menggunakan cawan petri yang berisi MHA. Pertama bakteri diambil dari media BHI dengan menggunakan kapas lidi steril sebanyak satu kali kemudian dioleskan pada cawan petri yang berisi MHA 50 ml tersebut dan tunggu sampai bakteri berdifusi pada media. kemudian secara aseptis pada cawan petri diulas suspensi bakteri menggunakan kapas lidi steril.

Setelah suspensi bakteri yang setara dengan standar Mc Farland 0,5 dioleskan dengan rata pada cawan petri yang berisi MHA, kemudian pada setiap cakram berukuran 6 mm yang diisi kombinasi minyak atsiri (1:1), (1:2), (2:1), (1:3), (3:1) dengan cakram disk yang direndam selama 24 jam. Kontrol positif (+) cakram siprofloksasin 5 µg dan kontrol negatif minyak atsiri kombinasi daun kemangi dan daun jeruk purut murni. Setelah itu cakram diletakkan atau ditempelkan pada media MHA dengan menggunakan pinset, cawan petri diinkubasi di dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C. Kemudian setelah 24 jam dilakukan inkubasi, zona hambat yang terbentuk dapat diukur. Pengukuran zona hambat di sekitar cakram dilakukan menggunakan penggaris dengan ketelitian 1 mm. Hasil dari pengukuran tersebut dijumlahkan dan dibagi dengan banyaknya pengukuran untuk mendapatkan besarnya zona hambat yang terbentuk.

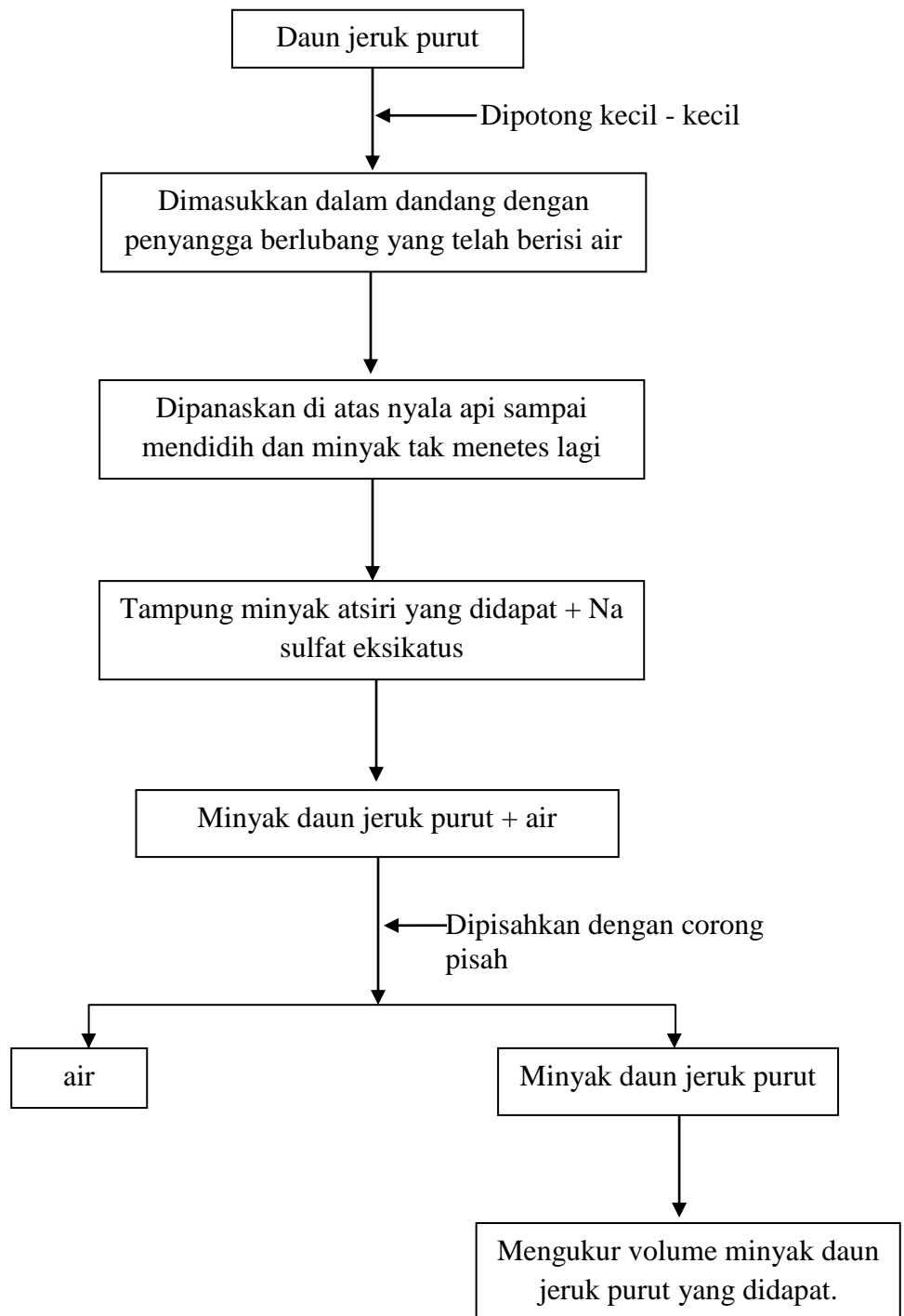
E. Analisis Hasil

Data hasil penelitian diperoleh dengan mengukur daya sebar dilihat dari adanya daerah hambatan pertumbuhan bakteri uji yang ditunjukkan dengan adanya zona jernih disekeliling cakram yang tidak ditumbuhi bakteri, kemudian

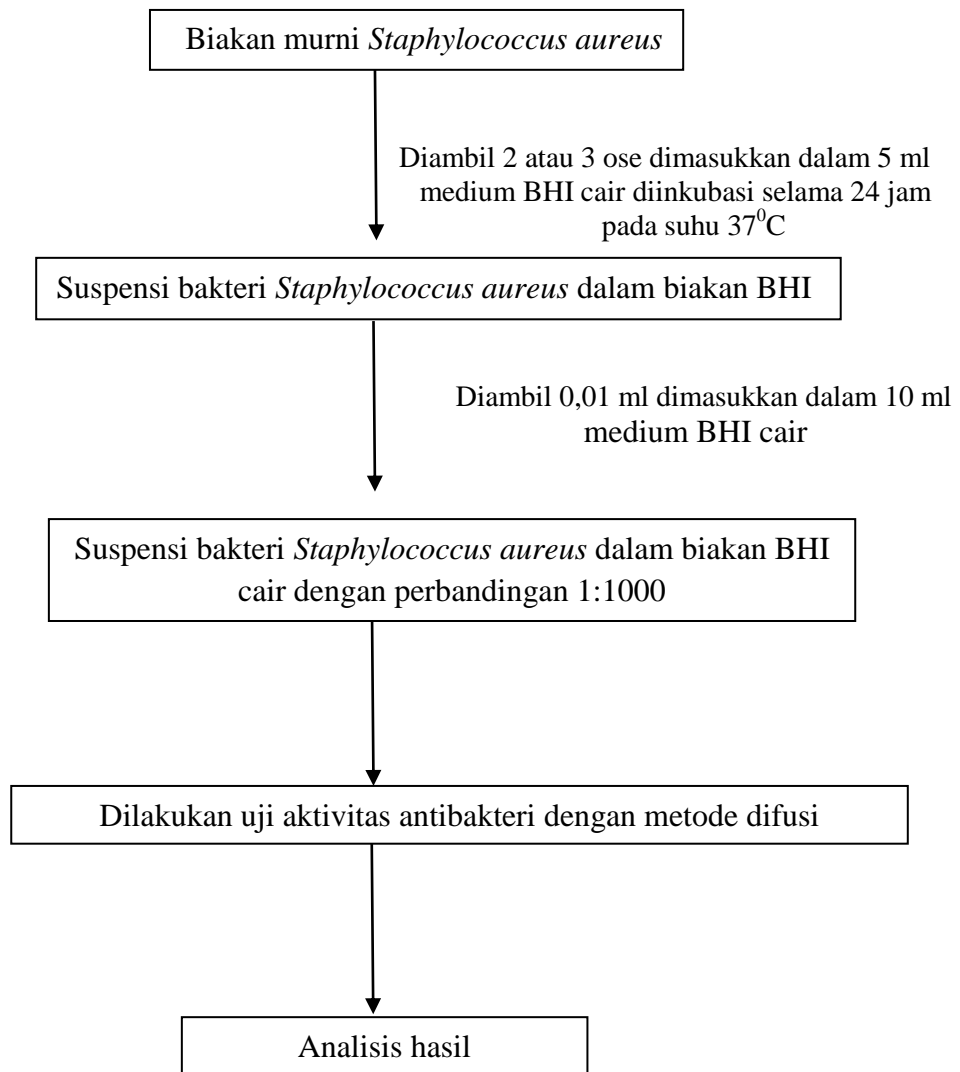
diukur diameter hambatan pertumbuhan bakterinya dari masing-masing lingkaran. Data yang diperoleh dianalisa dengan menggunakan *Kolmogorof-Smirnov*, jika terdistribusi secara normal kemudian dilanjutkan dengan *analysis of varian* (ANOVA) satu jalan.



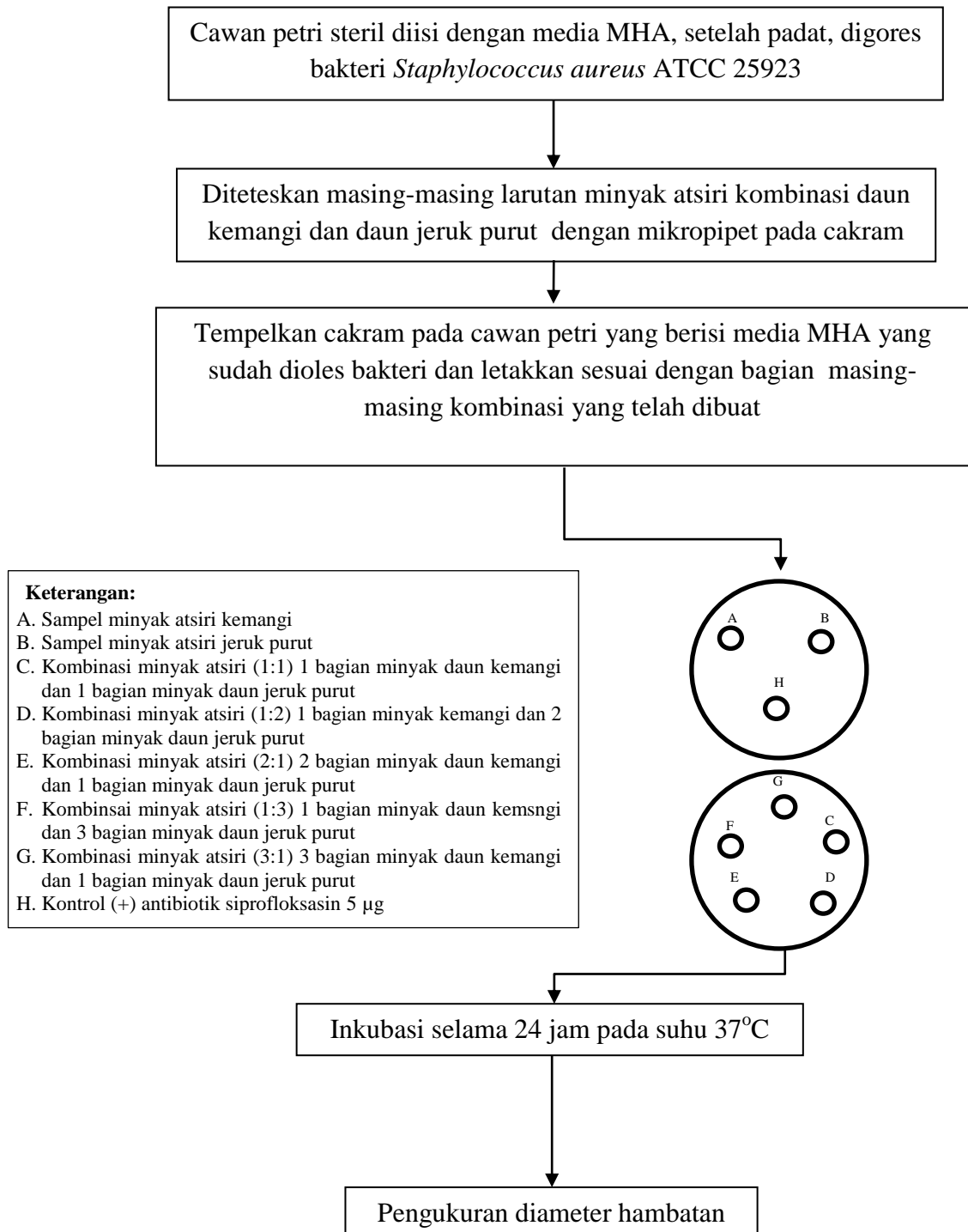
Gambar 1. Skema isolasi minyak atsiri daun kemangi



Gambar 2. Skema isolasi minyak atsiri daun jeruk purut



Gambar 3. Skema pembuatan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus*



Gambar 4. Skema pengujian aktivitas antibakteri secara difusi

BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Determinasi tanaman

Determinasi tanaman pada penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Sebelas Maret. Determinasi tanaman bertujuan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang diambil, menghindari terjadinya kesalahan dalam pengambilan bahan sampel dan menghindari tercampurnya bahan sampel dengan bahan tanaman lain serta mencocokkan ciri morfologi yang ada pada tanaman yang diteliti dengan kunci determinasi. Berdasarkan hasil determinasi dapat dipastikan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.). Hasil determinasi dapat dilihat pada Lampiran 1 dan 2.

2. Pengambilan bahan

Daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) dalam penelitian ini diperoleh dari Pasar Legi, Surakarta, Jawa Tengah, pada bulan Februari 2017. Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta.

3. Isolasi minyak atsiri

Isolasi minyak atsiri daun kemangi dan daun jeruk purut menggunakan metode destilasi uap dan air. Hasil destilasi 0,6% untuk minyak atsiri daun (Tabel 1) dan 0,8% untuk minyak atsiri daun jeruk purut (Tabel 2). Daun jeruk memiliki rendeman minyak atsiri yang lebih besar daripada daun kemangi. Dapat dilihat pada lampiran 11

Tabel 1. Rendemen minyak atsiri daun kemangi

Proses destilasi	Bobot sampel (gram)	Volume minyak (ml)	Rendemen (%)
Destilasi 1	14000	9	0,06
Total	14000	9	0,06

Tabel 2. Rendemen minyak atsiri daun jeruk purut

Proses destilasi	Bobot sampel (gram)	Volume minyak (ml)	Rendemen (%)
Destilasi 1	5000	40	0,8
Total	5000	40	0,8

4. Analisa minyak atsiri

4.1 Pengamatan organoleptik minyak atsiri. Hasil uji organoleptis dapat dilihat dengan pengamatan secara visual dan panca indra meliputi hidung, mata, dan lidah. Hasil pengamatan organoleptik pada minyak atsiri daun kemangi dan daun jeruk purut dapat dilihat pada Tabel 3 dan 4.

Tabel 3. Hasil pemeriksaan organoleptik minyak daun kemangi

No.	Jenis pemeriksaan	Hasil	Pustaka
1.	Warna	Kuning kecoklatan	Kuning muda-coklat muda (Depkes 2006)
2.	Bau	Aroma khas lemon	Khas kemangi (Depkes 2006)
3.	Bentuk	Cair	Cairan (Depkes 1979)
4.	Rasa	Manis, seperti rampah	Alfrida 2013

Tabel 4. Hasil pemeriksaan organoleptik minyak atsiri daun jeruk purut

No.	Jenis pemeriksaan	Hasil	Pustaka
1.	Warna	Kuning muda	Kuning muda (Sait dan Lubis 1991)
2.	Bau	Khas jeruk purut	Khas jeruk purut (Sait dan Lubis 1991)
3.	Bentuk	Cair	Cairan (Sait dan Lubis 1991)
4.	Rasa	Khas jeruk purut	khas jeruk namun lebih kuat dan segar (Pudil <i>et al.</i> 1998)

Warna minyak atsiri hasil destilasi masing-masing sampel di ambil pada volume yang sama dan di tempatkan dalam sebuah tempat kaca yang bersih dan jernih, kemudian di bandingkan dengan pustaka. Bau dan rasa minyak atsiri pada masing-masing sampel memiliki bau dan rasa yang khas sesuai dari tanaman asalnya.

4.2 Identifikasi minyak atsiri. Hasil identifikasi daun kemangi dan daun jeruk purut seperti yang terlampir dalam penelitian dapat di lihat pada Tabel 5 dan 6.

Tabel 5. Identifikasi minyak atsiri daun kemangi

Pemeriksaan	Hasil	Pustaka
1 tetes minyak atsiri diteteskan pada kertas saring	Minyak atsiri menguap tanpa meninggalkan noda	Minyak atsiri tidak meninggalkan noda bila diteteskan pada kertas saring (Gunawan dan Mulyani 2004)
1 tetes minyak atsiri diteteskan pada permukaan air	Minyak atsiri menyebar dan permukaan air tidak keruh	Minyak atsiri menyebar diatas permukaan air dan tidak keruh (Depkes 1979)

Tabel 6. Identifikasi minyak atsiri daun jeruk purut

Pemeriksaan	Hasil	Pustaka
1 tetes minyak atsiri diteteskan pada kertas saring	Minyak atsiri menguap tanpa meninggalkan noda	Minyak atsiri tidak meninggalkan noda bila diteteskan pada kertas saring (Gunawan dan Mulyani 2004)
1 tetes minyak atsiri diteteskan pada permukaan air	Minyak atsiri menyebar dan permukaan air tidak keruh	Minyak atsiri menyebar diatas permukaan air dan tidak keruh (Depkes 1979)

Hasil identifikasi minyak atsiri daun kemangi dan daun jeruk purut menunjukkan bahwa hasil penelitian sesuai pustaka, bila 1 tetes minyak atsiri diteteskan pada permukaan air, maka minyak akan terlihat menyebar dipermukaan air dan air tidak keruh, jika diteteskan pada kertas saring, minyak tidak meninggalkan noda. Hasil gambar dapat dilihat pada Lampiran 7.

4.3 Penetapan indeks bias minyak atsiri. Hasil pemeriksaan indeks bias dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Indeks bias minyak atsiri

Minyak atsiri	Hasil indeks bias	Pustaka
Daun kemangi	1,485	Indeks bias (20°C) 1,512-1,519 (Depkes, 1970)
Daun jeruk purut	1,448	Indeks bias (20°C) 1,466-1,516 (Widodo, 2005)

Indeks bias minyak atsiri daun kemangi hasil isolasi sebesar 1,485 menunjukkan hasil indeks bias yang diteliti tidak sesuai dengan pustaka pada minyak atsiri kemangi yaitu 1,512-1,519. Indeks bias minyak atsiri daun jeruk purut diperoleh 1,448 yang menunjukkan bahwa hasil indeks bias yang diteliti sesuai dengan pustaka. Indeks bias menunjukkan perbandingan antara sinus sudut datang dengan sinus sudut bias cahaya yang diukur dengan alat refraktometer.

Indeks bias minyak atsiri berhubungan erat dengan komponen-komponen yang tersusun dalam minyak atsiri yang dihasilkan. Komponen penyusun minyak atsiri dapat mempengaruhi nilai indeks biasanya. Semakin banyak komponen berantai panjang seperti sesquiterpen atau komponen bergugus oksigen tersuling, maka kerapatan medium minyak atsiri akan bertambah sehingga cahaya yang datang akan lebih sukar untuk dibiaskan. Hal ini yang menyebabkan indeks bias minyak lebih besar (Wiyono *et al.* 2000). Dapat di lihat pada lampiran 8

4.4 Penetapan bobot jenis minyak atsiri. Hasil pemeriksaan bobot jenis minyak atsiri jeruk purut dan kemangi pada penelitian dapat dilihat pada Tabel 8 dan 9

Tabel 8. Hasil penetapan bobot jenis minyak atsiri daun kemangi

Percobaan	Bobot jenis minyak	Pustaka
I	0,9095	Bobot jenis minyak atsiri (20°C) 0,9100-0,9500 (Depkes 1979)
II	0,9083	
III	0,9070	
Rata-rata	0,9082	

Tabel 9. Hasil penetapan bobot jenis minyak atsiri daun jeruk purut

Percobaan	Bobot jenis minyak	Pustaka
I	0,8125	Bobot jenis minyak atsiri (20°C) 0,8223-0,8699 (Widodo 2005)
II	0,8101	
III	0,8091	
Rata-rata	0,8105	

Hasil bobot jenis minyak atsiri kemangi menurut hasil penelitian adalah 0,9082 dan bobot jenis minyak atsiri pada jeruk purut adalah 0,8105. Berdasarkan pustaka bobot jenis minyak atsiri kemangi pada suhu 20°C adalah 0,910-0,950 dan pada jeruk purut adalah 0,8223–0,8699. Bobot jenis ialah salah satu kriteria yang penting dalam menentukan mutu dan kemurnian minyak atsiri. Semakin rendah nilai bobot jenis suatu minyak atsiri maka tingkat kemurniannya juga semakin rendah. Besarnya bobot jenis suatu minyak bisa dipengaruhi oleh jenis dan jumlah komponen kimia dalam minyak atsiri, maka semakin banyak komponen kimia dalam minyak atsiri dengan begitu semakin tinggi pula bobot jenisnya (Wiyono *et al.* 2000). Lebih lengkap dapat dilihat pada Lampiran 15.

4.5 Penetapan kelarutan dalam alcohol. Hasil kelarutan minyak atsiri jeruk purut dan kemangi dalam etanol 70% dengan perbandingan 1:1

(artinya 1 ml minyak atsiri larut dalam 1 ml etanol 70%) menurut hasil penelitian adalah larut dan jernih. Gambar penetapan kelarutan dalam alkohol dapat dilihat pada Lampiran 7.

4.6 Karakterisasi komponen senyawa penyusun minyak atsiri dengan Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GCMS). Berdasarkan identifikasi minyak atsiri daun jeruk purut dan kemangi menggunakan *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GCMS) dilakukan untuk mengetahui komponen-komponen yang terkandung dalam minyak atsiri. Hasil identifikasi komponen dengan GCMS dapat dilihat pada Tabel 10 dan 11.

Tabel 10. Hasil analisis komponen utama minyak kemangi dengan GC-MS

Peak	Senyawa	RT (min)	BM	Kadar (%)
10	Z-Citral	4.690	152	32,79
9	Beta-Citral	6.599	152	43,43
13	Beta-Caryophyllene	9.642	204	2,39
17	Alpha-Humulene	10.439	204	2,63
3	Linalool	10.573	136	3,54
1	6-methyl-5-hepten-2-one	11.977	136	2,04

Tabel 11. Hasil analisis komponen utama minyak atsiri jeruk purut dengan GC-MS

Peak	Senyawa	RT (min)	BM	Kadar (%)
1	Beta-Phellandrene	4.971	136	2,63
7	Linalool	6.749	136	4,67
8	Citronella	7.602	154	81,26
15	Citronellyl acetat	10.423	138	3,02

Hasil analisis minyak atsiri daun kemangi terdapat 23 senyawa yaitu Z-Citral, Beta-Citral, Beta-Caryophyllene, Alpha humulene, Linalool dan 6-methyl-5-hepten-2-one (Tabel 10). Menurut pustaka kandungan Minyak atsiri di dalam genus *Ocinum* mengandung senyawa Eugenol, Osimen, Pinen, Linalool, Sineol, Geraniol, Metil kavikol, Metil sinamat, Sitral, Kamfor, Timol, Benzyl, Sitronella, Lineon, dan lain-lain (Martono *et al* 2004). Hasil komponen senyawa menunjukkan komponen peak yang sudah sesuai dan memiliki kemiripan sesuai dengan referensi senyawa komponen minyak atsiri yaitu Linalool memiliki aktivitas paling besar dan berpotensi sebagai antibakteri (Hussain *et al* 2008). Sedangkan pada minyak atsiri daun jeruk purut terdapat 20 senyawa yaitu Beta-Phellandrene, Linalool, Citronella dan Citronellyl acetat (Tabel 11). Menurut pustaka kandungan minyak atsiri daun jeruk purut adalah Kurchiline, Sabinene,

1,6-Octadiene, Linalool, Citronellal, Isopulegol, Beta-Citronellol, Trans-Geraniol, Alpha-Copaene, Germacrene, Trans-Caryophyllene, Beta-Selinene, 1,5 Heptadiene, Farnesene, Alpha-Copaene, Nerolidol, Caryophyllene, Nerolidol Z and E Nerolidol Z (Khasanah *et al* 2014). Hasil komponen senyawa menunjukkan komponen peak yang sudah sesuai dan memiliki kemiripan sesuai dengan referensi senyawa komponen minyak atsiri yaitu citronella memiliki aktivitas paling besar dan berpotensi sebagai antibakteri (Loh *et al* 2011). Hasil masing-masing peak dapat dilihat pada Lampiran 16.

5. Pembuatan suspensi bakteri uji

Bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dalam biakan murni diambil masing-masing satu sampe dua ose kemudian dimasukkan secara aseptis ke dalam tabung reaksi steril yang berisi BHI (*Brain Heart Infusion*) yang kekeruhannya disesuaikan dengan kekeruhan standar Mc Farland 0,5 untuk difusi.

6. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 berdasarkan koloni

Identifikasi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 berdasarkan koloni dengan melakukan inokulasi suspensi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada media diferensial *Vogel Johnson Agar* (VJA) yang telah ditetesi 3 tetes kalium tellurit 1% dalam cawan petri dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil pengujian menunjukkan koloni dengan warna hitam, karena *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat mereduksi tellurit menjadi metalik warna medium dan disekitar koloni berwarna kuning karena fermentasi manitol yang dideteksi oleh perubahan warna indikator phenol red dari merah menjadi kuning (asam), dimana dalam kondisi asam menghasilkan pigmen yang bervariasi dari putih sampai kuning tua (Jawetz *et al.* 2012). Hasil identifikasi koloni dapat dilihat pada Lampiran 9.

7. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 berdasarkan mikroskopis

Identifikasi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara morfologi. Hasil pengamatan dengan melakukan pewarnaan Gram pada mikroskop perbesaran kuat

(100x) akan tampak berwarna ungu, berbentuk bulat dan bergerombol seperti buah anggur. Bakteri Gram positif (*Staphylococcus aureus*) memiliki peptidoglikan yang lebih tebal dari pada Gram negatif, sehingga pada pengecatan Gram *Staphylococcus aureus* dapat mempertahankan warna violet dari Gram A (kristal violet). Tujuan pewarnaan Gram ialah untuk melihat morfologi bakteri dan bentuk sel. Perbedaan respon terhadap mekanisme pewarnaan Gram didasarkan pada struktur dan komposisi dinding sel bakteri. Bakteri Gram positif mengandung protein dalam prevalensi lebih rendah dan dinding selnya tebal. Pemberian kristal violet dan iodine, pemberian alkohol (etanol) pada pewarnaan Gram menyebabkan tidak terestrasinya lipid sehingga memperkecil permeabilitas dinding sel Gram positif. Dinding selnya terdehidrasi dengan perlakuan alkohol, pori-pori mengkerut, daya rembes dinding sel dan membran menurun sehingga pewarnaan safranin tidak dapat masuk sehingga sel berwarna ungu (Pelezar dan chan 2000). Hasil gambar identifikasi secara mikroskopis dapat dilihat pada Lampiran 9.

8. Hasil Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 berdasarkan fisiologi-katalase

Uji katalase menggunakan suspensi bakteri uji yang ditanam pada medium nutrisi cair dengan H₂O₂ 3%. Hasil positif ditandai dengan adanya gelembung udara sebab *Staphylococcus aureus* mempunyai enzim katalase. Penambahan H₂O₂ akan terurai menjadi H₂O (air) dan O₂ (oksigen), hal ini ditandai dengan timbulnya gelembung udara. Uji ini dilakukan untuk membedakan antara *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus*. Hasil gambar identifikasi fisiologi berdasarkan katalase dapat dilihat pada Lampiran 9.

9. Hasil Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 berdasarkan fisiologi-koagulasi

Uji koagulasi menggunakan plasma darah kelinci yang diberi nama asam sitrat, diencerkan (1:5) ditambah satu ose biakan bakteri, diinkubasi pada suhu 37°C. Hasil pengamatan tabung diperiksa dengan melihat pembentukan selama 1-4 jam. Hasil positif kuat jika tabung tes dibalik atau dimiringkan, gumpalan plasma tidak terlepas dan tetap melekat pada dinding tabung. *Staphylococcus*

aureus yang bersifat koagulase positif akan menggumpalkan plasma dalam waktu 1 jam (Jawetz *et al.* 2001). Hasil identifikasi pada penelitian ini menunjukkan positif terjadi perubahan plasma darah kelinci yang terdenaturasi oleh *Staphylococcus aureus* sehingga terjadi penggumpalan putih. Tes koagulase ini digunakan untuk membedakan antara bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*, karena *Staphylococcus epidermidis* tidak membentuk gumpalan-gumpalan putih. Hasil gambar identifikasi secara koagulase atau biokimia dapat dilihat pada Lampiran 9.

10. Hasil pengujian aktivitas antibakteri minyak atsiri daun jeruk purut dan kemangi secara difusi

Metode difusi ini, dari kombinasi minyak atsiri daun jeruk purut dan kemangi yang digunakan dalam pengujian daya hambat antibakteri menggunakan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan konsentrasi 50%, 25% pada kombinasi perbandingan 1:1, 1:2, 1:3, 2:1, 3:1. Masa inkubasi dilakukan selama 24-48 jam pada suhu 37°C. Hasil diameter hambat dari uji difusi minyak atsiri daun jeruk purut dan kemangi tunggal dan kombinasi dapat dilihat pada Tabel 12.

Tabel 12. Diemeter hambat tunggal dari uji difusi minyak atsiri

Konsetrasi	Rata-rata zona hambat	± SD
Cipro (+)	25	0,0000
Daun kemangi 50%	15,4	0,5000
Daun jeruk purut 50%	11,8	0,5291
Kombinasi daun jeruk purut dan daun kemangi 50% (1 :1)	16,9	0,6806
Kombinasi daun jeruk purut dan daun kemangi 50% (1 :2)	15,6	0,8144
Kombinasi daun jeruk purut dan daun kemangi 50% (1 :3)	16,9	0,6806
Kombinasi daun jeruk purut dan daun kemangi 50% (2: 1)	13,5	0,6027
Kombinasi daun jeruk purut dan daun kemangi 50% (3 :1)	12,9	0,2516
Daun kemangi 25%	10,1	0,6027
Daun jeruk purut 25%	9,1	0,6027
Kombinasi daun jeruk purut dan daun kemangi 25% (1 :1)	10,7	0,5131
Kombinasi daun jeruk purut dan daun kemangi 25% (1 :2)	9	0,7637
Kombinasi daun jeruk purut dan daun kemangi 25% (1 :3)	9,1	1,4011
Kombinasi daun jeruk purut dan daun kemangi 25% (2 :1)	8,1	0,4041
Kombinasi daun jeruk purut dan daun kemangi 25% (3 :1)	8,6	0,7023

Hasil dari uji difusi adalah didapatkan daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yang paling efektif adalah pada minyak atsiri tunggal kemangi dengan konsentrasi 50%, yang diameter daya hambatnya adalah $15,40 \pm 0,5000$. Daya hambat paling efektif pada minyak atsiri kombinasi adalah pada perbandingan 1:1 dan 1:3 dengan konsentrasi 50%, yang diameter daya hambatnya sama $16,96 \pm 0,6806$. Uji difusi dilakukan untuk mengetahui apakah kombinasi minyak atsiri jeruk purut dan kemangi dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Berdasarkan data yang diperoleh dilakukan analisis statistik, untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan daya hambat yang signifikan dari sampel minyak atsiri tunggal dan kombinasi yang diteliti. Hasil analisa statistik menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara tunggal jeruk purut, tunggal kemangi, kontrol positif, dan kombinasi (1:1,1:2,1:3,2:1,3:1). Daya hambat minyak atsiri tunggal kemangi mempunyai perbedaan yang signifikan dari minyak atsiri tunggal jeruk purut, kontrol positif, dan kombinasi (1:1;1:2;1:3;2:1;3:1). Daya hambat minyak atsiri dari kombinasi 1: 1 dan 1:3 mempunyai perbedaan yang signifikan dari minyak atsiri tunggal jeruk purut, kemangi, kontrol positif dan kombinasi (1:2;2:1;3:1)

pada uji ANOVA dua jalan, dengan demikian dapat disimpulkan bahwa adanya perbedaan daya hambat yang nyata dari sampel tunggal minyak atsiri sereh dengan hasil penelitian lebih efektif dari sampel lainnya. Berdasarkan hasil rata-rata diameter daya hambat pada kombinasi yang lebih efektif yaitu pada kombinasi dengan perbandingan 1:1 dan 1:3 dibandingkan dengan kombinasi 1:2; 2:1; dan 3:1. Hasil uji statistik dapat dilihat pada Lampiran 18.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan sebagai berikut :

Pertama, minyak atsiri tunggal dan kombinasi (1:1,1:2,1:3,2:1,3:1) dari daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kedua, dari uji difusi daya hambat yang paling efektif pada minyak atsiri tunggal adalah tunggal kemangi dengan konsentrasi 50% yang diameter daya hambatnya adalah $15,40 \pm 0,5000$. Sedangkan pada kombinasi daun jeruk purut dan kemangi dengan konsentrasi 50% adalah perbandingan 1: 1 dan 1:3 dengan diameter daya hambatnya sama $16,96 \pm 0,6806$.

B. Saran

Dari penelitian yang telah dilakukan, disarankan pada peneliti selanjutnya agar didapatkan hasil yang lebih maksimal sebagai berikut :

1. Perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri minyak atsiri daun jeruk purut dan kemangi dengan metode di lusi.
2. Perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri minyak atsiri daun jeruk purut dan kemangi dengan menggunakan spesies bakteri patogen yang berbeda.
3. Perlu dikembangkan formula sediaan topikal terhadap *Staphylococcus aureus* dari minyak atsiri daun jeruk purut dan kemangi secara kombinasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Adams RP. 2004. *Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectrometry*. Carol stream. Allured.
- Adeola SA, Folorunso, OS, & Amisu KO. 2012. Antimicrobial Activity of *Ocimum basilicum* and its Inhibition on the Characterized and Partially Purified Extracellular Protease of *Salmonella typhimurium*. *Research Journal of Biology* 2 (5): 138-144.
- Agusta A. 2000. *Minyak Atsiri Tumbuhan Tropika Indonesia*. Bandung: ITB.
- Agusta A. 2001. *Aroma Terapi*. Jakarta: Penerbit Swadaya.
- Ansel HC. 2006. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Edisi IV. Farida Ibrahim. Penerjemah; Jakarta: Universitas Indonesia Press. Hlm 605-608. Terjemahan dari: *Introduction Forms Pharmaceutical Preparations*.
- Ayumi. 2011. *The effect of handwashing with water or soap on bacterial contamination of hands*. USA: Mc Graw Hill Companies p 49-53.
- Bonang G, Koeswardono ES. 2004. *Mikrobiologi Kedokteran untuk Laboratorium dan Klinik*. Jakarta: Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Bilal A, Jahan N, Ahmed A, Bilal SN, Habib S & Hajra S. 2012. Phytochemical and Pharmacological Studies on *Ocimum basilicum* Linn- A Review. *IJCRR* 4 (23): 73-83.
- Burt S. 2004. Essential Oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods – A Review. *Int J Food Microbiol*. 94(3):223–53.
- Chanthaphon S, Chanthachum S, dan Hongpattarakere T. 2008. Antimicrobial activities of essential oils and crude extracts from tropical Citrus spp. against food-related microorganisms. *Songklanakarin J. Sci. Technol* 30: 125-131.
- Corner DE. 2003. *Naturally Occuring Compounds in Antimicrobial in Food* Eds. by Davidson PM and Branen AL. Eds. New York: Marcel Dekker.
- Darmadi. 2008. *Infeksi Nosokomial: Problematika dan Pengendaliannya*. Jakarta: Salemba Medika. hlm.80-81.
- [Depkes] RI. 1979. *Farmakope Indonesia*. Edisi III. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

- [Depkes] RI. 1994. *Buku Ajar Mikrobiologi*. Kedokteran Edisi Revisi. Jakarta: Binarupa Aksara.
- [Depkes] RI. 2000. *Materia Medika Indonesia*. Jilid II. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Depkes] RI. 2001. *Materia Medika Indonesia* Jilid 1. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Depkes] RI. 2003. *Pedoman Teknologi Pengolahan Cassiavera*. Jakarta: Departemen Pertanian.
- [Depkes] RI. 2007. *Materia Medika Indonesia*. Jilid VI. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hlm 10.
- Entjang I. 2003. *Mikrobiologi dan Parasitologi Untuk Akademi Keperawatan Dan Sekolah Tenaga Kesehatan Sederajat*. Bandung: PT. Citra Aditya Bakti.
- Garrity GM, Lilburn JR, Cole SH, Harrison, J Euzeby, and BJ Tindall. 2007. *Taxonomic Outline Of the Bacteria and Archaea*, Release 7.7. Michigan: Michigan State University Board of Trustees. P. 364-464.
- Gibson M. 2008. *Pharmaceutical Preformulation and Formulation Second edition*. Leicestershire: Informa Kesehatan. Hlm 476.
- Guenther E. 2010. *Minyak Atsiri*. RS Ketaren. Penerjemah; Jakarta: Universitas Indonesia Press. Terjemahan dari: *Essential Oils*.
- Gunawan D, Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi)*. Jilid 1. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Hadipoentyanti E & Wahyuni S. 2008. Keragaman Selasih (*Ocimum* Spp.) Berdasarkan Karakter Morfologi, Produksi dan Mutu Herba. *Jurnal Littri* 14 (4): 141-148.
- Hamza I S, Sundus HA, Hussaine A. 2009. *Study the Antimicrobial Activity of Lemon Grass Leaf Extracts*. 2 : 1
- Harminta. 2004. *Mikrobiologi Kedokteran Untuk Laboratorium*. Jakarta: Fakultas Kedokteran UI. PT Gramedia.
- Harbone. 2007. *Metode Fitokimia, Penentuan Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Padmawinata K, Soediro I, Penerjemah; Bandung: Penerbit ITB. Terjemahan dari: *Phytochemical Methods*.
- Hussain Al, Anwar F, Sherazi, STH, Przybyslki, R. 2008. Chemical, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations, *Food Chem* 108: 986-995.

- Ismail, M. 2006. Central Properties and Chemical Composition of *Ocimum basilicum* Essential Oil. *Pharmaceutical Biology*. 44 (8): 619-626. Jafari B, Amirreza E, Babak MA, and Zarifeh H. 2012. *Antibacteria activities of lemon grass methanol extract and essence and pathogenic bacteria*. American-Eurasian J. Agric and Environ Sci 12 (8): 1042 – 1046.
- Jawetz E, Melnick JI, Adelberg FA. 2001. Tinjauan Dari Mikrobiologi Medis. Ed 16th. H Tonang. Penerjemah; California: EGC Penerbit Buku Kedokteran. Hlm 198. Terjemahan dari: *Review Of Medical Microbiology*.
- Jawetz *et al.* 2001. *Mikrobiologi Kedokteran: Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga*. Surabaya: Penebar Swadaya.
- Jawetz Z, Melnick & Adelberg. 2002. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi XXII. Jakarta: Salemba Medika.
- Jawetz E, Melnick , J L, EA, 2005. *Medical Microbiology*. 23th. Ed. Elferia Nr. Penerjemah; Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Jawetz E, Melnick , J L, EA, 2007. *Medical Microbiology*. 24th. Ed. Elferia Nr. Penerjemah; Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Jawetz E, Melnick , J L, EA, 2012. *Medical Microbiology*. 26th. Ed. Elferia Nr. Penerjemah; Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Joyce dan Evelyn.1996. *Farmakologi Pendekatan Proses Keperawatan*. EGC. Buku Kedokteran. Jakarta. hlm 142.
- Kashyap CP, Ranjeet K., Vikrant A & Vipin K. 2011. Therapeutic Potency of *Ocimum kilimandscharichumguerke* – A Review. *Global Journal of Pharmacology* 5 (3): 191-200.
- Katzung BG. 2002. *Farmakologi Dasar Dan Klinik*. Ed ke-3. Andrianto. Penerjemah; Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. Terjemahan dari: *Basic and Clinical Pharmacology*.
- Khasanah LU, Kawiji, Utami R dan Aji YM. 2015. Pengaruh Perlakuan Pendahuluan Terhadap Karakteristik Mutu Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC), *Jurnal Teknologi Pangan* 4: hal 48.
- Koensoemardiyah S. 2010. *A to Z Minyak Atsiri Untuk Industri Makanan, Kosmetik dan Aroma terapi*. Yogyakarta: Penerbit ANDI.
- Lestarie N. 2014. Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Kemangi (*Ocimum cannum*) secara in vitro [skripsi].

- Loh FS, Awang RM, Omar D, dan Rahmani D. 2011. Insecticidal properties of *Citrus hystrix* DC leaves essential oil against *Spodoptera litura* fabricius, *Journal of Medicinal Plants Research*, 5 (16): 3739-3744.
- Marianne dan Sinaga KR. 2006. Uji Efek Antibakteri Minyak Atsiri Daun Ruku-Ruku (*Ocimum Sanctum* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*, *J. Kom.Pen* 18 (2): 39-42.
- Martono BE, Hadipoentyanti dan L Udarno. 2004. Plasma Nuftah Insektisida Nabati. Perkembangan. Teknologi TRO XVI.
- Maryati, Ratna SF dan Triastuti R. 2007. Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*. *Jurnal Penelitian Sains & Teknologi* 8.
- Muhlisah F. 2005. *Tanaman Obat Keluarga*. Jakarta: Penerbit Swadaya.
- Mulyono dan Isman. 2011. *Bertahan Di Tengah Krisis*. Jakarta: PT. Agromedia Pustaka. hlm 195.
- Pelezer jr, M.j Chan E.CS. 2000. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Penerbit Swadaya.
- Pratiwi ST. Mikrobiologi farmasi. Jakarta: Erlangga; 2008, hal. 42-3, 188-91
Prayudhani, M.F., Hastuti, U.S. & Suarsini E., 2012, Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kulit Batang Sawo Kecil (*Manilkara kauki* L Dubard) terhadap Bakteri *Escherichia coli*, *Laporan Penelitian*, Surakarta, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Sebelas Maret.
- Ramesh B & Satakopan V N. 2010. In Vitro Antioxidant Activities *Ocimum* Species: *Ocimum basilicum* and *Ocimum sanctum*, *Journal of Cell and Tissue Research* 10. 1: 2145-2150.
- Rao, Sridar PN. 2008. *Sterilization and Desinfection*. Davangere: Departemen Of Microbiology.
- Ratna Y, Peni I, Septi SR. 2011. *Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut (Citrus Hystrix) Terhadap Staphylococcus Aureus Dan Escherichia Coli*. SURAKARTA: Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Saepudin, Sulistiawan, R.Y., dan Hanifah, S., 2007. *Perbandingan Penggunaan Antibiotika Pada Pengobatan Pasien Infeksi Saluran Kemih Yang Menjalani Rawat Inap di Salah Satu RSUD di Yogyakarta Tahun 2004 dan 2006*. Universtitas Islam Indonesia, Yogyakarta: 57-63.
- Sait, S dan Lubis, E. 1991. *Potensi Minyak Atsiri Indonesia Sebagai Tanaman Obat*. BPTO. Bogor.

- Sastry KP, Kumar RR, Kumar AN, Sneha G & Elizabeth M. 2012. Morpho-Chemical Description and Antimicrobial Activity of Different *Ocimum species*, *J. Plant Develop.* 19: 53-64.
- Siswandono, Soekardjo B. 2000. *Kimia Medisinal*. Jilid 1. Edisi 2. Surabaya: Airlangga University Press. 216-218.
- Sriyanti dan Wijayani. 2008. *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek*. Jakarta: Gramedia.
- Stahl E. 2008. *Analisa Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopis*. Terjemahan dari: Padmawinanto K, Sudiro L. Bandung: Penerbit ITB.
- Sudarsono, Gunawan D, Wahyuono S, Donatus IA dan Purnomo. 2002. Tumbuhan obat II. Hasil *Penelitian, Sifat-sifat dan Penggunaan*, 96-100. Pusat Studi. Obat Tradisional. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Sudewo B. 2005. Basmi Penyakit dengan Sirih Merah, 22, 35-36, PT Agromedia Pustaka, Jakarta.
- Sullivan C. 2009. *Food For Thought: The Science, Culture & Politics of Food in Spring*, College Seminar 235: 1-3.
- Supriadi *et al.* 2001. *Tumbuhan Obat Indonesia*. Jakarta: Pustaka Populer Obor.
- Suriawiria U. 2005. *Pengantar Mikrobiologi Umum*. Bandung: Penerbit Angkasa. 60-61. 57-58.
- Suryono B. 2009. *Bakteriologi Umum dan Bakteriologi Klinik*. Kediri: Akademi Analis Kesehatan Bhakti Jaya.
- Syamsul H, Rodame MN. 2015. *Tanaman Tumbuhan Obat*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Tjay TH dan Rahardja K. 2007. *Obat-Obat Penting*. Jakarta: PT Elex Media Komputindo.
- Vimol S, Chanwit T, Veena N, Nuntavan B, Kulkanya C, Siwimol P, Sirirat C, Somporn S. 2012. *Antibacterial activity of essential oils from Citrus hystrix (makrut lime) against respiratory tract pathogens*. Department of Food Chemistry, Faculty of Pharmacy, Mahidol University, Phayathai Road, Bangkok 10400 Thailand
- Viswanad V, Aleykutty NA, Zachariah SM and Prabhakar V (2011). Antimicrobial potential of herbal medicines. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 2 (7): 1651-1658.
- Waluyo L. 2004. *Mikrobiologi Umum*. Edisi Pertama. Malang. UMM Press. Hal 197-198.

Wijaya Kusuma H. 1992. *Tanaman Berkhasiat obat di Indonesia*. Jilid III. Kartini Jakarta.

Wirikanda SP. 2015. *Kitab Herbal Nusantara*. Jakarta: Penerbit Kata Hati.

Widodo. 2005. Identifikasi Hasil Distilasi Minyak Atsiri dari Minyak Bagian-Bagian Tanaman Jeruk Purut (*Citrus hystrix* D.C.), *Tesis*, Fakultas Teknik, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

L

A

M

P

I

R

A

N

Lampiran 1. Hasil determinasi tanaman kemangi



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
LAB. PROGRAM STUDI BIOLOGI
Jl. Ir. Sutarni 36A Kentingan Surakarta 57126 Telp. (0271) 863375 Fax (0271) 663375
http://www.biology.mipa.uns.ac.id, E-mail biologi @ mipa.uns.ac.id

Nomor : 61/UN27.9.6.4/Lab/2017
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan
Lampiran : -

Nama Pemesan : Doni Wijaya
NIM : 19133774A
Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

Nama Sampel : *Ocimum basilicum* L.
Familia : Lamiaceae

Hasil Determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr.(1963;1965) :
1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31b-403b-
404b-405a-406b-409a-410b-411b **190. Lamiaceae**
1b-2b-3a-4c-5b-7b-8c-11a-12b-16b-18a-19a **34. Ocimum**
1a-2a-3a **Ocimum basilicum** L.

Deskripsi Tumbuhan :

Habitus : terna, semusim atau berumur pendek, tumbuh tegak, tinggi tanaman 0.3-0.6(-1) m, sangat harum. Akar : tunggang, bercabang, putih kotor atau putih kekuningan hingga coklat keputihan. Batang : lunak, sedikit berkayu pada bagian pangkal, berbentuk persegi ketika muda dan bulat ketika dewasa, diameter hingga 6 mm, bercabang banyak, permukaan batang muda berambut sedangkan batang dewasa sedikit berambut hingga gundul, hijau hingga hijau keunguan. Daun : tunggal, berseling berhadapan, bentuk helaian daun bufat telur hingga elips, panjang 1-5(-8) cm, lebar 0.5-2(-4) cm, pangkal daun meruncing, tepi daun beringgit dangkal atau bergerigi hingga rata, ujung daun runcing hingga meruncing, berambut rapat hingga gundul, hijau muda hingga hijau keunguan, pertulangan daun menyirip; tangkai daun bulat, panjang 1-2(-4.5) cm, permukaan berambut hingga gundul. Bunga : majemuk berupa karang semu (*verticillaster*) berkumpul menjadi tandan di ujung, panjang sampai 30 cm; daun pelindung (braktea) elips atau lanset terbalik hingga belah ketupat, panjang 3-11 mm, lebar 1-3 mm, berambut halus; tangkai bunga melengkung pada bagian ujung, panjang 3-4 mm, berambut putih padat; kelopak bunga berbentuk tabung, bercuping 2, hijau muda hingga hijau tua, cuping bagian atas hampir bulat, panjang 3.5 mm (pada buah 4.5 mm), cuping bagian bawah berbentuk seperti kuku, panjang 3.5 mm (pada buah 4.5 mm) dengan bagian ujungnya bergigi 4 dan 2 gigi bagian tengah paling panjang, rambut kelenjar sangat padat, tabung kelopak bagian dalam di atas bakal buah berambut panjang; mahkota bunga berbentuk tabung, berbibir dua, panjang 5-8 mm, berambut di bagian luar, putih keunguan atau putih atau kuning krem, bibir bagian atas bercuping 4, sangat melengkung pada bagian ujungnya, bibir bagian bawah bulat telur, rata; benang sari 4, muncul dari mulut tabung, 2 benang sari paling luar lebih panjang dibandingkan 2 lainnya, gundul hingga berambut; kepala putik bercuping 2, panjang 1 mm, panjang tangkai putik 9 mm, bakal buah beruang 4. Buah : keras, terdiri atas 4 biji yang tertutup oleh sisa kelopak bunga, hijau ketika muda dan coklat tua hingga hitam ketika masak. Biji : bulat telur, panjang 1-2 mm, lebar 1 mm, coklat tua hingga hitam.

Surakarta, 15 Maret 2017

Kepala Lab. Program Studi Biologi

Dr. Tetri Widiyahi, M.Si.
NIP. 19711224 200003 2 001

Penanggungjawab
Determinasi Tumbuhan

Suraman, S.Si., M.Si.
NIP. 19800705 200212 1 002

Mengetahui
Kepala Program Studi Biologi FMIPA UNS

Dr. Ratna Setyaningsih, M.Si.
NIP. 19660714 199903 2 001

Lampiran 2. Hasil determinasi tanaman daun jeruk purut



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
LAB. PROGRAM STUDI BIOLOGI

Jl. Ir. Sutarni 36A Kentingan Surakarta 57126 Telp. (0271) 663375 Fax (0271) 663375
http://www.biology.mipa.uns.ac.id, E-mail: biologi@mpa.uns.ac.id

Nomor : 62/UN27.9.6.4/Lab/2017
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan
Lampiran : -

Nama Pemesan : Doni Wijaya
NIM : 19133774A
Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

Nama Sampel : *Citrus hystrix* DC.
Familia : Rutaceae

Hasil Determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963;1965):

1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31a-32a-33a-34a-35a-36d-37b-38b-39b-41b-42b-44b-45b-46e-50b-51b-53b-54b-56b-57b-58b-59d-72b-73b-74a-75b-76a-77a-78b-103c-104b-106b-107a-108b-109b-134a-135b-136b-137a-138c-139b-140a-141b-142b-143b-147b-156b-157a-158b-160a-161a **133. Rutaceae**
1b-18b-19b-20a-21a **23. Citrus**
1a-2a **Citrus hystrix** DC.

Deskripsi Tumbuhan :

Habitus : pohon, menahun, tegak, tinggi 2-12 m. Akar : tunggang, bercabang, putih kotor atau putih kekuningan. Batang : bentuk bulat, berkayu ulet, tumbuh tegak, bercabang banyak, warna abu-abu kusam, permukaan halus atau berduri pendek; ranting tidak berduri, permukaan gundul dan kusam. Daun : majemuk menjari beranak daun satu, tersebar, tangkai daun ke arah ujung kadang-kadang bersayap sedikit, panjang 0.5-2.5 cm, tepi sayap (alae) beringgit melekuk ke dalam; helaian daun bulat telur melebar atau bulat telur memanjang, panjang 3-15 cm, lebar 2.5-6 cm, pangkal daun membulat hingga tumpul, tepi daun beringgit, ujung daun tumpul dan melekuk ke dalam sedikit, permukaan daun mengkilat, daging daun seperti kertas, pertulangan daun menyirip, permukaan atas hijau tua, permukaan bawah hijau muda. Bunga : di ketiak daun atau di ujung cabang, berjumlah 1-15, berwarna putih, permukaan gundul, berbau harum; kelopak bunga berbentuk seperti mangkok, berbagi 4, bulat telur melebar, tinggi 1.5 mm, berwarna putih; daun mahkota bunga berjumlah 4-5, berbentuk bulat telur memanjang, panjang 7-10 mm, lebar 3-5 mm, ujungnya meruncing hingga tumpul, berwarna putih kekuningan atau kadangkala disertai warna ungu, permukaan gundul; benang sari 24-30, berlepasan, panjang tangkai sari 3-6 mm, kepala sari bulat telur memanjang; tangkai putik gundul, panjang 1-1.5 mm, bakal buah bulat dan gundul. Buah : buah sejati tunggal berdaging jeruk (hesperidium), bentuk bola hingga ellipsoid, diameter 5-7 cm, menggantung, permukaan berkerut-kerut tidak beraturan, warna hijau tua hingga hijau kekuningan atau kuning, daging buah hijau kekuningan, terdiri atas 10-12 segmen, sangat masam dan sedikit pahit. Biji : bulat telur terbalik, permukaan licin, putih kekuningan.

Surakarta, 15 Maret 2017

Kepala Lab. Program Studi Biologi

Dr. Tetri Widiyanti, M.Si.
NIP. 19711224 200003 2 001

Penanggungjawab
Determinasi Tumbuhan

Suratman, S.Si., M.Si.
NIP. 19800705 200212 1 002

Mengetahui
Kepala Program Studi Biologi FMIPA UNS

Dr. Ratna Setyaningsih, M.Si.
NIP. 19660714 199903 2 001

Lampiran 3. Kemangi, daun jeruk purut dan destilasi



Kemangi



daun jeruk purut



Rangkaian alat destilasi uap dan air



Pemisahan minyak dan air

Lampiran 4. Minyak atsiri kemangi, daun jeruk purut dan alat

Minyak atsiri kemangi dan daun jeruk purut



Refraktometer



Gas Chromatography



Vortex mixer



Neraca analitik

Lampiran 5. Alat sterilisasi



Autoklaf



Oven



Inkubator



Inkas

Lampiran 6. Bahan uji antibakteri



Kombinasi minyak atsiri



Bakteri murni



Suspensi bakteri difusi



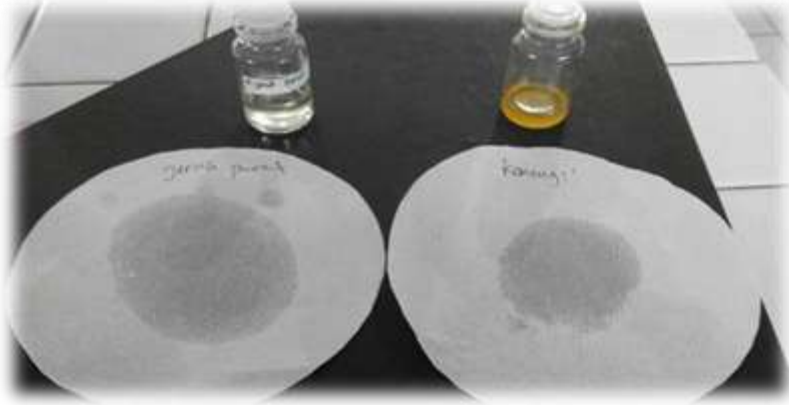
Cakram ukuran 6 mm



Aseton



kontrol (+)

Lampiran 7. Identifikasi minyak atsiri dan kelarutan dalam alkohol

Minyak atsiri jeruk purut

Minyak atsiri kemangi



Minyak atsiri daun jeruk purut

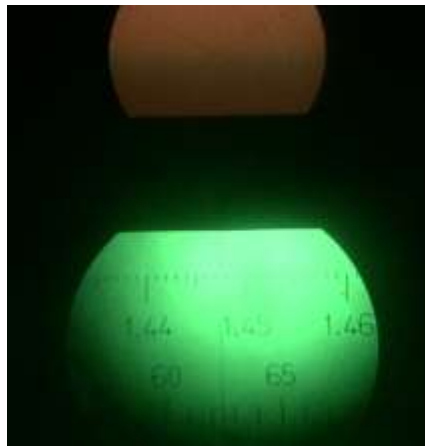


Minyak atsiri kemangi

Lampiran 8. Penetapan indeks bias minyak atsiri



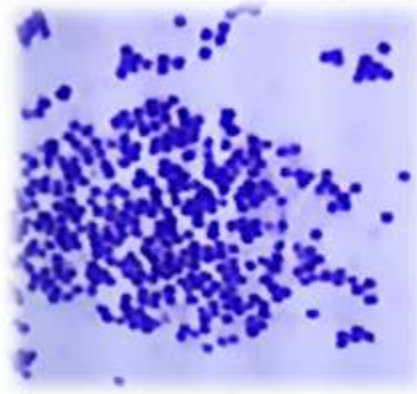
Indeks bias jeruk purut



Indeks bias kemangi

Lampiran 9. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus*

Uji berdasarkan koloni



Uji berdasarkan mikroskopis



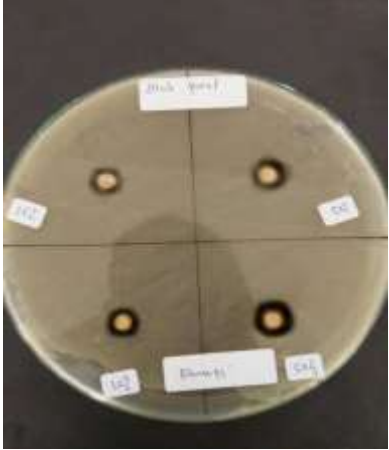
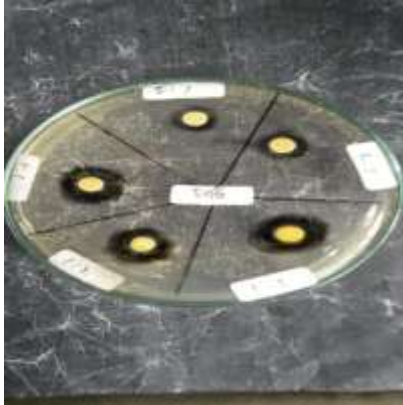
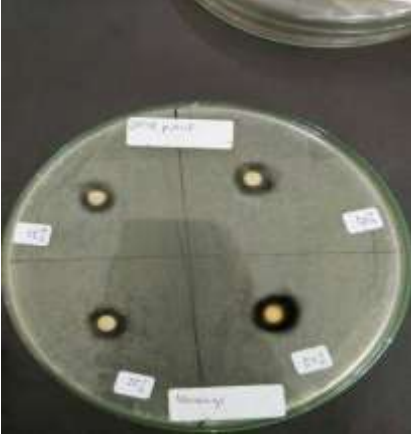

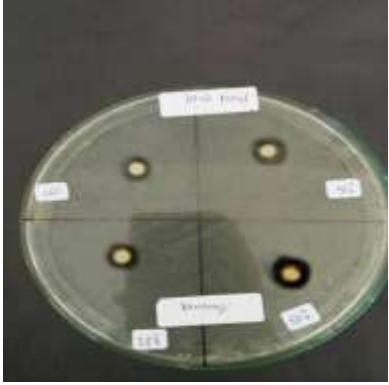
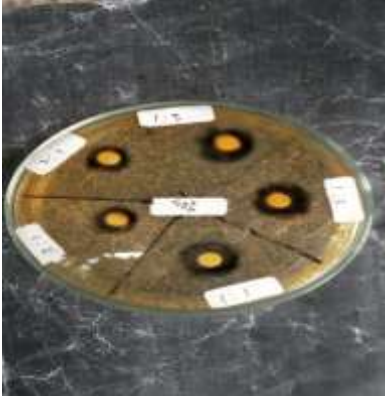
Uji berdasarkan katalase



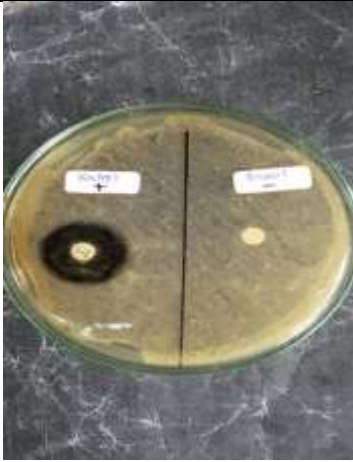
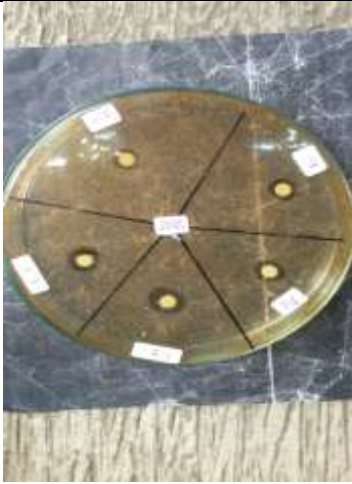
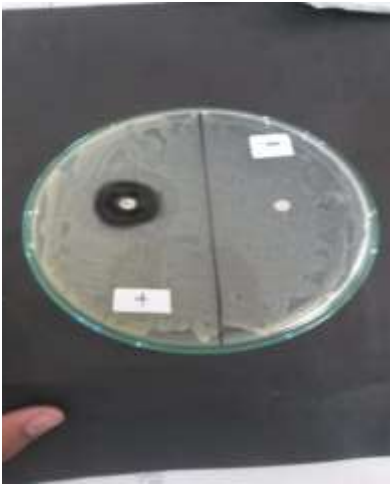


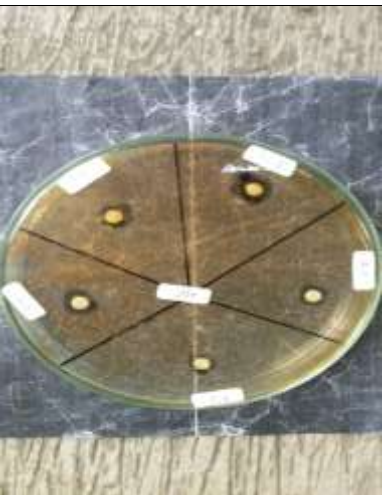
Uji berdasarkan fisiologi-koagulase

Lampiran 10. Hasil uji aktivitas antibakteri dengan difusi

Konsentrasi 50%

Replikasi	Uji difusi tunggal	Uji difusi kombinasi
1		
2		
3		

Konsentrasi 25%

Replikasi	Uji difusi	Uji difusi kombinasi
1		
2		
3		

Lampiran 11. Perhitungan kadar minyak atsiri kemangi dan daun jeruk purut

Proses destilasi	Bobot basah (gram)	Volume minyak atsiri (ml)	Rendemen (% v/b)
Destilasi 1	14000	9	0,06 %
Total	14000	9	0,06 %

Perhitungan % Rendemen :

$$\% \text{ Rendemen daun jeruk purut} = \frac{\text{volume minyak}}{\text{bobot sampel}} \times 100 \%$$

Destilasi I =

$$\frac{9 \text{ ml}}{14000 \text{ gram}} \times 100 \% = 0,06 \%$$

Jadi, rendemen minyak atsiri daun kemangi adalah 0,06 %

Proses destilasi	Bobot basah (gram)	Volume minyak atsiri (ml)	Rendemen (% v/b)
Destilasi 1	5000	40	0,8 %
Total	5000	40	0,8 %

Perhitungan % Rendemen :

$$\% \text{ Rendemen kemangi} = \frac{\text{volume minyak}}{\text{bobot sampel}} \times 100 \%$$

Destilasi I =

$$\frac{40 \text{ ml}}{5000 \text{ gram}} \times 100 \% = 0,8 \%$$

Jadi, kadar minyak atsiri daun jeruk purut adalah 0,8 %

Lampiran 12. Perhitungan bobot jenis minyak atsiri

Bobot timbang kosong (g)	Bobot timbang + air (g)	Bobot timbang + minyak (g)		Bobot minyak (g)	
		Daun jeruk purut	Kemangi	Daun jeruk purut	Kemangi
36,652	37,260	37,146	37,205	0,8125	0,9095
36,652	37,263	37,147	37,207	0,8101	0,9083
36,652	37,265	36,148	37,208	0,8091	0,9070
		Rata –Rata		0,8105	0,9082

Perhitungan bobot jenis :

I. Bobot jenis daun kemangi :

$$\begin{aligned}
 \text{Bobot botol + air} &= 37,260 \\
 \text{Bobot botol kosong} &= \underline{36,652} - \\
 \text{Bobot air} &= 0,608 \\
 \text{Bobot botol + minyak} &= 37,205 \\
 \text{Bobot botol kosong} &= \underline{36,652} - \\
 \text{Bobot minyak} &= 0,553 \\
 \\
 \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{berat minyak}}{\text{bobot air}} \\
 &= \frac{0,553}{0,608} = 0,9095
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Bobot botol + air} &= 37,263 \\
 \text{Bobot botol kosong} &= \underline{36,652} - \\
 \text{Bobot air} &= 0,611 \\
 \text{Bobot botol + minyak} &= 37,207 \\
 \text{Bobot botol kosong} &= \underline{36,652} - \\
 \text{Bobot minyak} &= 0,555 \\
 \\
 \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{berat minyak}}{\text{bobot air}} \\
 &= \frac{0,555}{0,611} = 0,9083
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Bobot botol + air} &= 37,265 \\
 \text{Bobot botol kosong} &= \underline{36,652} - \\
 \text{Bobot air} &= 0,613 \\
 \text{Bobot botol + minyak} &= 37,208 \\
 \text{Bobot botol kosong} &= \underline{36,652} - \\
 \text{Bobot minyak} &= 0,556
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{berat minyak}}{\text{bobot air}} \\ &= \frac{0,556}{0,613} = 0,9070 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata bobot jenis minyak atsiri kemangi} &= \frac{0,9095 + 0,9083 + 0,9070}{3} \\ &= 0,9082 \end{aligned}$$

II. Bobot jenis daun jeruk purut :

$$\begin{aligned} \text{Bobot botol + air} &= 37,260 \\ \text{Bobot botol kosong} &= \underline{36,652} - \\ \text{Bobot air} &= 0,608 \\ \text{Bobot botol + minyak} &= 37,146 \\ \text{Bobot botol kosong} &= \underline{36,652} - \\ \text{Bobot minyak} &= 0,494 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{berat minyak}}{\text{bobot air}} \\ &= \frac{0,494}{0,608} = 0,8125 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Bobot botol + air} &= 37,263 \\ \text{Bobot botol kosong} &= \underline{36,652} - \\ \text{Bobot air} &= 0,611 \\ \text{Bobot botol + minyak} &= 37,147 \\ \text{Bobot botol kosong} &= \underline{36,652} - \\ \text{Bobot minyak} &= 0,495 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{berat minyak}}{\text{bobot air}} \\ &= \frac{0,495}{0,611} = 0,8101 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Bobot botol + air} &= 37,265 \\ \text{Bobot botol kosong} &= \underline{36,652} - \\ \text{Bobot air} &= 0,613 \\ \text{Bobot botol + minyak} &= 37,146 \\ \text{Bobot botol kosong} &= \underline{36,652} - \\ \text{Bobot minyak} &= 0,496 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{berat minyak}}{\text{bobot air}} \\ &= \frac{0,496}{0,613} = 0,8091\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Rata-rata bobot jenis minyak atsiri jeruk purut} &= \frac{0,8125 + 0,8101 + 0,8091}{3} \\ &= 0,8105\end{aligned}$$

Jadi, bobot jenis minyak atsiri daun kemangi adalah 0,9082%

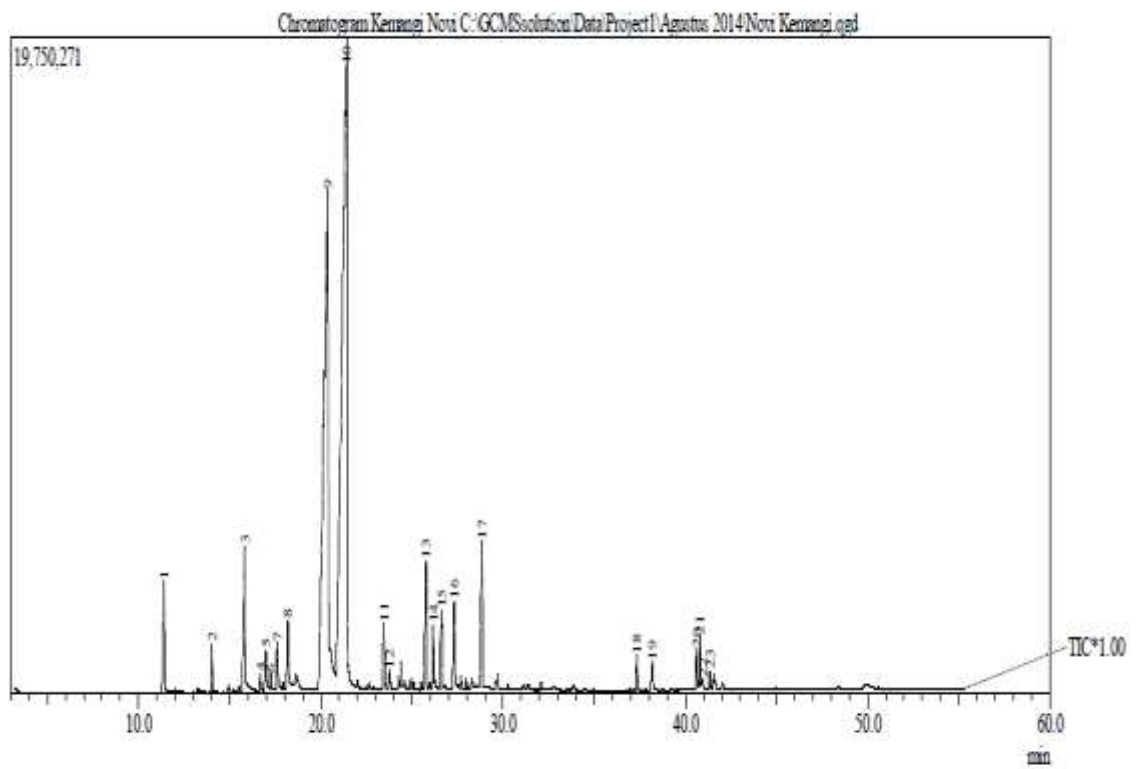
Jadi, bobot jenis minyak atsiri daun jeruk purut adalah 0,8105%

Jadi, bobot jenis praktek sesuai dengan bobot jenis menurut pustaka.

Lampiran 13. Hasil analisis GCMS minyak atsiri

Kromatogram minyak atsiri kemangi

Analyzed by : Admin
Sample Name : Kemangi Novi
Sample ID :
Data File : C:\GCMSolution\Data\Project1\Agustus 2014\Novi Kemangi.qgd
Method File : C:\GCMSolution\Data\Project1\Agustus 2014\Biodiesel baru.qgm
Tuning File : C:\GCMSolution\System Tune1\September 15 2015.qgt



Hasil analisis komponen minyak atsiri kemangi dengan GC-MS

Peak	Senyawa	RT (min)	BM	Kadar (%)
1	6-methyl-5-hepten-2-one	11.399	126	2.04
2	1,3,7-Octatriene, 3-7-Dimethyl	14.028	136	0.60
3	Linalool	15.829	136	3.54
4	Beta- Thujone	16.682	152	0.28
5	Neral	16.977	134	1.04
6	Citronella	17.258	154	0.25
7	Limonene Oxide	17.613	152	0.78
8	Limonene Oxide	18.187	152	1.25
9	Z-Citral	20.387	152	32.79
10	Beta-Citral	21.418	152	43.43
11	Eugenol	23.466	164	1.29
12	Neryl-Acetate	23.775	154	0.39
13	Beta-Caryophyllene	25.768	204	2.39
14	Famesene	26.170	204	1.20
15	Alpha-Humulene	26.604	204	1.48
16	Germacrene-D	27.317	166	1.51
17	Alpha-Humulene	28.829	204	2.63
18	Methyl palmitate	37.347	270	0.58
19	Hexadecanoic acid	38.201	256	0.61
20	Methyl-9,12-Hexadecadienoate	40.624	266	0.62
21	Methyl elidate	40.485	264	0.83
22	Aristolen	40.958	204	0.20
23	Octadecanoic acid, Methyl ester	41.347	298	0.26

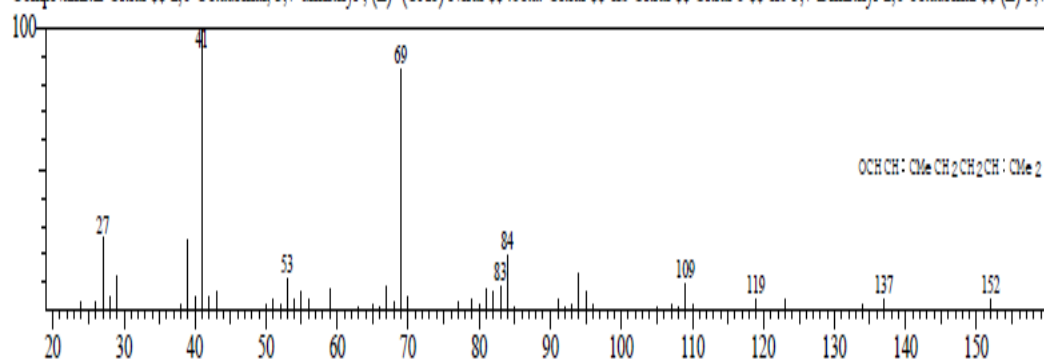
Komponen utama Spektro Massa senyawa minyak atsiri kemangi :

Senyawa Beta-Citral, Z-Citral

Hit#:3 Entry:29298 Library:WILEY229.LIB

SE:94 Formula:C₁₀H₁₆O CAS:106-26-3 MolWeight:152 RetIndex:0

CompName:Z-Citral \$\$ 2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl-, (Z)- (CAS) Neral \$\$ beta.-Citral \$\$ cis-Citral \$\$ Citral b \$\$ cis-3,7-Dimethyl-2,6-octadienal \$\$ (Z)-3,7-D

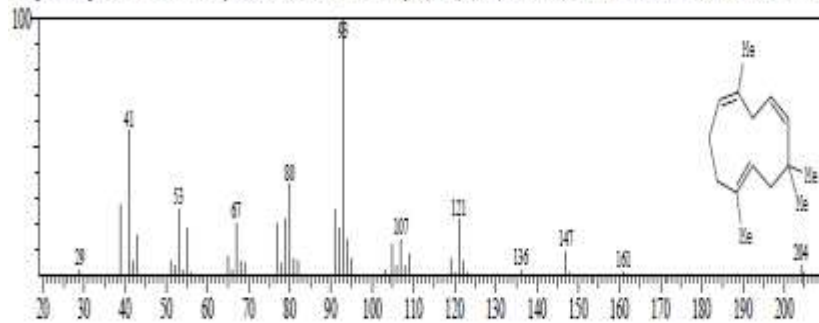


Senyawa Alpha-Humulene, Beta-Caryophyllene

Hit#1 Entry:70797 Library:WILEY229 LIB

SE91 Formula:C15 H24 CAS:6753-98-6 MolWeight:204 RetIndex:0

CompName: alpha-Humulene \$\$ 1,4,8-Cycloundecatriene, 2,6,6,9-tetramethyl-, (E,E,E)- (CAS) 4,7,10-CYCLOUNDECATRIENE, 1,1,4,8-TETRAMETHYL-, ALL-CIS \$\$ Humulene \$\$ alpha-Caryophyllene

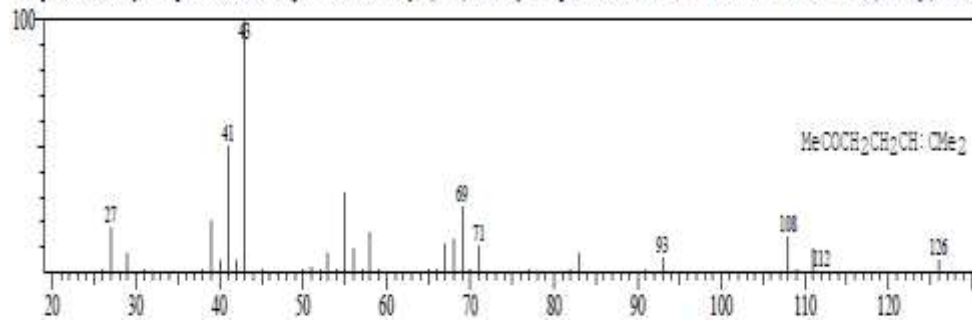


Senyawa 6-methyl-5-hepten-2-one

Hit#1 Entry:13990 Library:WILEY229 LIB

SE94 Formula:C8 H14 O CAS:110-93-0 MolWeight:126 RetIndex:0

CompName: 6-Methyl-5-hepten-2-one \$\$ 5-Hepten-2-one, 6-methyl- (CAS) 6-Methyl-5-heptene-2-one \$\$ 6-METHYLHEPT-5-EN-2-ONE \$\$ (6-methyl)-E-5-hepten-2-one \$\$

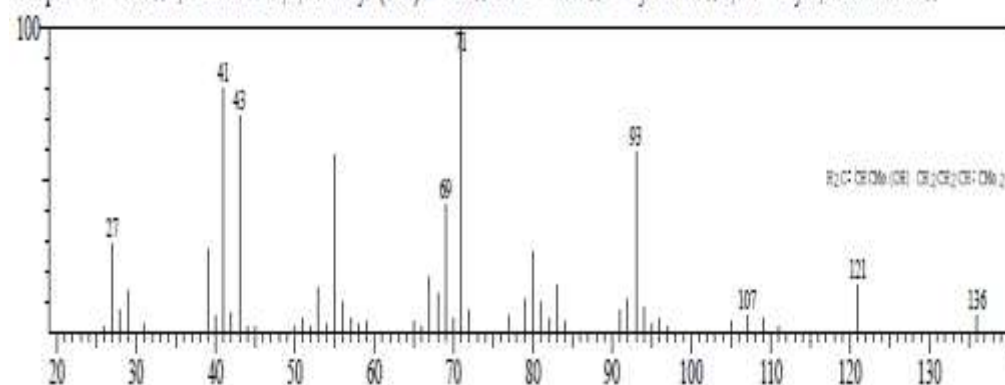


Senyawa Linalool

Hit#1 Entry:31232 Library:WILEY229 LIB

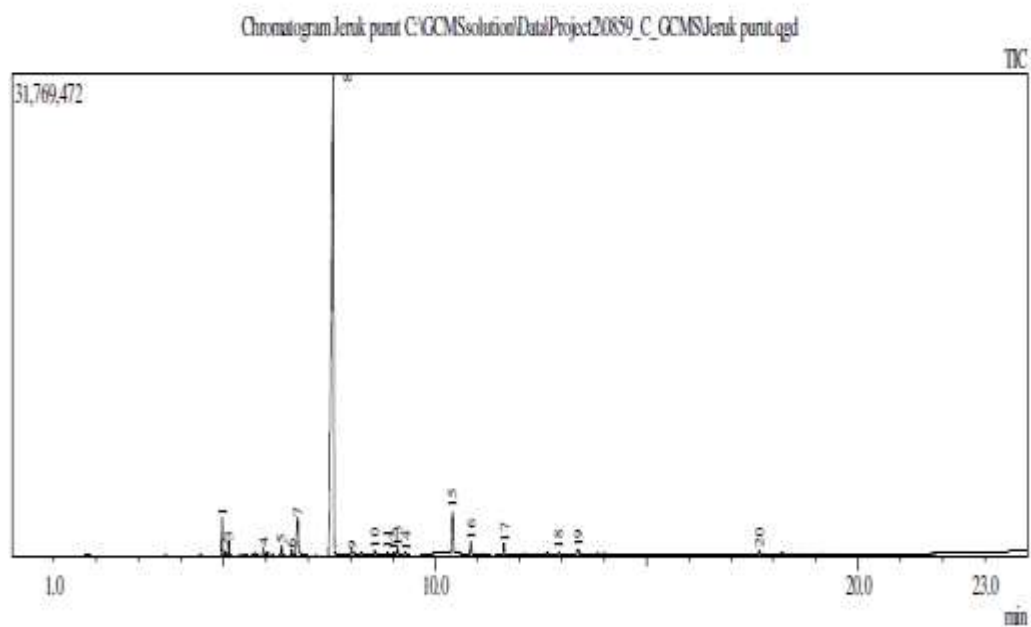
SE96 Formula:C10 H18 O CAS:78-70-6 MolWeight:154 RetIndex:0

CompName:Linalool \$\$ 1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl- (CAS) Linalol \$\$ beta-Linalool \$\$ Linalyl alcohol \$\$ 3,7-Dimethyl-1,6-octadien-3-ol \$\$



Kromatogram minyak atsiri daun jeruk purut

Analyzed by : Admin
Analyzed : 3/3/2017 1:18:14 PM
Sample Name : Jeruk purut
Sample ID : 3
Injection Volume : 0.10
Data File : C:\GCMSolution\Data\Project2\0859_C_GCMSJeruk purut.qgd
Tuning File : C:\GCMSolution\System1\Tuning 14112016.qgt



Hasil analisis komponen minyak atsiri daun jeruk purut dengan GC-MS

Peak	Senyawa	RT (min)	BM	Kadar (%)
1	Beta-Phellandrene	4.971	136	2.63
2	2-Beta-Pinene	5.054	136	0.27
3	Beta-Myrcene	5.128	136	0.91
4	1,3,7-Octatriene, 3,7-Dimethyl	5.944	136	0.48
5	Linalool Oxide	6.379	155	0.85
6	Linalool Oxide	6.614	155	0.47
7	Linalool	6.749	136	4.67
8	Citronella	7.602	154	81.26
9	1-4-Terpineol	8.038	154	0.44
10	1-Octanol, 2-Nitro	8.591	144	0.36
11	Z-Citral	8.891	152	0.27
12	Beta-Citronellol	9.025	156	0.25
13	Linalool Oxide	9.120	155	0.68
14	E-Citral	9.311	152	0.23
15	Citronellyl acetat	10.423	138	3.02
16	Geranyl acetat	10.854	154	1.03
17	Trans-Cayophyllene	11.638	204	0.90
18	Cadinene	12.939	204	0.22
19	Nerolidol	13.388	204	0.75
20	Citronella	17.669	154	0.29

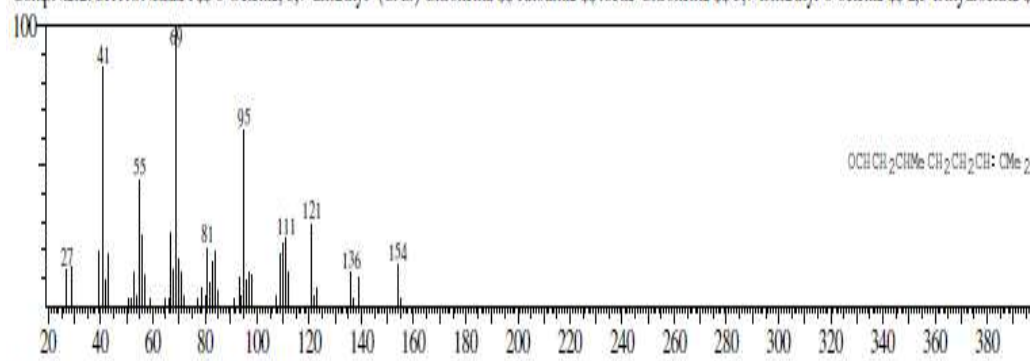
Komponen utama Spektro Massa senyawa minyak atsiri daun jeruk purut :

Senyawa Citronella

Hit#:2 Entry:43607 Library:WILEY7.LIB

SI:96 Formula:C10H18O CAS:106-23-0 MolWeight:154 RetIndex:0

CompName: CITRONELLA \$\$ 6-Octenal, 3,7-dimethyl- (CAS) Citronellal \$\$ Rhodinal \$\$.beta-Citronellal \$\$ 3,7-Dimethyl-6-octenal \$\$ 2,3-Dihydrocitral \$\$

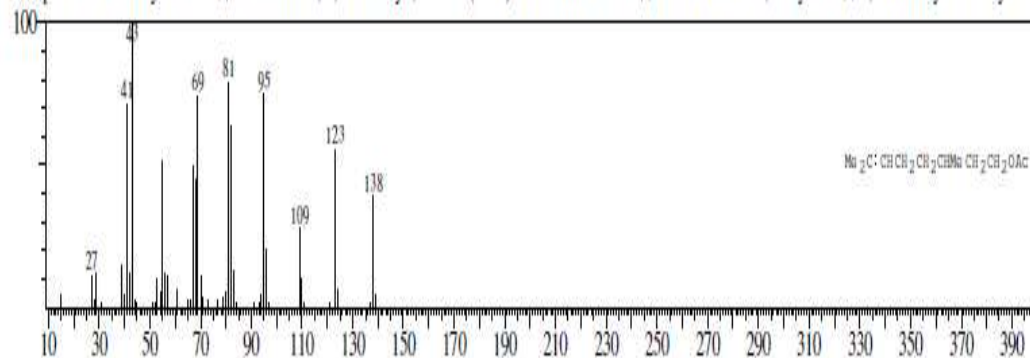


Senyawa Citronellyl acetat

Hit#:1 Entry:93507 Library:WILEY7.LIB

SI:96 Formula:C12H22O2 CAS:150-84-5 MolWeight:198 RetIndex:0

CompName:Citronellyl acetate \$\$ 6-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl-, acetate (CAS) Citronellol acetate \$\$ Natural rhodinol, acetylated \$\$ 3,7-Dimethyl-6-octenyl acet

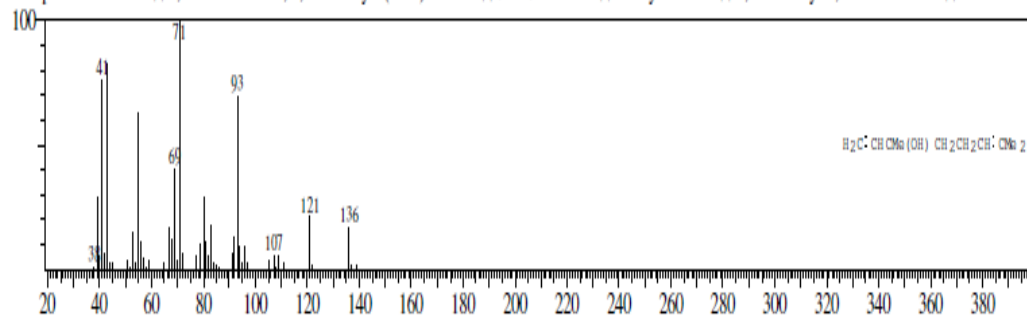


Senyawa Linalool

Hit#:3 Entry:43694 Library:WILEY7.LIB

SI:96 Formula:C10H18O CAS:78-70-6 MolWeight:154 RetIndex:0

CompName:Linalool \$\$ 1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl- (CAS) Linalol \$\$.beta.-Linalool \$\$ Linalyl alcohol \$\$ 2,6-Dimethyl-2,7-octadien-6-ol \$\$ allo-Ocimer

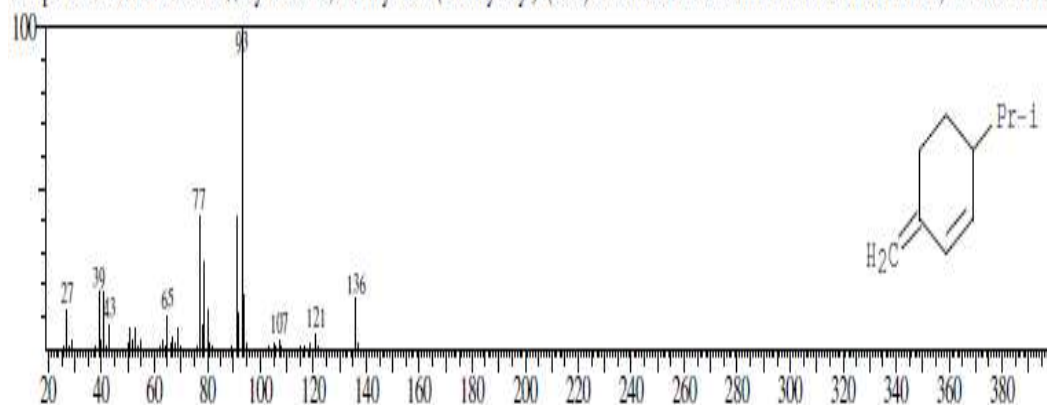


Senyawa Beta-Phellandrene

Hit#:1 Entry:26356 Library:WILEY7.LIB

SI:96 Formula:C10H16 CAS:555-10-2 MolWeight:136 RetIndex:0

CompName:.beta.-Phellandrene \$\$ Cyclohexene, 3-methylene-6-(1-methylethyl)- (CAS) 3-ISOPROPYL-6-METHYLENE-CYCLOHEXENE, 2-PARA-MENTI



Lampiran 14. Perhitungan dosis kombinasi minyak atsiri konsentrasi 50% dan 25% dalam 1 ml

Minyak atsiri daun jeruk purut dan daun kemangi

$$1 : 1 \quad = 0,5 \text{ ml} : 0,5 \text{ ml}$$

$$1 : 2 \quad = 0,33 \text{ ml} : 0,66 \text{ ml}$$

$$1 : 3 \quad = 0,25 \text{ ml} : 0,75 \text{ ml}$$

$$2 : 1 \quad = 0,66 \text{ ml} : 0,33 \text{ ml}$$

$$3 : 1 \quad = 0,75 \text{ ml} : 0,25 \text{ ml}$$

Lampiran 15. Diameter daya hambat tunggal dan kombinasi dari uji difusi minyak atsiri

Konsentrasi 50%	Diameter daerah hambatan (mm)			Rata -rata	± SD
	I	II	III		
Ciprofloxasin(+)	25	25	25	25	0,0000
Kemangi	14,7	15,7	15,2	15,2	0,5000
Daun jeruk purut	11,2	12,2	12	11,8	0,5291

Konsentrasi 25%	Diameter daerah hambatan (mm)			Rata -rata	± SD
	I	II	III		
Kemangi	9,5	10,7	10,2	10,1	0,6027
Daun jeruk purut	8,5	9,7	9,2	9,1	0,6027

Konsentrasi 50%	Diameter daerah hambatan (mm)			Rata -rata	± SD
	I	II	III		
1 : 1	16	16	15,9	16,9	0,6806
1 : 2	16	16,2	14,7	15,6	0,8144
1 : 3	17,5	17,2	16,2	16,9	0,6806
2 : 1	13,7	13,5	13,5	13,5	0,6027
3 : 1	13	12,9	12,9	12,3	0,2516

Konsentrasi 25%	Diameter daerah hambatan (mm)			Rata -rata	± SD
	I	II	III		
1 : 1	10,9	10,8	10,6	10,7	0,5131
1 : 2	9,2	8,2	9,7	9	0,7637
1 : 3	8,7	8	10,7	9,1	1,4011
2 : 1	8,2	8,1	8,1	8,1	0,4041
3 : 1	8,7	8,6	8,6	8,6	0,7023

Perhitungan rata-rata diameter hambatan :

✚ Diameter tunggal :

- Ciprofloxsin 5 μ g (+) :

$$\text{Replikasi I} = \frac{2,50 + 2,50 + 2,50 + 2,50}{4} = 2,5 \text{ cm} = 25 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{2,50 + 2,50 + 2,50 + 2,50}{4} = 2,5 \text{ cm} = 25 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{2,50 + 2,50 + 2,50 + 2,50}{4} = 2,5 \text{ cm} = 25 \text{ mm.}$$

- Kemangi 50 % :

$$\text{Replikasi I} = \frac{1,60 + 1,50 + 1,40 + 1,40}{4} = 1,47 \text{ cm} = 14,7 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,70 + 1,60 + 1,50 + 1,50}{4} = 1,57 \text{ cm} = 15,7 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,70 + 1,50 + 1,50 + 1,40}{4} = 1,52 \text{ cm} = 15,2 \text{ mm.}$$

➤ Kemangi 25 % :

$$\text{Replikasi I} = \frac{1,00 + 1,00 + 0,90 + 0,90}{4} = 0,95 \text{ cm} = 9,5 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,20 + 1,10 + 1,00 + 1,00}{4} = 1,07 \text{ cm} = 10,7 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,10 + 1,10 + 1,00 + 0,90}{4} = 1,02 \text{ cm} = 10,2 \text{ mm.}$$

➤ Daun jeruk purut 50 % :

$$\text{Replikasi I} = \frac{1,20 + 1,10 + 1,10 + 1,10}{4} = 1,12 \text{ cm} = 11,2 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,40 + 1,30 + 1,10 + 1,10}{4} = 1,22 \text{ cm} = 12,2 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,40 + 1,20 + 1,10 + 1,10}{4} = 1,2 \text{ cm} = 12 \text{ mm.}$$

➤ Daun jeruk purut 25 % :

$$\text{Replikasi I} = \frac{0,90 + 0,90 + 0,80 + 0,80}{4} = 0,85 \text{ cm} = 8,5 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,10 + 1,00 + 0,90 + 0,90}{4} = 0,97 \text{ cm} = 9,7 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,00 + 1,00 + 0,90 + 0,80}{4} = 0,92 \text{ cm} = 9,2 \text{ mm}$$

✚ **Diameter kombinasi :**

➤ Kombinasi 50%

➤ 1:1 :

$$\text{Replikasi I} = \frac{1,70 + 1,60 + 1,60 + 1,50}{4} = 1,6 \text{ cm} = 16 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,60 + 1,60 + 1,60 + 1,60}{4} = 1,6 \text{ cm} = 16 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,60 + 1,60 + 1,60 + 1,50}{4} = 1,59 \text{ cm} = 15,9 \text{ mm.}$$

➤ 1:2 :

$$\text{Replikasi I} = \frac{1,70 + 1,60 + 1,60 + 1,50}{4} = 1,60 \text{ cm} = 16 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,80 + 1,60 + 1,60 + 1,50}{4} = 1,62 \text{ cm} = 16,2 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,60 + 1,50 + 1,40 + 1,40}{4} = 1,47 \text{ cm} = 14,7 \text{ mm.}$$

➤ 1:3 :

$$\text{Replikasi I} = \frac{2,10 + 1,70 + 1,60 + 1,60}{4} = 1,75 \text{ cm} = 17,5 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,90 + 1,70 + 1,70 + 1,60}{4} = 1,72 \text{ cm} = 17,2 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,80 + 1,70 + 1,50 + 1,50}{4} = 1,62 \text{ cm} = 16,2 \text{ mm.}$$

➤ 2:1 :

$$\text{Replikasi I} = \frac{1,40 + 1,40 + 1,40 + 1,30}{4} = 1,37 \text{ cm} = 13,7 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,40 + 1,40 + 1,30 + 1,30}{4} = 1,35 \text{ cm} = 13,5 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,40 + 1,40 + 1,30 + 1,30}{4} = 1,35 \text{ cm} = 13,5 \text{ mm.}$$

➤ 3:1 :

$$\text{Replikasi I} = \frac{1,30 + 1,30 + 1,30 + 1,30}{4} = 1,30 \text{ cm} = 13 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,30 + 1,30 + 1,30 + 1,20}{4} = 1,29 \text{ cm} = 12,9 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,40 + 1,30 + 1,20 + 1,20}{4} = 1,29 \text{ cm} = 12,9 \text{ mm.}$$

➤ 25%

➤ 1:1 :

$$\text{Replikasi I} = \frac{1,10 + 1,10 + 1,10 + 1,00}{4} = 1,09 \text{ cm} = 10,9 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,10 + 1,10 + 1,10 + 0,90}{4} = 1,08 \text{ cm} = 10,8 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,10 + 1,10 + 1,10 + 0,60}{4} = 1,07 \text{ cm} = 10,7 \text{ mm.}$$

➤ 1:2 :

$$\text{Replikasi I} = \frac{1,20 + 0,90 + 0,80 + 0,80}{4} = 0,92 \text{ cm} = 9,2 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,00 + 0,90 + 0,70 + 0,70}{4} = 0,82 \text{ cm} = 8,2 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,20 + 1,10 + 0,80 + 0,80}{4} = 0,97 \text{ cm} = 9,7 \text{ mm.}$$

➤ 1:3 :

$$\text{Replikasi I} = \frac{1,00 + 0,90 + 0,80 + 0,80}{4} = 0,87 \text{ cm} = 8,7 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{0,90 + 0,80 + 0,80 + 0,70}{4} = 0,8 \text{ cm} = 8 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,30 + 1,10 + 0,90 + 0,90}{4} = 1,07 \text{ cm} = 10,7 \text{ mm.}$$

➤ 2:1 :

$$\text{Replikasi I} = \frac{0,80 + 0,70 + 0,70 + 0,70}{4} = 0,82 \text{ cm} = 8,2 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{0,80 + 0,80 + 0,70 + 0,70}{4} = 0,81 \text{ cm} = 8,1 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{0,90 + 0,80 + 0,70 + 0,70}{4} = 0,81 \text{ cm} = 8,1 \text{ mm.}$$

➤ 3:1 :

$$\text{Replikasi I} = \frac{0,9 + 0,80 + 0,70 + 0,70}{4} = 0,87 \text{ cm} = 8,7 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{0,90 + 0,80 + 0,70 + 0,60}{4} = 0,86 \text{ cm} = 8,6 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{0,90 + 0,80 + 0,70 + 0,60}{4} = 0,86 \text{ cm} = 8,6 \text{ mm.}$$

Lampiran 16. Hasil analisis dengan SPSS

NPar Tests

		Tests of Normality ^c					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	perbandingan	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
	minyak atsiri kemangi	,265	6	,200	,830	6	,108
	minyak atsiri jeruk purut	,190	6	,200*	,910	6	,434
diameter	1:1	,281	6	,150	,806	6	,067
	1:2	,263	6	,200*	,828	6	,103
	1:3	,263	6	,200*	,832	6	,112
	2:1	,282	6	,146	,811	6	,074
	3:1	,288	6	,132	,828	6	,103

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

c. diameter is constant when perbandingan = k. +. It has been omitted.

Descriptive Statistics

Dependent Variable: diameter

Perbandingan	Konsentrasi	Mean	Std. Deviation	N
minyak atsiri kemangi	minyak atsiri 50%	15,2000	,50000	3
	minyak atsiri 25%	10,1333	,60277	3
	Total	12,6667	2,81898	6
minyak atsiri jeruk purut	minyak atsiri 50%	11,8000	,52915	3
	minyak atsiri 25%	9,1333	,60277	3
	Total	10,4667	1,54618	6
1:1	minyak atsiri 50%	16,9667	,68069	3
	minyak atsiri 25%	10,7667	,51316	3
	Total	13,8667	3,43841	6
1:2	minyak atsiri 50%	15,6333	,81445	3
	minyak atsiri 25%	9,0333	,76376	3
	Total	12,3333	3,68330	6
1:3	minyak atsiri 50%	16,9667	,68069	3
	minyak atsiri 25%	9,1333	1,40119	3
	Total	13,0500	4,40216	6
2:1	minyak atsiri 50%	13,5667	,60277	3
	minyak atsiri 25%	8,1333	,40415	3
	Total	10,8500	3,01115	6
3:1	minyak atsiri 50%	12,9333	,25166	3
	minyak atsiri 25%	8,6333	,70238	3
	Total	10,7833	2,40201	6
k. +	minyak atsiri 50%	25,0000	,00000	3
	Total	25,0000	,00000	3
	minyak atsiri 50%	16,0083	3,92826	24
Total	minyak atsiri 25%	9,2810	1,06565	21
	Total	12,8689	4,48360	45

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

Dependent Variable: diameter

F	df1	df2	Sig.
1,768	14	30	,093

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + perbandingan + konsentrasi + perbandingan * konsentrasi

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: diameter

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	871,036 ^a	14	62,217	138,465	,000
Intercept	7462,238	1	7462,238	16607,355	,000
Perbandingan	338,978	7	48,425	107,772	,000
Konsentrasi	311,059	1	311,059	692,268	,000
perbandingan * konsentrasi	25,172	6	4,195	9,337	,000
Error	13,480	30	,449		
Total	8336,890	45			
Corrected Total	884,516	44			

a. R Squared = ,985 (Adjusted R Squared = ,978)

Multiple Comparisons

Dependent Variable: diameter

Tukey HSD

(I) perbandingan	(J) perbandingan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
minyak atsiri kemangi	minyak atsiri jeruk purut	2,2000 [*]	,38701	,000	,9408	3,4592
	1:1	-1,2000	,38701	,071	-2,4592	,0592
	1:2	,3333	,38701	,987	-,9259	1,5925
	1:3	-,3833	,38701	,972	-1,6425	,8759
	2:1	1,8167 [*]	,38701	,001	,5575	3,0759
	3:1	1,8833 [*]	,38701	,001	,6241	3,1425
	k. + minyak atsiri kemangi	-12,3333 [*]	,47399	,000	-13,8756	-10,7911
minyak atsiri jeruk purut	minyak atsiri kemangi	-2,2000 [*]	,38701	,000	-3,4592	-,9408
	1:1	-3,4000 [*]	,38701	,000	-4,6592	-2,1408
	1:2	-1,8667 [*]	,38701	,001	-3,1259	-,6075
	1:3	-2,5833 [*]	,38701	,000	-3,8425	-1,3241
	2:1	-,3833	,38701	,972	-1,6425	,8759
	3:1	-,3167	,38701	,991	-1,5759	,9425
	k. + minyak atsiri kemangi	-14,5333 [*]	,47399	,000	-16,0756	-12,9911
1:1	minyak atsiri jeruk purut	1,2000	,38701	,071	-,0592	2,4592
	1:2	3,4000 [*]	,38701	,000	2,1408	4,6592
	1:3	1,5333 [*]	,38701	,009	,2741	2,7925
	2:1	,8167	,38701	,431	-,4425	2,0759
	3:1	3,0167 [*]	,38701	,000	1,7575	4,2759
	k. + minyak atsiri kemangi	3,0833 [*]	,38701	,000	1,8241	4,3425
	k. + minyak atsiri kemangi	-11,1333	,47399	,000	-12,6756	-9,5911
1:2	minyak atsiri kemangi	-,3333	,38701	,987	-1,5925	,9259

	minyak atsiri jeruk purut	1,8667*	,38701	,001	,6075	3,1259
	1:1	-1,5333*	,38701	,009	-2,7925	-,2741
	1:3	-,7167*	,38701	,592	-1,9759	,5425
	2:1	1,4833*	,38701	,012	,2241	2,7425
	3:1	1,5500*	,38701	,008	,2908	2,8092
	k. +	-12,6667*	,47399	,000	-14,2089	-11,1244
	minyak atsiri kemangi	,3833	,38701	,972	-,8759	1,6425
	minyak atsiri jeruk purut	2,5833*	,38701	,000	1,3241	3,8425
1:3	1:1	-,8167	,38701	,431	-2,0759	,4425
	1:2	,7167	,38701	,592	-,5425	1,9759
	2:1	2,2000*	,38701	,000	,9408	3,4592
	3:1	2,2667*	,38701	,000	1,0075	3,5259
	k. +	-11,9500*	,47399	,000	-13,4922	-10,4078
	minyak atsiri kemangi	-1,8167*	,38701	,001	-3,0759	-,5575
	minyak atsiri jeruk purut	,3833	,38701	,972	-,8759	1,6425
2:1	1:1	-3,0167*	,38701	,000	-4,2759	-1,7575
	1:2	-1,4833*	,38701	,012	-2,7425	-,2241
	1:3	-2,2000*	,38701	,000	-3,4592	-,9408
	3:1	,0667	,38701	1,00	-1,1925	1,3259
	k. +	-14,1500*	,47399	,000	-15,6922	-12,6078
	minyak atsiri kemangi	-1,8833*	,38701	,001	-3,1425	-,6241
	minyak atsiri jeruk purut	,3167	,38701	,991	-,9425	1,5759
3:1	1:1	-3,0833*	,38701	,000	-4,3425	-1,8241
	1:2	-1,5500*	,38701	,008	-2,8092	-,2908
	1:3	-2,2667*	,38701	,000	-3,5259	-1,0075
	2:1	-,0667	,38701	1,00	-1,3259	1,1925
	k. +	-14,2167*	,47399	,000	-15,7589	-12,6744
	minyak atsiri kemangi	12,3333*	,47399	,000	10,7911	13,8756
	minyak atsiri jeruk purut	14,5333*	,47399	,000	12,9911	16,0756
k. +	1:1	11,1333*	,47399	,000	9,5911	12,6756
	1:2	12,6667*	,47399	,000	11,1244	14,2089
	1:3	11,9500*	,47399	,000	10,4078	13,4922
	2:1	14,1500*	,47399	,000	12,6078	15,6922
	3:1	14,2167*	,47399	,000	12,6744	15,7589

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,449.

*. The mean difference is significant at the ,05 level.

Homogeneous Subsets

diameter

Tukey HSD^{a,b,c}

Perbandingan	N	Subset			
		1	2	3	4
minyak atsiri jeruk purut	6	10,4667			
3:1	6	10,7833			
2:1	6	10,8500			
1:2	6		12,3333		
minyak atsiri kemangi	6		12,6667	12,6667	
1:3	6		13,0500	13,0500	
1:1	6			13,8667	
k. +	3				25,0000
Sig.		,980	,659	,103	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

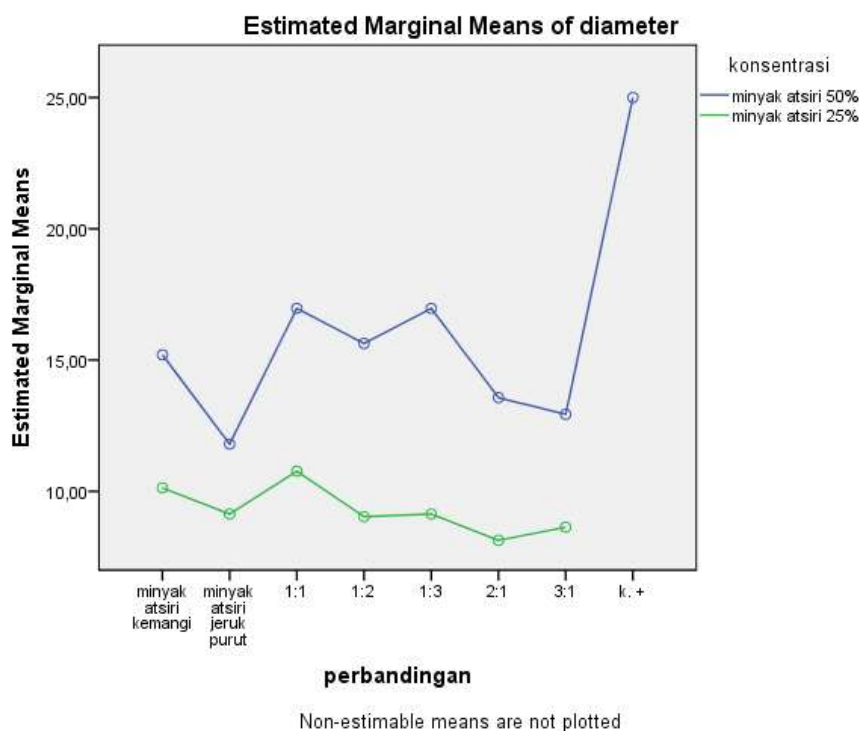
The error term is Mean Square(Error) = ,449.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,333.

b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

c. Alpha = ,05.

Profile Plots



Lampiran 17. Komposisi media

a. Formulasi dan pembuatan *Nutrien Agar* (NA)

Pepton from meat	5,0 gram
Meat extract	3,0 gram
Agar	15,0 gram

Reagen-reagen diatas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

b. Formulasi dan pembuatan *Muller Hinton Agar* (MHA)

Meat infusion	2,0 gram
Bacto asam kasamino	17,5 gram
Kanji	1,5 gram
Agar	17,0 gram

Reagen-reagen diatas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan dalam cawan petri pH 7,4.

c. Formulasi dan pembuatan *Brain Heart Infusion* (BHI)

Brain infusion	12,5 gram
Heart infusion	5,0 gram
Proteose peptone	10,0 gram
Glucose	2,0 gram
Sodium choride	5,0 gram
di-sodium hydrogen phosphate	2,5 gram

Reagen-reagen diatas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

d. Formulasi dan pembuatan *Vogel Jhonson Agar* (VJA)

Peptone from casein	10,0 gram
Yeast extract	5,0 gram
di-potasium hydrogen phosphate	10,0 gram
D(-)mannitol	10,0 gram

Lithium chloride	5,0 gram
Glycine	10,0 gram
Phenol red	0,025 gram
Agar	13,0 gram

Reagen-reagen diatas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan dalam cawan petri pH 7,4.