

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI MINYAK ATSIRI  
BATANG SEREH WANGI (*Cymbopogon nardus* L.) DAN DAUN  
JERUK PURUT (*Citrus hystrix* DC.) TERHADAP  
*Staphylococcus aureus* ATCC 25923**



**Oleh :**

**Olivia Septiani  
19133716 A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2017**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI MINYAK ATSIRI  
BATANG SEREH WANGI (*Cymbopogon nardus* 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:**

**Olivia Septiani**

**19133716 A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2017**

**PENGESAHAN SKRIPSI**

Berjudul

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI MINYAK ATSIRI  
BATANG SEREH WANGI (*Cymbopogon nardus* L.) DAN DAUN  
JERUK PURUT (*Citrus hystrix* DC.) TERHADAP  
*Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

Oleh

**Olivia Septiani  
19133716 A**

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi  
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi  
Pada Tanggal : 08 Juni 2017

Mengetahui,  
Fakultas Farmasi  
Universitas Setia Budi  
Dekan



R. W. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt.

Pembimbing Utama,

Ismi Rahmawati, M.Si., Apt

Pembimbing Pendamping,

Dr. Titik Sunarni, M.Si., Apt

Penguji :

1. Dr. Ana Indrayati, M.Si
2. Sunarti, S.Farm., M.Sc., Apt
3. Destik Wulandari, S.Pd., M.Si
4. Ismi Rahmawati, M.Si., Apt

1. .....
2. .....
3. .....
4. .....

## PERSEMBAHAN

*“Sesungguhnya Allah tidak akan mengubah keadaan suatu kaum sebelum mereka mengubah keadaan diri mereka sendiri”  
(QS. Ar- Ra’d: 11)*

### Special thanks for :

#### ALLAH SWT

Alhamdulillah, puji syukur atas segala rahmat dan petunjuk dari Allah SWT yang telah memberi hamba kesehatan dan ridho-Nya sehingga dapat menyelesaikan SKRIPSI ini dan akhirnya mendapatkan gelar S.Farm

#### KELUARGA

Terimakasihku untuk Nenek, Ummi, Ajuan, Adik dan semua keluargaku tersayang yang selalu mendoakan, memberikan dukungan moril maupun materil, memberikan perhatian dan serta kasih sayangnya yang tulus. Terimakasih Alm. Papa atas limpahan kasih sayang semasa hidupnya dan sudah memberikan rindu yang berarti.

#### DOSEN PEMBIMBING

Terimakasih kepada ibu Ismi dan ibu Titik terbaiaiiik yang telah membimbingku, menasehatiku, banyak memberi masukan serta semangat dan motivasinya dalam penyusunan skripsi ini.

#### SAHABAT DAN REKAN SEPERJUANGAN

Terimakasih kalian sahabat dari jaman SMK sampai merantau bareng dan satu tim skripsi minyak atsiri (Atul, Dina, Jeni), Griya elite team yang seperjuangan dari ospek (Mamu irene, Ambu, Ica, Ipik, Marwin, Bobi), Se'mikrob Se'pembimbing (Sagita, Afra, Wulan, Rina), Agen pulsa siap sedia (Hani), pasangan2 hitz (Dinul dan njay) (mb chan dan mas zaky), The ComiX, Porenjer, Teori 1 2013, FKK 1 2013 dan teman-teman lainnya yang tidak bisa disebutkan satu-satu.

#### LABORAN

Terimakasih untuk pak Hendricus, pak Joko, mas Rama, bu Marsi yang sudah menerima baik saya di Lab. Mikrobiologi, membantu dalam penelitian saya dan yang sudah mau direpotin oleh saya hampir 2 bulan penelitian.

Serta terimakasih banyak kepada semua pihak yang telah membantu selama perkuliahan ini hingga SKRIPSWITI ini selesai, dan juga orang-orang yang sempat memberi pengaruh selama perkuliahan.

## **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 tertulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang 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, 08 Juni 2017



Olivia Septiani

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan segala rahmat dan hidayah-Nya serta kasih dan sayang-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI MINYAK ATSIRI BATANG SEREH WANGI (*Cymbopogon nardus* L.) DAN DAUN JERUK PURUT (*Citrus hystrix* DC.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923”**.

Penyusunan skripsi ini dimaksudkan untuk memenuhi salah satu syarat dalam mencapai derajat sebagai Sarjana Farmasi (S.Farm) pada Program studi S1 Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

Penyusunan skripsi ini melibatkan banyak pihak yang sangat membantu penulis dalam berbagai hal, baik secara langsung maupun tidak langsung. Oleh karena itu, penulis sampaikan 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. Ismi Rahmawati, M.Si., Apt. selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah banyak memberikan ilmu, masukan, pengarahan dan bimbingan selama penyusunan skripsi ini.
5. Dr. Titik Sunarni, M.Si., Apt. selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah banyak memberikan ilmu, masukan, pengarahan dan bimbingan selama penyusunan skripsi ini.
6. Dosen Penguji yang telah meluangkan waktu untuk menguji dan memberikan masukan untuk skripsi ini.
7. Segenap dosen, instruktur laboratorium yang banyak memberikan bantuan dan kerjasama selama penyusunan penelitian skripsi ini.
8. Orang tuaku Alm. Papa (Noersidin) tercinta yang merupakan alasan untuk selalu semangat untuk menjadi cerdas sepertimu dan Ummi (Nurhenilita) tercinta yang merupakan alasan untuk menjadi sabar sepertimu, serta do'a dan

dukungan moril maupun materil yang diberikan hingga skripsi ini dapat selesai.

9. Nenek (Hj. Arbaiah), adik-adik tercinta juga anggota keluarga dan kerabat yang senantiasa memberikan do'a dan dukungan moril maupun materil untukku.
10. Sahabat dan rekan seperjuangan tercinta yang setia tiada henti memberi dukungan dan motivasi untukku.
11. Semua pihak yang banyak membantu dan pihak yang sempat memberi pengaruh selama perkuliahan hingga skripsi ini selesai yang penulis tidak bisa sebutkan semuanya.

Surakarta, 08 Juni 2017

Olivia Septiani

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
PENGESAHAN SKRIPSI .....	ii
PERSEMBAHAN .....	iii
PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR .....	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
INTISARI.....	xiv
ABSTRACT.....	xv
<b>BAB I PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah .....	3
C. Tujuan Penelitian.....	3
D. Kegunaan Penelitian.....	3
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>5</b>
A. Tanaman Sereh Wangi .....	5
1. Sistematika sereh wangi .....	5
2. Nama daerah sereh wangi.....	5
3. Morfologi sereh wangi .....	5
4. Kandungan kimia .....	6
5. Kegunaan tanaman .....	7
B. Tanaman Jeruk Purut.....	8
1. Sistematika tanaman jeruk purut .....	8
2. Nama daerah jeruk purut .....	8
3. Morfologi jeruk purut.....	8
4. Kandungan kimia .....	9
5. Kegunaan tanaman .....	9
C. Minyak Atsiri.....	10
1. Pengertian minyak atsiri .....	10
2. Sifat minyak atsiri .....	10
3. Metode isolasi minyak atsiri.....	11



4.	Identifikasi minyak atsiri.....	11
5.	Penetapan bobot jenis minyak atsiri.....	11
6.	Uji kelarutan minyak atsiri dalam etanol.....	12
D.	Tinjauan <i>Staphylococcus aureus</i> .....	12
1.	Klasifikasi <i>Staphylococcus aureus</i> .....	12
2.	Morfologi, sifat dan identifikasi bakteri.....	12
3.	Patogenesis.....	13
4.	Pengobatan.....	14
E.	Antibakteri.....	14
1.	Pengertian antibakteri.....	14
2.	Mekanisme kerja antibakteri.....	14
2.1	Penghambatan metabolisme sel bakteri.....	15
2.2	Penghambatan sintesis dinding sel bakteri.....	15
2.3	Mengganggu keutuhan membran sel bakteri.....	15
2.4	Penghambatan sintesis protein sel bakteri.....	15
2.5	Penghambatan sintesis asam nukleat sel bakteri.....	16
F.	Simplisia.....	16
1.	Pengertian simplisia.....	16
2.	Pengumpulan simplisia.....	16
3.	Pengemasan dan penyimpanan simplisia.....	17
G.	Media.....	17
H.	Sterilisasi.....	17
I.	Penyulingan Minyak Atsiri.....	18
1.	Definisi penyulingan.....	18
2.	Metode penyulingan.....	18
2.1	Destilasi air.....	18
2.2	Destilasi uap dan air.....	19
2.3	Destilasi uap langsung.....	19
J.	Kromatografi Gas-Spektrometri Massa (GC-MS).....	19
K.	Metode Pengujian Aktivitas Antibakteri.....	20
1.	Metode difusi.....	20
2.	Metode dilusi.....	20
L.	Antibiotik Amoksisilin.....	21
M.	Efek Kombinasi Obat.....	21
N.	Landasan Teori.....	22
O.	Hipotesis.....	24
<b>BAB III METODE PENELITIAN.....</b>		<b>25</b>
A.	Populasi dan Sampel.....	25
1.	Populasi.....	25
2.	Sampel.....	25
B.	Variabel Penelitian.....	25
1.	Identifikasi variabel utama.....	25
2.	Klasifikasi variabel utama.....	25
3.	Definisi operasional variabel utama.....	26
C.	Alat dan Bahan.....	27

1. Alat .....	27
2. Bahan.....	27
D. Jalannya Penelitian .....	27
1. Determinasi tanaman sereh wangi dan jeruk purut .....	27
2. Pengambilan bahan.....	28
3. Isolasi minyak atsiri.....	28
4. Analisis minyak atsiri .....	28
4.1 Pengamatan organoleptik. ....	28
4.2 Identifikasi minyak atsiri.....	29
4.3 Penetapan bobot jenis minyak atsiri.....	29
4.4 Penetapan indeks bias minyak atsiri.....	29
4.5 Penetapan kelarutan dalam etanol. ....	30
4.6 Analisis komponen senyawa penyusun minyak atsiri dengan <i>Gas Chromatography-Mass Spectrometry</i> (GC-MS).....	30
5. Sterilisasi .....	30
6. Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 .....	30
6.1 Identifikasi bakteri dengan medium selektif. ....	30
6.2 Identifikasi mikroskopis dengan pewarnaan Gram.....	31
6.3 Identifikasi biokimia <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	31
7. Pembuatan suspensi bakteri uji <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 .....	31
8. Pembuatan konsentrasi dan kombinasi sampel uji .....	31
9. Pengujian aktivitas antibakteri .....	32
E. Analisis Hasil.....	33
 BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	 37
A. Hasil Penelitian.....	37
1. Determinasi tanaman .....	37
2. Pengambilan bahan.....	37
3. Isolasi minyak atsiri.....	37
4. Pengamatan organoleptik minyak atsiri .....	38
5. Identifikasi minyak atsiri.....	39
6. Penetapan bobot jenis minyak atsiri .....	39
7. Penetapan indeks bias minyak atsiri.....	40
8. Penetapan kelarutan dalam etanol .....	41
9. Analisis komponen senyawa penyusun minyak atsiri dengan <i>Gas Chromatography-Mass Spectrometry</i> (GC- MS).....	41
10. Sterilisasi .....	43
11. Identifikasi bakteri dengan medium selektif .....	43
12. Identifikasi mikroskopis dengan pewarnaan Gram .....	44
13. Identifikasi biokimia <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 .....	44

14. Hasil pengujian aktivitas antibakteri minyak atsiri batang sereh wangi dan daun jeruk purut secara difusi .....	45
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....	49
A. Kesimpulan.....	49
B. Saran .....	49
DAFTAR PUSTAKA .....	50
LAMPIRAN.....	55

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Sereh wangi ( <i>Cymbopogon nardus</i> L.) (Koleksi pribadi).....	6
Gambar 2. Struktur kimia kandungan minyak atsiri batang sereh wangi .....	7
Gambar 3. Jeruk purut ( <i>Citrus hystrix</i> DC.) (Koleksi pribadi) .....	9
Gambar 4. Struktur kimia kandungan minyak atsiri daun jeruk purut.....	9
Gambar 5. Bentuk mikroskopis <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 (Koleksi pribadi) .....	13
Gambar 6. Skema destilasi minyak atsiri batang sereh wangi dan daun jeruk purut .....	34
Gambar 7. Skema pembuatan suspensi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 .....	35
Gambar 8. Skema pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi .....	36
Gambar 9. Diagram hasil uji difusi minyak atsiri .....	46

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Volume minyak atsiri dan aseton yang dibutuhkan untuk membuat sampel uji.....	32
Tabel 2. Kadar minyak atsiri batang sereh wangi dan daun jeruk purut .....	38
Tabel 3. Hasil pengamatan organoleptik minyak atsiri batang sereh wangi .....	38
Tabel 4. Hasil pengamatan organoleptik minyak atsiri daun jeruk purut.....	38
Tabel 5. Identifikasi minyak atsiri batang sereh wangi .....	39
Tabel 6. Identifikasi minyak atsiri daun jeruk purut.....	39
Tabel 7. Hasil penetapan bobot jenis minyak atsiri batang sereh wangi .....	40
Tabel 8. Hasil penetapan bobot jenis minyak atsiri daun jeruk purut .....	40
Tabel 9. Hasil penetapan indeks bias minyak atsiri.....	40
Tabel 10. Hasil analisis komponen minyak atsiri batang sereh wangi .....	41
Tabel 11. Hasil analisis komponen minyak atsiri daun jeruk purut .....	41
Tabel 12. Identifikasi biokimia <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 .....	45
Tabel 13. Diameter daya hambat sampel uji 25% .....	45
Tabel 14. Diameter daya hambat sampel uji 12,5% .....	46
Tabel 15. Diameter daya hambat sampel uji 6,25% .....	46

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil determinasi tanaman batang sereh wangi.....	56
Lampiran 2. Hasil determinasi tanaman daun jeruk purut .....	57
Lampiran 3. Batang sereh wangi dan daun jeruk purut .....	58
Lampiran 4. Destilasi .....	59
Lampiran 5. Minyak atsiri hasil destilasi .....	60
Lampiran 6. Alat .....	61
Lampiran 7. Bahan uji antibakteri.....	63
Lampiran 8. Identifikasi minyak atsiri dan kelarutan dalam etanol.....	65
Lampiran 9. Penetapan indeks bias minyak atsiri.....	66
Lampiran 10. Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 .....	67
Lampiran 11. Hasil uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi .....	68
Lampiran 12. Perhitungan kadar minyak atsiri batang sereh wangi dan daun jeruk purut .....	77
Lampiran 13. Hasil perhitungan bobot jenis minyak atsiri.....	78
Lampiran 14. Hasil perhitungan indeks bias minyak atsiri.....	81
Lampiran 15. Hasil analisis GC-MS minyak atsiri .....	82
Lampiran 16. Diameter daya hambat uji difusi minyak atsiri.....	97
Lampiran 17. Pembuatan larutan stok sampel uji dan Kontrol positif.....	99
Lampiran 18. Hasil analisis SPSS.....	101
Lampiran 19. Komposisi media .....	106

## INTISARI

**SEPTIANI, O. 2017. UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI MINYAK ATSIRI BATANG SEREH WANGI (*Cymbopogon nardus* L.) DAN DAUN JERUK PURUT (*Citrus hystrix* DC.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.**

Bakteri *Staphylococcus aureus* menyebabkan infeksi seperti kerusakan pada kulit atau luka pada tubuh. Batang serih wangi (*Cymbopogon nardus* L.) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) adalah tanaman yang dapat digunakan sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas dari kombinasi minyak atsiri batang serih wangi dan daun jeruk purut yang berkhasiat sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Isolasi minyak atsiri batang serih wangi dan daun jeruk purut menggunakan metode destilasi uap dan air. Metode uji aktivitas antibakteri yang digunakan pada penelitian ini adalah metode difusi. Pengujian menggunakan sampel uji dengan konsentrasi 25%; 12,5%; 6,25% dengan perbandingan kombinasi uji 1:1, 1:2, 1:3, 2:1, 3:1. Data hasil penelitian diolah menggunakan analisis statistik *Analysis of varian* (ANOVA) dengan metode dua arah, sehingga didapatkan hasil signifikansi dari data tersebut.

Hasil penelitian menggunakan metode difusi menunjukkan kombinasi minyak atsiri batang serih wangi dan daun jeruk purut memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Diameter daya hambat yang paling besar dari sampel uji yaitu perbandingan kombinasi 2:1 pada konsentrasi 25% dengan diameter daya hambat  $21,36 \pm 0,84$  mm. Komponen utama yang berkhasiat sebagai antibakteri pada minyak atsiri batang serih wangi adalah citral 47,57% dan Z-citral 35,11%, sedangkan minyak atsiri daun jeruk purut adalah citronella 81,26%.

---

**Kata kunci** : *Staphylococcus aureus*, antibakteri, kombinasi minyak atsiri, *Cymbopogon nardus* L., *Citrus hystrix* DC.

## ABSTRACT

**SEPTIANI, O. 2017. ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST COMBINATION OF ESSENTIAL OIL OF SEREH WANGI STEM (*Cymbopogon nardus* L.) AND LIME LEAVES (*Citrus hystrix* DC.) TO *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, ESSAY, PHARMACY FACULTY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.**

*Staphylococcus aureus* cause infections such as damage skin or bodily injury. Sereh wangi stem (*Cymbopogon nardus* L.) and lime leaves (*Citrus hystrix* DC.) were a plant that can be used as an antibacterial. It is contained in sereh wangi stem and lime leaves have antibacterial activity. This study aims to know activity from essential oil of sereh wangi stem and lime leaves combined as antibacterial to *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

The isolation of essential oil from sereh wangi stem and lime leaves used steam and water distillation. Antibacterial activity test this study used diffusion method. The test used concentration tests of 25%; 12,5%; 6,25% with their comparison of 1:1, 1:2, 1:3, 2:1, 3:1. The data was processed by Analysis of Variance (ANOVA) statistical with two-ways method, so obtained their result was significance.

The result of study with diffusion method showed combination essential oil of sereh wangi stem (*Cymbopogon nardus* L.) and lime leaves (*Citrus hystrix* DC.) had antibacterial activity to *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. The largest inhibition zone diameter was  $21.36 \pm 0,84$  mm of their combination was 2:1 at concentration of 25%. The main components were efficacious as antibacterial on essential oil of sereh wangi stem (*Cymbopogon nardus* L.) are citral of 47.57% and Z-citral of 35.11%, while volatile oil of lime leaves (*Citrus hystrix* DC.) is citronella of 81.26%.

---

**Key words :** *Staphylococcus aureus*, antibacterial, combination of essential oil, *Cymbopogon nardus* L., *Citrus hystrix* DC.



# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang**

Penyakit infeksi merupakan jenis penyakit yang paling banyak diderita oleh penduduk di negara berkembang, termasuk Indonesia. Penyakit infeksi yang sering terjadi salah satunya disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* (Radji 2011; Rasyid *et al.* 2000). Penyakit infeksi yang disebabkan *Staphylococcus aureus* akan timbul tanda-tanda khas yaitu peradangan (Jawetz *et al.* 2001). Bakteri *Staphylococcus aureus* masuk ke peredaran darah dan dapat menyebar ke organ lain sehingga menyebabkan infeksi seperti kerusakan pada kulit atau luka pada organ tubuh (Melki *et al.* 2011). Infeksi *Staphylococcus aureus* dapat disebabkan dari keracunan makanan yang berat atau infeksi kulit kecil sampai infeksi akut (Hartanti 2006).

Penggunaan antibiotika adalah salah satu cara yang dilakukan oleh manusia untuk mengobati penyakit akibat infeksi bakteri. Perlu diketahui bahwa penggunaan antibiotika yang berlebihan dan pemberian antibiotika dalam jangka waktu yang lama dapat menyebabkan terjadinya resistensi pada bakteri, hal tersebut dapat menyebabkan bahan antibiotika sintesis menjadi tidak efektif lagi dan terkadang memberikan efek samping dalam penggunaannya (Maryuni 2008; Nwinyi *et al.* 2009). Adanya resistensi mikroba patogen terhadap obat kimia yang selama ini digunakan merupakan masalah global khususnya di rumah sakit negara-negara Asia-Pasifik, keadaan ini mengharuskan adanya pencarian sumber antibiotik yang baru (Rizal 2009).

Salah satu pemanfaatan tumbuhan sebagai obat tradisional adalah memanfaatkan senyawa yang terkandung dalam suatu bagian tumbuhan yang digunakan sebagai bahan obat. Salah satu kandungan tanaman obat yang memiliki khasiat sebagai antibakteri adalah minyak atsiri. Minyak atsiri telah lama dikenal sebagai sumber terapi yang penting. Minyak atsiri dapat menghambat pertumbuhan atau mematikan bakteri dengan mengganggu proses terbentuknya membran atau dinding sel sehingga tidak terbentuk atau terbentuk tidak sempurna (Tripathi *et al.* 2013).

Sereh wangi (*Cymbopogon nardus* L.) merupakan tanaman dari famili Poaceae digunakan sebagai pembangkit cita rasa pada makanan dan dipercaya dapat dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional. Skrining fitokimia mengungkapkan ekstrak sereh wangi mengandung minyak atsiri, saponin, tanin, alkaloid dan flavonoid (Hamza *et al.* 2009). Komposisi yang terdapat didalam minyak atsiri dari tanaman ini antara lain sitronelal 2-4%, geraniol 12-18%, sitronelol 11-15%, geraniol asetat 3-8%, sitronelil asetat 2-4%, sitral, khavikol, eugenol, elemol kadinol, kadinen, vanilin, limonen dan kamfen (Sastrohamidjojo 2004). Rahayu (2016) mengatakan bahwa minyak atsiri sereh wangi memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dengan diameter zona hambat sebesar 26,90 mm dan komponen utama dalam minyak sereh wangi yang memiliki sifat antibakteri yaitu geraniol dan sitral.

Tanaman jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) merupakan salah satu tanaman suku jeruk-jerukan dari famili Rutaceae. Daun jeruk purut berwarna hijau kekuningan dan berbau sedap. Daun jeruk purut mengandung senyawa kimia yang merupakan metabolit sekunder seperti minyak atsiri, flavonoid, saponin, steroid dan terpen (Prakash *et al.* 2013; Intekhab dan Aslam 2009). Minyak atsiri daun jeruk purut mengandung senyawa terpen yang penting yaitu beberapa komponen mayor yaitu sitronelal 64,15%,  $\beta$ -citronellol 10,71%, *trans*-caryophyllene 5,54%, linalool 5,31%. Komponen minor meliputi nerolidol 1,3%, germacrene 1,17% dan sebagainya (Khasanah 2015). Yuliani *et al.* (2011) melaporkan bahwa minyak atsiri daun jeruk purut memiliki aktivitas antibakteri dengan nilai KHM sebesar 1 % dan KBM 2% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan dalam minyak atsiri tersebut mengandung senyawa terpen.

Kombinasi obat herbal adalah perpaduan dua atau lebih obat yang digunakan pada waktu bersamaan agar khasiatnya masing-masing dapat saling mempengaruhi (Tan dan Raharja 2002). Obat tradisional akan bermanfaat dan aman jika digunakan dengan tepat baik takaran, waktu, dan cara penggunaan serta pemilihan bahan yang sesuai dengan indikasi dan efek farmakologi yang saling mendukung satu sama lain (efek komplementer) untuk mencapai efektivitas pengobatan. Kombinasi berbagai komponen minyak atsiri yang bersifat lemah atau sedang dapat menghasilkan efek yang sinergis atau saling menguatkan

(Rasooli 2007). Menurut Jawezt *et al.* (2002) apabila dua agen antimikroba bekerja secara bersamaan pada populasi mikroba yang homogen maka efeknya dapat berupa efek sinergisme, artinya kerja kombinasi secara nyata lebih besar dari pada jumlah kedua efek.

Berdasarkan uraian diatas, peneliti tertarik melanjutkan penelitian sebelumnya yaitu dengan melakukan kombinasi minyak atsiri sereh wangi dan daun jeruk purut untuk mengetahui aktivitas terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan menggunakan metode difusi.

### **B. Rumusan Masalah**

Permasalahan dalam penelitian ini adalah:

Pertama, apakah kombinasi minyak atsiri batang sereh wangi (*Cymbopogon nardus* L.) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

Kedua, berapakah perbandingan kombinasi minyak atsiri batang sereh wangi (*Cymbopogon nardus* L.) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) yang memiliki aktivitas antibakteri paling besar terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

### **C. Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk:

Pertama, mengetahui apakah kombinasi minyak atsiri batang sereh wangi (*Cymbopogon nardus* L.) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kedua, mengetahui kombinasi minyak atsiri batang sereh wangi (*Cymbopogon nardus* L.) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) dengan perbandingan tertentu yang memiliki aktivitas antibakteri paling besar terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

### **D. Kegunaan Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan data ilmiah bagi ilmu pengetahuan dan memberikan informasi kepada masyarakat, serta dapat

bermanfaat bagi industri pengembangan obat tradisional mengenai potensi penggunaan kombinasi minyak atsiri sereh wangi dan daun jeruk purut sebagai alternatif pengobatan antibakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Tanaman Sereh Wangi**

##### **1. Sistematika sereh wangi**

Sistematika tanaman sereh menurut Lutony (2002), sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Superdivisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Liliopsida
Subkelas	: Commelinidae
Ordo	: Poales
Famili	: Poaceae
Genus	: <i>Cymbopogon</i>
Spesies	: <i>Cymbopogon nardus</i> L. Rendle

##### **2. Nama daerah sereh wangi**

Tanaman sereh dikenal dengan nama berbeda di setiap negara. Tanaman sereh wangi memiliki beberapa nama yaitu: sereh wangi (Indonesia), serai (Malaysia), bubu (Halmahera), tanglad dan salai (Filipina), balioko (Bisaya), slek krey sabou (Kamboja), sabalin (Myanmar), cha khrai (Thailand) (Intarina 2014).

##### **3. Morfologi sereh wangi**

Tanaman sereh wangi merupakan tanaman rumput-rumputan tegak, memiliki akar yang sangat dalam dan kuat. Batangnya tegak atau condong, membentuk rumpun, pendek, masif, bulat dan dibawahnya berbuku-buku lilin. Tanaman ini dapat tumbuh hingga 1-1,5 m (Ssegawa 2007). Tanaman ini merupakan semak yang memiliki akar serabut besar dan berimpang pendek. Batang bergerombol dan berumbi, serta lunak dan berongga. Isi batangnya merupakan pelepah umbi untuk pucuk dan berwarna putih kekuningan. Batang bersifat kaku dan mudah patah, tumbuh tegak lurus di atas tanah. Daun berwarna hijau dan tidak bertangkai. Daunnya kesat, panjang, dan runcing, hampir

menyerupai daun lalang. Tulang daun tersusun sejajar, panjang daun 50-100 cm, sedangkan lebarnya kira-kira 2 cm. Pada permukaan dan bagian bawah daunnya berbulu halus. Bunga tidak memiliki mahkota dan mengandung bulir (Syamsul dan Rodame 2015). Helaiian lebih dari separuh menggantung, remasan berbau aromatik. Bunga tersusun dalam malai atau bulir majemuk, bertangkai atau duduk, berdaun. Daun pelindung bermetamorfosis menjadi gluma steril dan fertil (pendukung bunga). Kelopak bermetamorfosis menjadi bagian palea (2 unit) anlemma atau sekam (1 unit). Mahkota bermetamorfosis menjadi 2 kelenjar lodicula, berfungsi untuk membuka bunga di pagi hari. Benang sari berjumlah 3-6, membuka secara memanjang. Kepala putik sepasang berbentuk bulu, dengan percabangan berbentuk jambul. Buah jenis padi, memanjang, pipih dorso ventral, embrio separo bagian biji. Waktu berbunga Januari-Desember. Tumbuh pada daerah dengan ketinggian 50-2700 mdpl (Wirikanda 2015). Gambar tanaman sereh wangi dapat dilihat pada Gambar 1.

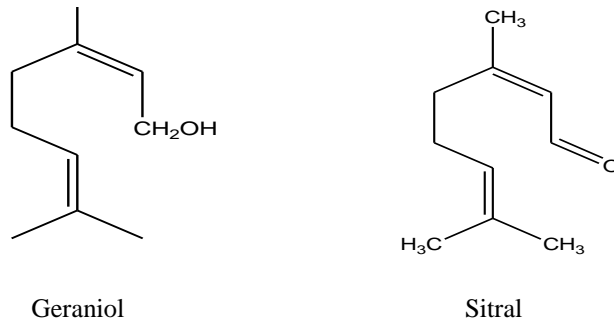


**Gambar 1. Sereh wangi (*Cymbopogon nardus* L.) (Koleksi pribadi)**

#### **4. Kandungan kimia**

Daun dan batang sereh wangi mengandung saponin, flavonoid dan polifenol serta minyak atsiri yang terdiri dari berbagai senyawa yang berbau khas (Suprianto 2008). Komposisi yang terdapat didalam minyak atsiri dari tanaman ini antara lain sitronelal 2-4%, geraniol 12-18%, sitronelol 11-15%, geraniil asetat 3-8%, sintronelil asetat 2-4%, sitral, khavikol, eugenol, elemol kadinol, kadinen, vanilin, limonen dan kamfen (Sastrohamidjojo 2004). Minyak sereh memiliki aroma khas lemon, karena aroma tersebut adalah sebuah senyawa bergugus fungsi aldehid, yakni sitral. Kandungan minyak paling tinggi dihasilkan pada daun dari

tanaman yang masih muda dan rata-rata nilai rendemen hasil destilasi sebesar 0,25-0,5% (Intarina 2014).



**Gambar 2. Struktur kimia kandungan minyak atsiri batang sereh wangi**

## 5. Kegunaan tanaman

Manfaat dari sereh wangi terkait dengan kandungan senyawa aktif didalamnya yaitu minyak atsirinya. Komponen senyawa utama minyak sereh wangi ini terdiri dari sitronelal, sitronellol, dan geraniol. Senyawa sitral juga merupakan kelompok senyawa terpen yang terdiri dari campuran isomer bioaktif nerol dan geraniol yang merupakan salah satu komponen penyusun dalam minyak atsiri sereh (Sukamto *et al.* 2011). Terkait dengan kandungan minyak atsiri sereh wangi Riska (2013) memaparkan minyak atsiri sereh wangi memiliki sifat antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dengan efektifitas diameter zona hambat sebesar 31,00 mm pada konsentrasi 50 % dan komponen utama dalam minyak sereh wangi yang memiliki sifat antibakteri yaitu geraniol. Rahayu (2016) juga memaparkan minyak atsiri sereh wangi tunggal dengan kandungan geraniol dan sitral memiliki sifat antibakteri dengan efektifitas diameter zona hambat 26,90 mm terhadap *Staphylococcus aureus*.

Tanaman ini juga berpotensi sebagai zat antioksidan, analgesik (penahan sakit), dan aflatoksigenik (racun yang berpotensi sebagai anti kanker hati), mengobati gangguan pencernaan, radang, diabetes, gangguan saraf, demam, mencegah kanker, menurunkan tekanan darah, sakit gigi, gusi bengkak, digunakan sebagai detoksifikasi dan merawat kulit agar tetap indah (Intarina 2014).

## **B. Tanaman Jeruk Purut**

### **1. Sistematika tanaman jeruk purut**

Klasifikasi tanaman jeruk purut menurut USDA (2015) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Superdivisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Dicotyledonae
Subkelas	: Rosidae
Suku	: Rutaceae
Marga	: <i>Citrus</i>
Spesies	: <i>Citrus hystrix</i> DC.

### **2. Nama daerah jeruk purut**

Indonesia: Unte mukur, unte pangir (Batak), lemau purut, lemau sarakan (Lampung), lemau puruik (Minangkabau), limau purut, jeruk wangi, jeruk purut (Sunda, Jawa) (Nuraini 2011).

### **3. Morfologi jeruk purut**

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). Gambar tanaman jeruk purut dapat dilihat pada Gambar 3.

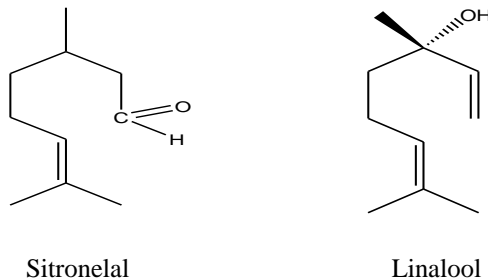




Gambar 3. Jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) (Koleksi pribadi)

#### 4. Kandungan kimia

Daun jeruk purut mengandung senyawa kimia yang merupakan metabolit sekunder seperti minyak atsiri, flavonoid, saponin, steroid dan terpen (Prakash *et al.* 2013; Intekhab dan Aslam 2009). Daun segar mengandung 0,6% minyak atsiri yang mengandung beberapa komponen mayor yaitu sitronelal 64,15%,  $\beta$ -citronellol 10,71%, *trans*-caryophyllene 5,54%, linalool 5,31%. Komponen minor meliputi nerolidol 1,3%, germacrene 1,17% dan sebagainya (Agusta 2000; Khasanah 2015).



Gambar 4. Struktur kimia kandungan minyak atsiri daun jeruk purut

#### 5. Kegunaan tanaman

Minyak atsiri daun jeruk purut diperoleh dari proses destilasi mengandung komponen utama senyawa terpen yaitu antara lain sitronelal, sitronelol, linalool dan geraniol (Koswara 2009). Terkait kandungan minyak atsiri jeruk purut sebagai antibakteri menurut Yuliani *et al.* (2011) dalam penelitiannya menunjukkan bahwa minyak atsiri daun jeruk purut memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan nilai KHM sebesar 1 % dan KBM 2% dan dalam minyak atsiri tersebut mengandung senyawa terpen. Srisukh *et al.* (2012) juga memaparkan bahwa minyak atsiri dari daun jeruk purut yang

diperoleh dengan destilasi uap menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dengan efektifitas diameter zona hambat sebesar 19 mm terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Minyak atsiri jeruk purut juga digunakan untuk mengobati jerawat, anemia, bengkak bengkak, bisul, kutil, kulit berlemak, rematik, tekanan darah tinggi, asma, infeksi tenggorokan, bronchitis, flu dan lain-lain (Ma'mun & Suhirman 2012).

### **C. Minyak Atsiri**

#### **1. Pengertian minyak atsiri**

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 digunakan karena minyak atsiri mewakili bau dari tanaman asalnya (Gunawan dan Mulyani 2004).

Minyak atsiri atau minyak mudah menguap atau minyak terbang merupakan campuran dari senyawa yang berwujud cairan atau padatan yang memiliki komposisi maupun titik didih yang beragam. Penyulingan dapat didefinisikan sebagai proses pemisahan komponen-komponen suatu campuran yang terdiri dari atas dua cairan atau lebih berdasarkan perbedaan tekanan uap mereka atau berdasarkan perbedaan titik didih komponen-komponen senyawa tersebut (Sastrohamidjojo 2004).

#### **2. Sifat minyak atsiri**

Sifat-sifat minyak atsiri tersusun oleh bermacam-macam komponen senyawa, memiliki bau khas. Umumnya bau ini mewakili bau tanaman aslinya, memiliki rasa getir, kadang-kadang terasa tajam, mengigit, memberi kesan hangat sampai panas, atau justru dingin ketika terasa di kulit, tergantung dari jenis komponen penyusunnya, dalam keadaan murni (belum tercemar oleh senyawa lain) mudah menguap pada suhu kamar, bersifat tidak bisa disabunkan dengan alkali dan tidak bisa berubah menjadi tengik, pada umumnya tidak dapat bercampur dengan air, tetapi cukup dapat larut hingga dapat memberikan baunya

kepada air walaupun kelarutannya kecil, sangat mudah larut dalam pelarut organik (Gunawan dan Mulyani 2004).

Minyak atsiri ini berupa cairan jernih, tidak berwarna, tetapi selama penyimpanan akan mengental dan berwarna kekuningan atau kecokelatan. Hal tersebut karena adanya pengaruh oksidasi dan resinifikasi (berubah menjadi damar atau resin). Untuk mencegah atau memperlambat proses oksidasi dan resinifikasi tersebut, minyak atsiri harus dilindungi dari pengaruh sinar matahari yang dapat merangsang terjadinya oksidasi dan oksigen udara yang akan mengoksidasi minyak atsiri. Minyak atsiri tersebut sebaiknya disimpan dalam wadah berbahan dasar kaca dan kaca berwarna gelap (misalnya, botol berwarna cokelat atau biru gelap) untuk mengurangi sinar yang masuk (Koensoemardiyah 2010).

### **3. Metode isolasi minyak atsiri**

Metode yang paling lebih sering dilakukan adalah metode destilasi/ penyulingan. Metode ini meliputi destilasi kering dan destilasi air. Metode destilasi kering 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 dan Mulyani 2004).

### **4. Identifikasi minyak atsiri**

Minyak atsiri diteteskan pada permukaan air, minyak atsiri akan menyebar dan permukaan air tidak keruh. Minyak atsiri diteteskan pada kertas saring, bila dibiarkan minyak akan menguap sempurna tanpa meninggalkan noda lemak (Gunawan dan Mulyani 2004).

### **5. Penetapan bobot jenis minyak atsiri**

Menimbang botol timbang kosong, memasukan 1 ml minyak atsiri ke dalam botol timbang tersebut, kemudian minyak atsiri dan botol timbang dengan teliti dan akurat selanjutnya 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 dilakukan 3 kali pengulangan (Ansel 2006).

## 6. Uji kelarutan minyak atsiri dalam etanol

Menurut Badan Standar Nasional Indonesia (2001), uji kelarutan minyak atsiri dalam etanol dilakukan dengan cara memipet minyak sebanyak 1 ml ke dalam gelas ukur 10 ml, ditambahkan etanol 5 ml dengan cara tetes demi tetes atau secara bertahap. Pada setiap penambahan etanol kocok dan amati sampai diperoleh suatu larutan bening.

### D. Tinjauan *Staphylococcus aureus*

#### 1. Klasifikasi *Staphylococcus aureus*

Klasifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* menurut Soedarto (2015), adalah sebagai berikut:

Domain	: Bacteria
Kingdom	: Eubacteria
Phylum	: Firmicutes
Class	: Bacili
Ordo	: Bacillales
Famili	: Staphylococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>

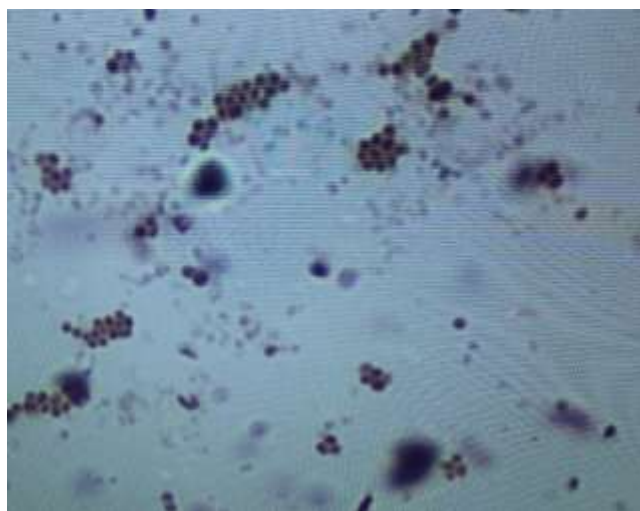
#### 2. Morfologi, sifat dan identifikasi bakteri

*Staphylococcus aureus* adalah bakteri Gram positif berbentuk bulat, biasanya tersusun dalam rangkaian tidak beraturan seperti buah anggur yang dapat dilihat pada Gambar 5. Beberapa diantaranya tergolong flora normal pada kulit dan selaput mukosa manusia, menyebabkan pernanahan, abses, berbagai infeksi pirogen dan bahkan septikimia yang fatal. *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.* 2013).

*Staphylococcus aureus* tahan terhadap panas (tahan terhadap suhu 60°C selama 1 jam dan beberapa strain tahan terhadap suhu hingga 80°C selama 30 menit), tahan kering biasanya pada nanah yang kering akan tahan berminggu-

minggu hingga bulanan, dan tahan beberapa bahan kimia seperti pada garam yang sering terjadi pada makanan awetan (Iskamto 2009).

Cara untuk mengidentifikasi *Staphylococcus aureus* adalah dengan mengisolasi sampel pada medium selektif yang sesuai. Koloni yang tumbuh pada medium diamati dan dilanjutkan dengan berbagai uji, yaitu pewarnaan gram, uji katalase, dan uji koagulase. Uji tersebut dapat membedakan *Staphylococcus aureus* dengan bakteri coccus yang lainnya (Iskamto 2009).



Gambar 5. Bentuk mikroskopis *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (Koleksi pribadi)

### 3. Patogenesis

*Staphylococcus aureus* merupakan penyebab infeksi yang bersifat piogenik (pembentuk pus/nanah). Bakteri ini masuk ke dalam tubuh melalui folikel rambut, *sebaceous gland* (kelenjar keringat) atau luka-luka kecil. *Staphylococcus aureus* patogen mempunyai sifat dapat menghemolisa darah, menghasilkan enzim koagulase, 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. Perananan yang bersifat manahun atau timbul radang yang disebut *osteomyelitis*. Perluasan lain juga dapat sampai ke paru-paru, selaput otak dan sebagainya (Suryono 2009).

Bakteri *Staphylococcus aureus* terdapat pada lubang hidung, tenggorokan, dan sebagian besar juga terdapat pada rambut dan kulit (Hartanti 2006). *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan penyakit melalui kemampuannya berkembang biak dan menyebar luas dalam jaringan dan melalui pembentukan

banyak zat ekstraseluler antara lain eksotosin dan koagulase. Bakteri ini paling rentan terhadap penyakit kulit seperti bisul. Infeksi kulit *Staphylococcus aureus* mungkin termasuk penyakit infeksi yang paling sering ditularkan secara langsung ke orang lain (Jawetz *et al.* 2013).

#### **4. Pengobatan**

Pengobatan infeksi *Staphylococcus aureus* pasien yang terkena abses peka terhadap penisilin pemberian pilihan meliputi terapi pertama menggunakan nafsilin, oksasilin atau golongan penisilin lainnya. Alternatif terapi kedua menggunakan sefalosporin generasi pertama, kedua, ketiga secara berurutan, dan terapi ketiga menggunakan klindamisin. Pasien bakterimia menggunakan terapi alternatif kedua dengan menggunakan vankomisin dan alternatif ketiga menggunakan makrolida (Goodman & Gilman 2007).

### **E. Antibakteri**

#### **1. Pengertian 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).

Ruang lingkup bakteri dapat dipengaruhi zat antibakteri yang disebut dengan spektrum antibakteri. Berdasarkan spektrum aksinya, zat antibakteri dibagi menjadi 3 meliputi spektrum luas, spektrum sempit dan spektrum terbatas. Spektrum luas yaitu zat antibakteri tersebut efektif melawan prokariot, baik membunuh atau menghambat bakteri Gram negatif dan Gram positif dalam ruang lingkup yang luas. Spektrum sempit yaitu zat antibakteri yang efektif melawan sebagian bakteri Gram positif atau negatif. Spektrum terbatas yaitu zat antibakteri yang efektif melawan spesies bakteri tertentu (Agustrina 2011).

#### **2. Mekanisme kerja antibakteri**

Menurut Ganiswara (2009), mekanisme kerja antibakteri dibagi dalam lima kelompok.

**2.1 Penghambatan metabolisme sel bakteri.** Bakteri membutuhkan asam folat untuk hidup, sehingga harus mensintesis sendiri asam folat dari asam para amino benzoat (PABA) untuk kebutuhan hidupnya. Antibakteri bersaing dengan PABA untuk diikuti sertakan dalam pembentukan asam folat, maka terbentuk analog asam folat nonfungsional, sehingga kebutuhan asam folat tidak terpenuhi, hal ini bisa menyebabkan kematian bakteri. Contoh antibakteri yang bekerja menghambat metabolisme sel adalah sulfonamida dan trimetoprim.

**2.2 Penghambatan sintesis dinding sel bakteri.** Dinding sel bakteri terdiri dari polipeptidoglikan yaitu suatu kompleks polimer mukopeptida (glikopeptida). Antibakteri menghambat reaksi yang paling dini dalam proses sintesis dinding sel. Tekanan osmotik dalam sel bakteri lebih tinggi daripada di luar sel maka kerusakan dinding sel bakteri akan menyebabkan terjadinya lisis, yang merupakan dasar efek bakterisida pada bakteri yang peka. Contoh antibakteri yang bekerja menghambat sintesis dinding sel bakteri adalah penisilin, sefalosporin, basitrasin, vankomisin dan sikloserin.

**2.3 Mengganggu keutuhan membran sel bakteri.** Antibakteri dengan senyawa amonium-kuartener dapat merusak membran sel setelah bereaksi dengan fosfat pada fosfolipid membran sel bakteri. Antibakteri tersebut tidak efektif terhadap bakteri Gram positif karena jumlah fosfor bakteri ini rendah dan Gramnegatif menjadi resisten. Kerusakan membran sel menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel bakteri yaitu protein, asam nukleat, nukleotida dan lain-lain. Contoh antibakteri yang mengganggu keutuhan membran sel bakteri adalah polimiksin, golongan polien serta berbagai antibakteri kemoterapeutik.

**2.4 Penghambatan sintesis protein sel bakteri.** Bakteri perlu mensintesis berbagai protein untuk kelangsungan hidupnya. Sintesis protein berlangsung di ribosom dengan bantuan mRNA. Salah satu mekanisme kerja antibakteri adalah menyebabkan kode pada mRNA salah dibaca oleh tRNA pada waktu sintesis protein dan mengakibatkan terbentuknya protein yang abnormal dan nonfungsional bagi sel bakteri. Contoh antibakteri yang bekerja dengan

menghambat sintesis protein sel bakteri adalah golongan aminoglikosida, makrolida, linkomisin, tetrasiklin dan kloramfenikol.

**2.5 Penghambatan sintesis asam nukleat sel bakteri.** Suatu senyawa yang bersifat antibakteri dapat mengganggu pembentukan asam nukleat sehingga menyebabkan transfer informasi genetik akan terganggu. Hal tersebut terjadi disebabkan karena senyawa antibakteri dapat menghambat aktivitas enzim RNA polimerase dan DNA girase yang selanjutnya akan dapat menginaktivasi atau merusak materi genetik sehingga dapat mengganggu proses pembelahan sel pada pembiakkan. Contoh antibakteri yang bekerja menghambat sintesis asam nukleat sel bakteri adalah golongan kuinolon memiliki mekanisme kerja dengan menghambat enzim DNA girase (enzim yang menekan DNA bakteri menjadi superkoil).

## **F. Simplisia**

### **1. Pengertian simplisia**

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan lain simplisia merupakan bahan yang dikeringkan. Simplisia dapat berupa simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia pelikan atau mineral. Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia pelikan atau mineral ialah simplisia yang berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan berupa zat kimia murni (Gunawan & Mulyani 2004).

### **2. Pengumpulan simplisia**

Bagian yang diambil dari tanaman misalnya daun, bunga, buah, akar atau rimpang. Hal ini karena zat berkhasiat tidak terdapat pada seluruh bagian dari tanaman, terkadang ada bagian dari tanaman justru beracun dan tidak



dikehendaki. Bila yang dikumpulkan daun sebaiknya tidak tercampur dengan bagian lain dari tanaman seperti biji, bunga, atau tangkai. Pengumpulan simplisia juga perlu memperhatikan kondisi khusus, misalnya waktu pemanenan (Dalimartha 2006).

### **3. Pengemasan dan penyimpanan simplisia**

Pengemasan simplisia dapat menggunakan wadah yang inert, tidak beracun, melindungi simplisia dari cemaran serta mencegah adanya kerusakan. Penyimpanan simplisia sebaiknya di tempat yang kelembabannya rendah, terlindung dari sinar matahari, dari terlindung dan gangguan serangga maupun tikus (Amalina 2008).

## **G. Media**

Media adalah bahan yang digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme di atas atau di dalamnya. Keasaman (pH) medium amat penting bagi pertumbuhan organisme terutama kerja enzim yang mana sangat dipengaruhi oleh pH (Hadioetomo 2005). Ada tiga bentuk media antara lain media cair yaitu media yang tidak mengandung agar. Media ini digunakan untuk berbagai keperluan, seperti pembiakan organisme dalam jumlah besar dan fermentasi. Media padat yaitu media yang mengandung agar 15% sehingga setelah dingin media menjadi padat. Media padat digunakan untuk mengamati bentuk atau morfologi koloni serta mengisolasi biakan murni. Media setengah padat yaitu media yang mengandung agar 0,3%-0,4% sehingga menjadi sedikit kenyal, tidak padat dan tidak begitu cair. Media ini biasanya digunakan untuk menguji ada tidaknya motilitas pergerakan mikroba maupun kemampuan fermentasi (Hadioetomo 1993; Pratiwi 2008).

## **H. Sterilisasi**

Sterilisasi adalah tindakan untuk membebaskan alat dan media dari mikroba. Alat dan bahan dapat dikatakan steril apabila terbebas dari mikroba. Cara sterilisasi yang umum dilakukan antara lain sterilisasi secara fisik yaitu pemanasan, penggunaan sinar X, dan penggunaan sinar UV (Suriawiria 2005).

Sterilisasi secara kimia dengan menggunakan desinfektan, larutan alkohol, larutan formalin. Sterilisasi secara mekanik dilakukan dengan penggunaan saringan atau filter untuk bahan yang akibat pemanasan tinggi atau tekanan tinggi mengalami perubahan atau penguraian (Darmadi 2008).

## **I. Penyulingan Minyak Atsiri**

### **1. Definisi penyulingan**

Penyulingan atau destilasi dapat didefinisikan sebagai proses pemisahan komponen-komponen suatu campuran yang terdiri atas dua cairan atau lebih berdasarkan perbedaan titik didih komponen-komponen senyawa tersebut. Minyak atsiri hanya akan keluar setelah uap menerobos jaringan-jaringan tanaman yang terdapat dipermukaan. Proses lepasnya minyak atsiri ini hanya dapat terjadi dengan hidrodifusi atau penembusan air pada jaringan-jaringan tanaman dan biasanya proses difusi berlangsung lambat. Bahan perlu perlakuan pendahuluan sebelum dilakukan destilasi. Perlakuan pendahuluan yaitu pengecilan ukuran yang dilakukan dengan pemotongan menjadi kecil-kecil atau penggerusan sering disebut kominusi. Proses pemotongan menjadi kecil-kecil dimaksudkan untuk mengurangi ketebalan bahan hingga difusi dapat terjadi. Peningkatan difusi akan mempercepat penguapan dan penyulingan minyak atsiri (Sastrohamidjojo 2004).

### **2. Metode penyulingan**

Menurut Sastrohamidjojo (2004), ada tiga metode destilasi yang digunakan dalam industri minyak atsiri, yaitu:

**2.1 Destilasi air.** Bahan yang akan disuling berhubungan langsung dengan air mendidih atau merebus bahan tanaman secara langsung. Bahan yang akan disuling kemungkinan mengambang/mengapung di atas air atau terendam seluruhnya, tergantung berat jenis dan kuantitas bahan yang akan diproses. Kelebihannya adalah alatnya sederhana dan waktu yang dibutuhkan untuk mendapatkan minyak atsiri sebentar. Sedangkan untuk kekurangannya destilasi air ini tidak cocok untuk bahan baku yang tidak tahan uap panas dan kualitas hasil penyulingan tidak sebaik destilasi uap dan air.

**2.2 Destilasi uap dan air.** Penyulingan uap dan air menggunakan suatu tempat yang bagian bawahnya diisi air sedikit dan bagian tengah diberi sekat atau yang biasa disebut angsang. Bahan tanaman yang akan diproses secara penyulingan uap dan air diletakkan diatas angsang, sehingga bahan tanaman yang akan disuling hanya terkena uap, dan tidak terkena air. Prinsipnya air mendidih dan uap air akan membawa partikel minyak atsiri untuk dialirkan ke kondensor kemudian ke alat pemisah, secara otomatis air dan minyak akan terpisah karena ada perbedaan berat jenis. Dimana berat jenis minyak lebih kecil dibandingkan berat jenis air sehingga minyak berada di atas dan air di bawah.

**2.3 Destilasi uap langsung.** Dalam bejana tersebut hanya terdapat simplisia dan tidak ada air dibagian bawah alat. Uap yang digunakan lazim memiliki tekanan yang lebih besar daripada tekanan atmosfer dan dihasilkan dari hasil penguapan air yang berasal dari suatu pembangkit uap air. Uap air yang dihasilkan kemudian dimasukkan kedalam alat penyulingan. Prinsipnya uap air yang dihasilkan oleh steam generator akan mengalir ke wadah simplisia dan membawa minyak atsiri bersama sengan uap air tersebut. Destilasi uap ini merupakan destilasi yang paling baik karena dapat menghasilkan minyak atsiri dengan kualitas tinggi karena tidak bercampur dengan air.

#### **J. Kromatografi Gas-Spektrometri Massa (GC-MS)**

Analisis dan karakterisasi minyak menguap merupakan masalah yang cukup rumit, sehingga perlu diseleksi metode yang akan diterapkan. Minyak atsiri merupakan salah satu contoh dari minyak yang menguap, dengan sifatnya yang mudah menguap pada suhu kamar. Sejak ditemukannya kromatografi gas (GC), kendala dalam analisis komponen minyak atsiri ini mulai dapat diatasi walaupun terbatas hanya pada analisis kualitatif dan penentuan kuantitatif komponen penyusun minyak atsiri saja. Pada penggunaan GC, efek penguapan dapat dihindari bahkan dihilangkan sama sekali. Perkembangan teknologi instrumentasi yang sangat pesat akhirnya dapat melahirkan suatu alat yang merupakan gabungan dua sistem dengan prinsip dasar yang berbeda satu sama lain tetapi dapat saling

menguntungkan dan saling melengkapi, yaitu gabungan antara kromatografi gas dan spektrometri massa (GC-MS) (Agusta 2000).

Analisis dengan GC-MS merupakan metode yang cepat dan akurat untuk memisahkan campuran yang rumit, mampu menganalisis cuplikan dalam jumlah sangat kecil, dan menghasilkan data yang berguna mengenai struktur serta identitas senyawa organik. Kromatografi gas disini berfungsi sebagai alat pemisah berbagai komponen campuran dalam sampel, sedangkan spektrometer massa berfungsi untuk mendeteksi masing-masing molekul komponen yang telah dipisahkan pada sistem kromatografi gas (Agusta 2000).

## **K. Metode Pengujian Aktivitas Antibakteri**

### **1. Metode difusi**

Metode ini merupakan suatu metode yang 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 diamati. Garis tengah daerah hambatan jernih atau zona bening yang mengelilingi obat dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan terhadap bakteri yang diamati. Prinsip dari metode ini yaitu zat yang akan ditentukan aktivitas antimikrobanya berdifusi pada lempeng agar *Mueller Hinton Agar* (MHA) yang telah ditanami mikroba yang akan diuji. Dasar penggunaannya adalah terbentuk atau tidaknya zona hambat pertumbuhan mikroba disekeliling cakram atau silinder yang berisi zat antimikroba (Harminta 2004).

### **2. Metode dilusi**

Metode ini menggunakan antimikroba dengan kadar yang menurun secara bertahap, baik dengan media cair atau padat. Media sebelumnya diinokulasikan terlebih dahulu dengan bakteri uji dan diinkubasi. Tahap akhir dilarutkan antimikroba dengan kadar yang menghambat dan mematikan. Prinsip dari metode ini yaitu menghambat pertumbuhan bakteri dalam pembenihan cair oleh suatu obat yang dicampurkan kedalam pembenihan. Pembenihan yang dipakai harus merupakan pembenihan yang dapat menumbuhkan bakteri secara optimum dan

tidak menetralkan obat yang dipergunakan (Jawetz *et al.* 2013; Bonang dan Koeswardono 2004).

#### **L. Antibiotik Amoksisilin**

Amoksisilin merupakan penisilin semisintetik yang rentan terhadap penisilinase dan secara kimia serta farmakologis berhubungan dengan ampisilin. Antibiotik golongan penisilin bekerja dengan cara menghambat pembentukan mukopeptida yang diperlukan untuk sintesis dinding sel mikroorganisme (Wardani 2008).

Uji sensitifitas yang dilakukan terhadap terhadap amoksisilin sebagian besar menunjukkan bahwa isolat *Staphylococcus aureus* sensitif terhadap amoksisilin (Amalia 2013). Amoksisilin merupakan antibakteri golongan penisilin yang berspektrum luas yang bersifat bakterisid dan efektif terhadap sebagian bakteri Gram positif dan beberapa Gram negatif yang patogenik. Bakteri patogenik seperti *Staphylococcus aureus* sensitif terhadap amoksisilin (Werckenthin 2009; Pengov 2012). Antibiotik ini stabil dalam suasana asam dan dirancang untuk penggunaan oral. Absorpsi pada amoksisilin tidak terganggu dengan adanya makanan dalam lambung sehingga absorpsi amoksisilin dari gastrointestinal lebih cepat dan lebih sempurna dibanding ampisilin (Goodman & Gilman 2007).

#### **M. Efek Kombinasi Obat**

Obat tradisional yang memiliki khasiat empiris yang sama (efek sinergis) banyak digunakan saat ini. Obat tradisional akan bermanfaat dan aman jika digunakan dengan tepat. Baik takaran, waktu, dan cara penggunaan serta pemilihan bahan yang sesuai dengan indikasi dan efek farmakologi yang saling mendukung satu sama lain (efek komplementer) untuk mencapai efektivitas pengobatan. Obat tradisional memiliki beberapa kelebihan yaitu efek sampingnya yang relatif kecil dan harganya murah. Bahan obat alam juga memiliki beberapa kelemahan yang juga merupakan kendala dalam pengembangan obat tradisional. Kelemahan tersebut antara lain, efek farmakologinya lemah, bahan baku belum

terstandar, belum dilakukan uji klinik dan mudah tercemar berbagai jenis mikroorganisme (Pramono 2008).

Kombinasi obat adalah perpaduan dua obat yang digunakan pada waktu bersamaan agar khasiatnya masing-masing dapat saling mempengaruhi yakni dapat memperlihatkan kerja berlawanan (antagonis) atau kerja sama (sinergisme) (Tan dan Raharja 2002). Apabila dua agen antimikroba bekerja secara bersamaan pada populasi mikroba yang homogen maka efeknya dapat berupa efek sinergisme, artinya kerja kombinasi secara nyata lebih besar dari pada jumlah kedua efek (Jawezt *et al.* 2002). Formulasi dan komposisi ramuan tanaman yang akan dibuat kombinasi tersebut harus dibuat setepat mungkin agar tidak menimbulkan kontraindikasi, bahkan dipilih ramuan yang saling menunjang terhadap suatu efek yang dikehendaki (Pramono 2008).

## **N. Landasan Teori**

Kesehatan merupakan suatu hal yang sangat penting dalam kehidupan, namun untuk menjaganya perlu dilakukan tindakan pencegahan dan pengobatan. Tindakan tersebut dilakukan agar menghindari terjadinya infeksi. Infeksi yang sering terjadi yaitu infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus*. Pengobatan infeksi bakteri saat ini yaitu dengan pemberian antibiotik. Perlu diketahui penggunaan antibiotik yang berlebihan dan pemberian antibiotika dalam jangka waktu yang lama dapat menyebabkan terjadinya resistensi pada bakteri hal ini dapat menimbulkan masalah dalam pengobatan infeksi, sehingga diperlukan pengembangan obat tradisional berbahan herbal yang dapat membunuh bakteri.

*Staphylococcus aureus* adalah bakteri Gram positif berbentuk bulat dan tersusun dalam rangkaian yang tidak beraturan seperti buah anggur. *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. Bakteri ini tahan terhadap panas (tahan terhadap suhu 60°C selama 1 jam dan beberapa strain tahan terhadap suhu hingga 80°C selama 30 menit), tahan kering biasanya pada nanah yang kering akan tahan berminggu-minggu.

Tanaman sereh wangi (*Cymbopogon nardus* L.) memiliki kandungan minyak atsiri. Minyak atsiri sereh wangi saat ini sudah banyak digunakan dalam masyarakat dengan berbagai manfaat, salah satu manfaatnya yaitu sebagai senyawa antibakteri. Minyak sereh wangi mengandung komponen sitronelal, sitronelol, geraniol, sitral dan sisanya komponen lain. Riska (2013) mengatakan bahwa minyak atsiri sereh wangi memiliki efektifitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 50% dengan diameter zona hambat 31,00 mm dan dalam minyak atsiri tersebut komponen yang berkhasiat antibakteri yaitu geraniol. Rahayu (2016) juga memaparkan minyak atsiri sereh wangi tunggal memiliki sifat antibakteri dengan komponen yang berkhasiat yaitu geraniol dan sitral dengan efektifitas diameter zona hambat 26,90 mm terhadap *Staphylococcus aureus*.

Tanaman jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) juga merupakan tanaman yang memiliki kandungan minyak atsiri, terutama pada bagian daun tanaman tersebut. Daun segar mengandung 0,6% minyak atsiri yang mengandung beberapa komponen mayor yaitu sitronelal,  $\beta$ -citronellol, *trans*-caryophyllene, linalool. Komponen minor meliputi nerolidol, germacrene dan sebagainya (Agusta 2000; Khasanah 2015). Yuliani *et al.* (2011) memaparkan minyak atsiri daun jeruk purut memiliki aktivitas antibakteri dengan nilai KHM sebesar 1 % dan KBM 2% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan dalam minyak atsiri tersebut mengandung senyawa terpen. Srisukh *et al.* (2012) juga memaparkan bahwa minyak atsiri dari daun jeruk purut yang diperoleh dengan destilasi uap menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dengan efektifitas diameter zona hambat sebesar 19 mm terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Metode uji aktivitas antibakteri yang digunakan pada penelitian ini adalah metode difusi. Metode difusi digunakan untuk menentukan diameter zona hambatan. Metode difusi adalah suatu uji dengan menggunakan cakram yang berliang renik atau suatu silinder tidak beralas yang mengandung obat dalam jumlah tertentu ditempatkan pada pembedihan padat yang telah ditanami dengan biakan bakteri yang akan diperiksa. Garis tengah daerah hambatan jernih yang

mengelilingi obat dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan terhadap bakteri yang diperiksa.

Kombinasi obat herbal adalah perpaduan dua atau lebih obat yang digunakan pada waktu bersamaan agar khasiatnya masing-masing dapat saling mempengaruhi. Kombinasi berbagai komponen minyak atsiri yang bersifat lemah atau sedang dapat menghasilkan efek yang sinergis atau saling menguatkan. Dua agen antimikroba apabila bekerja secara bersamaan pada populasi mikroba yang homogen maka efeknya dapat berupa efek sinergisme, artinya kerja kombinasi secara nyata lebih besar dari pada jumlah kedua efek.

#### **O. Hipotesis**

Berdasarkan permasalahan yang ada, dapat disusun hipotesis sebagai berikut:

Pertama, kombinasi minyak atsiri batang sereh wangi (*Cymbopogon nardus* L.) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kedua, kombinasi minyak atsiri batang sereh wangi (*Cymbopogon nardus* L.) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) dengan perbandingan 2:1 pada konsentrasi 25% memiliki aktivitas antibakteri paling besar terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.



## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Populasi dan Sampel**

##### **1. Populasi**

Populasi adalah semua obyek yang menjadi sasaran penelitian. Populasi yang digunakan pada penelitian ini adalah batang serih wangi (*Cymbopogon nardus* L.) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) yang diperoleh di daerah Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah pada bulan Januari 2017.

##### **2. Sampel**

Sampel adalah sebagian kecil dari populasi yang digunakan dalam penelitian. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah batang serih wangi dan daun jeruk purut. Serih wangi yang diambil adalah bagian batang semunya, mulai dari bagian 15 cm diatas pangkalnya dan dipilih yang segar, bebas penyakit, bersih dan diambil secara acak. Jeruk purut yang diambil adalah bagian daunnya warna hijau tua, dipilih yang segar dan tidak layu.

#### **B. Variabel Penelitian**

##### **1. Identifikasi variabel utama**

Variabel utama pertama dalam penelitian ini adalah minyak atsiri dari batang serih wangi dan daun jeruk purut serta kombinasinya.

Variabel utama kedua dalam penelitian ini adalah aktivitas antibakteri minyak atsiri dari batang serih wangi dan daun jeruk purut serta 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 yang dimaksud dalam penelitian ini minyak atsiri batang serih wangi, daun jeruk purut dan kombinasi keduanya dengan perbandingan 1:1, 1:2, 1:3, 2:1, 3:1.

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah kemurnian bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, sterilisasi, suhu, kondisi peneliti, kondisi laboratorium, media dan metode penelitian.

Variabel tergantung dari penelitian ini adalah aktivitas antibakteri minyak atsiri yaitu minyak atsiri batang serih wangi, daun jeruk purut dan kombinasi keduanya dengan dilihat diameter zona hambat.

### **3. Definisi operasional variabel utama**

Pertama, batang serih wangi (*Cymbopogon nardus* L.) yang diambil secara acak di daerah Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah, dengan ciri-ciri bagian batang semu dimulai dari 15 cm dari pangkalnya, segar, bebas penyakit dan bersih.

Kedua, daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) yang diambil secara acak di daerah Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah, dengan ciri-ciri warna daun hijau tua, tidak terlalu tua atau tidak terlalu muda, segar dan bebas penyakit.

Ketiga, minyak atsiri batang serih wangi dan daun jeruk purut adalah minyak atsiri hasil destilasi batang serih wangi (*Cymbopogon nardus* 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 batang serih wangi dan daun jeruk purut adalah campuran minyak atsiri batang serih wangi dan minyak atsiri daun jeruk purut dengan perbandingan dengan volume 1:1, 1:2, 1:3, 2:1, 3:1.

Keenam, kontrol positif dalam penelitian ini adalah antibiotik suspensi amoksisilin yang diperoleh di apotek yang beredar di Surakarta dibuat dengan konsentrasi 2,5%; 1,25%; 0,625%.

Ketujuh, uji aktivitas antibakteri adalah pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi menggunakan cakram dengan konsentrasi 25%; 12,5%; 6,25%.

Kedelapan, diameter zona hambat adalah garis tengah daerah hambatan jernih yang mengelilingi cakram yang berisi sampel uji dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

## C. Alat dan Bahan

### 1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi kondensor dan dandang besar, satu set lengkap instrumen Kromatografi Gas Spektrometri Massa (GC-MS) dengan spesifikasi QP2010SE-Shimadzu dengan jenis pengion EI (Elektron Impact) suhu kolom 60<sup>0</sup>C-300<sup>0</sup>C dengan gas pembawa helium, refraktometer ATAGO, lampu spiritus, jarum ose tangkai panjang, cawan petri steril, kapas lidi steril, inkubator MEMMER, cakram ukuran 6 mm, vortex mixer, mikroskop ZEISS, gelas ukur PYREX, pipet volume steril PYREX, objek glass, botol vial steril, tabung reaksi steril, alat sentrifugasi, inkas, autoklaf, oven, pinset, neraca analitik OHAUS dan penggaris.

### 2. Bahan

Bahan sampel yang digunakan dalam uji mikrobiologi antibakteri dengan metode difusi adalah minyak atsiri batang sereh wangi dan daun jeruk purut serta kombinasi keduanya.

Bahan kimia yang digunakan antara lain Na sulfat eksikatus, aseton, cat kristal violet, lugol iodine, kalium tellurit, etanol, cat safranin, hidrogen peroksida 3 % dan antibiotik amoksisilin. Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Nutrien Agar* (NA), *Mueller Hinton Agar* (MHA), *Vogel Johnson Agar* (VJA), *Brain Heart Infusion* (BHI) 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 sereh wangi dan jeruk purut

Tahap awal dalam penelitian ini adalah melakukan determinasi tanaman sereh wangi (*Cymbopogon nardus* L.) dan jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) yang bertujuan untuk menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan, serta menghindari kemungkinan tercampurnya bahan dengan tanaman lain. Menetapkan kebenaran sampel batang sereh wangi dan daun jeruk purut

berdasarkan ciri-ciri mikroskopis dan makroskopis, serta mencocokkan ciri-ciri morfologis yang ada pada tanaman sereh wangi dan jeruk purut terhadap kepustakaan yang dilakukan di Laboratorium Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

## **2. Pengambilan bahan**

Batang sereh wangi dan daun jeruk purut diperoleh di daerah Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah. Batang sereh wangi yang diambil yang masih segar, selanjutnya dibersihkan dari kotoran dan tanah yang masih menempel. Daun jeruk purut yang diambil masih segar dan berbau khas. Bahan yang digunakan dirajang dahulu menjadi potongan-potongan kecil selanjutnya dianginkan untuk menjaga keawetan dan mencegah timbulnya jamur.

## **3. Isolasi minyak atsiri**

Batang sereh wangi dan daun jeruk purut yang sudah dibersihkan, dirajang dan dipotong-potong kecil masing-masing dimasukkan kedalam alat penyulingan minyak atsiri yaitu dandang yang sebelumnya sudah diisi air dan dilengkapi dengan angsang atau penyangga berlubang. Penyulingan dilakukan dengan memanaskan diatas api sampai air mendidih. Uap air yang dihasilkan dialirkan pada pipa kebagian kondensor dan mengalami proses kondensasi, bersama dengan uap air tersebut terbawa minyak atsiri juga. Destilasi dihentikan ketika volume minyak atsiri yang keluar tidak bertambah. Tampung destilat dan ukur volume minyak atsiri yang dihasilkan.

Hasil penyulingan kemudian dipisahkan dari air dengan cara pemisahan fase air dan minyak menggunakan corong pisah dengan menambahkan Na Sulfat ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) eksikatus sehingga diperoleh hasil sulingan minyak batang sereh wangi dan daun jeruk purut murni. Minyak atsiri yang diperoleh disimpan dalam botol yang tertutup rapat dan terlindung dari cahaya (Depkes 2003).

## **4. Analisis minyak atsiri**

**4.1 Pengamatan organoleptik.** Sifat-sifat minyak atsiri antara lain tersusun oleh macam-macam komponen senyawa, memiliki bau khas. Umumnya bau ini mewakili bau tanaman aslinya, memiliki rasa getir, kadang-kadang terasa tajam, menggigit, memberi kesan hangat sampai panas, atau justru dingin ketika

terasa di kulit, tergantung dari jenis komponen penyusunnya, dalam keadaan murni (belum tercemar oleh senyawa lain) mudah menguap pada suhu kamar, bersifat tidak bisa disabunkan dengan alkali dan tidak bisa 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 dan Mulyani 2004).

Warna minyak atsiri hasil destilasi masing-masing sampel diambil pada volume sama dan ditempatkan dalam sebuah tempat kaca yang bersih dan jernih. Kemudian diamati dan dibandingkan dari aspek bentuk, warna, aroma dan rasa.

**4.2 Identifikasi minyak atsiri.** Minyak atsiri batang sereh wangi dan daun jeruk purut diidentifikasi seperti metode secara umumnya yaitu minyak atsiri ditetaskan pada permukaan air, minyak atsiri akan menyebar dan permukaan air tidak keruh. Minyak atsiri ditetaskan pada kertas saring, bila dibiarkan minyak akan menguap sempurna tanpa meninggalkan noda (Gunawan dan Mulyani 2004).

**4.3 Penetapan bobot jenis minyak atsiri.** Menimbang botol timbang kosong, memasukkan 1 ml minyak atsiri kedalam botol timbang tersebut, kemudian minyak atsiri dan botol timbang ditimbang dengan teliti dan akurat selanjutnya 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 dilakukan 3 kali pengulangan (Ansel 2006).

$$\text{Bobot jenis minyak atsiri} = \frac{\text{bobot minyak atsiri}}{\text{bobot air}}$$

**4.4 Penetapan indeks bias minyak atsiri.** Minyak atsiri yang diperoleh ditetapkan indeks biasnya dengan alat refraktometer. Kedua prisma dibersihkan dengan aquadest kemudian sebanyak 1-2 tetes minyak atsiri ditetaskan merata di atas permukaan prisma, kemudian dijepit dengan prisma di atasnya. Kaca diatur sehingga cahaya masuk dari luar, selanjutnya dasar prisma diputar perlahan-lahan sampai terlihat titik terang. Indeks bias dapat dibaca pada skala refraktometer. Setelah dicatat, prisma dibuka lagi dan cairan dihilangkan dengan kertas saring, selanjutnya dibilas dengan alkohol (Stahl 2008).

**4.5 Penetapan kelarutan dalam etanol.** Menurut Badan Standar Nasional Indonesia (2001), uji kelarutan minyak atsiri dalam etanol dilakukan dengan cara memipet minyak sebanyak 1 ml ke dalam gelas ukur 10 ml, ditambahkan etanol 5 ml dengan cara tetes demi tetes atau secara bertahap. Pada setiap penambahan etanol kocok dan amati sampai diperoleh suatu larutan bening.

**4.6 Analisis komponen senyawa penyusun minyak atsiri dengan *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS).** Pengujian komponen senyawa penyusun minyak atsiri batang serih wangi dan daun jeruk purut menggunakan GC-MS Shimadzu GCMS-QP2010 SE (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan) dilengkapi dengan Capillary Column Model Number: RTX-5MS phenil methylxiloxane (diameter 0,25 mm, panjang kolom 30 m, dan ketebalan 0,25  $\mu\text{m}$ ) dan detektor yang digunakan FTD. Kondisi GC: suhu awal 60<sup>0</sup>C dinaikkan sampai 300<sup>0</sup>C, gas pembawa helium dengan kecepatan aliran gas pembawa 0,75 ml/min. Senyawa diidentifikasi dengan membandingkan retention index dan membandingkan mass spektra dengan yang ada di database *wiley library*.

## **5. Sterilisasi**

Media yang digunakan dalam penelitian ini disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121<sup>0</sup>C selama 15 menit (2 atm). Alat-alat dari gelas disterilkan dengan menggunakan oven pada suhu 170-180<sup>0</sup>C selama 2 jam dan alat-alat seperti jarum ose disterilkan dengan pemanasan api langsung.

## **6. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

**6.1 Identifikasi bakteri dengan medium selektif.** Suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* diinokulasi pada media differensial *Vogel Johnson Agar* (VJA) yang telah ditetesi 3 tetes kalium telurit 1 % dalam cawan petri dan dinkubasi selama 24 jam pada suhu 37<sup>0</sup>C. Hasil pengujian ditunjukkan yaitu warna koloni hitam dan warna medium disekitar koloni kuning, karena *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat memfermentasi manitol menjadi suasana asam dan mereduksi telurit sehingga membentuk koloni warna hitam (Jawetz *et al.* 2007).

**6.2 Identifikasi mikroskopis dengan pewarnaan Gram.** Pewarnaan bakteri Gram positif *Staphylococcus aureus* menggunakan Gram A (cat kristal violet sebagai cat utama), Gram B (lugol iodine sebagai mordant), Gram C (etanol : aseton = 1 : 1 sebagai peluntur), Gram D (cat safranin sebagai cat lawan atau penutup). Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dinyatakan positif apabila berwarna ungu, berbentuk bulat dan bergerombol seperti buah anggur ketika diamati di bawah mikroskop.

**6.3 Identifikasi biokimia *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.** Identifikasi secara biokimia ada dua yaitu uji katalase dan uji koagulase. Uji katalase menggunakan suspensi bakteri uji dengan penambahan 2 tetes hidrogen peroksida 3 % ( $H_2O_2$ ). Penambahan  $H_2O_2$  3 % akan terurai menjadi  $2H_2O$  dan  $O_2$  hasil dinyatakan positif bila terbentuk gelembung-gelembung udara, hal ini disebabkan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 memiliki enzim katalase (Jawetz *et al.* 2007).

Uji koagulase menggunakan plasma darah kelinci sebanyak 0,3 ml kemudian ditambah 0,1 ml kultur atau suspensi bakteri pada media BHI dan diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}C$ . Diamati adanya penggumpalan setelah 4-6 jam atau lebih. Hasilnya positif kuat jika tabung tes dibalik gumpalan plasma tidak terlepas dan tetap melekat pada dinding tabung (BSN 2011).

## **7. Pembuatan suspensi bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

Pembuatan suspensi bakteri uji untuk metode difusi dibuat dengan mengambil bakteri uji pada media nutrisi agar miring dengan kawat ose yang steril kurang lebih 2 ose *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 selanjutnya mensuspensikannya ke dalam tabung yang berisi 5 ml medium *Brain Heart Infusion* (BHI) kemudian diinkubasi selama 2-5 jam pada suhu  $37^{\circ}C$ . Suspensi yang telah terbentuk disesuaikan tingkat kekeruhannya dengan standar McFarland 0,5 yaitu  $1,5 \times 10^8$  CFU/ml.

## **8. Pembuatan konsentrasi dan kombinasi sampel uji**

Minyak atsiri batang serai wangi dan daun jeruk purut dibuat 3 variasi konsentrasi yaitu 25%; 12,5% dan 6,25% dan minyak atsiri tersebut dibuat kombinasi dengan perbandingan dalam volume yang dapat dilihat pada tabel 1.

**Tabel 1. Volume minyak atsiri dan aseton yang dibutuhkan untuk membuat sampel uji**

No	Nama sampel uji	Volume yang ditambahkan (ml)			Volume Akhir (ml)
		MS	MJ	Aseton	
1	MS 25%	1,5	-	1,5	3
2	MJ 25%	-	1,5	1,5	3
3	MS 25% - MJ 25% (1:1)	0,5	0,5	-	1
4	MS 25% - MJ 25% (1:2)	0,33	0,67	-	1
5	MS 25% - MJ 25% (1:3)	0,25	0,75	-	1
6	MS 25% - MJ 25% (2:1)	0,67	0,33	-	1
7	MS 25% - MJ 25% (3:1)	0,75	0,25	-	1
8	MS 12,5%	0,75	-	2,25	3
9	MJ 12,5%	-	0,75	2,25	3
10	MS 12,5% - MJ 12,5% (1:1)	0,5	0,5	-	1
11	MS 12,5% - MJ 12,5% (1:2)	0,33	0,67	-	1
12	MS 12,5% - MJ 12,5% (1:3)	0,25	0,75	-	1
13	MS 12,5% - MJ 12,5% (2:1)	0,67	0,33	-	1
14	MS 12,5% - MJ 12,5% (3:1)	0,75	0,25	-	1
15	MS 6,25%	0,38	-	2,63	3
16	MJ 6,25%	-	0,38	2,63	3
17	MS 6,25% - MJ 6,25% (1:1)	0,5	0,5	-	1
18	MS 6,25% - MJ 6,25% (1:2)	0,33	0,67	-	1
19	MS 6,25% - MJ 6,25% (1:3)	0,25	0,75	-	1
20	MS 6,25% - MJ 6,25% (2:1)	0,67	0,33	-	1
21	MS 6,25% - MJ 6,25% (3:1)	0,75	0,25	-	1

Keterangan :

MS = Minyak sereh wangi

MJ = Minyak jeruk purut

## 9. Pengujian aktivitas antibakteri

Metode yang digunakan dalam pengujian aktivitas antibakteri adalah metode difusi. Metode difusi digunakan untuk mengetahui adanya daya hambat terhadap bakteri uji dan untuk menentukan diameter daerah hambat dari kombinasi minyak atsiri batang sereh wangi dan daun jeruk purut dengan konsentrasi 25%; 12,5%; dan 6,25% yang dibuat berbagai perbandingan yaitu 1:1, 1:2, 1:3, 2:1 dan 3:1. Penelitian ini menggunakan cawan petri yang berisi media MHA. Pertama bakteri diambil dari media BHI dengan menggunakan kapas lidi steril sebanyak satu kali kemudian dioleskan pada cawan petri yang berisi media MHA tersebut dan tunggu sampai bakteri berdifusi pada media.

Suspensi bakteri yang sudah setara dengan standar Mc Farland 0,5 dioleskan dengan rata pada cawan petri yang berisi media MHA, kemudian pada setiap cakram yang berukuran 6 mm ditetesi menggunakan mikropipet dengan larutan kombinasi minyak atsiri batang sereh wangi dan daun jeruk purut. Kombinasi yang pertama berisi kombinasi 1:1, yang kedua berisi kombinasi 1:2,

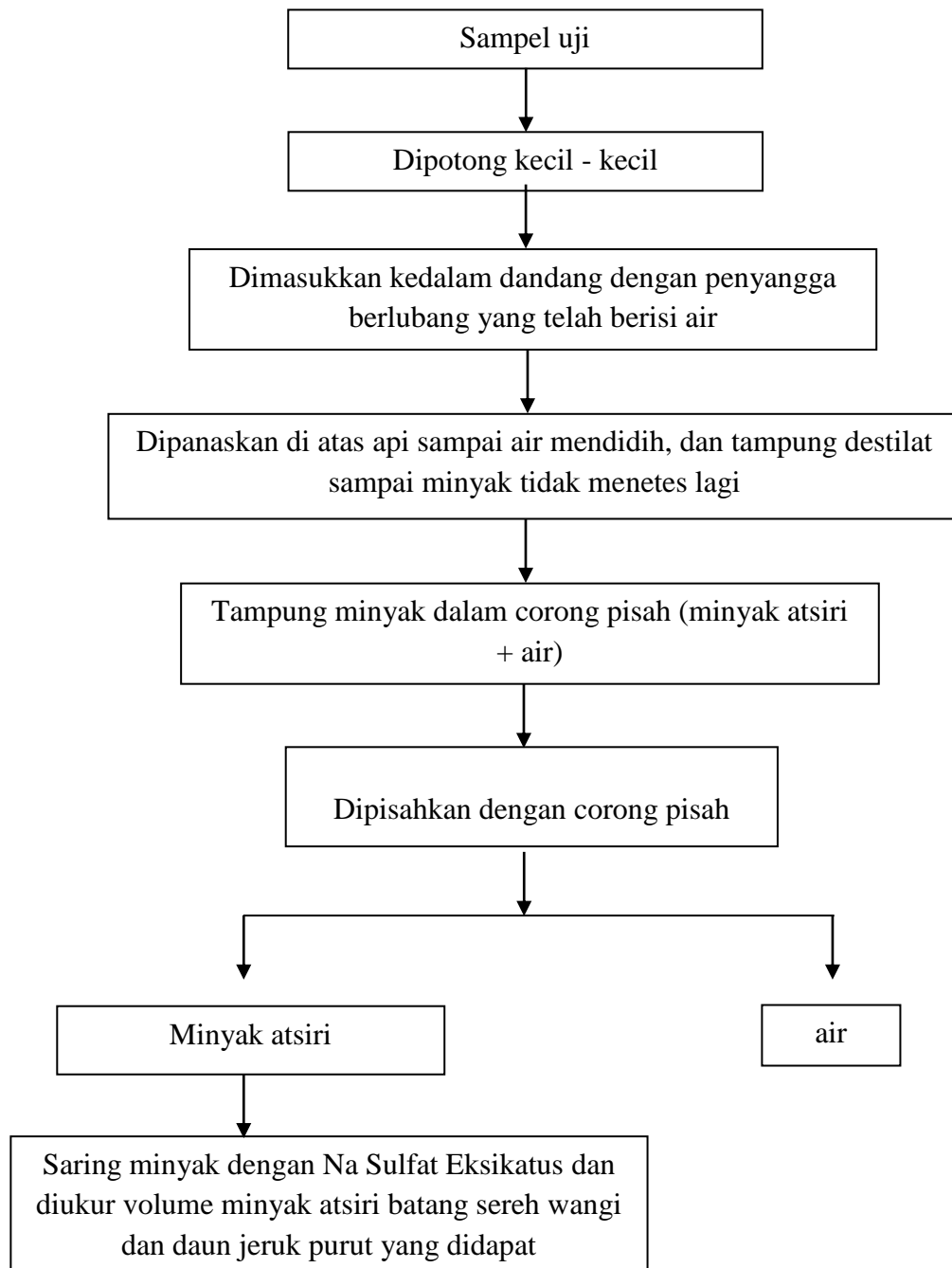


yang ketiga berisi kombinasi 1:3, yang keempat berisi kombinasi 2:1, yang kelima berisi kombinasi 3:1. Kontrol positif menggunakan antibiotik amoksisilin. Setelah itu cakram diletakkan atau ditempelkan pada media MHA dengan menggunakan pinset, cawan petri diinkubasi di dalam inkubator pada suhu 37<sup>0</sup>C. Inkubasi dilakukan selama 24 jam, setelah itu diukur zona hambat yang terbentuk. Pengujian tiap kombinasi minyak atsiri batang sereh wangi dan daun jeruk purut dilakukan sebanyak 5 kali replikasi.

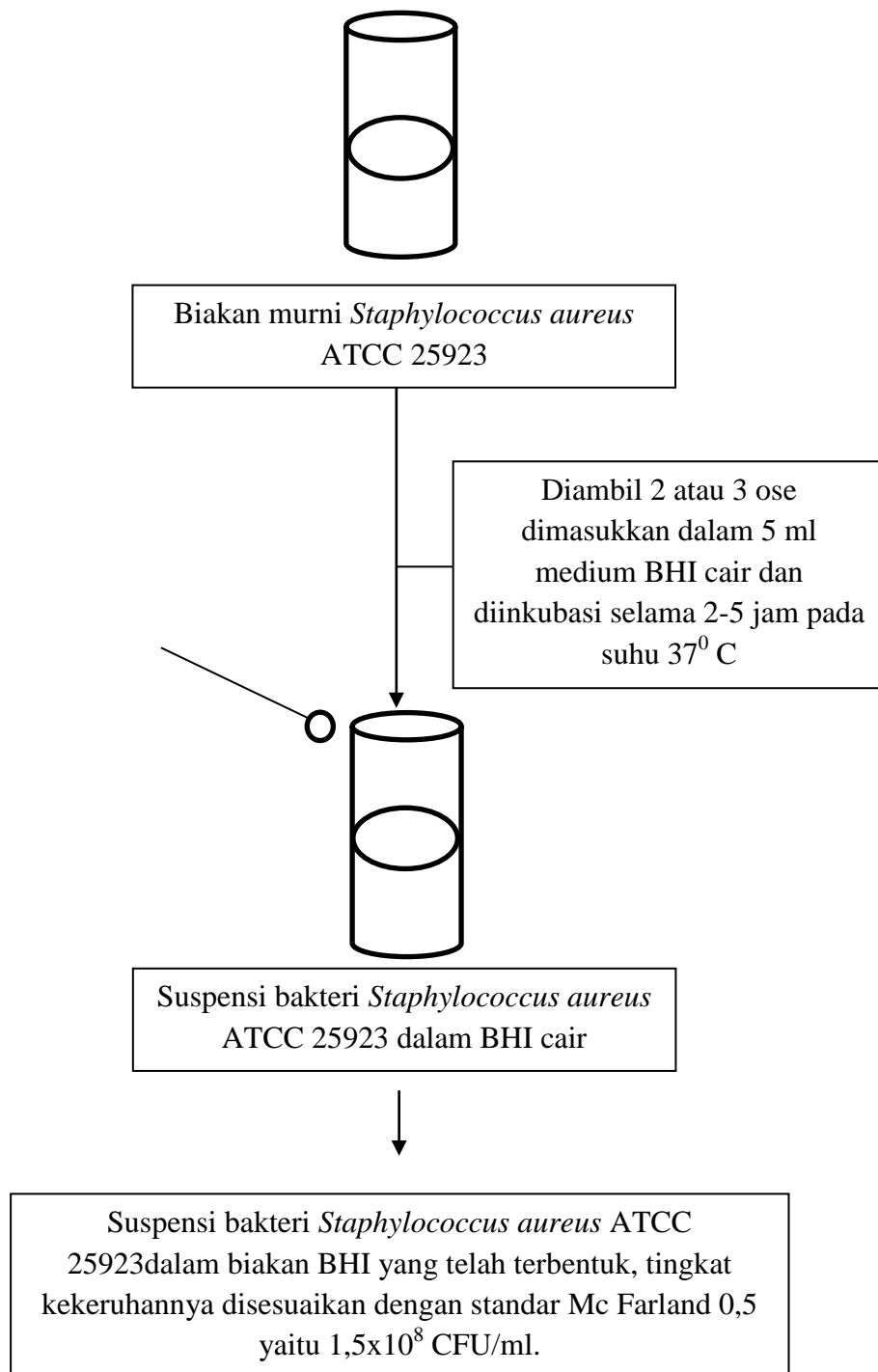
Pengukuran zona hambat di sekitar cakram dilakukan menggunakan penggaris dengan ketelitian 1 mm. Hasil dari pengukuran tersebut dijumlahkan dan dibagi dengan banyaknya pengukuran untuk mendapatkan besarnya zona hambat yang terbentuk.

#### **E. Analisis Hasil**

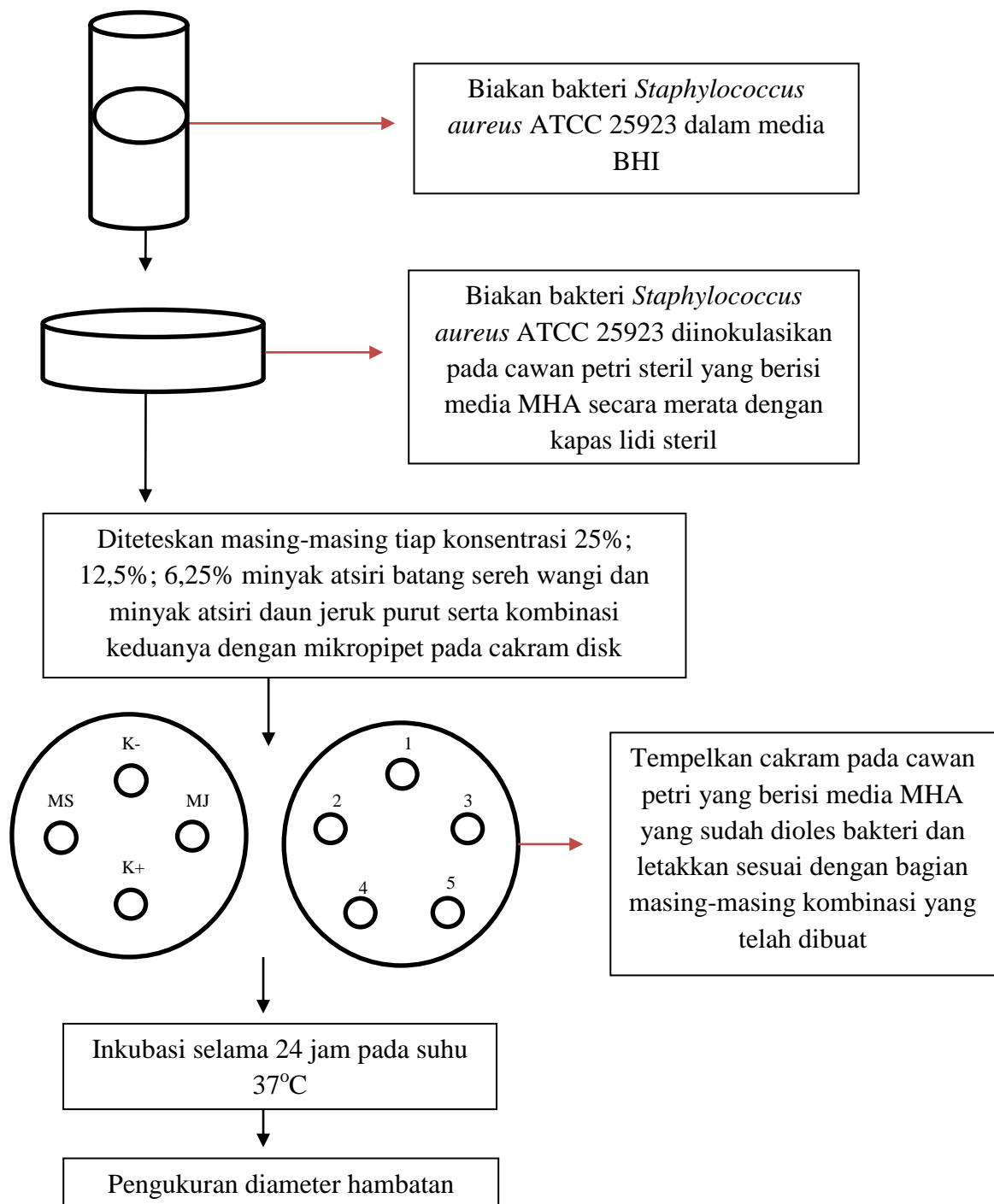
Data hasil penelitian diperoleh dengan mengukur daya sebar dilihat dari adanya daerah hambatan pertumbuhan bakteri uji yang ditunjukkan dengan adanya zona jernih disekeliling cakram yang tidak ditumbuhi bakteri, kemudian diukur diameter hambatan pertumbuhannya dari masing-masing lingkaran. Data yang diperoleh diambil dari hasil minyak atsiri salah satu kombinasi (1:1; 1:2; 1:3; 2:1; 3:1) dari batang sereh wangi dan daun jeruk purut, dari hasil 5 replikasi pengujian terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang dianalisa dengan menggunakan *Shapiro-Wilk*, jika terdistribusi secara normal kemudian dilanjutkan dengan uji kesamaan varian dilakukan dengan uji test homogeneity of variances pada kolom *Levene statistic*, kemudian dilanjutkan dengan melakukan uji *analysis of varian* (ANOVA) dan hasil analisis ANOVA dilakukan menggunakan *Post Hoc Test*.



**Gambar 6. Skema destilasi minyak atsiri batang sereh wangi dan daun jeruk purut**



Gambar 7. Skema pembuatan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



**Keterangan:**

(MS) Sampel minyak atsiri batang sereh wangi, (MJ) Sampel minyak atsiri daun jeruk purut, (1) Kombinasi minyak atsiri sereh wangi dan daun jeruk purut (1:1), (2) Kombinasi minyak atsiri sereh wangi dan daun jeruk purut (1:2), (3) Kombinasi minyak atsiri sereh wangi dan daun jeruk purut (1:3), (4) Kombinasi minyak atsiri sereh wangi dan daun jeruk purut (2:1), (5) Kombinasi minyak atsiri sereh wangi dan daun jeruk purut (3:1), (K+) Kontrol positif antibiotik amoksisilin, (K-) Kontrol negatif aseton.

**Gambar 8. Skema pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi**

## **BAB IV**

### **HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN**

#### **A. Hasil Penelitian**

##### **1. Determinasi tanaman**

Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret Surakarta. Determinasi tanaman dilakukan bertujuan untuk menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan, menghindari kemungkinan tercampurnya bahan dengan tanaman lain, menetapkan kebenaran sampel berdasarkan ciri-ciri mikroskopis dan makroskopis serta mencocokkan ciri-ciri morfologis yang ada pada tanaman yang diteliti. Berdasarkan hasil determinasi bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman batang sereh wangi (*Cymbopogon nardus* L.) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.). Hasil determinasi tanaman dapat dilihat pada Lampiran 1 dan 2.

##### **2. Pengambilan bahan**

Tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah batang sereh wangi (*Cymbopogon nardus* L.) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) yang diperoleh dari daerah Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah. 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 batang sereh wangi dan daun jeruk purut menggunakan metode destilasi uap dan air. Hasil destilasi dalam penelitian ini didapat rendemen minyak atsiri, rendemen dalam penelitian ini adalah jumlah minyak atsiri yang didapatkan dalam satu kali proses destilasi tiap tanaman. Rendemen minyak atsiri yang dihasilkan pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 2 dan perhitungan % rendemen minyak atsiri dapat dilihat pada Lampiran 12.

**Tabel 2. Kadar minyak atsiri batang sereh wangi dan daun jeruk purut**

Sampel tanaman	Bobot sampel (gram)	Volume minyak atsiri (ml)	Rendemen (%)
Batang sereh wangi	4000	8,5	0,21
Daun jeruk purut	5000	35	0,7

Rendemen minyak atsiri batang sereh wangi menurut pustaka sebesar 0,5% (Sastrohamidjojo 2004). Rendemen minyak atsiri daun jeruk purut menurut pustaka sebesar 0,618% (Khasanah 2015). Minyak atsiri batang sereh wangi dalam penelitian menghasilkan rendemen yang lebih kecil dari pustaka, sedangkan minyak atsiri daun jeruk purut menghasilkan rendemen sedikit lebih besar dari pustaka. Perbedaan hasil rendemen yang diperoleh saat penelitian dengan pustakanya kemungkinan disebabkan perbedaan daerah atau perbedaan musim saat pengambilan sampel dan perlakuan pendahuluan terhadap tanaman sebelum proses destilasi.

#### 4. Pengamatan organoleptik minyak atsiri

Hasil pengamatan organoleptik diamati dengan menggunakan panca indera meliputi mata, hidung dan lidah. Hasil pengamatan organoleptik minyak atsiri batang sereh wangi dan daun jeruk purut dapat dilihat pada Tabel 3 dan 4.

**Tabel 3. Hasil pengamatan organoleptik minyak atsiri batang sereh wangi**

No	Pemeriksaan	Hasil	Pustaka
1.	Bentuk	Cairan	Cairan (Depkes 1979)
2.	Warna	Kuning muda	Pucat sampai kuning tua (Depkes 1979)
3.	Aroma	Khas	Aroma khas (Depkes 1979)
4.	Rasa	Getir	Getir (Depkes 2001)

**Tabel 4. Hasil pengamatan organoleptik minyak atsiri daun jeruk purut**

No	Pemeriksaan	Hasil	Pustaka
1.	Bentuk	Cairan	Cairan (Sait dan Lubis 1991)
2.	Warna	Kuning muda	Kuning muda (Sait dan Lubis 1991)
3.	Aroma	Khas jeruk purut	Khas jeruk purut (Sait dan Lubis 1991)
4.	Rasa	Khas jeruk purut	Khas jeruk purut namun lebih kuat dan segar (Sait dan Lubis 1991)

Warna minyak atsiri hasil destilasi masing-masing sampel diambil pada volume yang sama dan ditempatkan dalam sebuah tempat kaca yang bersih dan jernih, kemudian diamati dan dibandingkan dengan pustaka dari aspek bentuk,

warna, aroma dan rasa. Hasil pengamatan organoleptik minyak atsiri batang sereh wangi dan daun jeruk purut sudah sesuai dengan pustaka.

## 5. Identifikasi minyak atsiri

Minyak atsiri batang sereh wangi dan daun jeruk purut diidentifikasi dengan meneteskan minyak atsiri pada permukaan air dan meneteskan minyak atsiri pada kertas saring. Hasil identifikasi minyak atsiri batang sereh wangi dan daun jeruk purut dapat dilihat pada Tabel 5 dan 6 dan hasil gambar dapat dilihat pada Lampiran 8.

**Tabel 5. Identifikasi minyak atsiri batang sereh wangi**

Pemeriksaan	Hasil	Pustaka
1 tetes minyak atsiri diteteskan pada permukaan air	Minyak atsiri menyebar dan permukaan air tidak keruh	Minyak atsiri akan menyebar dan permukaan air tidak keruh (Gunawan dan Mulyani 2004).
1 tetes minyak atsiri diteteskan pada kertas saring	Minyak atsiri menguap dan tidak meninggalkan noda	Minyak akan menguap sempurna tanpa meninggalkan noda (Gunawan dan Mulyani 2004).

**Tabel 6. Identifikasi minyak atsiri daun jeruk purut**

Pemeriksaan	Hasil	Pustaka
1 tetes minyak atsiri diteteskan pada permukaan air	Minyak atsiri menyebar dan permukaan air tidak keruh	Minyak atsiri akan menyebar dan permukaan air tidak keruh (Gunawan dan Mulyani 2004).
1 tetes minyak atsiri diteteskan pada kertas saring	Minyak atsiri menguap dan tidak meninggalkan noda	Minyak akan menguap sempurna tanpa meninggalkan noda (Gunawan dan Mulyani 2004).

Hasil identifikasi minyak atsiri batang sereh wangi dan daun jeruk purut menunjukkan hasil penelitian sesuai dengan pustaka, apabila 1 tetes minyak atsiri diteteskan pada permukaan air maka minyak akan terlihat menyebar dan permukaan air tidak keruh, apabila diteteskan pada kertas saring, minyak tidak meninggalkan noda.

## 6. Penetapan bobot jenis minyak atsiri

Hasil penetapan bobot jenis minyak atsiri dapat dilihat pada Tabel 7 dan Tabel 8 dan hasil perhitungan bobot jenis dapat dilihat pada Lampiran 13.

**Tabel 7. Hasil penetapan bobot jenis minyak atsiri batang sereh wangi**

Percobaan	Bobot jenis minyak atsiri	Pustaka
I	0,897	Bobot jenis minyak atsiri (20 <sup>0</sup> C) 0,880 – 0,895 (Depkes 1979)
II	0,904	
III	0,883	
Rata-rata	0,895	

**Tabel 8. Hasil penetapan bobot jenis minyak atsiri daun jeruk purut**

Percobaan	Bobot jenis minyak atsiri	Pustaka
I	0,856	Bobot jenis minyak atsiri (31 <sup>0</sup> C) 0,856 – 0,864 (Khasanah 2015)
II	0,867	
III	0,844	
Rata-rata	0,856	

Bobot jenis minyak atsiri merupakan perbandingan bobot jenis minyak atsiri terhadap bobot jenis air pada suhu dan volume yang sama. Besarnya berat jenis suatu minyak bisa dipengaruhi oleh jenis dan jumlah komponen kimia dalam minyak, semakin banyak komponen kimia dalam minyak maka semakin tinggi berat jenisnya (Wiyono *et al.* 2000). Hasil penetapan bobot jenis minyak atsiri batang sereh wangi dan daun jeruk purut sudah sesuai pustaka.

## 7. Penetapan indeks bias minyak atsiri

Hasil penetapan indeks bias dapat dilihat pada Tabel 9 dan hasil perhitungan indeks bias dapat dilihat pada Lampiran 14.

**Tabel 9. Hasil penetapan indeks bias minyak atsiri**

Minyak atsiri	Hasil indeks bias (31 <sup>0</sup> C)	Pustaka
Batang sereh wangi	1,490	Indeks bias (20 <sup>0</sup> C) 1,468 – 1,473 (Depkes 1979) Indeks bias (31 <sup>0</sup> C) 1,448 – 1,460 (Khasanah 2015)
Daun jeruk purut	1,455	

Penetapan indeks bias berguna untuk identifikasi kemurnian. Semakin rendah nilai indeks bias suatu minyak atsiri maka tingkat kemurniannya juga semakin rendah. Alat yang digunakan dalam penetapan indeks bias yaitu refraktometer. Hasil yang diperoleh dari penetapan indeks bias minyak atsiri batang sereh wangi yaitu sebesar 1,490. Hasil menunjukkan indeks bias yang diteliti tidak sesuai dengan pustaka, kemungkinan dikarenakan perbedaan kerapatan suatu medium atau tekanan udara. Indeks bias minyak atsiri daun jeruk purut yaitu sebesar 1,455. Hasil menunjukkan indeks bias yang diteliti sudah



sesuai pustaka yaitu berada pada kisaran 1,448 – 1,460. Komponen penyusun minyak atsiri dapat mempengaruhi nilai indeks biasnya. Semakin banyak komponen berantai panjang seperti sesquiterpen atau komponen bergugus oksigen tersuling, maka kerapatan medium minyak atsiri bertambah sehingga cahaya yang datang lebih sukar untuk dibiaskan. Hal tersebut dapat menyebabkan indeks bias minyak lebih besar (Wiyono *et al.* 2000).

## 8. Penetapan kelarutan dalam etanol

Kelarutan minyak atsiri batang serih wangi dan daun jeruk purut dalam etanol dilakukan dengan cara memipet minyak sebanyak 1 ml ke dalam gelas ukur 10 ml, ditambahkan etanol 5 ml dengan cara tetes demi tetes atau secara bertahap. Hasil penelitian adalah minyak atsiri larut dan diperoleh larutan yang bening. Gambar dapat dilihat pada Lampiran 8.

## 9. Analisis komponen senyawa penyusun minyak atsiri dengan Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)

Minyak atsiri batang serih wangi dan daun jeruk purut dianalisis menggunakan GC-MS untuk memisahkan dan mengetahui komponen-komponen dalam minyak atsiri tersebut. Hasil analisis komponen minyak atsiri dengan GC-MS dapat dilihat pada tabel 10 dan 11 serta lampiran 15.

**Tabel 10. Hasil analisis komponen minyak atsiri batang serih wangi**

Peak	R. Time (min)	% Area	BM	Senyawa terkonfirmasi library*	% kemiripan dengan library*
1	5.066	1.31	126	6-methyl-5-hepten-2-one	98
2	5.132	4.72	136	Beta-myrcene	96
3	5.783	1.04	136	Cis-ocimene	94
4	5.946	0.33	136	Beta-ocimene Y	97
5	6.748	1.24	154	Linalool	97
6	7.406	0.34	138	1,5-Heptadiene, 2-ethyl-6-methyl	90
7	7.526	0.31	154	Citronella	97
8	7.693	1.20	154	Trans-caran, 4,5-EPOXI-	87
9	7.962	1.65	152	Trans-caran, 4,5-EPOXI- (2)	89
10	8.029	0.31	154	3-Cyclohexen-1-ol, 4-Methyl-1-(1-methylethyl)-(CAS) 4-Terpineol	94
11	8.938	35.11	152	Z-citral	96
12	9.374	47.57	152	Citral	97
13	10.320	0.34	128	Cyclohexanol, 2,2-dimethyl-(CAS)	81
14	10.825	0.66	154	D-Fenchyl alcohol	81
15	14.353	1.56	222	Junipercamphor	89
16	14.767	0.42	222	10-Alpha-Cadinol	85
17	14.849	0.29	222	Junipercamphor	90
18	15.696	1.60	218	Zerumbone	93

\* Library : WILEY7.LIB

Tabel 11. Hasil analisis komponen minyak atsiri daun jeruk purut

Peak	R. Time (min)	% Area	BM	Senyawa terkonfirmasi <i>library</i> *	% kemiripan dengan <i>library</i> *
1	4.971	2.63	136	Sabinene	96
2	5.054	0.27	136	1-Beta-pinene	96
3	5.128	0.91	136	1,6-octadiene	96
4	5.944	0.48	136	1,3,6-Octatriene, 3,7-dimethyl- (E)- (CAS), Beta ocimene Y	97
5	6.379	0.85	170	Linalool oxide (2)	97
6	6.614	0.47	170	Linalool oxide cis	92
7	6.749	4.67	154	Linalool	97
8	7.602	81.26	154	Citronella	96
9	8.038	0.44	154	3-cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-(CAS) 4-Terpineol	96
10	8.591	0.36	175	1-Octanol, 2-Nitro	82
11	8.891	0.27	152	Z-citral	96
12	9.025	0.25	156	Beta-citronellol	86
13	9.120	0.68	170	Linalool oxide (2)	84
14	9.311	0.23	152	Citral	96
15	10.423	3.02	198	Citronellyl acetate	96
16	10.854	1.03	196	Geranyl acetate	97
17	11.638	0.90	204	Trans (BETA)- caryophyllene	97
18	12.939	0.22	204	Delta-cadinene	95
19	13.388	0.75	222	Nerolidol	95
20	17.669	0.29	214	3-Acetoxy-p-menthan-1-ol	79

\* *Library* : WILEY7.LIB

Hasil analisis komponen minyak atsiri batang serih wangi terdapat 18 komponen senyawa dan minyak atsiri daun jeruk purut terdapat 20 komponen senyawa. Komponen-komponen senyawa selengkapnya dapat dilihat pada Lampiran 15. Berdasarkan pustaka komponen dalam minyak atsiri batang serih wangi yaitu  $\beta$ -myrcene,  $\beta$ -linalool,  $\beta$ -citral, citral, gyromitrin, geranyl acetate, 2-heptanone, D1-limonene,  $\beta$ -ocimene Y, *Trans*-ocimene, geranyl propanoate, 2,5-octadine, neral, ethylbutyl acetylene, guaiol, cyclopentane acetal dehyde, eramin, methyl crotonate, P-menthane-4a, citronellene, caryophyllene,  $\alpha$ -farnesene, octahydro-1-benzofuran, 2-tridecanone, caryophyllene oxide, selina-6-en-4-ol,  $\beta$ -selinene, mayuron, 2,4-octadienal,  $\beta$ -bisabolene, farnesol,  $\beta$ -farnesene, Z-citral, oxirane, dihydro-carveol, farnesal, sesquicyclogeraniol, neric acid, geranial, farnesyl acetate, *Trans*-franesol, citral-b, lavandulal, anisaldoxime, farnesol 2, 2-methyl-5-cyanohexene. Citral memiliki kandungan terbesar yaitu sebesar 48,28% (Rahayu 2016). Pada penelitian ini terdapat beberapa komponen senyawa yang tidak ada dalam pustaka yaitu 6-methyl-5-hepten-2-one; 1,5-heptadiene; *Trans*-

caran; 3-cyclohexen; cyclohexanol; D-fenchyl alcohol; juniperchampor; 10- $\alpha$ -cadinol; zerumbone.

Berdasarkan pustaka komponen dalam minyak atsiri daun jeruk purut mengandung beberapa komponen yaitu 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, caryophilene, nerolidol Z dan E. Citronellal memiliki kandungan terbesar yaitu sebesar 64,15% (Khasanah 2015). Pada penelitian beberapa komponen senyawa tidak sesuai dengan pustaka yaitu 1- $\beta$ -pinene; 1,3,6-octatriene; linalool oxide (2); linalool oxide *cis*; 3-cyclohexene-1-ol; 1-octanol; Z-citral; citral; citronellyl acetate; geranyl acetate; delta-cadinene; 3-acetoxy-p-menthan-1-ol.

Komponen senyawa hasil analisis dengan GC-MS pada minyak atsiri batang sereh wangi menunjukkan senyawa citral memiliki persen area paling besar yaitu 47,57% dan minyak atsiri daun jeruk purut menunjukkan senyawa citronella memiliki persen area paling besar yaitu 81,26%. Dari hasil komponen senyawa menunjukkan kemiripan dengan pustaka yaitu citral pada minyak atsiri batang sereh wangi dan citronella pada minyak atsiri daun jeruk purut merupakan komponen terbesar dan berpotensi mempunyai aktivitas antibakteri (Rahayu 2016; Srisukh *et al.* 2012).

## 10. Sterilisasi

Media yang digunakan dalam penelitian ini yaitu media *Vogel Johnson Agar* (VJA), *Mueller Hinton Agar* (MHA) dan *Brain Heart Infusion* (BHI) disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121<sup>0</sup>C selama 15 menit (2 atm). Alat-alat dari gelas yaitu botol vial, cawan petri, pipet volume dan tabung reaksi disterilkan dengan menggunakan oven pada suhu 170-180<sup>0</sup>C selama 2 jam dan alat-alat seperti jarum ose disterilkan dengan pemanasan api langsung.

## 11. Identifikasi bakteri dengan medium selektif

Identifikasi bakteri dengan medium selektif menyatakan hasil positif dalam penelitian ini menunjukkan warna koloni hitam dan warna medium disekitar koloni kuning, karena *Staphylococcus aureus* mereduksi kalium tellurit

sehingga membentuk koloni warna hitam. Indikator fenol red dalam media VJA apabila dalam suasana asam berwarna kuning karena *Staphylococcus aureus* memfermentasi manitol menjadi suasana asam (Jawetz *et al.* 2007). Hasil identifikasi bakteri dengan medium selektif dapat dilihat pada Lampiran 10.

## **12. Identifikasi mikroskopis dengan pewarnaan Gram**

Identifikasi mikroskopis bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan pewarnaan Gram dilakukan untuk memastikan bahwa bakteri yang digunakan adalah bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan melihat warna dan bentuk selnya. Hasil positif dalam penelitian ini menunjukkan hasil berwarna ungu, berbentuk bulat dan bergerombol membentuk beberapa kelompok sendiri seperti buah anggur saat diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran (100x). Warna ungu terbentuk disebabkan bakteri Gram positif (*Staphylococcus aureus*) memiliki lapisan peptidoglikan yang lebih tebal dan kaku dari pada bakteri Gram negatif, sehingga *Staphylococcus aureus* lebih kuat mempertahankan zat kristal violet. Pemberian alkohol pada saat pewarnaan Gram menyebabkan tidak terekstraksinya lipid sehingga memperkecil permeabilitas dinding sel pada Gram positif. Dinding sel akan terdehidrasi saat pemberian alkohol, pori-pori mengkerut, daya rembes dinding sel dan membran menurun sehingga pewarnaan safranin tidak dapat masuk sehingga sel bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 akan berwarna ungu (Pelczar dan Chan 2000). Gambar dapat dilihat pada Lampiran 10.

## **13. Identifikasi biokimia *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

Identifikasi secara biokimia ada dua yaitu uji katalase dan uji koagulase. Uji katalase dinyatakan positif yaitu terbentuk gelembung-gelembung udara, hal ini disebabkan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 memiliki enzim katalase. Enzim katalase tersebut akan menguraikan  $H_2O_2$  menjadi  $2H_2O$  dan  $O_2$ .

Uji koagulase dinyatakan positif kuat jika tabung tes dibalik, gumpalan plasma tidak terlepas dan tetap melekat pada dinding tabung. Uji ini menunjukkan sifat virulensi bakteri yaitu dapat melindungi dirinya dari fagositosis dan menghalangi kerja sistem imunitas inang. *Staphylococcus aureus* enzim koagulase yang berfungsi untuk menggumpalkan plasma karena perubahan fibrinogen

menjadi fibrin. Hasil identifikasi biokimia uji katalase dan uji koagulase dapat dilihat pada Tabel 12.

**Tabel 12. Identifikasi biokimia *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

Jenis uji	Hasil	Pustaka
Uji katalase	Terbentuk gelembung-gelembung udara	Terbentuk gelembung-gelembung udara katalase (Jawetz <i>et al.</i> 2007).
Uji koagulase	Gumpalan plasma tidak terlepas dan tetap melekat pada dinding tabung	Jika tabung tes dibalik, gumpalan plasma tidak terlepas dan tetap melekat pada dinding tabung (BSN 2011).

#### 14. Hasil pengujian aktivitas antibakteri minyak atsiri batang sereh wangi dan daun jeruk purut secara difusi

Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Metode yang digunakan adalah difusi untuk mendapatkan diameter daya hambat. Sampel uji yang digunakan minyak atsiri batang sereh wangi dan daun jeruk purut, kombinasi keduanya 1:1, 1:2, 1:3, 2:1 dan 3:1 dengan 3 konsentrasi yaitu 25%; 12,5% dan 6,25%, kontrol negatif dan kontrol positif. Diagram hasil diameter daya hambat dari uji difusi minyak atsiri batang sereh wangi dan daun jeruk purut tunggal dan kombinasinya dapat dilihat pada Gambar 9 dan perhitungan diameter daya hambat dapat dilihat pada Tabel 13, Tabel 14, Tabel 15 dan Lampiran 16.

**Tabel 13. Diameter daya hambat sampel uji 25%**

Konsentrasi 25%	Diameter daerah hambatan (mm)					Rata-rata ± SD
	I	II	III	IV	V	
Amoksisilin (+)*	30,6	34,6	34,0	33,0	32,6	32,96 ± 1,54
Aseton (-)	0	0	0	0	0	0
MS	23,3	21,0	18,6	19,3	19,6	20,36 ± 1,86
MJ	13,0	12,6	14,6	13,3	13,6	13,42 ± 0,76
1:1	20,6	19,6	20,3	20,6	19,3	20,08 ± 0,60
1:2	19,0	18,3	18,3	19,3	19,3	18,84 ± 0,51
1:3	18,6	20,3	20,0	18,6	18,3	19,16 ± 0,92
2:1	22,6	21,0	21,6	20,3	21,3	21,36 ± 0,84
3:1	20,6	20,6	21,3	20,3	21,0	20,76 ± 0,39

\*Amoksisilin yang digunakan konsentrasi 2,5%

Tabel 14. Diameter daya hambat sampel uji 12,5%

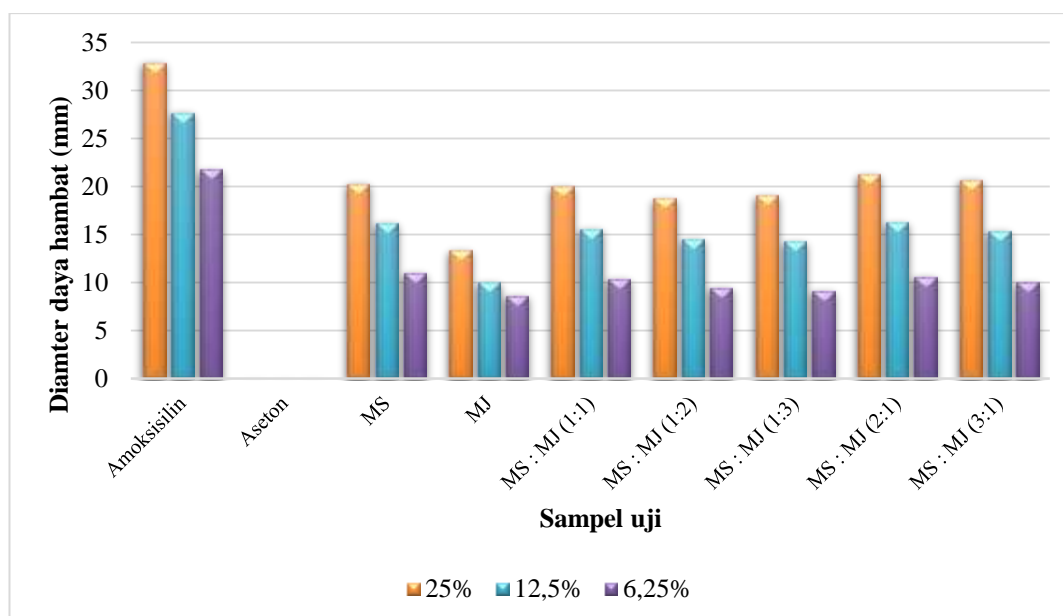
Konsentrasi 12,5%	Diameter daerah hambatan (mm)					Rata-rata ± SD
	I	II	III	IV	V	
Amoksisilin (+)*	27,0	29,6	26,3	28,6	27,3	27,76 ± 1,32
Aseton (-)	0	0	0	0	0	0
MS	18,0	15,6	15,6	16,6	15,6	16,28 ± 1,05
MJ	9,6	10,0	8,6	11,3	11,0	10,10 ± 1,09
1:1	16,3	15,0	15,6	16,0	15,3	15,64 ± 0,52
1:2	15,6	13,6	14,3	15,0	14,6	14,62 ± 0,75
1:3	14,0	14,3	14,6	14,3	14,6	14,36 ± 0,25
2:1	17,3	17,0	15,3	16,6	15,6	16,36 ± 0,87
3:1	15,6	16,3	14,6	15,3	15,6	15,48 ± 0,61

\*Amoksisilin yang digunakan konsentrasi 1,25%

Tabel 15. Diameter daya hambat sampel uji 6,25%

Konsentrasi 6,25%	Diameter daerah hambatan (mm)					Rata-rata ± SD
	I	II	III	IV	V	
Amoksisilin (+)*	20,6	22,0	22,3	22,0	22,3	21,84 ± 0,71
Aseton (-)	0	0	0	0	0	0
MS	10,3	11,3	12,0	10,6	11,0	11,04 ± 0,66
MJ	9,3	8,6	9,0	8,0	8,6	8,70 ± 0,49
1:1	10,0	11,3	10,3	11,0	9,6	10,44 ± 0,70
1:2	9,3	10,6	10,3	9,3	8,3	9,56 ± 0,92
1:3	8,3	11,0	9,0	9,6	8,0	9,18 ± 1,19
2:1	11,3	11,6	11	10,6	9	10,70 ± 1,02
3:1	10	11,3	10,6	10,3	8,3	10,10 ± 1,12

\*Amoksisilin yang digunakan konsentrasi 0,625%



Keterangan :

MS = Minyak sereh wangi  
MJ = Minyak jeruk purut

Gambar 9. Diagram hasil uji difusi minyak atsiri

Berdasarkan hasil data pengujian yang dilakukan pada sampel uji minyak atsiri batang sereh wangi tunggal dan daun jeruk purut tunggal, kombinasi keduanya dengan perbandingan 1:1, 1:2, 1:3, 2:1 dan 3:1 dengan 3 konsentrasi yaitu 25%; 12,5% dan 6,25%, aseton sebagai kontrol negatif dan amoksisilin sebagai kontrol positif. Berdasarkan data yang diperoleh kemudian dilakukan analisis statistik, untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan daya hambat yang signifikan dari sampel uji kombinasi minyak atsiri 25%; 12,5% dan 6,25%. Analisis pertama dilakukan uji normalitas yaitu dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk*. Analisis selanjutnya dilakukan uji homogenitas dengan *Levene's Test of Equality of Error Variances* dan dilanjutkan pada uji ANOVA dua arah dengan menggunakan *Post Hoc Test*. Hasil ditunjukkan pada tabel homogeneous subsets sampel uji memiliki 5 kolom subset. Sampel uji minyak atsiri batang sereh wangi tunggal dan daun jeruk purut tunggal serta kombinasi keduanya pada perbandingan 1:1, 1:2, 1:3, 2:1, 3:1 menunjukkan mean sampel uji memiliki perbedaan signifikan dengan amoksisilin artinya dalam penelitian ini sampel uji minyak atsiri batang sereh wangi tunggal, minyak atsiri daun jeruk purut tunggal dan kombinasi keduanya pada perbandingan 1:1, 1:2, 1:3, 2:1 dan 3:1 memiliki aktivitas antibakteri tidak lebih baik dari antibiotik amoksisilin. Sampel uji kombinasi minyak atsiri batang sereh wangi tunggal dan daun jeruk purut tunggal pada perbandingan 1:1, 3:1, 2:1 dan minyak atsiri sereh tunggal berada dalam kolom subset 4, hal ini menunjukkan keempat sampel uji tersebut tidak berbeda secara signifikan. Nilai mean tertinggi pada kolom subset 4 yaitu kombinasi 2:1 sebesar 16,140. Tabel homogeneous subsets konsentrasi 25%; 12,5% dan 6,25% nilai dari ketiga variabel konsentrasi berada pada kolom subset yang berbeda, hal ini menunjukkan mean konsentrasi 25%; 12,5% dan 6,25% memiliki perbedaan yang signifikan.

Sampel uji minyak atsiri batang sereh wangi tunggal, daun jeruk purut tunggal serta kombinasi keduanya dengan perbandingan 1:1, 1:2, 1:3, 2:1 dan 3:1 menunjukkan adanya zona hambat artinya sampel tersebut memiliki aktivitas antibakteri. Sampel uji minyak atsiri kombinasi yang memiliki diameter daya hambat paling besar adalah pada perbandingan 2:1 dengan konsentrasi 25% yaitu

sebesar  $21,36 \pm 0,84$ . Uji difusi pada minyak atsiri batang sereh wangi tunggal dan minyak atsiri daun jeruk purut tunggal menunjukkan bahwa minyak atsiri batang sereh wangi tunggal memiliki aktivitas lebih besar terhadap *Staphylococcus aureus* daripada minyak atsiri daun jeruk purut tunggal, sehingga kombinasi dengan perbandingan 2:1 memiliki aktivitas yang paling besar karena pada kombinasi tersebut jumlah minyak atsiri batang sereh wangi lebih banyak dari minyak daun jeruk purut tunggal. Antibiotik amoksisilin dalam penelitian ini digunakan sebagai kontrol positif. Amoksisilin bekerja dengan menghambat pembentukan mukopeptida yang diperlukan untuk sintesis dinding sel mikroorganisme (Wardani 2008). Kombinasi minyak atsiri batang sereh wangi dan daun jeruk purut dengan perbandingan 2:1 pada konsentrasi 25% menunjukkan hasil diameter zona hambat lebih kecil dari amoksisilin, artinya aktivitas antibakteri kombinasi minyak atsiri dengan perbandingan 2:1 pada konsentrasi 25% tidak lebih baik dari antibiotik amoksisilin.

Berdasarkan hasil analisis kualitatif dan kuantitatif yaitu menggunakan GC-MS didapatkan hasil komponen dalam minyak atsiri batang sereh wangi dan daun jeruk purut. Komponen minyak atsiri batang sereh wangi yang diduga berkhasiat sebagai antibakteri adalah citral (47,57%), Z-citral (35,11%),  $\beta$ -myrcene (4,72%) sedangkan komponen minyak atsiri daun jeruk purut adalah citronella (81,26%), linalool (4,67%), citronellyl acetate (3,02%), sabinene (2,63%). Komponen senyawa minyak atsiri tersebut dapat menghambat pertumbuhan atau mematikan bakteri dengan mengganggu proses terbentuknya membran atau dinding sel sehingga tidak terbentuk atau terbentuk tidak sempurna (Triphati *et al.* 2013).



## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka diperoleh kesimpulan sebagai berikut :

Pertama, kombinasi (1:1, 1:2, 1:3, 2:1, 3:1) minyak atsiri batang sereh wangi (*Cymbopogon nardus* L.) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) dengan konsentrasi 25%; 12,5% dan 6,25% memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kedua, pada uji antibakteri dengan metode difusi kombinasi minyak atsiri yang memiliki diameter daya hambat paling besar adalah kombinasi batang sereh wangi dan daun jeruk purut dengan perbandingan 2:1 pada konsentrasi 25% yaitu sebesar  $21,36 \pm 0,84$ .

#### **B. Saran**

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, disarankan pada peneliti selanjutnya untuk:

1. Perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri kombinasi minyak atsiri batang sereh wangi dan daun jeruk purut dengan metode dilusi.
2. Perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri kombinasi minyak atsiri batang sereh wangi dan daun jeruk purut menggunakan spesies bakteri Gram negatif.
3. Perlu dikembangkan formulasi sediaan topikal dari kombinasi minyak atsiri sereh wangi dan daun jeruk purut.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agusta A. 2000. *Minyak Atsiri Tumbuhan Tropika Indonesia*. Bandung: ITB.
- Agustrina G. 2011. *Potensi Propolis Lebah Madu Apis Mellifera Spp Sebagai Bahan Antibakteri*. Departemen Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- Amalia, K. D., 2013. Isolasi, Identifikasi dan Uji Sensitivitas *Staphylococcus aureus* Terhadap Amoxicillin dari Sampel Susu Kambing Peranakan Ettawa (PE) Penderita Mastitis di Wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta. *Jurnal Saint Veteriner*, 31: 138-150.
- Amalina N. 2008. Uji Sitotoksik ekstrak etanol 70% buah merica hitam (*piper nigrum* L.) terhadap sel Hela [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah.
- Ansel HC. 2006. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Edisi IV. Farida Ibrahim. Penerjemah; Jakarta: Universitas Indonesia Press. Terjemahan dari: *Introduction Forms Pharmaceutical Preparations*.
- Bonang G, Koeswardono ES. 2004. *Mikrobiologi Kedokteran untuk Laboratorium dan Klinik*. Jakarta: Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- BSN. 2001. *Sistem Manajemen Mutu – Persyaratan (SNI 19-9001-2001)*. Jakarta: Standar Nasional Indonesia.
- BSN. 2011. *Cara uji mikrobiologi – bagian 9: penentuan Staphylococcus aureus pada produk perikanan*. Jakarta: Standar Nasional Indonesia.
- Dalimartha S. 2006. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Jakarta : Puspa Swara.
- 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]. 2001. *Materia Medika Indonesia* Jilid 1. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Depkes RI]. 2003. *Pedoman Teknologi Pengolahan Cassiavera*. Jakarta: Departemen Pertanian.
- Ganiswara. 2009. *Farmakologi dan Terapan*. Edisi V (cetak ulang). Jakarta: Bagian Farmakologi. Fakultas Kedokteran. Universitas Indonesia.

- Goodman & Gilman. 2007. *Manual Farmakologi dan Terapi*. Jakarta: EGC.
- Gunawan D, Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi)*. Jilid 1. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Hadioetomo RS. 1993. *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek: Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Hadioetomo RS. 2005. *Mikrobiologi Terapan untuk Perawat*. Jakarta: EGC.
- Hamza I S, Sundus HA, Hussaine A. 2009. *Study the Antimicrobial Activity of Lemon Grass Leaf Extracts*. 2: 1
- Harminta RM. 2004. *Analisa Hayati*. Jakarta: Departemen Farmasi FMIPA Universitas Indonesia.
- Hartanti F. 2006. Uji Daya Antibakteri Salep Minyak Atsiri Daun Nilam (*Pogostemon cablin* Benth) Terhadap Punggung Kelinci yang Diinfeksi Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
- Intarina H. 2014. *Sehat Alami dengan Herbal 250 Tanaman Herbal Berkhasiat Obat+60 resep Menu Kesehatan: Pusat Studi Biofarmasetika, LPPM IPB dan Gagas Ulung*. Jakarta: Penerbit PT Gramedia Pustaka Utama Anggota Ikapi.
- Intekhab, J & Aslam, M. 2009. Isolation of Flavonoid from the Roots of *Citrus sinensis*. *Malaysian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 7(1): 1–8.
- Iskamto B. 2009. *Bakteriologi Kesehatan*. Surakarta: UNS Press.
- Jawetz E, Melnick. J.L Adelberg. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran: Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universtas Airlangga*. Surabaya: Penebar Swadaya.
- Jawetz E, Melnick. J.L Adelberg. E.A. 2007. *Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan, Staphylococcus aureus*. Bonang G, penerjemah. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran. Terjemahan dari: *Review of Medical Microbiology*. Hlm 571 – 573.
- Jawetz E, Melnick. J.L Adelberg. E.A. 2013. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi 25. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Jawetz E, Melnick. J.L Adelberg. E.A. 2013. *Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan*. Edisi XVI. Bonang G, penerjemah. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran.

- Jawetz Z, Melnick & Adelberg. 2002. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi XXII. Jakarta: Salemba Medika.
- Khasanah LU, Utami KR, Aji YM. 2015. Pengaruh Perlakuan Pendahuluan Terhadap Karakteristik Mutu Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC). Surakarta: Universitas Sebelas Maret Fakultas Pertanian.
- Koensoemardiyah S. 2010. *A to Z Minyak Atsiri untuk Industri Makanan, Kosmetik dan Aromaterapi*. Yogyakarta: Penerbit ANDI.
- Koswara, S. 2009. Menyuling dan Menepungkan Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut. *Indonesian Scientific Journal*. 2(2): 78-81.
- Lutony, T. L. dan Y. Rahmayati, 2002. *Produksi dan Perdagangan Minyak Atsiri*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Ma'mun & Sintha Suhirman. 2012. Karakteristik Minyak Atsiri Potensial, Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik, Bogor <http://balittro.litbang.deptan.go.id/ind/images/stories/edsus/vol20n02/5mamun.pdf> [7 sept 2016]
- Maryuni, A. 2008. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Antibakteri Minyak Atsiri Daun Zodia (*Evodia sp*) [Tesis]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Melki, Wike A, Kurniati. 2011. Uji antibakteri Ekstrak *Gracilaria sp* (Rumput Laut) Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Program Studi Ilmu Kelautan FMIPA Universitas Sriwijaya.
- Nuraini, N. 2011. *Aneka Manfaat Biji-Bijian*. Yogyakarta: Gava Media.
- Nwinyi *et al.* 2009. Antibacterial effects of extracts of *Ocimum gratissimum* and *Piper guineense* on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *African Journal of Food Science*. 3 (3) : 022-025.
- Pelczar MJ Jr, Chan ECS. 2000. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Hadioetomo RS, Imas T, Angka SL, penerjemah; Jakarta: UI Pr. Terjemahan dari: *Elements of Microbiology*.
- Pengov, A. & Ceru, S. 2012 Antimicrobial drug susceptibility of *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine and ovine mammary glands. *J. Dairys Sci*. 86: 3157-3163.
- Prakash *et al.* 2013. Studies on Bio Activity and Phytochemistry of Leaves of Common Trees. *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*. 2013; 4 (3): 476– 481.
- Pramono S., Katno. 2008. *Tingkat Manfaat dan Keamanan Tanaman Obat Tradisional*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada

- Pratiwi ST. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Penerbit Airlangga.
- Radji M. 2011. *Buku Ajar Mikrobiologi: Panduan Mahasiswa Farmasi & Kedokteran*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Rahayu NWN. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Minyak Atsiri Kulit Kayu Manis (*Cinnamomum burmanni*) dan Sereh (*Cymbopogon nardus* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus* [Skripsi]. Surakarta: Universitas Setia Budi.
- Rasooli I. 2007. Food Preservation-A Biopreservative Approach. *Food* 1:111-136.
- Rasyid, Roslaili., Suheimi, K., 2000. Prevalensi Infeksi Nasokomial Pada Pasien Pasca Sectio Sesaria Pada Bagian Kebidanan & Penyakit Kandungan Rspu Dr. M. Djamil Padang. *Majalah Kedokteran Andalas* No.2 Vol. 24
- Riska M. 2013. Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Sereh Wangi (*Cymbopogon nardus* L.) Terhadap Isolat Klinis *Staphylococcus aureus* secara In Vitro [Skripsi]. Banda Aceh: Fakultas Kedokteran Universitas Syiah Kuala Darussalam.
- Rizal. 2009. Pola Kuman dan Kepekaannya di Rumah Sakit Dr.Oen Solo Baru Kabupaten Sukoharjo. *CDK*.36(5) : 330-339.
- Sait S, Lubis E. 1991. *Potensi Minyak Atsiri Indonesia Sebagai Tanaman Obat*. BPTO. Bogor.
- Sastrohamidjojo, H. 2004. *Kimia Minyak Atsiri*. Yogyakarta: Penerbit Gadjah Mada University Press.
- Soedarto. 2015. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Sagung Seto.
- Srisukh *et al.* 2012. Antibacterial activity of essential oils from *Citrus hystrix* (makrut lime) against respiratory tract pathogens. *Science asia* 38: 212-217
- Ssegawa, P. 2007. *Effects of Herbicide on the Invasive grass, Cymbopogon nardus (Franch). Stapf (Tussocky Guienea grass) and Responses of Ntive Plants in Kikatsi Subcounty, Kiruhuura District, Western Uganda*. Laporan Penelitian. Kampala: Faculty of Botany Herbarium Makerere University.
- Stahl E. 2008. *Analisa Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopis*. Padmawinanto K, Sudiro L, penerjemah. Bandung: Penerbit ITB.
- Sukamto, M., Djazuli dan Suheryadi, D. 2011. Serai Wangi (*Cymbopogon nardus* L) sebagai penghasil minyak atsiri, tanaman konservasi dan pakan ternak. *Prosiding Seminar Nasional*. Bogor.

- Suprianto. 2008. Potensi Ekstrak Sereh Wangi (*Cymbopogon nardus* L.) Sebagai Anti *Streptococcus mutans* [Skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Suriawiria. 2005. *Mikrobiologi Dasar*. Jakarta: Paps Sinar Sinanti.
- 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.
- Tan, HT & Raharja, K. 2002. *Obat-Obat Penting: Khasiat Penggunaan dan Efek-Efek Sampingnya*, Edisi Kelima, Cetakan Kedua. Jakarta: PT. Alex Media Komputindo.
- The US Department of Agriculture. 2015. *USDA National Nutrient Database*. <http://ndb.nal.usda.gov/search/list.html>
- Tripathi, Priyanka, Ruby, and Shivangi, 2013. Essential Oil from Family *Zingiberaceae* for Antimicrobial Activity-A Review. *International Journal Pharmaceutical Biology Science*. Vol 4 (4): 149-162.
- Wardani AK. 2008. Uji aktivitas antibakteri fraksi residu ekstrak etanolik daun arbenan (*Duchesnea indica* (Andr. Facke.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* multiresisten antibiotik beserta profil kromatografi lapis tipis [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah.
- Werckenthin, C., Cardoso, M., Louismartel J. And Schwarz, S. 2009. Antimicrobial Resistance in *Staphylococci* from Animals with Particular Reference to Bovine *S.aureus*, Porcine *S. Hyicus* and Canine *S. Intermedius*. *Journal Vet Res*. 32: 341-362.
- Wirikanda SP. 2015. *Kitab Herbal Nusantara*. Jakarta: Penerbit Kata Hati.
- Wiyono B, Hartoyo dan Poedji Hastoeti. 2000. Sifat-sifat dasar minyak atsiri dan kemungkinan penerapan baku mutunya. *Buletin Penelitian Hasil Hutan* (2). Pusat penelitian Hasil Hutan. Bogor: hal 123-135.
- Yuliani R, Indrayudha P, Rahmi SS. 2011. Aktivitas Antibakteri Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.

*L*

*a*

*m*

*p*

*i*

*r*

*a*

*n*

## Lampiran 1. Hasil determinasi tanaman batang seroh wangi



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

Jl. Ir. Sutami 36A Kentingan Surakarta 57126 Telp. (0271) 863375 Fax (0271) 863375  
http://www.biology.mipa.uns.ac.id, E-mail biologi @ mipa.uns.ac.id

Nomor : 046/UN27.9.6.4/Lab/2017  
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan  
Lampiran : -

Nama Pemesan : Olivia Septiani  
NIM : 19133716A  
Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

### HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

Nama Sampel : *Cymbopogon nardus* (L.) Rendle  
Familia : Poaceae

Hasil Determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963, 1968) :  
1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27b-799b-800b-801b-802a-803b-  
804b-805c-806b-807a-808a **203. Poaceae**

1b-10b-11b-12b-13b-14a-20a-21b-57b-72b-74b-75b-80a-81b **103. Cymbopogon**  
1b-3b-5a ***Cymbopogon nardus* (L.) Rendle**

#### Deskripsi Tumbuhan :

Habitus : terna, menahun, tumbuh tegak, tinggi 0.5-1 m. Rimpang : menjalar, tebal dan berdaging, berbentuk silindris sampai jorong atau tidak beraturan, diameter 1-2 cm, bercabang-cabang atau tidak, bagian luar permukaannya tidak rata, berkerut, warnanya putih keabu-abuan, bagian dalamnya berwarna putih hingga kuning muda, baunya aromatik. Akar : melekat pada rimpang, tipe akar serabut, berwarna putih hingga kuning kotor atau coklat kekuningan. Batang : batang sejati pendek, di dalam tanah, membentuk rimpang, batang semu berada di atas tanah, tumbuh tegak, lunak, dibentuk oleh kumpulan pelepah daun, pangkal batang semu merah keunguan. Daun : tunggal, tidak lengkap, hanya ada helaian daun dan pelepah daun, berseling hingga tersebar, tersusun sangat rapat hingga membentuk roset akar, helaian daun berbentuk sempit memanjang hingga garis, panjang 70-100 cm, lebar 2-5 cm, berwarna hijau muda atau hijau tua atau hijau kekuningan, ujung sangat runcing atau meruncing, tepi bergerigi, pangkal tumpul atau agak runcing hingga runcing, pertulangan daun sejajar, permukaan daun gundul hingga berambut, kasar, lentur hingga kaku; pelepah daun berwarna hijau hingga hijau merah keunguan; ligula ada atau tidak, tegak, memanjang, ujungnya tumpul, tipis seperti selaput, permukaannya gundul. Bunga : bunga majemuk, terdiri dari kumpulan bunga yang rapat berupa bulir, terletak di ujung batang (terminal), jarang berbunga. Buah : berupa buah kering yang tidak pecah pada saat masak, jarang berbuah. Biji : bijinya kecil-kecil, jarang ditemukan.

Kepala Lab. Program Studi Biologi

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

Surakarta, 1 Februari 2017  
Penanggungjawab  
Determinasi Tumbuhan

Saratman, 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. Sutami 36A Kentingan Surakarta 57128 Telp. (0271) 663375 Fax (0271) 663375  
http://www.biology.mipa.uns.ac.id, E-mail: biologi @ mipa.uns.ac.id

Nomor : 047/UN27.9.6.4/Lab/2017  
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan  
Lampiran : -

Nama Pemesan : Olivia Septiani  
NIM : 19133716A  
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 melekok 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 melekok 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, 1 Februari 2017

Penanggungjawab  
Determinasi Tumbuhan

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

Kepala Lab. Program Studi Biologi

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



Mengetahui  
Kepala Program Studi Biologi FMIPA UNS

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

**Lampiran 3. Batang sereh wangi dan daun jeruk purut**



Batang sereh wangi



Daun jeruk purut

#### Lampiran 4. Destilasi



Rangkaian alat destilasi uap dan air



Proses destilasi minyak atsiri

**Lampiran 5. Minyak atsiri hasil destilasi**

Minyak atsiri

**Lampiran 6. Alat**



Oven



Autoklaf



Mikroskop



Vortex mixer



Inkubator



Inkas



Neraca analitik



Refraktometer



GC-MS QP2010SE Shimadzu

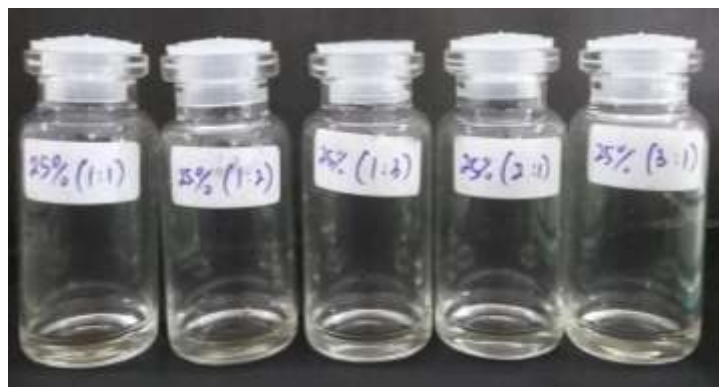


**Lampiran 7. Bahan uji antibakteri**

Minyak serih wangi tunggal



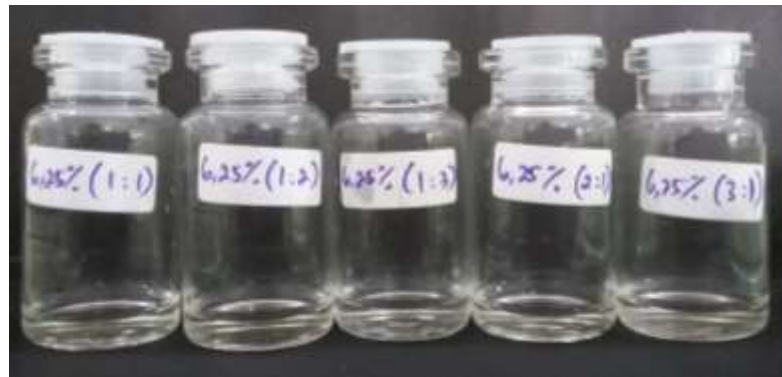
Minyak jeruk purut tunggal



Kombinasi 25%



Kombinasi 12,5%



Kombinasi 6,25%



Kontrol positif (Amoksisilin)



Kontrol negatif (Aseton)



Bakteri murni



Suspensi bakteri yang disesuaikan dengan standar Mc Farland 0,5



Cakram kosong



**Lampiran 8. Identifikasi minyak atsiri dan kelarutan dalam etanol**

Identifikasi minyak atsiri  
batang serih wangi



Identifikasi minyak atsiri  
daun jeruk purut



Kelarutan minyak atsiri dalam etanol

**Lampiran 9. Penetapan indeks bias minyak atsiri**

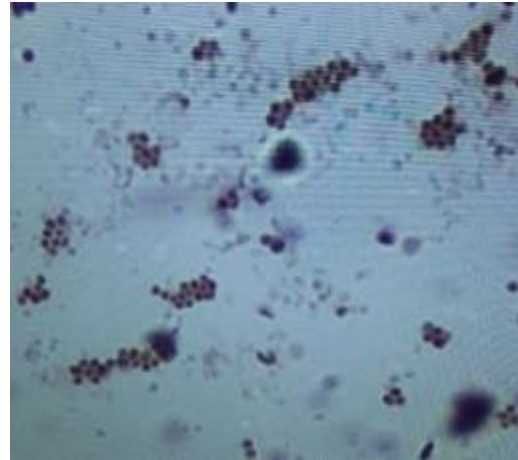
Indeks bias minyak atsiri batang sereh wangi



Indeks bias minyak atsiri daun jeruk purut

**Lampiran 10. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

Identifikasi bakteri dengan medium selektif



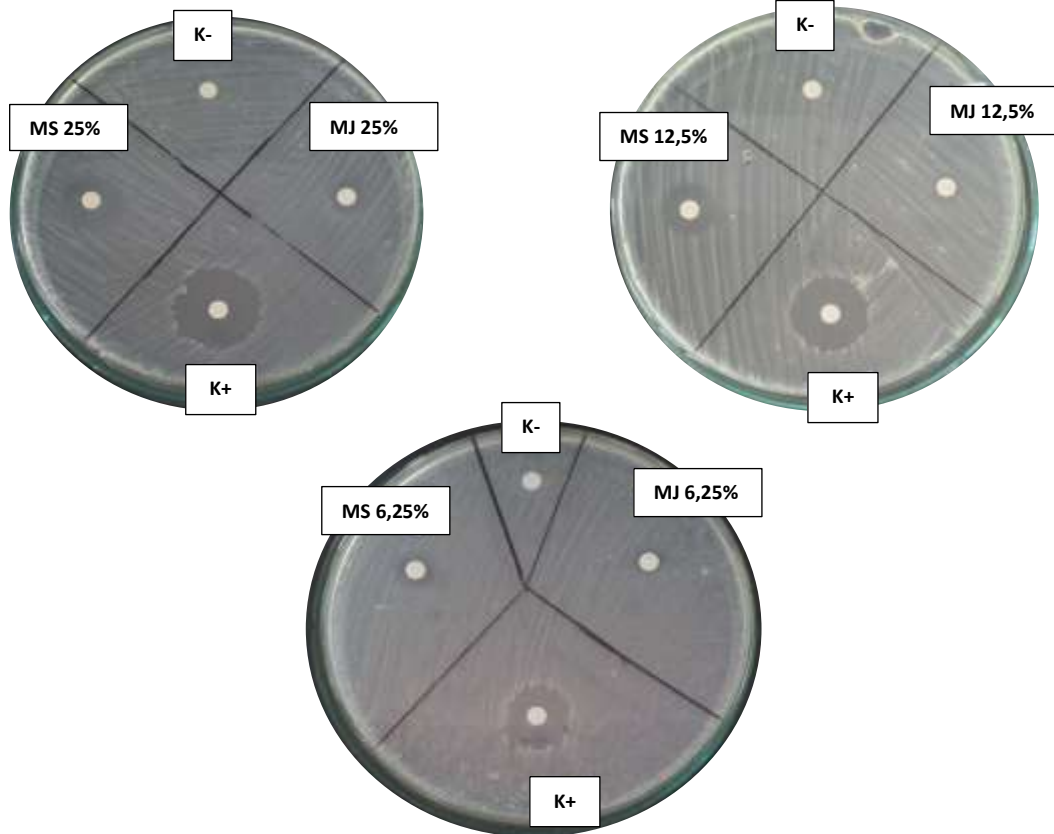
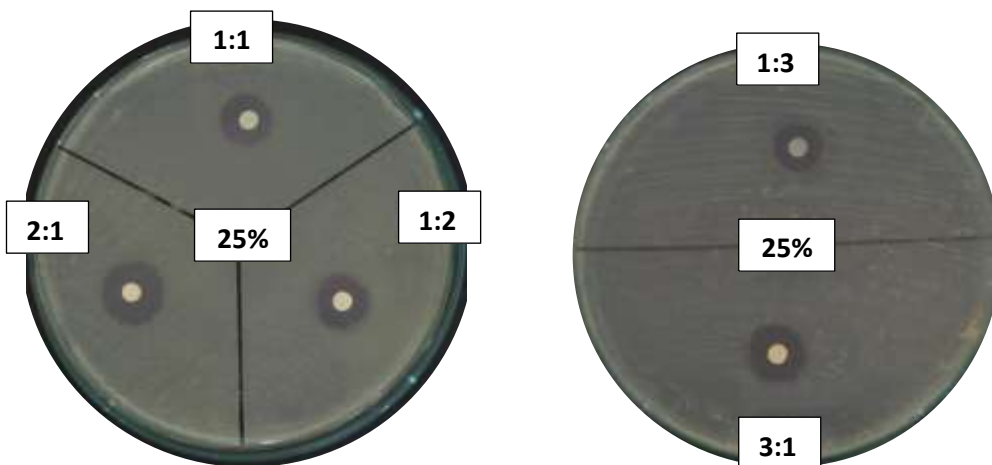
Identifikasi mikroskopis dengan pewarnaan Gram

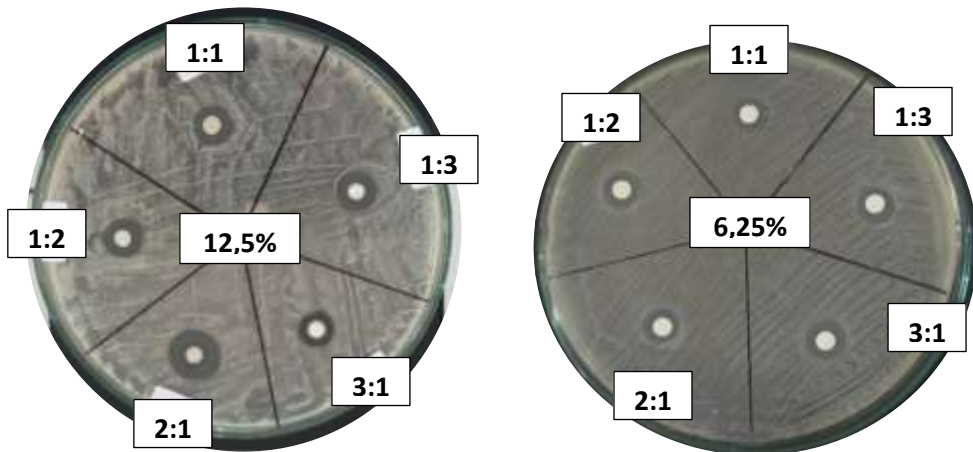


Uji katalase



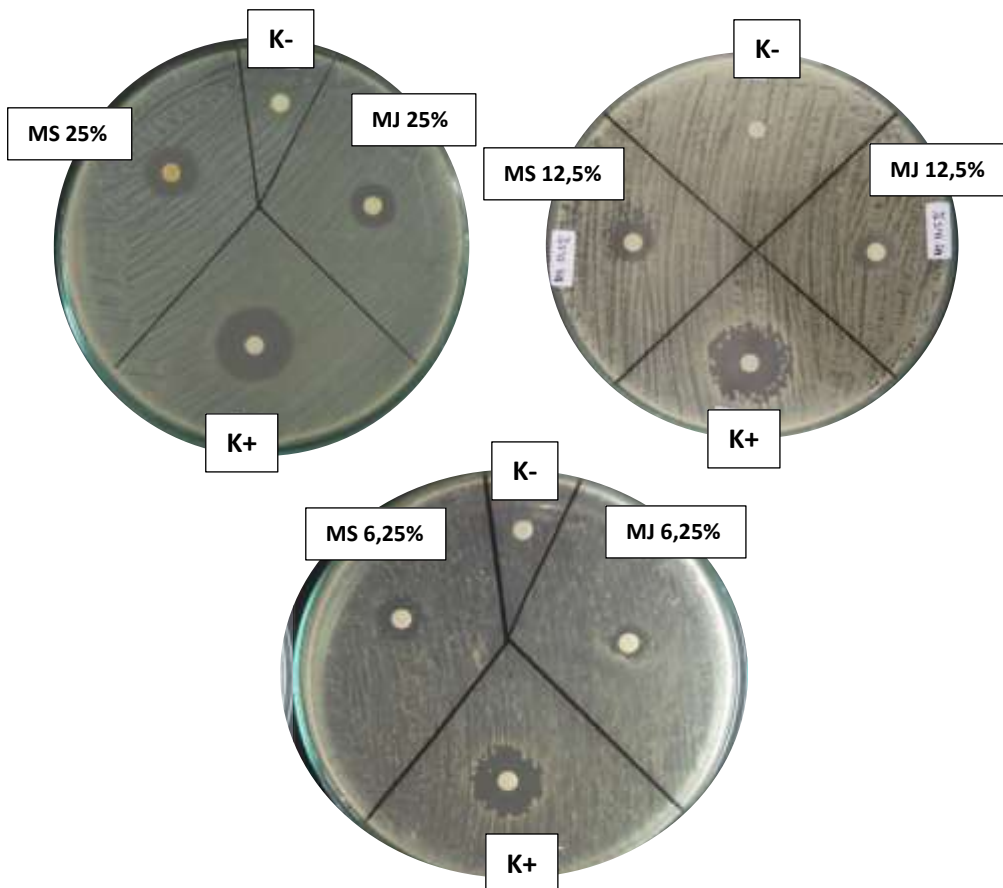
Uji koagulase

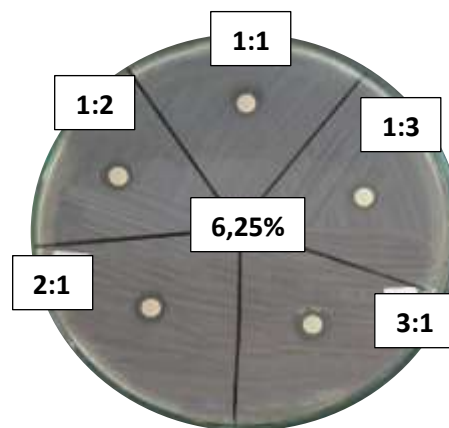
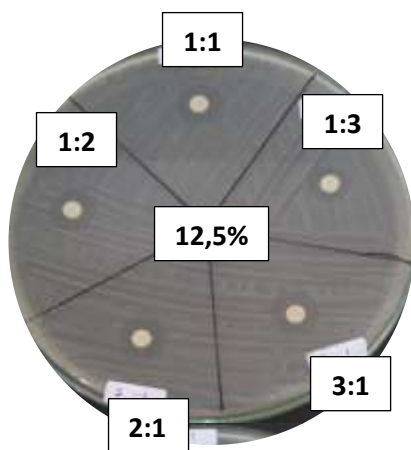
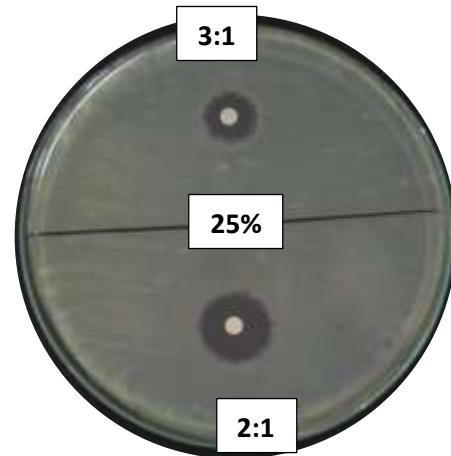
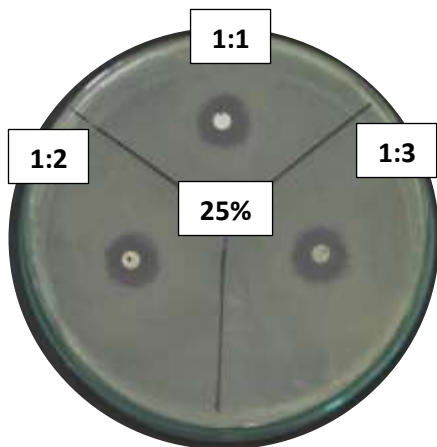
**Lampiran 11. Hasil uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi****REPLIKASI I :****Tunggal:****Kombinasi:**



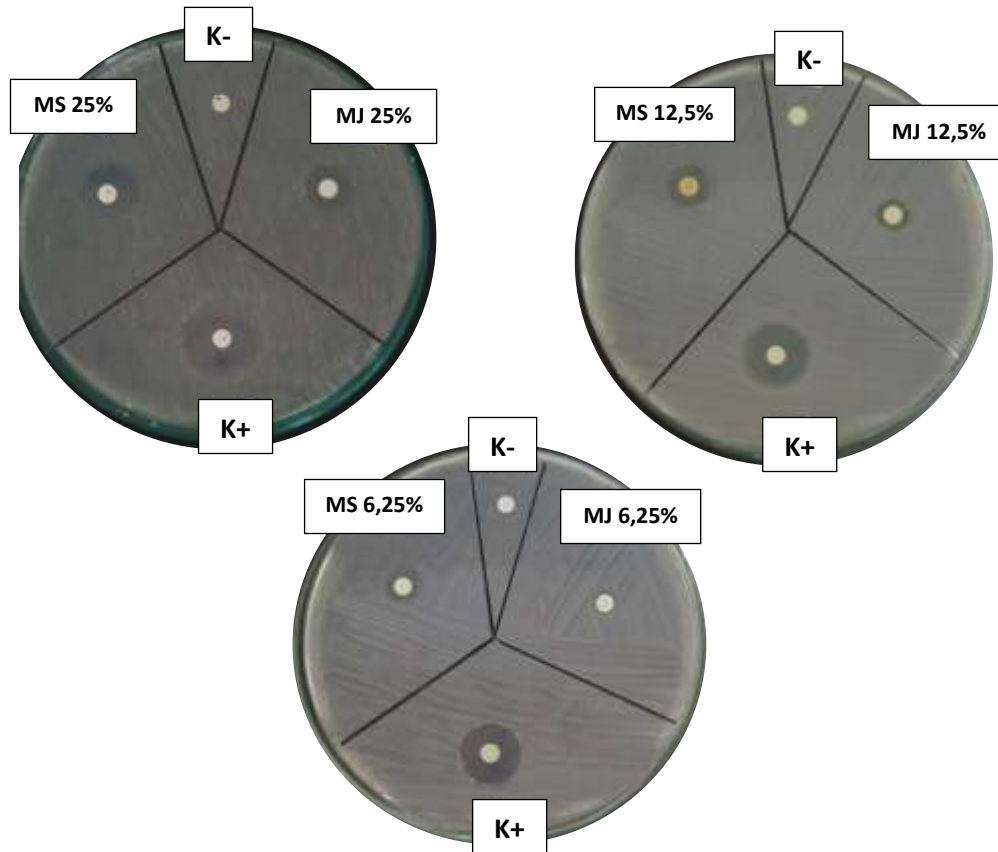
**REPLIKASI II :**

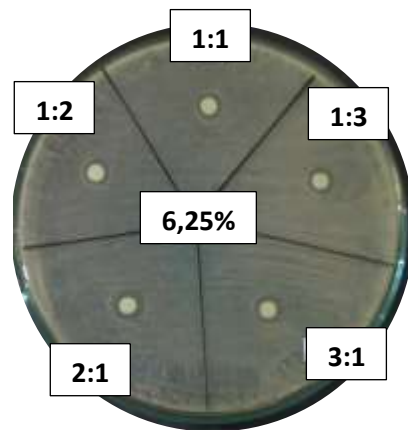
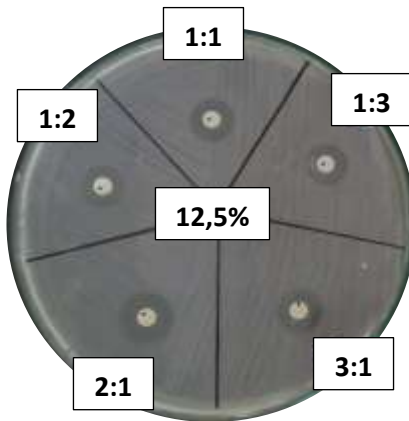
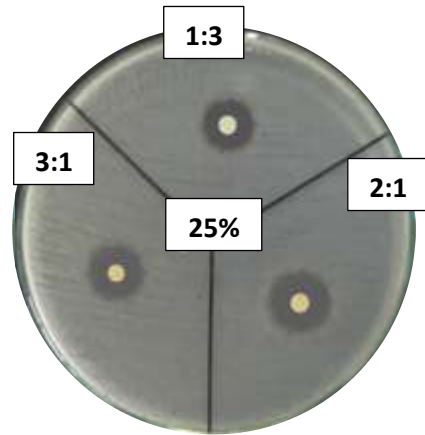
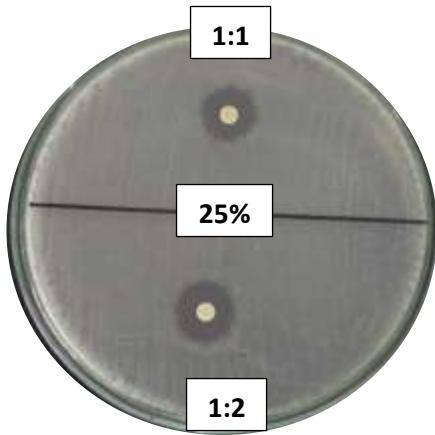
**Tunggal:**



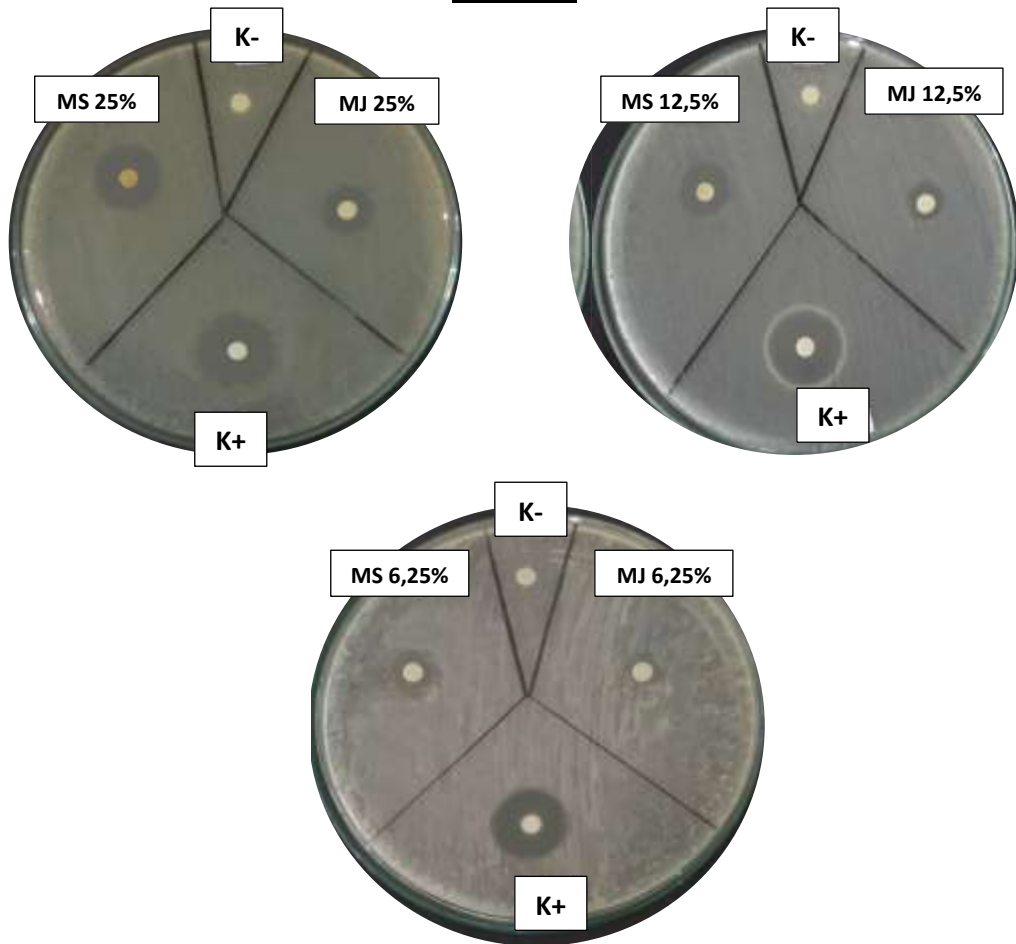
**Kombinasi:**

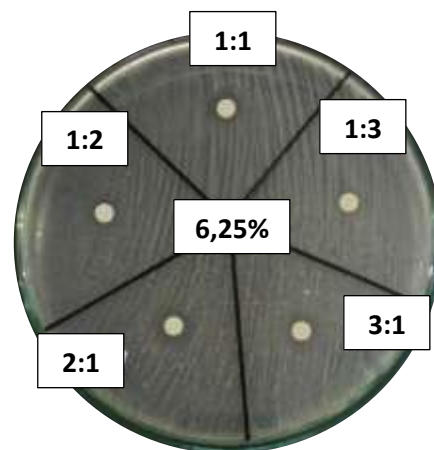
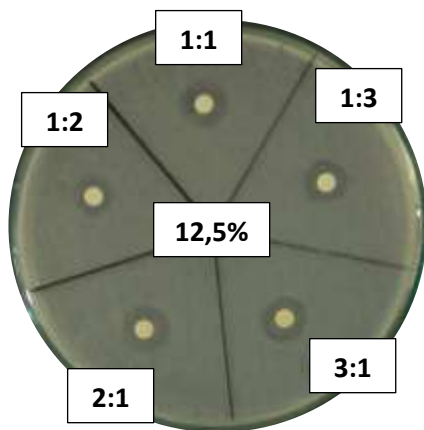
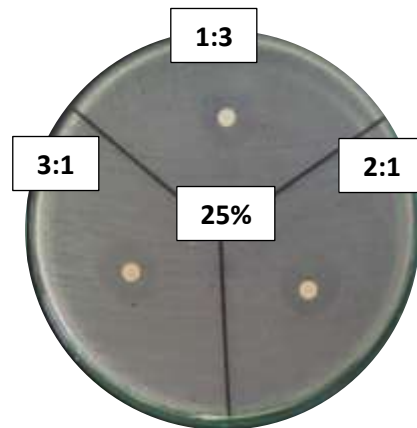
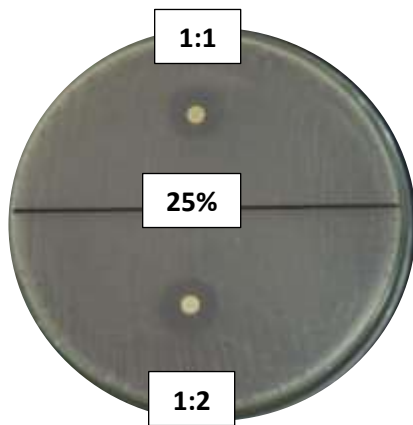
**REPLIKASI III:**  
**Tunggal:**

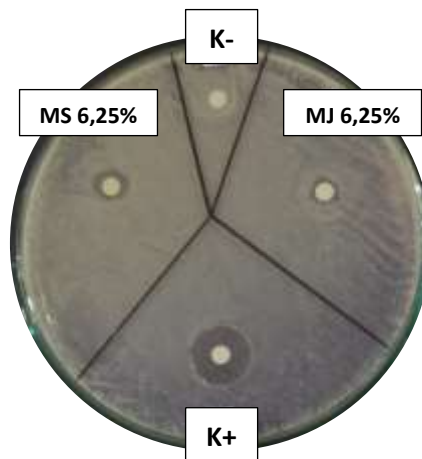
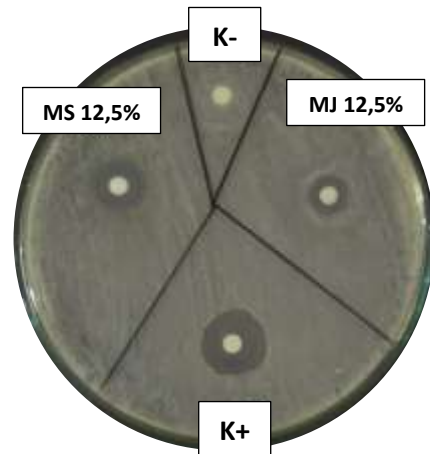
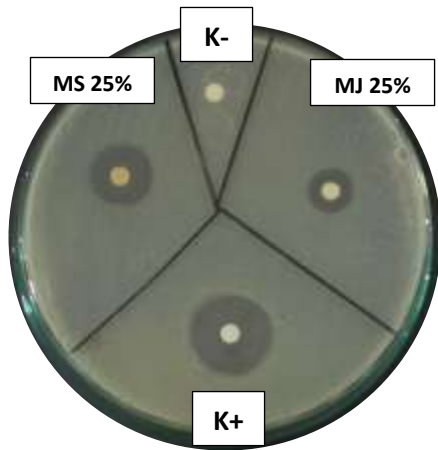


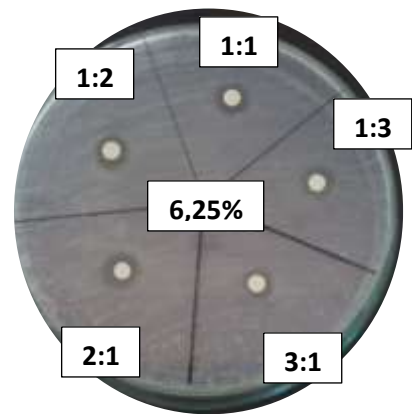
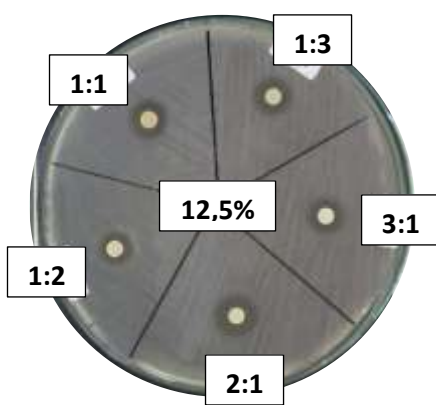
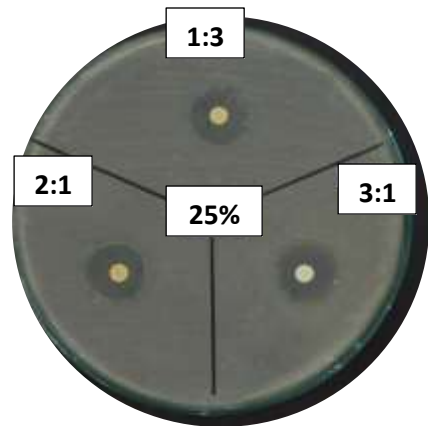
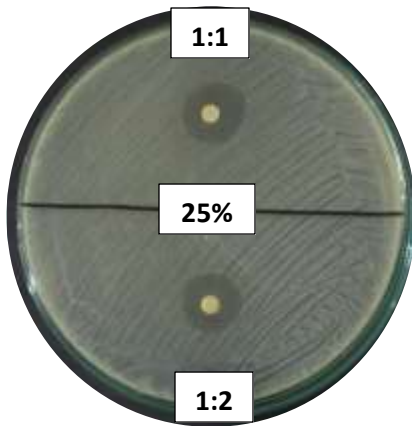
**Kombinasi:**



**Replikasi IV:****Tunggal:**

**Kombinasi:**

**Replikasi V:****Tunggal:**

**Kombinasi:**

**Lampiran 12. Perhitungan kadar minyak atsiri batang serih wangi dan daun jeruk purut**

Sampel tanaman	Bobot sampel (gram)	Volume minyak atsiri (ml)	Rendemen (%)
Batang serih wangi	4000	8,5	0,21
Daun jeruk purut	5000	35	0,7

**PERHITUNGAN % RENDEMEN MINYAK ATSIRI:**

$$\% \text{ Rendemen minyak atsiri} = \frac{\text{Volume minyak atsiri(ml)}}{\text{Bobot sampel (gram)}} \times 100 \%$$

$$\text{Minyak atsiri batang serih wangi} = \frac{8,5 \text{ ml}}{4000 \text{ gram}} \times 100 \% = 0,21 \%$$

$$\text{Minyak atsiri daun jeruk purut} = \frac{35 \text{ ml}}{5000 \text{ gram}} \times 100 \% = 0,7 \%$$

Jadi, kadar minyak atsiri batang serih wangi (*Cymbopogon nardus* L.) sebesar 0,21 % dan kadar minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) sebesar 0,7%.

### Lampiran 13. Hasil perhitungan bobot jenis minyak atsiri

Bobot botol kosong (g)	Bobot botol + air (g)	Bobot botol + minyak (g)		Bobot minyak (g)	
		Batang serih wangi	Daun jeruk purut	Batang serih wangi	Daun jeruk purut
18,807	19,611	19,528	19,495	0,721	0,688
18,807	19,618	19,540	19,511	0,733	0,704
18,807	19,627	19,531	19,499	0,724	0,692

#### PERHITUNGAN BOBOT JENIS:

##### Bobot Jenis Minyak Atsiri Batang Sereh Wangi :

$$\begin{aligned}
 \text{Bobot botol + air} &= 19,611 \\
 \text{Bobot botol kosong} &= \underline{18,807} \text{ _} \\
 \text{Bobot air} &= 0,804 \\
 \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{Bobot minyak}}{\text{Bobot air}} \\
 &= \frac{0,721}{0,804} \\
 &= 0,897 \\
 \\
 \text{Bobot botol + air} &= 19,618 \\
 \text{Bobot botol kosong} &= \underline{18,807} \text{ _} \\
 \text{Bobot air} &= 0,811 \\
 \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{Bobot minyak}}{\text{Bobot air}} \\
 &= \frac{0,733}{0,811} \\
 &= 0,904 \\
 \\
 \text{Bobot botol + air} &= 19,627 \\
 \text{Bobot botol kosong} &= \underline{18,807} \text{ _} \\
 \text{Bobot air} &= 0,820 \\
 \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{Bobot minyak}}{\text{Bobot air}}
 \end{aligned}$$

$$= \frac{0,724}{0,820}$$

$$= 0,883$$

$$\text{Rata-rata bobot jenis minyak atsiri batang sereh wangi} = \frac{0,897+0,904+0,883}{3}$$

$$= 0,895$$

**Bobot Jenis Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut:**

$$\text{Bobot botol + air} = 19,611$$

$$\text{Bobot botol kosong} = \underline{18,807}$$

$$\text{Bobot air} = 0,804$$

$$\text{Bobot jenis minyak atsiri} = \frac{\text{Bobot minyak}}{\text{Bobot air}}$$

$$= \frac{0,688}{0,804}$$

$$= 0,856$$

$$\text{Bobot botol + air} = 19,618$$

$$\text{Bobot botol kosong} = \underline{18,807}$$

$$\text{Bobot air} = 0,811$$

$$\text{Bobot jenis minyak atsiri} = \frac{\text{Bobot minyak}}{\text{Bobot air}}$$

$$= \frac{0,704}{0,811}$$

$$= 0,867$$

$$\text{Bobot botol + air} = 19,627$$

$$\text{Bobot botol kosong} = \underline{18,807}$$

$$\text{Bobot air} = 0,820$$

$$\text{Bobot jenis minyak atsiri} = \frac{\text{Bobot minyak}}{\text{Bobot air}}$$

$$= \frac{0,692}{0,820}$$

$$= 0,844 \text{ gram}$$

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata bobot jenis minyak atsiri daun jeruk purut} &= \frac{0,856+0,867+0,844}{3} \\ &= 0,856 \end{aligned}$$

**Perhitungan konversi suhu ruang dalam percobaan bobot jenis :**

Faktor konversi pada suhu setiap kenaikan  $1^{\circ}\text{C} = 0,0007$

Berat jenis minyak atsiri sereh wangi teoritis  $20^{\circ}\text{C} = 0,880 - 0,895$

Suhu ruang praktek =  $31^{\circ}\text{C}$

**Perhitungan :**

$$(31-20) \times 0,0007 = 0,0077$$

$$\begin{aligned} \text{Jadi, bobot teoritis pada suhu } 31^{\circ}\text{C} &= (0,880 + 0,0077) - (0,895 + 0,0077) \\ &= 0,8877 - 0,9027 \end{aligned}$$

Bobot jenis minyak atsiri batang sereh wangi adalah 0,895

Bobot jenis minyak atsiri daun jeruk purut adalah 0,856



#### Lampiran 14. Hasil perhitungan indeks bias minyak atsiri

Minyak atsiri	Hasil indeks bias (31 <sup>0</sup> C)	Pustaka
Batang sereh wangi	1,490	Indeks bias (20 <sup>0</sup> C) 1,468 – 1,473 (Depkes 1979)
Daun jeruk purut	1,455	Indeks bias (31 <sup>0</sup> C) 1,448 – 1,460 (Khasanah 2015)

#### Perhitungan Konversi Suhu Ruang Dalam Penetapan Indeks Bias Minyak Atsiri :

Faktor konversi suhu pada setiap kenaikan 1<sup>0</sup>C = 0,0004

Indeks bias teoritis batang sereh wangi 20<sup>0</sup>C = 1,468 – 1,460

Suhu ruang praktek = 31<sup>0</sup>C

#### Perhitungan :

$$= [(31-20) \times 0,0004] = 0,0044$$

Indeks bias minyak atsiri batang sereh wangi pada suhu 31<sup>0</sup>C = (1,468+0,0044) – (1,473 + 0,0044)

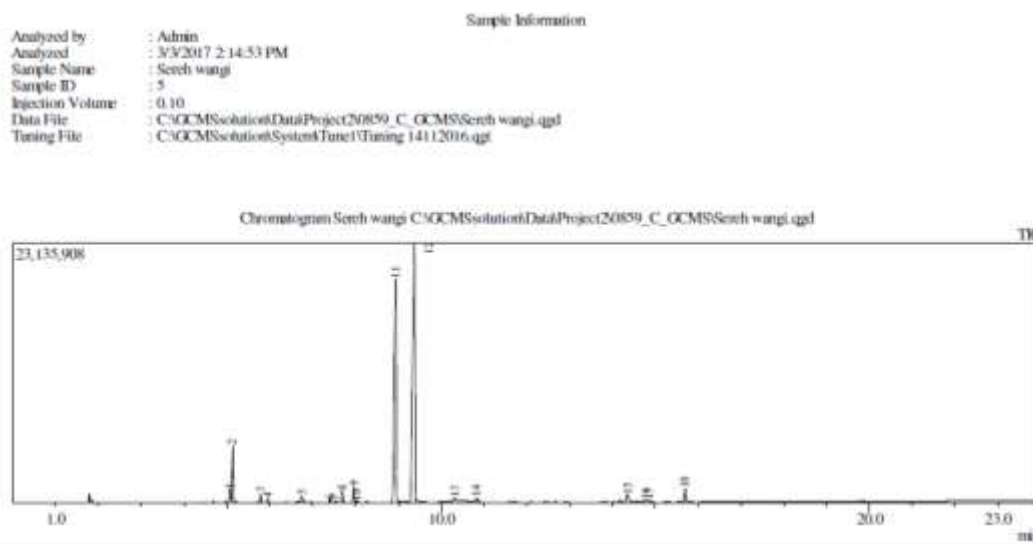
Jadi, indeks bias teoritis minyak atsiri batang sereh wangi 31<sup>0</sup>C = 1,472 – 1,477

Indeks bias minyak atsiri batang sereh wangi adalah 1,490

Indeks bias minyak atsiri daun jeruk purut adalah 1,455

## Lampiran 15. Hasil analisis GC-MS minyak atsiri

### Kromatogram minyak atsiri batang serih wangi:

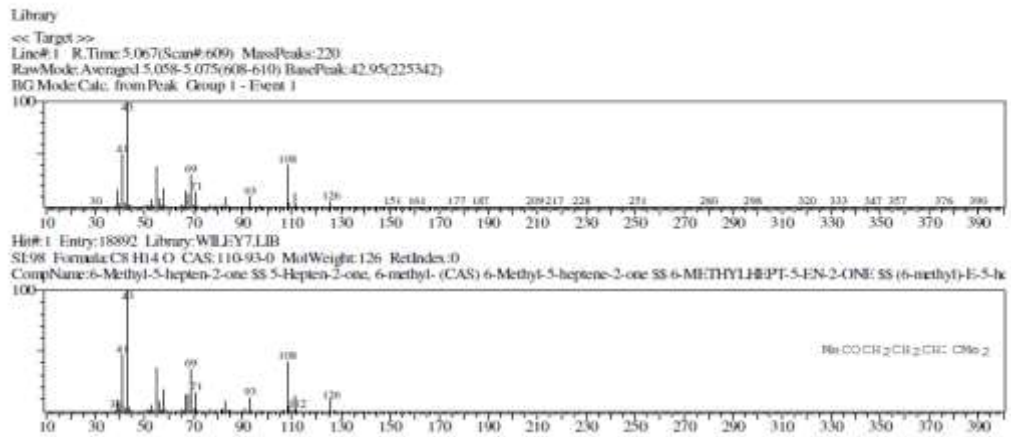


### Hasil analisis komponen senyawa batang serih wangi:

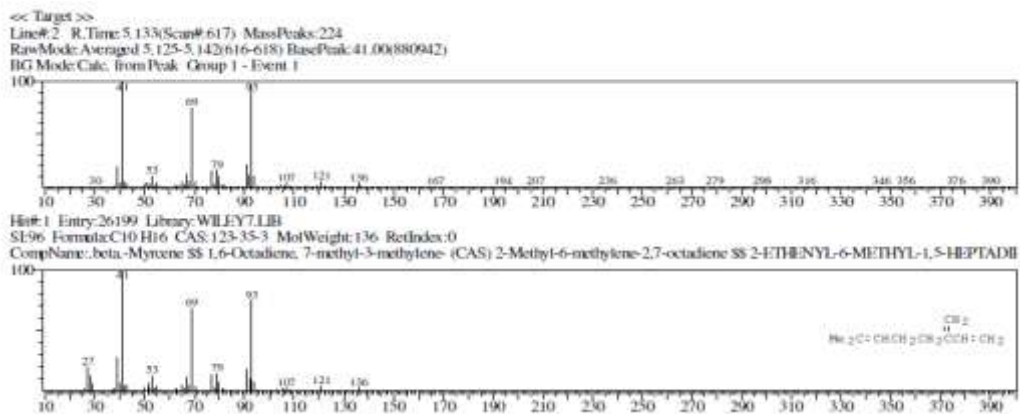
Peak	Komponen senyawa	R. Time (min)	% Area	BM
1	6-methyl-5-hepten-2-one	5.066	1.31	126
2	Beta-myrcene	5.132	4.72	136
3	Cis-ocimene	5.783	1.04	136
4	Beta-ocimene Y	5.946	0.33	136
5	Linalool	6.748	1.24	154
6	1,5-Heptadiene, 2-ethyl-6-methyl	7.406	0.34	138
7	Citronella	7.526	0.31	154
8	Trans-caran, 4,5-EPOXI-	7.693	1.20	154
9	Trans-caran, 4,5-EPOXI- (2)	7.962	1.65	152
10	3-Cyclohexen-1-ol, 4-Methyl-1-(1-methylethyl)-(CAS) 4-Terpineol	8.029	0.31	154
11	Z-citral	8.938	35.11	152
12	Citral	9.374	47.57	152
13	Cyclohexanol, 2,2-dimethyl-(CAS)	10.320	0.34	128
14	D-Fenchyl alcohol	10.825	0.66	154
15	Junipercamphor	14.353	1.56	222
16	10-Alpha-Cadinol	14.767	0.42	222
17	Junipercamphor	14.849	0.29	222
18	Zerumbone	15.696	1.60	218

## Komponen senyawa batang sereh wangi:

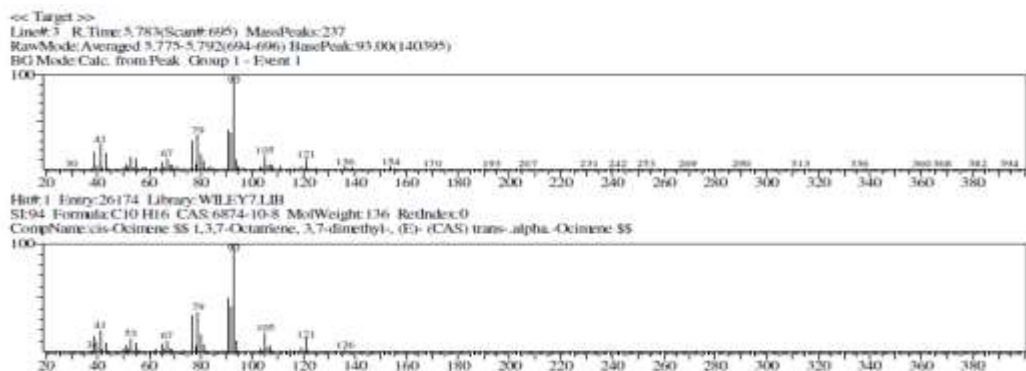
### Senyawa 6-methyl-5-hepten-2-one



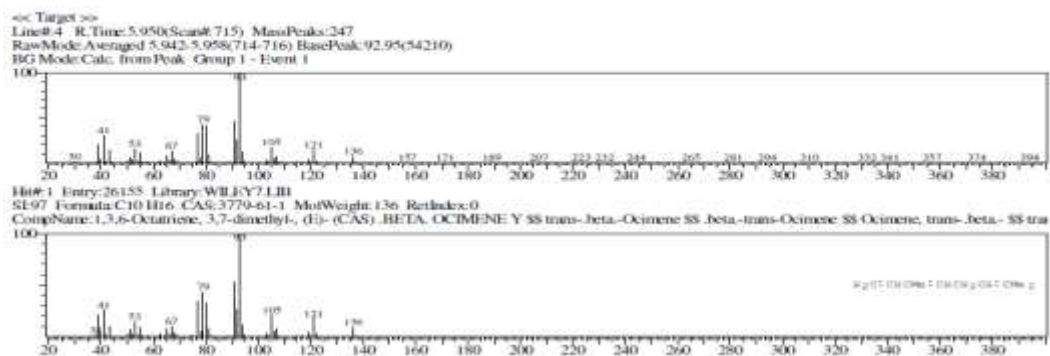
### Senyawa Beta-myrcene



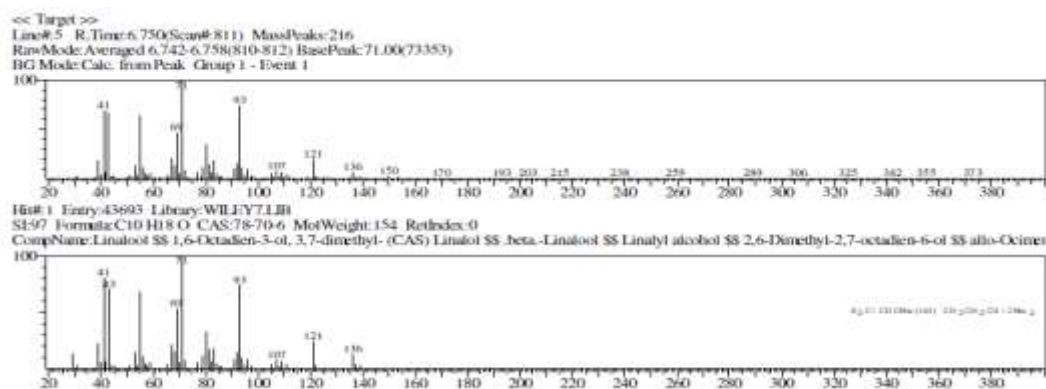
### Senyawa Cis-ocimene



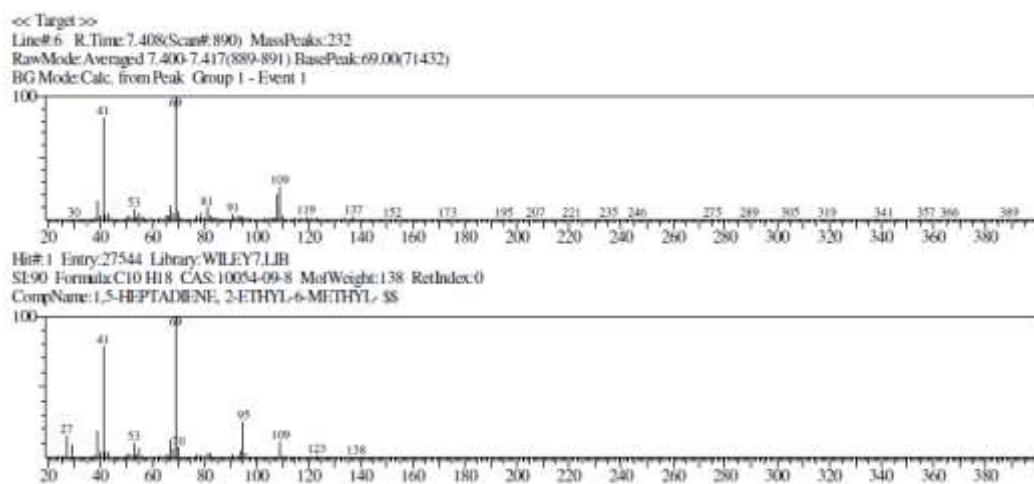
## Senyawa Beta-ocimene Y



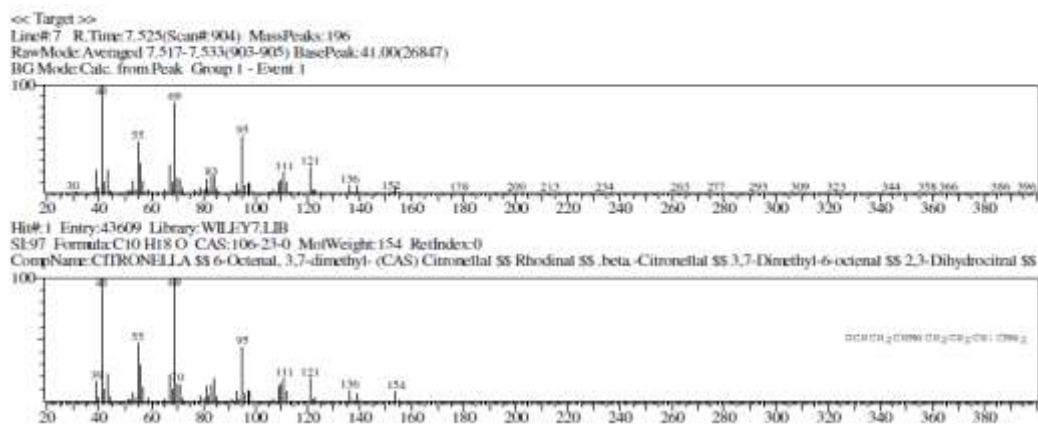
## Senyawa Linalool



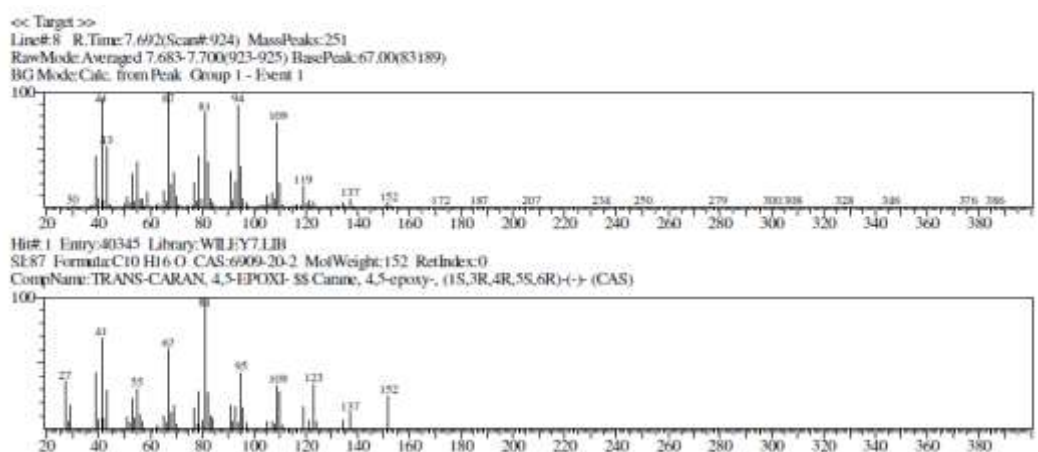
## Senyawa 1,5-Heptadiene, 2-ethyl-6-methyl



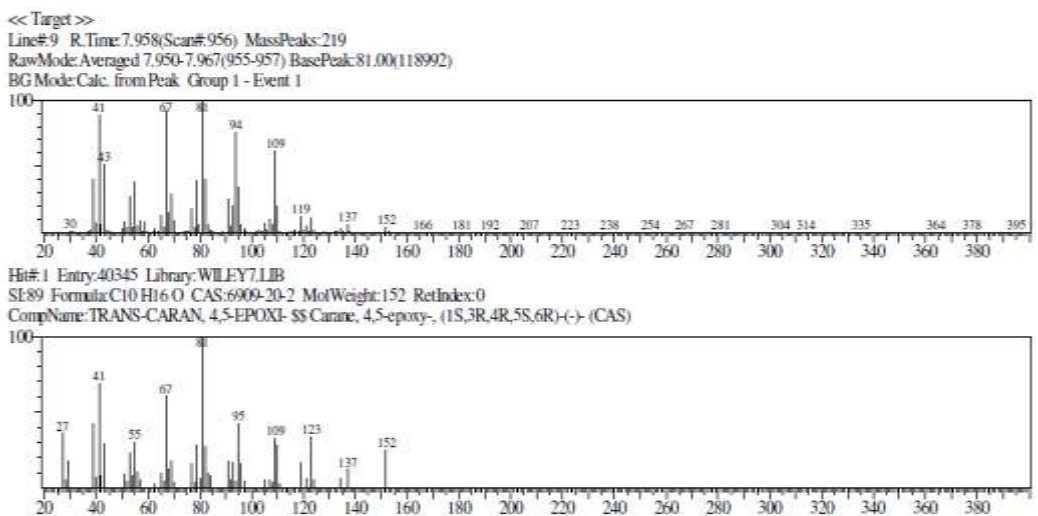
## Senyawa Citronella



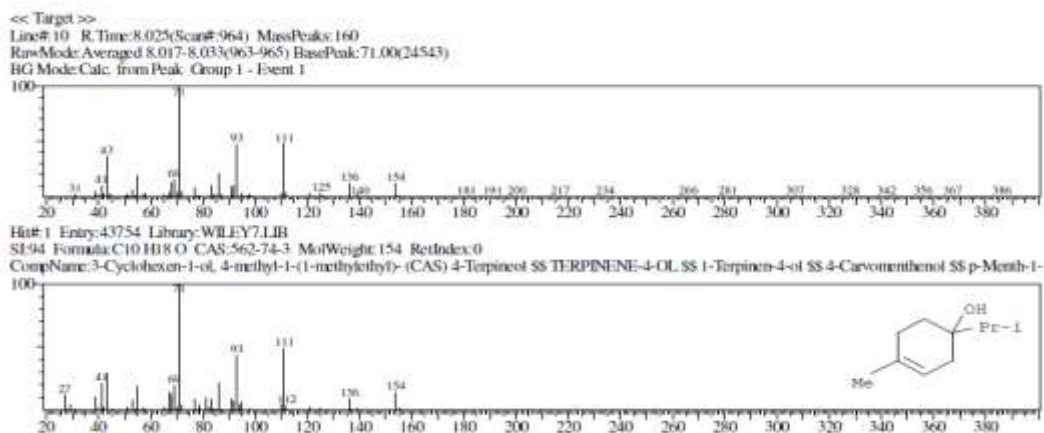
## Senyawa Trans-Caran



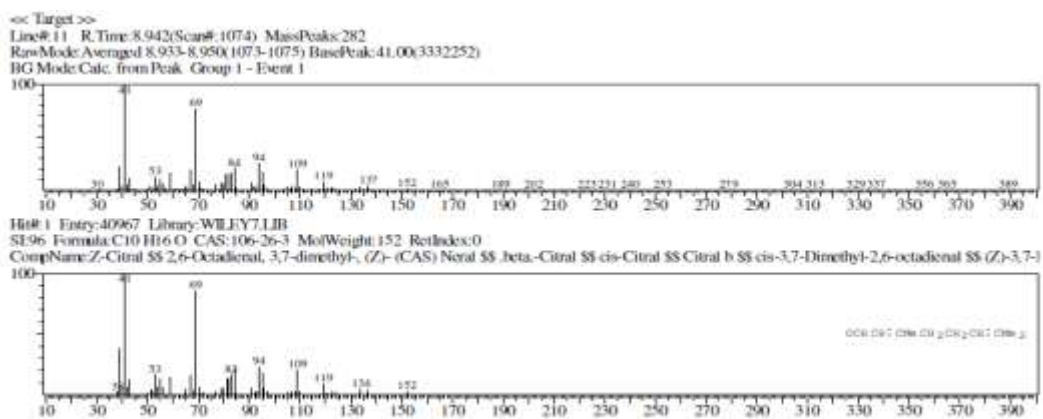
## Senyawa Trans-Caran



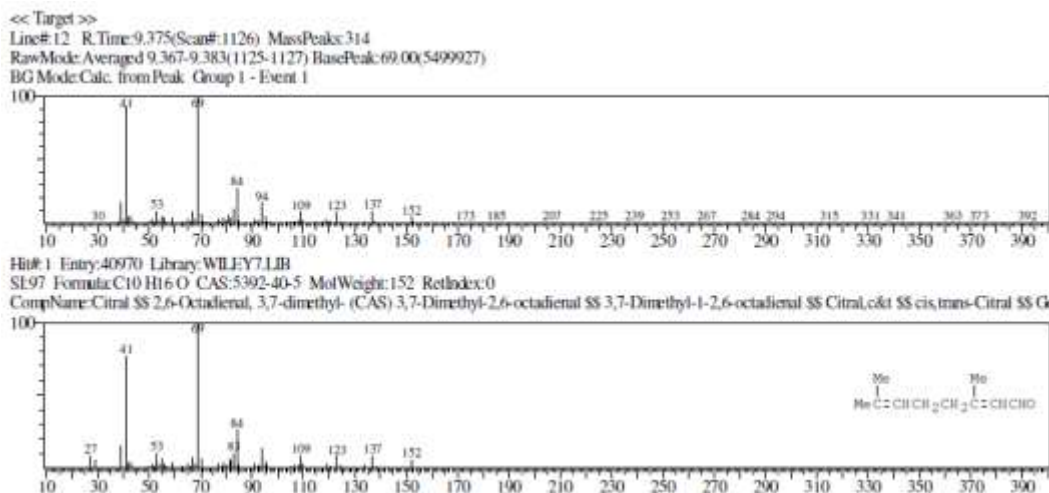
## Senyawa 3-Cyclohexen-1-ol, 4-Methyl-1-(1-methylethyl)-(CAS) 4-Terpineol



## Senyawa Z-citral

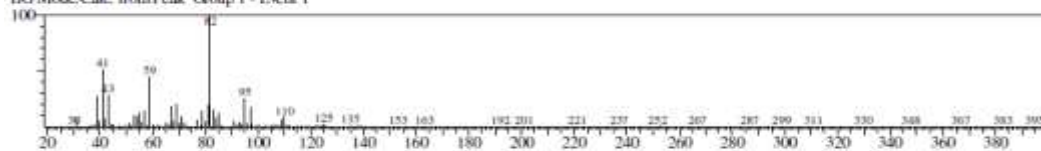
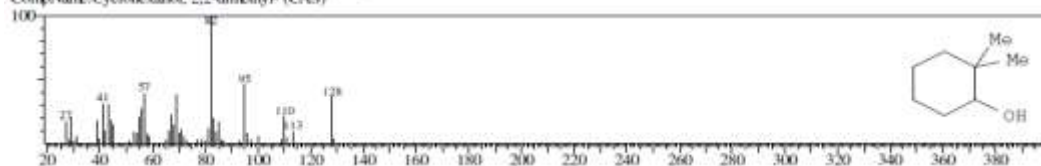


## Senyawa Citral



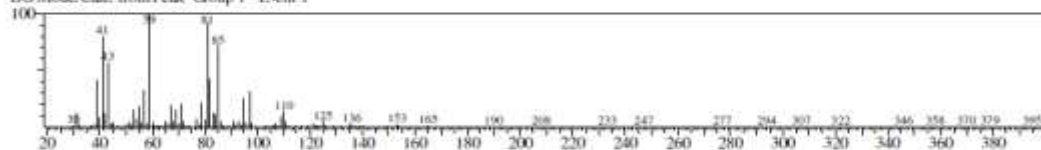
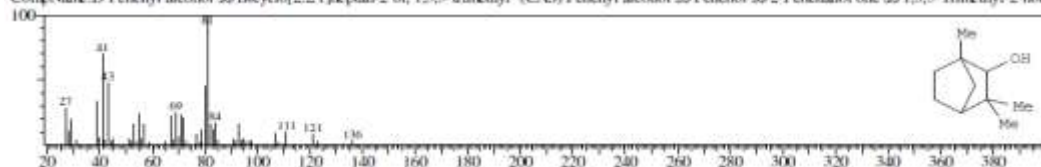
## Senyawa Cyclohexanol, 2,2-dimethyl-(CAS)

&lt;&lt; Target &gt;&gt;

Line# 13 R.Time: 10.317(Scan#: 1239) MassPeaks: 220  
RawMode: Averaged 10.308-10.325(1238-1240) BasePeak: 81.95(38859)  
BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1Hit# 1 Entry: 20576 Library: WILEY7.LIB  
SI: 81 Formula: C<sub>8</sub>H<sub>16</sub>O CAS: 1193-46-0 MolWeight: 128 RetIndex: 0  
CompName: Cyclohexanol, 2,2-dimethyl- (CAS)

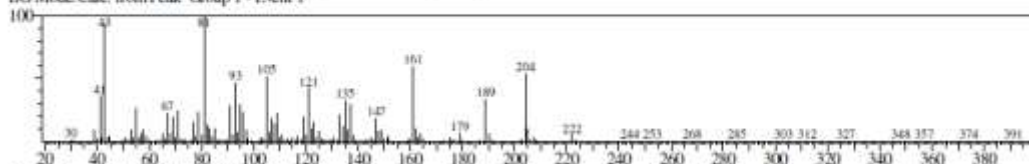
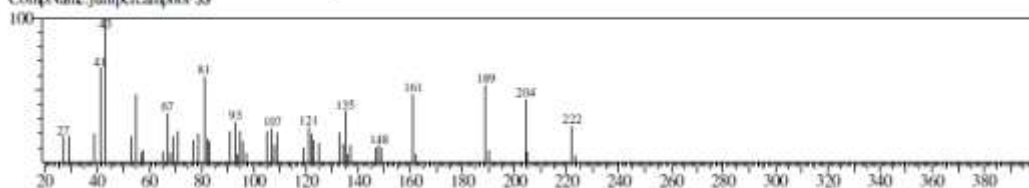
## Senyawa D-Fenchyl alcohol

&lt;&lt; Target &gt;&gt;

Line# 14 R.Time: 10.825(Scan#: 1300) MassPeaks: 243  
RawMode: Averaged 10.817-10.833(1299-1301) BasePeak: 59.00(38421)  
BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1Hit# 1 Entry: 43936 Library: WILEY7.LIB  
SI: 81 Formula: C<sub>10</sub>H<sub>18</sub>O CAS: 1632-73-1 MolWeight: 154 RetIndex: 0  
CompName: D-Fenchyl alcohol SS Bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol, 1,3,3-trimethyl- (CAS) Fenchyl alcohol SS Fenchol SS 2-Fenchanol one SS 1,3,3-Trimethyl-2-nor

## Senyawa Junipercamphor

&lt;&lt; Target &gt;&gt;

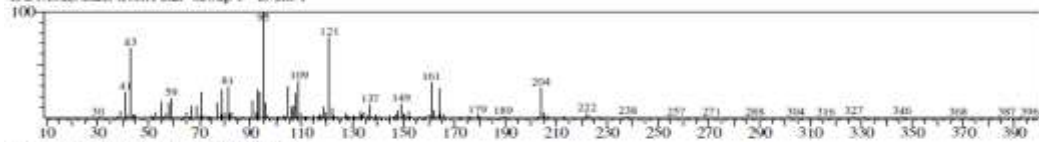
Line# 15 R.Time: 14.350(Scan#: 1723) MassPeaks: 233  
RawMode: Averaged 14.342-14.358(1722-1724) BasePeak: 81.00(55050)  
BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1Hit# 1 Entry: 124099 Library: WILEY7.LIB  
SI: 89 Formula: C<sub>15</sub>H<sub>26</sub>O CAS: 0-00-0 MolWeight: 222 RetIndex: 0  
CompName: junipercamphor SS



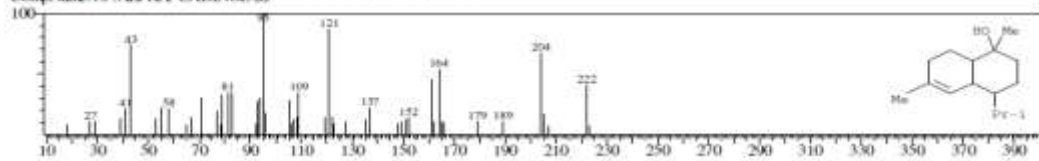
## Senyawa 10-Alpha-Cadinol

&lt;&lt; Target &gt;&gt;

Line# 16 R.Time: 14.767(Scan# 1773) MassPeaks: 231  
 RawMode: Averaged 14.758-14.775(1772-1774) BasePeak: 95.00(11238)  
 BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1



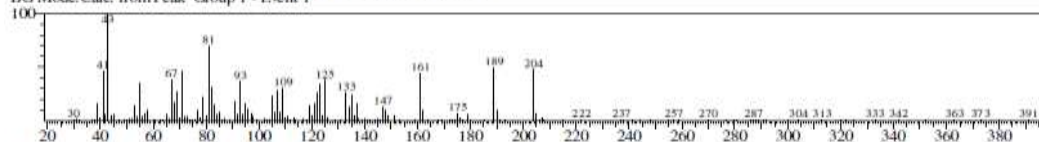
Hit# 1 Entry: 123275 Library: WILEY7.LIB  
 SE: 85 Formula: C<sub>15</sub>H<sub>26</sub>O CAS: 481-34-5 MolWeight: 222 RetIndex: 0  
 CompName: 10-ALPHA-CADINOL SS



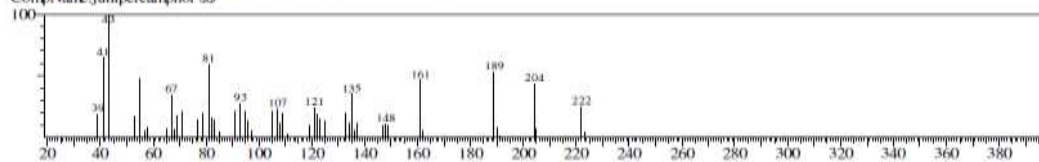
## Senyawa Junipercamphor

&lt;&lt; Target &gt;&gt;

Line# 17 R.Time: 14.850(Scan# 1783) MassPeaks: 234  
 RawMode: Averaged 14.842-14.858(1782-1784) BasePeak: 42.95(6587)  
 BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1



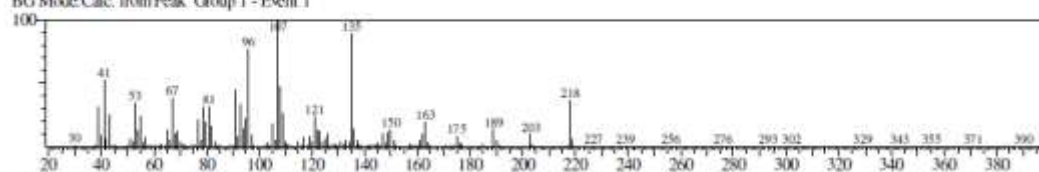
Hit# 1 Entry: 124100 Library: WILEY7.LIB  
 SE: 90 Formula: C<sub>15</sub>H<sub>26</sub>O CAS: 0-00-0 MolWeight: 222 RetIndex: 0  
 CompName: junipercamphor SS



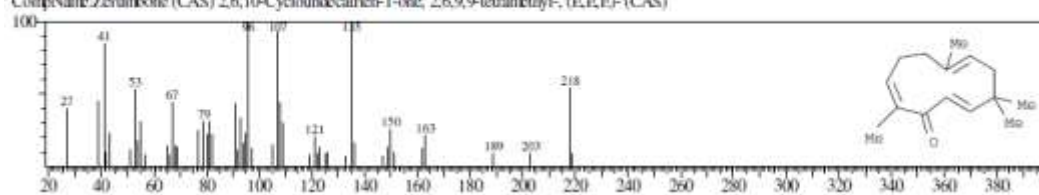
## Senyawa Zerumbone

&lt;&lt; Target &gt;&gt;

Line# 18 R.Time: 15.700(Scan# 1885) MassPeaks: 288  
 RawMode: Averaged 15.692-15.708(1884-1886) BasePeak: 107.00(84985)  
 BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit# 1 Entry: 118285 Library: WILEY7.LIB  
 SE: 93 Formula: C<sub>15</sub>H<sub>22</sub>O CAS: 471-05-6 MolWeight: 218 RetIndex: 0  
 CompName: Zerumbone (CAS) 2,6,10-Cycloundecatrien-1-one, 2,6,9,9-tetramethyl-, (E,E,E)-(CAS)

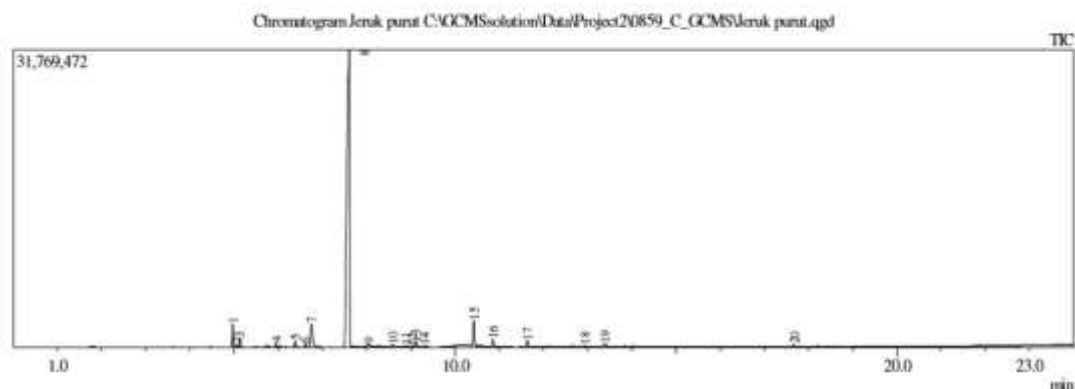




### Kromatogram minyak atsiri daun jeruk purut:

Sample Information

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:\GCMSsolution\Data\Project20859\_C\_GCMS\Jeruk purut.qgd  
 Tuning File : C:\GCMSsolution\System1\Tuning 14112016.qgt



### Hasil analisis komponen senyawa daun jeruk purut:

Peak	Komponen senyawa	R. Time (min)	% Area	BM
1	Sabinene	4.971	2.63	136
2	1-Beta-pinene	5.054	0.27	136
3	1,6-octadiene	5.128	0.91	136
4	1,3,6-Octatriene, 3,7-dimethyl-(E)-(CAS), Beta ocimene Y	5.944	0.48	136
5	Linalool oxide (2)	6.379	0.85	170
6	Linalool oxide cis	6.614	0.47	170
7	Linalool	6.749	4.67	154
8	Citronella	7.602	81.26	154
9	3-cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-(CAS) 4-Terpineol	8.038	0.44	154
10	1-Octanol, 2-Nitro	8.591	0.36	175
11	Z-citral	8.891	0.27	152
12	Beta-citronellol	9.025	0.25	156
13	Linalool oxide (2)	9.120	0.68	170
14	Citral	9.311	0.23	152
15	Citronellyl acetate	10.423	3.02	198
16	Geranyl acetate	10.854	1.03	196
17	Trans (BETA)- caryophyllene	11.638	0.90	204
18	Delta-cadinene	12.939	0.22	204
19	Nerolidol	13.388	0.75	222
20	3-Acetoxy-p-menthan-1-ol	17.669	0.29	214

## Senyawa Sabinene

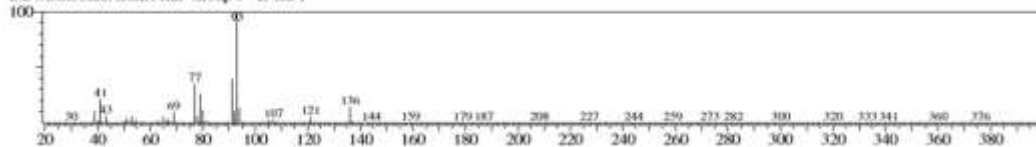
Library

&lt;&lt; Target &gt;&gt;

Line#1 R.Time:4.967(Scan#:597) MassPeaks:228

RawMode:Averaged 4.958-4.975(596-598) BasePeak:92.95(595089)

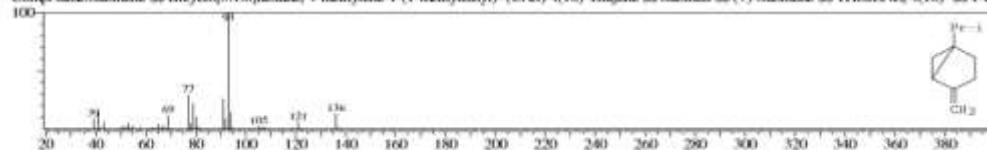
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#2 Entry:26424 Library:WILEY7.LIB

SE96 Formula:C10 H16 CAS:3387-41-5 MolWeight:136 RetIndex:0

CompName:Sabinene SS Bicyclo[3.1.0]hexane, 4-methylene-1-(1-methylethyl)- (CAS) 4(10)-Thujene SS Sabinene SS (+)-Sabinene SS THUJENE, 4(10)- SS 1-Is



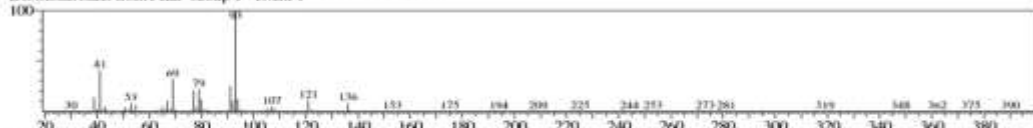
## Senyawa 1-Beta-pinene

&lt;&lt; Target &gt;&gt;

Line#2 R.Time:5.050(Scan#:607) MassPeaks:187

RawMode:Averaged 5.042-5.058(606-608) BasePeak:92.95(55368)

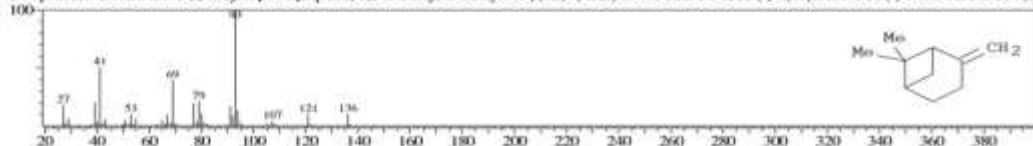
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#1 Entry:26459 Library:WILEY7.LIB

SE96 Formula:C10 H16 CAS:18172-67-3 MolWeight:136 RetIndex:0

CompName:1-Beta-Pinene SS Bicyclo[3.1.1]heptane, 6,6-dimethyl-2-methylene-, (1S)- (CAS) .BETA-PINENE SS (-)-2(10)-Pinene SS (-)-beta-Pinene SS 2(10)



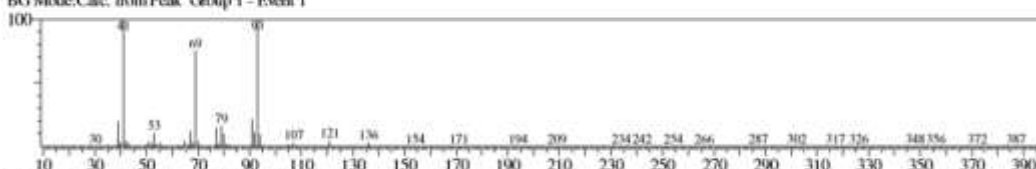
## Senyawa 1,6-octadiene

&lt;&lt; Target &gt;&gt;

Line#3 R.Time:5.125(Scan#:616) MassPeaks:211

RawMode:Averaged 5.117-5.133(615-617) BasePeak:41.00(162424)

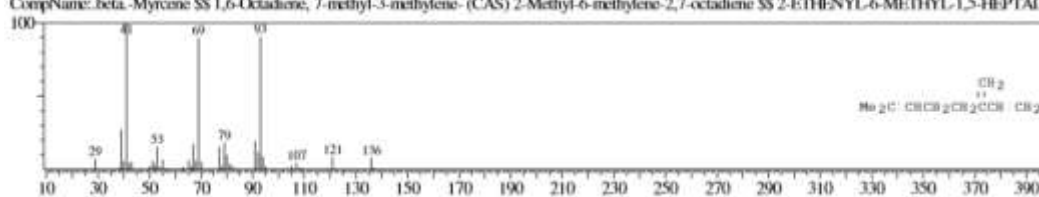
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



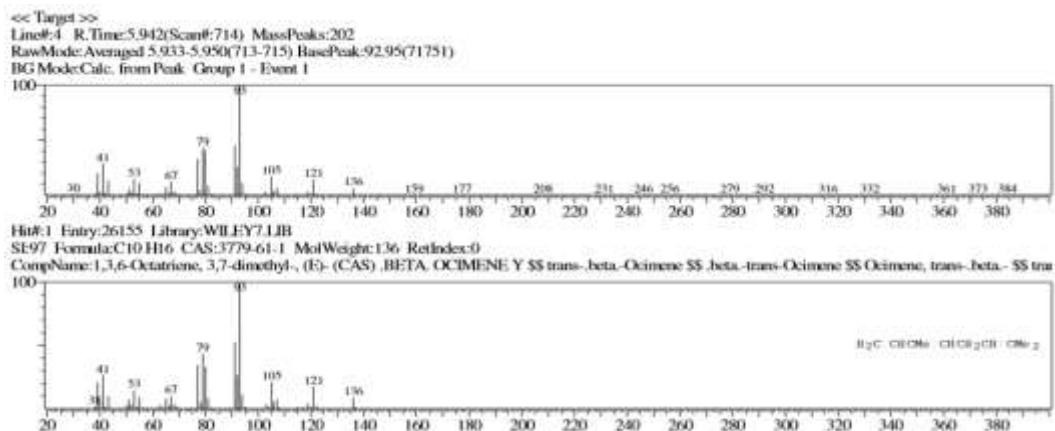
Hit#1 Entry:26198 Library:WILEY7.LIB

SE96 Formula:C10 H16 CAS:123-35-3 MolWeight:136 RetIndex:0

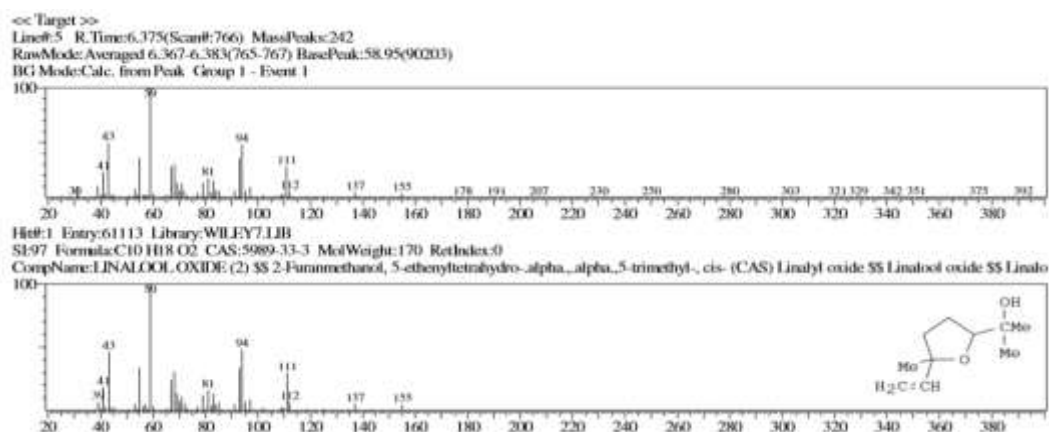
CompName:beta-Myrcene SS 1,6-Octadiene, 7-methyl-3-methylene- (CAS) 2-Methyl-6-methylene-2,7-octadiene SS 2-ETHENYL-6-METHYL-1,5-HEPTADIENE



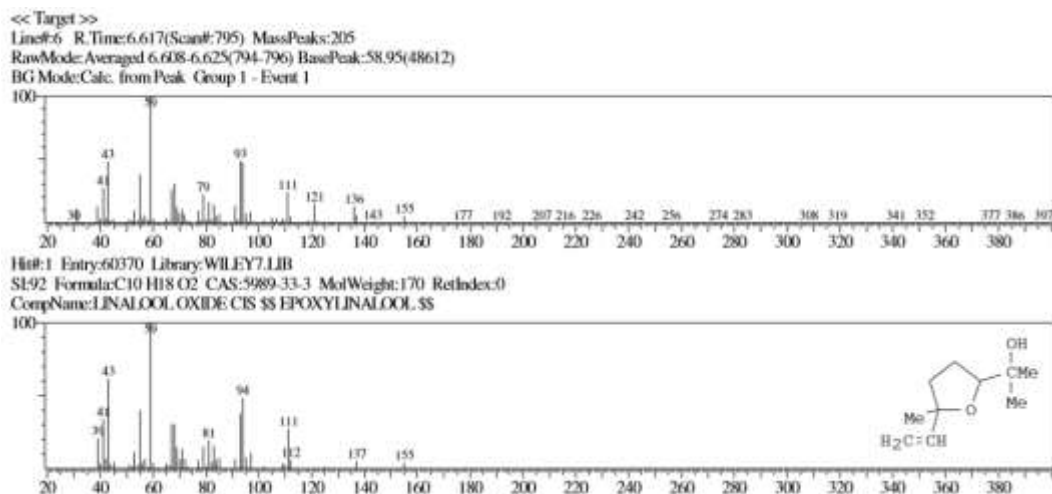
## Senyawa 1,3,6-Octatriene, 3,7-dimethyl- (E)-(CAS), Beta ocimene Y



## Senyawa Linalool Oxide (2)



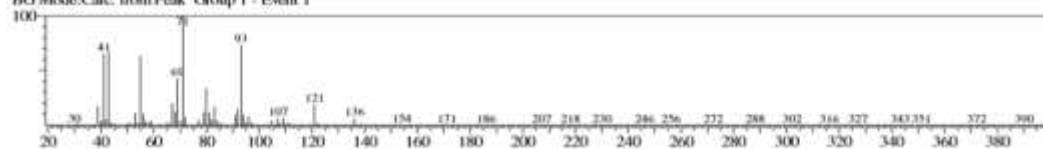
## Senyawa Linalool oxide cis



## Senyawa Linalool

&lt;&lt; Target &gt;&gt;

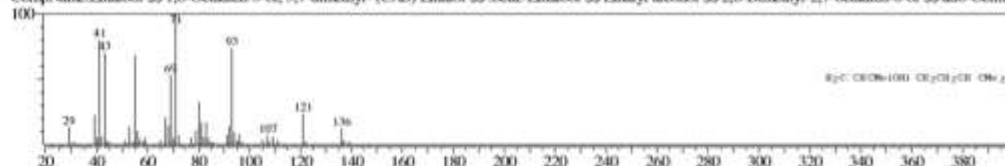
Line#:7 R.Time:6.750(Scan#:811) MassPeaks:225  
 RawMode:Averaged 6.742-6.758(810-812) BasePeak:70.95(318650)  
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:2 Entry:43693 Library:WILEY7.LIB

SI:97 Formula:C10H18O CAS:78-70-6 MolWeight:154 RetIndex:0

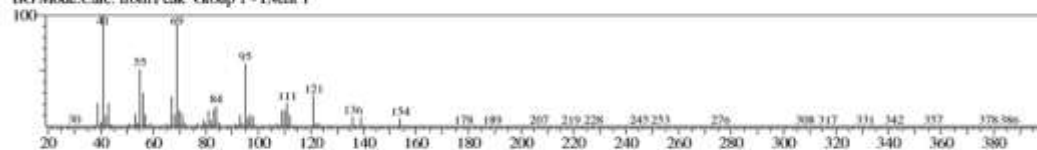
CompName:Linalool SS 1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl- (CAS) Linalol SS .beta.-Linalool SS Linalyl alcohol SS 2,6-Dimethyl-2,7-octadien-6-ol SS allo-Ocimer



## Senyawa Citronella

&lt;&lt; Target &gt;&gt;

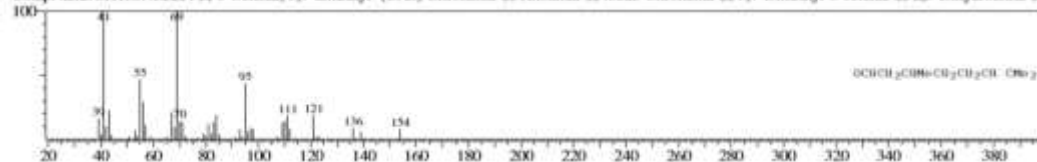
Line#:8 R.Time:7.600(Scan#:913) MassPeaks:310  
 RawMode:Averaged 7.592-7.608(912-914) BasePeak:40.95(4173990)  
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:43609 Library:WILEY7.LIB

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

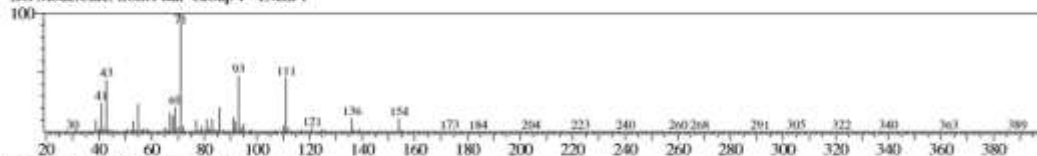
CompName:CITRONELLA SS 6-Octenal, 3,7-dimethyl- (CAS) Citronellal SS Rhodinol SS .beta.-Citronellal SS 3,7-Dimethyl-6-octenal SS 2,3-Dihydrocitraol SS



## Senyawa 3-cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-(CAS) 4-Terpineol

&lt;&lt; Target &gt;&gt;

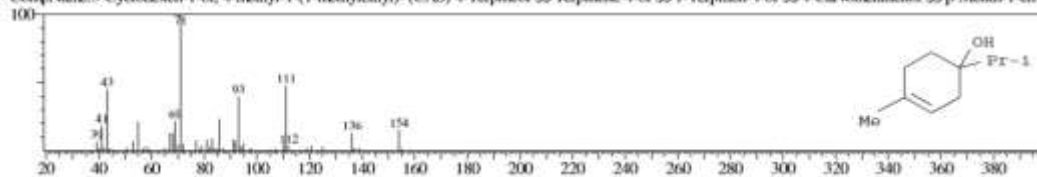
Line#:9 R.Time:8.042(Scan#:966) MassPeaks:221  
 RawMode:Averaged 8.033-8.050(965-967) BasePeak:70.95(45112)  
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:43755 Library:WILEY7.LIB

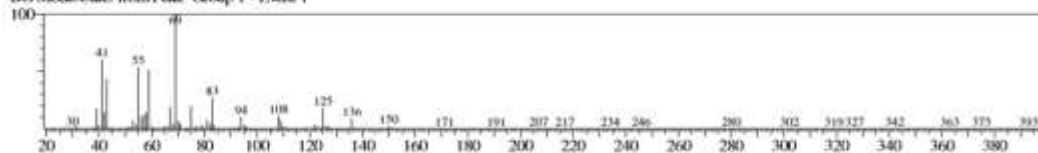
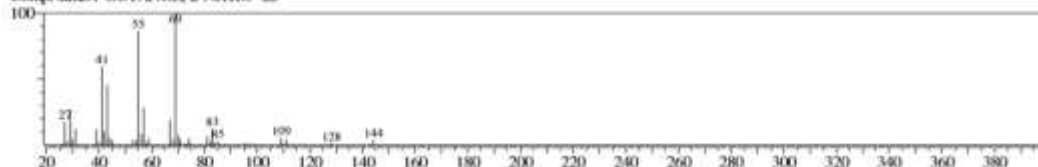
SI:96 Formula:C10H18O CAS:562-74-3 MolWeight:154 RetIndex:0

CompName:3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)- (CAS) 4-Terpineol SS Terpinene-4-ol SS 1-Terpinen-4-ol SS 4-Carvomenthenol SS p-Menth-1-en-4-



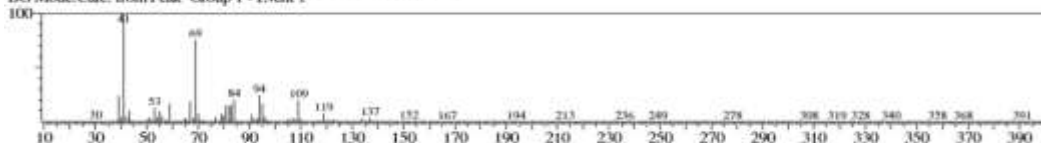
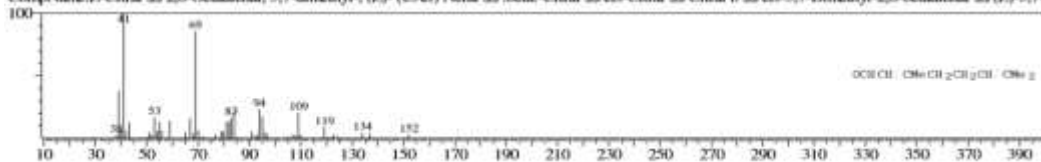
## Senyawa 1-Octanol, 2-Nitro

&lt;&lt; Target &gt;&gt;

Line#:10 R.Time:8.592(Scan#:1032) MassPeaks:210  
RawMode:Averaged 8.583-8.600(1031-1033) BasePeak:68.95(31027)  
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1Hit#:1 Entry:65494 Library:WILEY7.LIB  
SE87 Formula:C8 H17 N O3 CAS:2982-67-9 MolWeight:175 RetIndex:0  
CompName:1-OCTANOL, 2-NITRO- SS

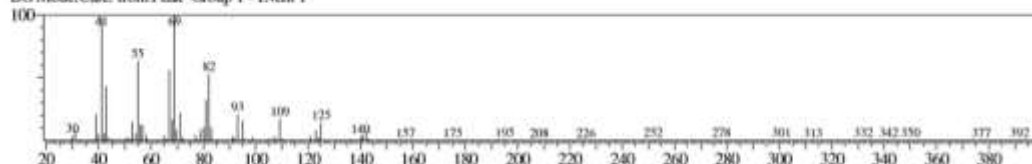
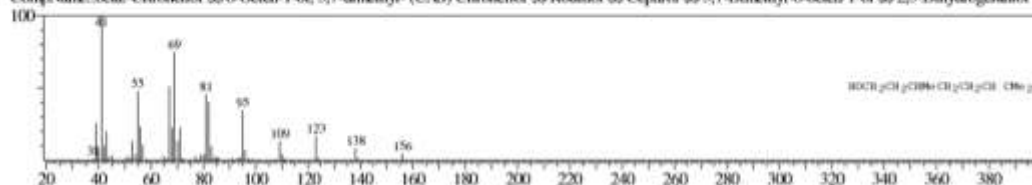
## Senyawa Z-citral

&lt;&lt; Target &gt;&gt;

Line#:11 R.Time:8.892(Scan#:1068) MassPeaks:223  
RawMode:Averaged 8.883-8.900(1067-1069) BasePeak:41.00(34137)  
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1Hit#:1 Entry:40967 Library:WILEY7.LIB  
SE96 Formula:C10 H16 O CAS:106-26-3 MolWeight:152 RetIndex:0  
CompName:Z-Citral SS 2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl-, (Z)- (CAS) Nerol SS .beta.-Citral SS cis-Citral SS Citral b SS cis-3,7-Dimethyl-2,6-octadienal SS (Z)-3,7-

## Senyawa Beta-Citronellol

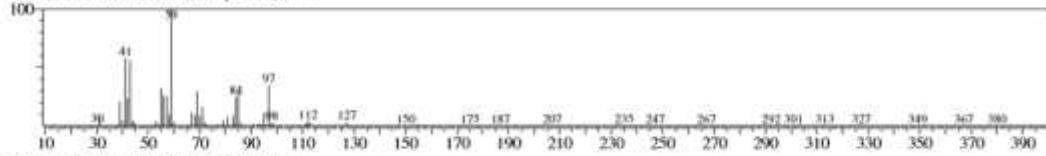
&lt;&lt; Target &gt;&gt;

Line#:12 R.Time:9.025(Scan#:1084) MassPeaks:179  
RawMode:Averaged 9.017-9.033(1083-1085) BasePeak:69.00(8621)  
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1Hit#:1 Entry:46127 Library:WILEY7.LIB  
SE86 Formula:C10 H20 O CAS:106-22-9 MolWeight:156 RetIndex:0  
CompName:.beta.-Citronellol SS 6-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl-, (CAS) Citronellol SS Rodinol SS Cephrol SS 3,7-Dimethyl-6-octen-1-ol SS 2,3-Dihydrogeraniol SS

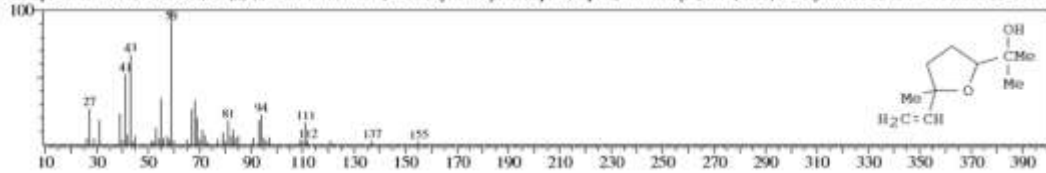
## Senyawa Linalool Oxide (2)

&lt;&lt; Target &gt;&gt;

Line#:13 R.Time:9.117(Scan#:1095) MassPeaks:247  
 RawMode:Averaged 9.108-9.125(1094-1096) BasePeak:58.95(61916)  
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



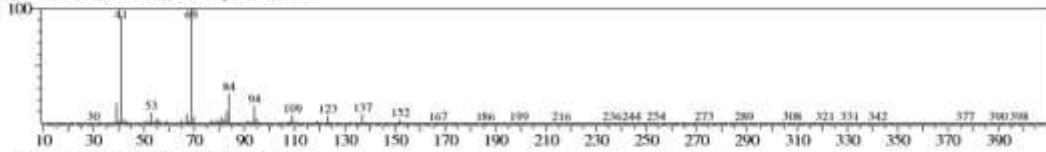
Hit#:1 Entry:61112 Library:WILEY7.LIB  
 SI:84 Formula:C10H18O2 CAS:5989-33-3 MolWeight:170 RetIndex:0  
 CompName:LINALOOL OXIDE (2) \$S 2-Furamethanol, 5-ethyltetrahydro- $\alpha$ -, $\alpha$ -5-trimethyl-, cis- (CAS) Linalyl oxide \$S Linalool oxide \$S Linalo



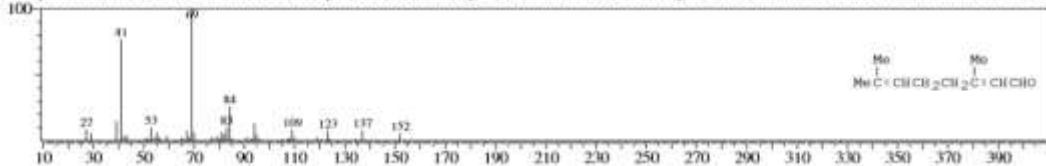
## Senyawa Citral

&lt;&lt; Target &gt;&gt;

Line#:14 R.Time:9.308(Scan#:1118) MassPeaks:189  
 RawMode:Averaged 9.300-9.317(1117-1119) BasePeak:68.95(45564)  
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



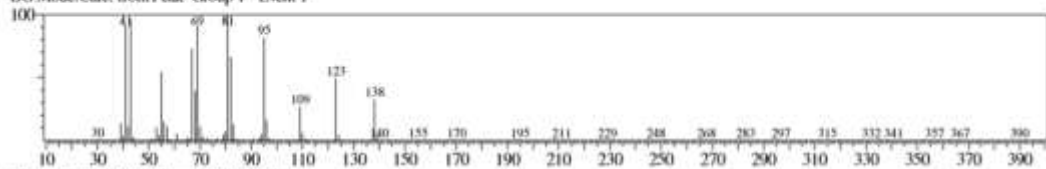
Hit#:1 Entry:40970 Library:WILEY7.LIB  
 SI:96 Formula:C10H16O CAS:5392-40-5 MolWeight:152 RetIndex:0  
 CompName:Citral \$S 2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl- (CAS) 3,7-Dimethyl-2,6-octadienal \$S 3,7-Dimethyl-1-2,6-octadienal \$S Citral,c&t \$S cis,trans-Citral \$S Ci



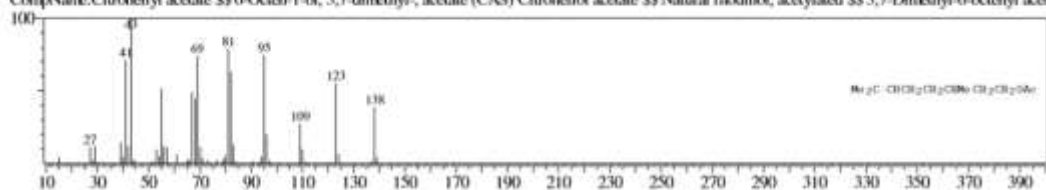
## Senyawa Citronellyl acetate

&lt;&lt; Target &gt;&gt;

Line#:15 R.Time:10.425(Scan#:1252) MassPeaks:233  
 RawMode:Averaged 10.417-10.433(1251-1253) BasePeak:80.95(235801)  
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



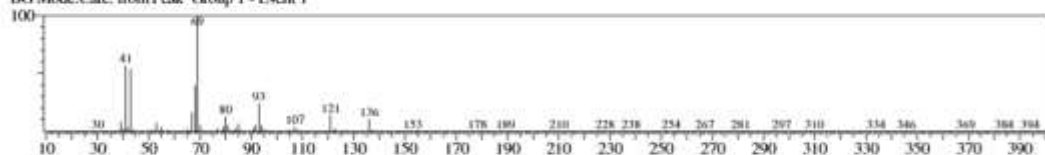
Hit#:1 Entry:93507 Library:WILEY7.LIB  
 SI:96 Formula:C12H22O2 CAS:150-84-5 MolWeight:198 RetIndex:0  
 CompName:Citronellyl acetate \$S 6-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl-, acetate (CAS) Citronellol acetate \$S Natural rhodinol, acetylated \$S 3,7-Dimethyl-6-octenyl acet



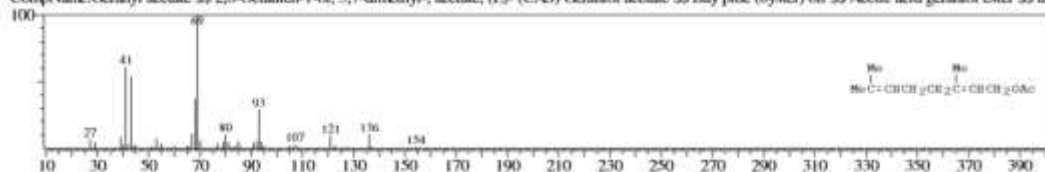
## Senyawa Geranyl acetate

&lt;&lt; Target &gt;&gt;

Line# 16 R.Time: 10.850(Scan#: 1303) MassPeaks: 216  
 RawMode: Averaged 10.842-10.858(1302-1304) BasePeak: 69.00(167851)  
 BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1



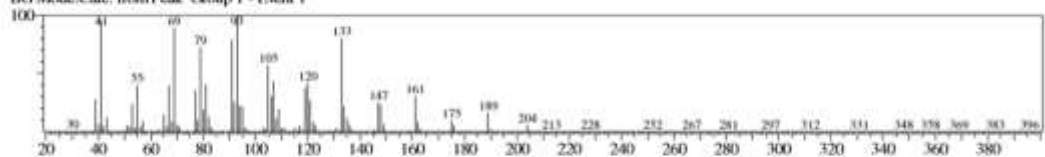
Hit# 1 Entry: 91009 Library: WILEY7.LIB  
 SI: 97 Formula: C<sub>12</sub>H<sub>20</sub>O<sub>2</sub> CAS: 105-87-3 MolWeight: 196 RetIndex: 0  
 CompName: Geranyl acetate SS 2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, acetate, (E)- (CAS) Geraniol acetate SS Bay pine (oyster) oil SS Acetic acid geraniol ester SS tr



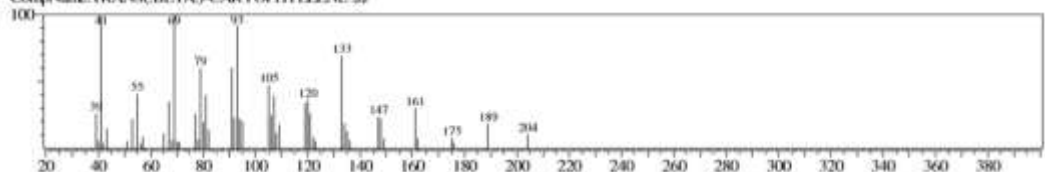
## Senyawa Trans (Beta)- Caryophyllene

&lt;&lt; Target &gt;&gt;

Line# 17 R.Time: 11.633(Scan#: 1397) MassPeaks: 249  
 RawMode: Averaged 11.625-11.642(1396-1398) BasePeak: 92.95(43128)  
 BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1



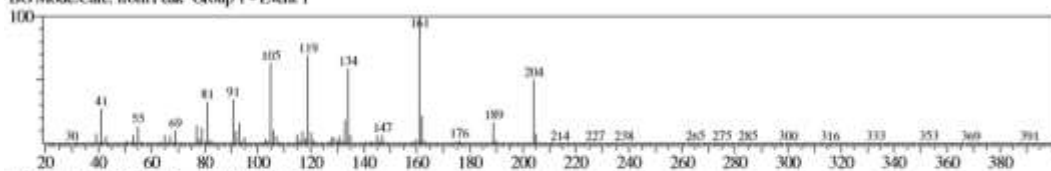
Hit# 1 Entry: 100327 Library: WILEY7.LIB  
 SI: 97 Formula: C<sub>15</sub>H<sub>24</sub> CAS: 0-00-0 MolWeight: 204 RetIndex: 0  
 CompName: TRANS-(BETA)-CARYOPHYLLENE SS



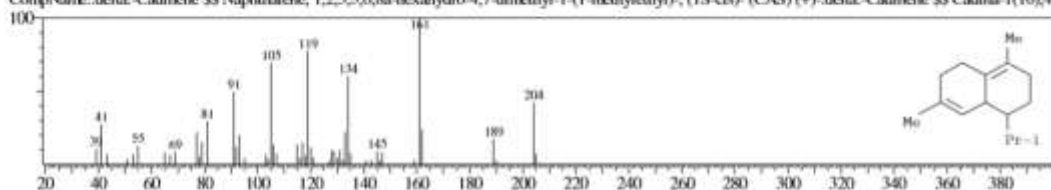
## Senyawa delta-Cadinene

&lt;&lt; Target &gt;&gt;

Line# 18 R.Time: 12.942(Scan#: 1554) MassPeaks: 253  
 RawMode: Averaged 12.933-12.950(1553-1555) BasePeak: 160.95(19724)  
 BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit# 1 Entry: 100891 Library: WILEY7.LIB  
 SI: 95 Formula: C<sub>15</sub>H<sub>24</sub> CAS: 483-76-1 MolWeight: 204 RetIndex: 0  
 CompName: .delta.-Cadinene SS Naphthalene, 1,2,3,5,6,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-, (1S-cis)- (CAS) (+)-.delta.-Cadinene SS Cadina-1(10),4-



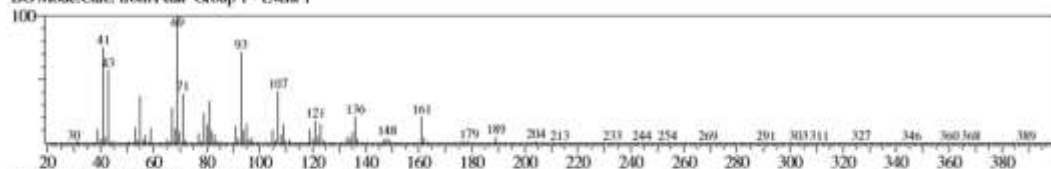
## Senyawa Nerolidol

&lt;&lt; Target &gt;&gt;

Line#:19 R.Time:13.383(Scan#:1607) MassPeaks:253

RawMode:Averaged 13.375-13.392(1606-1608) BasePeak:69.00(39815)

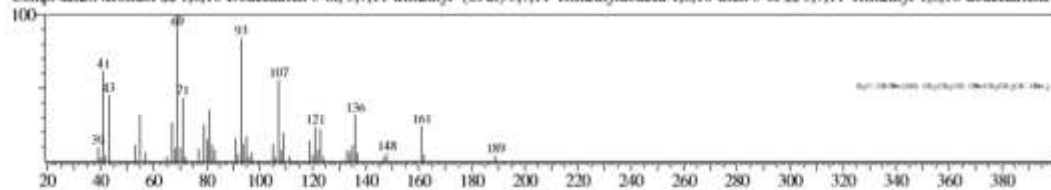
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:123919 Library:WILEY7.LIB

SI:95 Formula:C15 H26 O CAS:7212-44-4 MolWeight:222 RetIndex:0

CompName:Nerolidol SS 1,6,10-Dodecatrien-3-ol, 3,7,11-trimethyl- (CAS) 3,7,11-Trimethyldodeca-1,6,10-trien-3-ol SS 3,7,11-Trimethyl-1,6,10-dodecatriene-



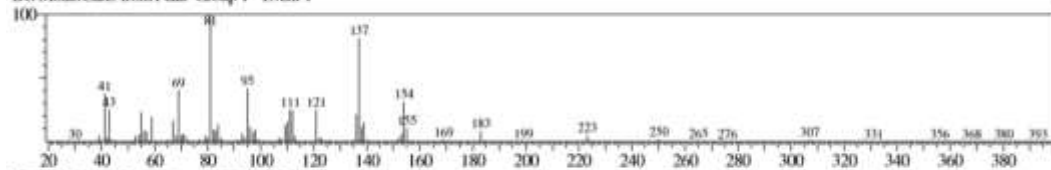
## Senyawa 3-Acetoxy-p-menthan-1-ol

&lt;&lt; Target &gt;&gt;

Line#:20 R.Time:17.667(Scan#:2121) MassPeaks:244

RawMode:Averaged 17.658-17.675(2120-2122) BasePeak:80.95(26098)

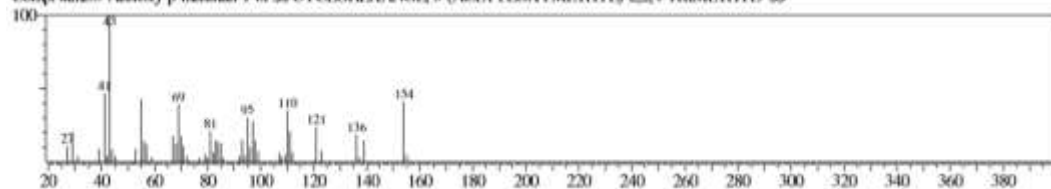
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:113464 Library:WILEY7.LIB

SI:79 Formula:C12 H22 O3 CAS:58315-86-9 MolWeight:214 RetIndex:0

CompName:3-Acetoxy-p-menthan-1-ol SS CYCLOHEXANOL, 3-(ACETYLOXYMETHYL)-2,2,4-TRIMETHYL- SS





## Lampiran 16. Diameter daya hambat uji difusi minyak atsiri

### ➤ Diameter daya hambat sampel uji 25%

Konsentrasi 25%	Diameter daerah hambatan (mm)					Rata-rata ± SD
	I	II	III	IV	V	
Amoksisilin (+)*	30,6	34,6	34,0	33,0	32,6	32,96±1,54
Aseton (-)	0	0	0	0	0	0
MS	23,3	21,0	18,6	19,3	19,6	20,36±1,86
MJ	13,0	12,6	14,6	13,3	13,6	13,42±0,76
1:1	20,6	19,6	20,3	20,6	19,3	20,08±0,60
1:2	19,0	18,3	18,3	19,3	19,3	18,84±0,51
1:3	18,6	20,3	20,0	18,6	18,3	19,16±0,92
2:1	22,6	21,0	21,6	20,3	21,3	21,36±0,84
3:1	20,6	20,6	21,3	20,3	21,0	20,76±0,39

\*Amoksisilin yang digunakan konsentrasi 2,5%

### ➤ Diameter daya hambat sampel uji 12,5%

Konsentrasi 12,5%	Diameter daerah hambatan (mm)					Rata-rata ± SD
	I	II	III	IV	V	
Amoksisilin (+)*	27,0	29,6	26,3	28,6	27,3	27,76±1,32
Aseton (-)	0	0	0	0	0	0
MS	18,0	15,6	15,6	16,6	15,6	16,28±1,05
MJ	9,6	10,0	8,6	11,3	11,0	10,10±1,09
1:1	16,3	15,0	15,6	16,0	15,3	15,64±0,52
1:2	15,6	13,6	14,3	15,0	14,6	14,62±0,75
1:3	14,0	14,3	14,6	14,3	14,6	14,36±0,25
2:1	17,3	17,0	15,3	16,6	15,6	16,36±0,87
3:1	15,6	16,3	14,6	15,3	15,6	15,48±0,61

\*Amoksisilin yang digunakan konsentrasi 1,25%

### ➤ Diameter daya hambat sampel uji 6,25%

Konsentrasi 6,25%	Diameter daerah hambatan (mm)					Rata-rata ± SD
	I	II	III	IV	V	
Amoksisilin (+)*	20,6	22,0	22,3	22,0	22,3	21,84±0,71
Aseton (-)	0	0	0	0	0	0
MS	10,3	11,3	12,0	10,6	11,0	11,04±0,66
MJ	9,3	8,6	9,0	8,0	8,6	8,70±0,49
1:1	10,0	11,3	10,3	11,0	9,6	10,44±0,70
1:2	9,3	10,6	10,3	9,3	8,3	9,56±0,92
1:3	8,3	11,0	9,0	9,6	8,0	9,18±1,19
2:1	11,3	11,6	11	10,6	9	10,70±1,02
3:1	10	11,3	10,6	10,3	8,3	10,10±1,12

\*Amoksisilin yang digunakan konsentrasi 0,625%

**Contoh Perhitungan Diameter Daya Hambat :**

➤ Amoksisilin 2,5% (+) :

$$\text{Replikasi I} = \frac{3,0 + 3,1 + 3,1}{3} = 3,06 \text{ cm} = 30,6 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{3,4 + 3,5 + 3,5}{3} = 3,46 \text{ cm} = 34,6 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{3,4 + 3,3 + 3,5}{3} = 3,4 \text{ cm} = 34 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi IV} = \frac{3,3 + 3,3 + 3,3}{3} = 3,3 \text{ cm} = 33 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi V} = \frac{3,3 + 3,2 + 3,3}{3} = 3,26 \text{ cm} = 32,6 \text{ mm.}$$

### Lampiran 17. Pembuatan larutan stok sampel uji dan Kontrol positif

#### ➤ Sampel uji 25%; 12,5%; 6,25%

Minyak atsiri batang sereh wangi (MS) dan minyak atsiri daun jeruk purut (MJ) :

$$\begin{aligned} \text{MS 25\% : } V_1.C_1 &= V_2.C_2 \\ V_1. 100\% &= 3. 25\% \\ V_1 &= 0,75 \text{ ml ad 3 ml pelarut} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{MJ 25\% : } V_1.C_1 &= V_2.C_2 \\ V_1. 100\% &= 3. 25\% \\ V_1 &= 0,75 \text{ ml ad 3 ml pelarut} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{MS 12,5\% : } V_1.C_1 &= V_2.C_2 \\ V_1. 100\% &= 3. 12,5\% \\ V_1 &= 0,375 \text{ ml ad 3 ml pelarut} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{MJ 12,5\% : } V_1.C_1 &= V_2.C_2 \\ V_1. 100\% &= 3. 12,5\% \\ V_1 &= 0,375 \text{ ml ad 3 ml pelarut} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{MS 6,25\% : } V_1.C_1 &= V_2.C_2 \\ V_1. 100\% &= 3. 6,25\% \\ V_1 &= 0,1875 \text{ ml ad 3 ml pelarut} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{MJ 6,25\% : } V_1.C_1 &= V_2.C_2 \\ V_1. 100\% &= 3. 6,25\% \\ V_1 &= 0,1875 \text{ ml ad 3 ml pelarut} \end{aligned}$$

#### ➤ Kontrol Positif

Amoksisilin 2,5%; 1,25%; 0,625% :

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi amoksisilin} &= 125 \text{ mg/ 5 ml} \\ &= 2500 \text{ mg/100 ml} \\ &= 25 \text{ mg/ml} \\ &= 2,5\% \text{ b/v} \end{aligned}$$

Amoksisilin 1,25%

$$\begin{aligned} V_1.C_1 &= V_2.C_2 \\ V_1. 2,5\% &= 2. 1,25\% \end{aligned}$$

V1 = 1 ml ad 2 ml aquadest steril

Amoksisilin 0,625%

$$V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$

$$V_1 \cdot 2,5\% = 2 \cdot 0,625\%$$

V1 = 0,5 ml ad 2 ml aquadest steril

### Lampiran 18. Hasil analisis SPSS

Sampel Uji		Tests of Normality			Shapiro-Wilk		
		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Statistic	df	Sig.
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Diameter	Kontrol positif	,193	15	,138	,916	15	,170
Daya Hambat	MS	,161	15	,200 <sup>*</sup>	,935	15	,327
	MJ	,166	15	,200 <sup>*</sup>	,905	15	,115
	1:1	,173	15	,200 <sup>*</sup>	,887	15	,060
	1:2	,173	15	,200 <sup>*</sup>	,899	15	,091
	1:3	,161	15	,200 <sup>*</sup>	,911	15	,139
	2:1	,172	15	,200 <sup>*</sup>	,918	15	,182
	3:1	,190	15	,152	,897	15	,085

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

a. Lilliefors Significance Correction

### Descriptive Statistics

Dependent Variable: Diameter Daya Hambat

Sampel Uji	Konsentrasi	Mean	Std. Deviation	N
Kontrol positif	25%	32,9600	1,53883	5
	12,5%	27,7600	1,32401	5
	6,25%	21,8400	,70922	5
	Total	27,5200	4,84078	15
MS	25%	20,3600	1,86091	5
	12,5%	16,2800	1,05451	5
	6,25%	11,0400	,65803	5
	Total	15,8933	4,12578	15
MJ	25%	13,4200	,75631	5
	12,5%	10,1000	1,09087	5
	6,25%	8,7000	,48990	5
	Total	10,7400	2,18397	15
1:1	25%	20,0800	,59749	5
	12,5%	15,6400	,52249	5
	6,25%	10,4400	,70214	5
	Total	15,3867	4,11701	15
1:2	25%	18,8400	,50794	5
	12,5%	14,6200	,74967	5
	6,25%	9,5600	,91542	5
	Total	14,3400	3,98673	15
1:3	25%	19,1600	,91815	5
	12,5%	14,3600	,25100	5
	6,25%	9,1800	1,19248	5
	Total	14,2333	4,29645	15
2:1	25%	21,3600	,84439	5
	12,5%	16,3600	,87350	5
	6,25%	10,7000	1,01980	5
	Total	16,1400	4,58660	15
3:1	25%	20,7600	,39115	5
	12,5%	15,4800	,61400	5
	6,25%	10,1000	1,11580	5
	Total	15,4467	4,56068	15
Total	25%	20,8675	5,27249	40
	12,5%	16,3250	4,83496	40
	6,25%	11,4450	4,12596	40
	Total	16,2125	6,10566	120

**Levene's Test of Equality of Error Variances<sup>a</sup>**

Dependent Variable: Diameter Daya Hambat

F	df1	df2	Sig.
1,614	23	96	,056

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: Diameter Daya Hambat

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	4352,075 <sup>a</sup>	23	189,221	215,903	,000
Intercept	31541,419	1	31541,419	35989,068	,000
Samuji	2499,102	7	357,015	407,357	,000
kons	1776,430	2	888,215	1013,462	,000
Samuji * kons	76,544	14	5,467	6,238	,000
Error	84,136	96	,876		
Total	35977,630	120			
Corrected Total	4436,211	119			

a. R Squared = ,981 (Adjusted R Squared = ,976)

**Post Hoc Tests****Sampel Uji****Multiple Comparisons**

Dependent Variable: Diameter Daya Hambat

Tukey HSD

(I) Sampel Uji	(J) Sampel Uji	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol positif	MS	11,6267*	,34184	,000	10,5674	12,6860
	MJ	16,7800*	,34184	,000	15,7207	17,8393
	1:1	12,1333*	,34184	,000	11,0740	13,1926
	1:2	13,1800*	,34184	,000	12,1207	14,2393
	1:3	13,2867*	,34184	,000	12,2274	14,3460
	2:1	11,3800*	,34184	,000	10,3207	12,4393
	3:1	12,0733*	,34184	,000	11,0140	13,1326
MS	Kontrol positif	-11,6267*	,34184	,000	-12,6860	-10,5674
	MJ	5,1533*	,34184	,000	4,0940	6,2126
	1:1	,5067*	,34184	,815	-,5526	1,5660
	1:2	1,5533*	,34184	,000	,4940	2,6126
	1:3	1,6600*	,34184	,000	,6007	2,7193
	2:1	-,2467*	,34184	,996	-1,3060	,8126
	3:1	,4467*	,34184	,894	-,6126	1,5060
MJ	Kontrol positif	-16,7800*	,34184	,000	-17,8393	-15,7207
	MS	-5,1533*	,34184	,000	-6,2126	-4,0940
	1:1	-4,6467*	,34184	,000	-5,7060	-3,5874
	1:2	-3,6000*	,34184	,000	-4,6593	-2,5407
	1:3	-3,4933*	,34184	,000	-4,5526	-2,4340
	2:1	-5,4000*	,34184	,000	-6,4593	-4,3407
	3:1	-4,7067*	,34184	,000	-5,7660	-3,6474
1:1	Kontrol positif	-12,1333*	,34184	,000	-13,1926	-11,0740
	MS	-,5067*	,34184	,815	-1,5660	,5526

	MJ	4,6467*	,34184	,000	3,5874	5,7060
	1:2	1,0467	,34184	,055	-,0126	2,1060
	1:3	1,1533*	,34184	,023	,0940	2,2126
	2:1	-,7533	,34184	,359	-1,8126	,3060
	3:1	-,0600	,34184	1,000	-1,1193	,9993
1:2	Kontrol positif	-13,1800*	,34184	,000	-14,2393	-12,1207
	MS	-1,5533*	,34184	,000	-2,6126	-,4940
	MJ	3,6000*	,34184	,000	2,5407	4,6593
	1:1	-1,0467	,34184	,055	-2,1060	,0126
	1:3	,1067	,34184	1,000	-,9526	1,1660
	2:1	-1,8000*	,34184	,000	-2,8593	-,7407
	3:1	-1,1067*	,34184	,034	-2,1660	-,0474
1:3	Kontrol positif	-13,2867*	,34184	,000	-14,3460	-12,2274
	MS	-1,6600*	,34184	,000	-2,7193	-,6007
	MJ	3,4933*	,34184	,000	2,4340	4,5526
	1:1	-1,1533*	,34184	,023	-2,2126	-,0940
	1:2	-,1067	,34184	1,000	-1,1660	,9526
	2:1	-1,9067*	,34184	,000	-2,9660	-,8474
	3:1	-1,2133*	,34184	,013	-2,2726	-,1540
2:1	Kontrol positif	-11,3800*	,34184	,000	-12,4393	-10,3207
	MS	,2467	,34184	,996	-,8126	1,3060
	MJ	5,4000*	,34184	,000	4,3407	6,4593
	1:1	,7533	,34184	,359	-,3060	1,8126
	1:2	1,8000*	,34184	,000	,7407	2,8593
	1:3	1,9067*	,34184	,000	,8474	2,9660
	3:1	,6933	,34184	,469	-,3660	1,7526
3:1	Kontrol positif	-12,0733*	,34184	,000	-13,1326	-11,0140
	MS	-,4467	,34184	,894	-1,5060	,6126
	MJ	4,7067*	,34184	,000	3,6474	5,7660
	1:1	,0600	,34184	1,000	-,9993	1,1193
	1:2	1,1067*	,34184	,034	,0474	2,1660
	1:3	1,2133*	,34184	,013	,1540	2,2726
	2:1	-,6933	,34184	,469	-1,7526	,3660

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,876.

\*. The mean difference is significant at the 0,05 level.

## Homogeneous Subsets

### Diameter Daya Hambat

Tukey HSD<sup>a,b</sup>

Sampel Uji	N	Subset				
		1	2	3	4	5
MJ	15	10.7400				
1:3	15		14.2333			
1:2	15		14.3400	14.3400		
1:1	15			15.3867	15.3867	
3:1	15				15.4467	
MS	15				15.8933	
2:1	15				16.1400	
Kontrol positif	15					27.5200
Sig.		1.000	1.000	.055	.359	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .876.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 15.000.

b. Alpha = 0.05.

## Konsentrasi

### Multiple Comparisons

Dependent Variable: Diameter Daya Hambat

Tukey HSD

(I) Konsentrasi	(J) Konsentrasi	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
25%	12,5%	4,5425	,20933	,000	4,0442	5,0408
	6,25%	9,4225	,20933	,000	8,9242	9,9208
12,5%	25%	-4,5425	,20933	,000	-5,0408	-4,0442
	6,25%	4,8800	,20933	,000	4,3817	5,3783
6,25%	25%	-9,4225	,20933	,000	-9,9208	-8,9242
	12,5%	-4,8800	,20933	,000	-5,3783	-4,3817

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,876.

\*. The mean difference is significant at the 0,05 level.



## Homogeneous Subsets

### Diameter Daya Hambat

Tukey HSD<sup>a,b</sup>

Konsentrasi	N	Subset		
		1	2	3
6,25%	40	11.4450		
12,5%	40		16.3250	
25%	40			20.8675
Sig.		1.000	1.000	1.000

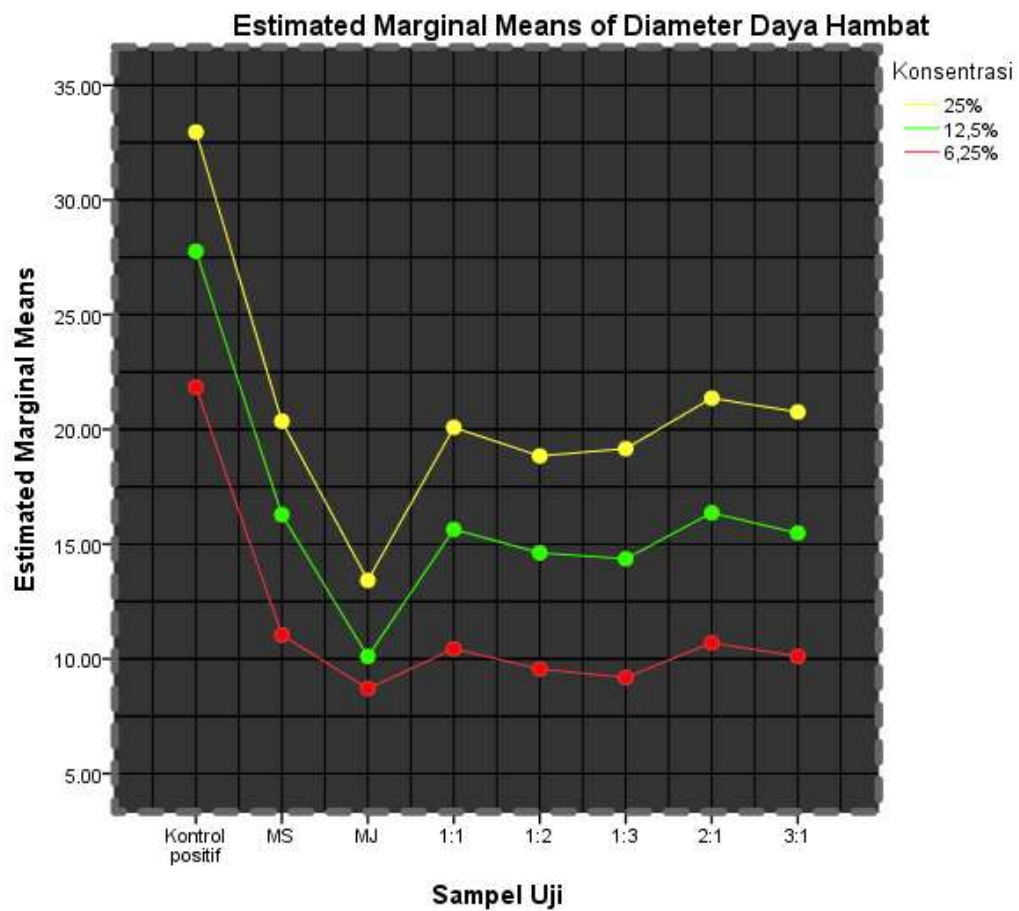
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .876.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 40.000.

b. Alpha = 0.05.



### Lampiran 19. 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.