

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI MINYAK ATSIRI JAHE MERAH
(*Zingiber officinale* Var. *Rubrum*) DAN LEMPUYANG WANGI (*Zingiber
aromaticum* Val.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**



Oleh :

**Rahmatul Insyirah
19133826 A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI MINYAK ATSIRI JAHE MERAH
(*Zingiber officinale* Var. *Rubrum*) DAN LEMPUYANG WANGI (*Zingiber
aromaticum* Val.) 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:

Rahmatul Insyirah

19133826 A

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

PENGESAHAN SKRIPSI
berjudul

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI MINYAK ATSIRI JAHE MERAH
(*Zingiber officinale* Var. *Rubrum*) DAN LEMPUYANG WANGI (*Zingiber
aromaticum* Val.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

Oleh :

Rahmatul Insyirah
19133826 A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 9 Juni 2017

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



Dekan,

Prof. Dr. A. Setari, SU., MM., M.Sc., Apt.

Pembimbing Utama

Dr. Ana Indrayati, M.Si.

Pembimbing Pendamping

Endang Sri Rejeki, M.Si., Apt.

Penguji:

1. Drs. Edy Prasetya
2. D. Andang Arif Wibawa S.P., M.Si.
3. Sri Rejeki Handayani M.Farm., Apt
4. Dr. Ana Indrayati, M.Si.

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

PERSEMBAHAN

Kupersembahkan skripsi ini untuk :

Allah SWT yang telah memberikan rahmat serta ridho-Nya sehingga skripsi ini dapat dibuat dan selesai tepat pada waktunya.

Mama dan abah tersayang (Hj. Norsyaibah dan H. Abdul Khair) yang selalu menyayangi dan memberi kasih sayang yang berlimpah pada anakmu ini. Terimakasih karena kerja keras, dukungan dan dorongan baik moral maupun finansial serta doa-doa mama abah anakmu bisa sampai pada tahap ini.

Saudaraku tersayang (Kakak Alfi, Adek Lia, Adek Ahmad) yang telah memberikan semangat dan motivasinya sehingga skripsi ini dapat diselesaikan.

Dosen pembimbingku bu Ana dan bu Endang yang telah meluangkan waktunya dan bersedia membimbing serta memberikan masukan-masukan yang bermanfaat hingga skripsi ini terselesaikan.

Calon teman masa depan yang sudah memberikan motivasi dan semangat dalam setiap prosesnya.

Sahabat dan teman seperjuangan (Dina, Jeni, Op) sahabat dari jaman SMK sampai ngeskripsi satu tim, (Cating, Mamu Iren, Ambu, Ipik, Marwin, Boy) tim korban kosan dan anak rantauan dari awal masuk kuliah, pasangan hamster (Dinul dan Njay), juragan pulsa (Hani), KKN10 2016, Teori 2 2013, FKK 2 2013 dan teman-teman lainnya yang tidak dapat disebutkan satu-satu.

Almamater dan Indonesia kebanggaanku.

Thank you so much for anything ^_^

“Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan.”

(QS. Al Insyirah; 6)

Man jadda wajada, man saaro'ala ddarbi washola!!!!

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/skripsi/tesis/disertasi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akedemisi maupun hukum.

Surakarta, Juni 2017

Yang menyatakan,



Rahmatul Insyirah

KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirobbil'alamin, puji syukur kehadirat Allah SWT yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang, atas segala rahmat dan ridhoNya diberikan kemudahan dalam penelitian, penyusunan skripsi ini dengan judul **“UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI MINYAK ATSIRI JAHE MERAH (*Zingiber officinale* Var. *Rubrum*) DAN LEMPUYANG WANGI (*Zingiber aromaticum* Val.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923”**. Skripsi ini disusun guna memenuhi salah satu syarat mencapai gelar derajat Sarjana Farmasi (S.Farm) di Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi di Surakarta.

Segala bantuan, dukungan dan kesempatan yang diberikan kepada penulis selama penelitian hingga terselesainya skripsi ini, penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Dr. Djoni Tarigan, MBA., selaku Rektor Universitas Setia Budi.
2. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi di Surakarta.
3. Dr. Ana Indrayati, M.Si., selaku Pembimbing Utama yang telah banyak memberikan dorongan, nasehat, petunjuk, dan bimbingan kepada penulis selama penelitian ini berlangsung.
4. Endang Sri Rejeki, Msi., Apt., selaku Pembimbing Pendamping yang telah banyak memberikan bimbingan serta arahan dalam pembuatan skripsi ini.

5. Dosen penguji yang telah menyediakan waktu untuk menguji dan memberikan masukan dalam menyempurnakan skripsi ini.
6. Kedua orang tua, kakak dan adik-adikku tercinta yang telah memberikan kasih sayang dan doa tiada henti, serta dukungan baik moral, spiritual dan material sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
7. Seluruh sahabat, teman seperjuangan S1 Farmasi angkatan 2013, semua dosen dan staf pegawai Universitas Setia Budi.
8. Petugas laboran yang telah memberikan petunjuk selama praktek penelitian skripsi.

Semoga Allah SWT membalas semua kebaikan kalian. Akhir kata penulis menyadari bahwa skripsi ini masih ada kekurangan, semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pengembangan di bidang Farmasi.

Surakarta, Juni 2017

Penulis

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
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	4
D. Kegunaan Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
A. Jahe Merah	5
1. Sistematika jahe merah.....	5
2. Nama daerah.....	5
3. Morfologi jahe merah	5
4. Kandungan jahe merah	6
5. Kegunaan tanaman	6
B. Lempuyang Wangi	7
1. Sistematika lempuyang wangi.....	7
2. Nama daerah.....	7
3. Morfologi lempuyang wangi	7
4. Kandungan kimia	8
5. Kegunaan tanaman	8
C. Simplisia.....	8
1. Pengertian simplisia.....	8

2.	Pengumpulan simplisia.....	9
3.	Pemilihan simplisia	9
4.	Cara pembuatan simplisia	9
D.	Destilasi.....	10
1.	Pengertian destilasi.....	10
2.	Macam-macam destilasi	10
2.1.	Destilasi dengan air	10
2.2.	Destilasi dengan uap dan air.....	10
2.3.	Destilasi dengan uap langsung	10
E.	Minyak Atsiri	11
1.	Pengertian minyak atsiri	11
2.	Sumber minyak atsiri.....	11
3.	Sifat minyak atsiri	11
4.	Penggunaan minyak atsiri	12
5.	Isolasi minyak atsiri.....	13
6.	Penyimpanan minyak atsiri	13
F.	<i>Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)</i>	13
G.	Media.....	14
1.	Pengertian media	14
2.	Klasifikasi media	14
H.	Sterilisasi	15
I.	<i>Staphylococcus aureus</i>	15
1.	Sistematika <i>Staphylococcus aureus</i>	15
2.	Morfologi dan identifikasi.....	16
3.	Patogenesis	16
J.	Antibakteri.....	17
1.	Pengertian	17
2.	Mekanisme kerja antibakteri	18
2.1.	Menghambat sintesis dinding sel bakteri	18
2.2.	Menghambat fungsi membran sel bakteri	18
2.3.	Menghambat sintesis protein sel bakteri	19
2.4.	Menghambat sintesis asam nukleat sel bakteri.....	19
2.5.	Menghambat metabolisme sel bakteri.....	19
3.	Uji aktivitas antibakteri	19
3.1.	Metode difusi.....	19
3.2.	Metode dilusi	20
K.	Kombinasi Obat Herbal.....	21
L.	Amoksisilin	21
M.	Landasan Teori.....	22
N.	Hipotesis.....	23
BAB III	METODE PENELITIAN	25
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
2.1.	Variabel bebas	26
2.2.	Variabel terkontrol	26
2.3.	Variabel tergantung	26
3.	Definisi operasional variabel utama	26
C.	Alat dan Bahan	27
1.	Alat	27
2.	Bahan	27
D.	Jalannya Penelitian	27
1.	Determinasi tanaman	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	Pemeriksaan indeks bias minyak atsiri	29
4.4	Penetapan bobot jenis minyak atsiri	29
4.5	Uji kelarutan dalam etanol.	30
4.6	Karakterisasi komponen senyawa penyusun minyak atsiri dengan Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS).	30
5.	Sterilisasi	30
6.	Pembuatan suspensi bakteri uji <i>S. aureus</i> ATCC 25923	30
7.	Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	31
7.1	Identifikasi mikroorganisme dengan pewarnaan Gram	31
7.2	Identifikasi mikroskopis secara morfologi	31
7.3	Identifikasi <i>S. aureus</i> ATCC 25923 dengan uji biokimia	31
8.	Pembuatan kombinasi bahan uji	32
9.	Pengujian aktivitas antibakteri	32
E.	Analisis hasil	34
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN		40
A.	Hasil Penelitian	40
1.	Determinasi tanaman	40
2.	Pengambilan bahan	40
3.	Isolasi minyak atsiri	40
4.	Analisa minyak atsiri	42
4.1	Pengamatan organoleptik	42
4.2	Identifikasi minyak atsiri.	42
4.3	Penetapan indeks bias minyak atsiri.	43
4.5	Uji kelarutan dalam etanol.	45
4.6	Karakteristik komponen senyawa minyak atsiri dengan Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)... ..	45
5.	Pembuatan suspensi bakteri uji <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	47

6.	Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	47
6.1	Identifikasi mikroorganisme dengan pewarnaan Gram.....	47
6.2	Identifikasi morfologi pada media VJA.....	47
6.3	Identifikasi <i>S. aureus</i> ATCC 25923 dengan uji biokimia.	48
7.	Pengujian aktivitas antibakteri	49
7.1	Pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi. .	49
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN	54
A.	Kesimpulan	54
B.	Saran.....	54
DAFTAR PUSTAKA	55
LAMPIRAN	60

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Skema isolasi minyak atsiri rimpang jahe merah.....	35
Gambar 2. Skema isolasi minyak atsiri rimpang lempuyang wangi.....	36
Gambar 3. Skema pembuatan suspensi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	37
Gambar 4. Skema pengujian aktivitas antibakteri secara difusi	38
Gambar 5. Skema pengujian aktivitas antibakteri kombinasi minyak atsiri jahe merah dan lempuyang wangi terhadap bakteri <i>S. aureus</i> ATCC 25923 secara dilusi	39

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Volume yang dibutuhkan untuk membuat sampel uji.....	32
Tabel 2. Kadar minyak atsiri jahe merah.....	41
Tabel 3. Kadar minyak atsiri lempuyang wangi.....	41
Tabel 4. Hasil pemeriksaan organoleptik minyak atsiri jahe merah.....	42
Tabel 5. Hasil pemeriksaan organoleptik minyak atsiri lempuyang waangi.....	42
Tabel 6. Hasil identifikasi minyak atsiri jahe merah dan lempuyang wangi.....	43
Tabel 7. Indeks bias minyak atsiri jahe merah dan lempuyang wangi	43
Tabel 8. Hasil penetapan bobot jenis minyak atsiri jahe merah	44
Tabel 9. Hasil penetapan bobot jenis minyak atsiri lempuyang wangi	44
Tabel 10. Hasil analisis komponen utama minyak atsiri jahe merah dengan GC-MS	45
Tabel 11. Hasil analisis komponen utama minyak atsiri lempuyang wangi dengan GC-MS	45
Tabel 12. Diameter hambat konsentrasi 50% dari uji difusi minyak atsiri	49
Tabel 13. Diameter hambat konsentrasi 25% dari uji difusi minyak atsiri	49
Tabel 14. Diameter hambat konsentrasi 12,5% dari uji difusi minyak atsiri	49
Tabel 15. Hasil uji dilusi kombinasi minyak atsiri lempuyang wangi dan jahe merah (1:3) pada bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	52

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil determinasi tanaman jahe merah.....	61
Lampiran 2. Hasil determinasi tanaman lempuyang wangi	62
Lampiran 3. Jahe merah, lempuyang wangi dan destilasi.....	63
Lampiran 4. Minyak atsiri jahe merah dan lempuyang wangi.....	64
Lampiran 5. Alat-alat	65
Lampiran 6. Bahan uji antibakteri.....	67
Lampiran 7. Identifikasi minyak atsiri dan kelarutan dalam alkohol	70
Lampiran 8. Identifikasi minyak atsiri indeks bias	71
Lampiran 9. Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	72
Lampiran 10. Hasil uji aktivitas antibakteri dengan difusi	73
Lampiran 11. Hasil uji aktivitas antibakteri dengan dilusi	76
Lampiran 12. Perhitungan kadar minyak atsiri jahe merah	77
Lampiran 13. Perhitungan kadar minyak atsiri lempuyang wangi	79
Lampiran 14. Hasil perhitungan indeks bias minyak atsiri.....	80
Lampiran 15. Perhitungan bobot jenis minyak atsiri	81
Lampiran 16. Hasil analisis GCMS minyak atsiri	84
Lampiran 17. Diameter daya hambat tunggal dan kombinasi dari uji difusi minyak atsiri	102
Lampiran 18. Hasil analisis dengan SPSS	107
Lampiran 19. Komposisi media	111

INTISARI

INSYIRAH R., 2017, UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI MINYAK ATSIRI JAHE MERAH (*Zingiber officinale* Var. Rubrum) DAN LEMPUYANG WANGI (*Zingiber aromaticum* Val.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Minyak atsiri jahe merah (*Zingiber officinale* Var. Rubrum) dan lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* Val.) diketahui memiliki khasiat sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas dari kombinasi minyak atsiri jahe merah (*Zingiber officinale* Var. Rubrum) dan lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* Val.) sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi dan dilusi. Konsentrasi minyak atsiri yang digunakan pada uji difusi adalah 50%, 25% dan 12,5% dengan kombinasi perbandingan jahe merah dan lempuyang wangi 1:1; 1:3 dan 3:1. Diameter daya hambat masing-masing kombinasi sebesar $20,10 \pm 0,17$; $15,43 \pm 0,75$; $24,30 \pm 0,89$ mm. Pada uji dilusi menggunakan konsentrasi deret bertingkat yaitu 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,56%; dan 0,78% pada perbandingan 3:1 diperoleh nilai Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) sebesar 3,125%. Data dianalisis menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) dua arah. Berdasarkan hasil uji yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa kombinasi minyak atsiri jahe merah (*Zingiber officinale* Var. Rubrum) dan lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* Val.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan diameter hambat terbesar $24,30 \pm 0,89$ mm dan KBM sebesar 3,125%. Hasil analisis ANOVA dua arah menunjukkan perbedaan yang signifikan pada tiap kombinasi perbandingan.

Kata kunci: Antibakteri, *Staphylococcus aureus*, Minyak Atsiri, *Zingiber officinale* Var. Rubrum, *Zingiber aromaticum* Val.

ABSTRACT

INSYIRAH R., 2017. ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST COMBINATION ESSENTIAL OIL OF RED GINGER (*Zingiber officinale* Var. *Rubrum*) AND LEMPUYANG WANGI (*Zingiber aromaticum* Val.) AGAINST *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, ESSAY, PHARMACY OF FACULTY, SETIA BUDI OF UNIVERSITY, SURAKARTA.

Essential oil of red ginger (*Zingiber officinale* Var. *Rubrum*) and lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* Val.) was known to have antibacterial efficacy. This study aims to determine the activity of combination essential oil of red ginger (*Zingiber officinale* Var. *Rubrum*) and lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* Val.) as antibacterial to *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Antibacterial activity test conducted by diffusion and dilution methods. The essential oil concentration on diffusion method were 50%, 25% and 12,5% combined comparison red ginger and lempuyang wangi 1:1; 1:3 and 3:1. Inhibition zone diameter for each combination were 20.10 ± 0.17 ; 15.43 ± 0.75 ; 24.30 ± 0.89 mm. On dilution test used concentration series of 50%; 25%; 12.5%; 6.25%; 3.125%; 1.56%; and 0.78% with their comparison 3:1 so got Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of 3,125%. The data were analyzed by Analysis of Variance (ANOVA) two-way method. Based on the result, it can be concluded that the combination of essential oil of red ginger (*Zingiber officinale* Var. *Rubrum*) and lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* Val.) have antibacterial activity to *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 with inhibition zone diameter of 24.30 ± 0.89 mm and MBC of 3,125%. The result of ANOVA Two-Way method was significant on each combined comparison.

Key words: Antibacterial, *Staphylococcus aureus*, Essential oil, *Zingiber officinale* Var. *Rubrum*, *Zingiber aromaticum* Val.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Kontaminasi mikroba adalah salah satu masalah yang dihadapi dalam kehidupan manusia yang berkaitan dengan penyebab penyakit infeksi. Kontaminasi dapat terjadi melalui makanan, air, udara, tanah dan lingkungan sekitar. Bakteri merupakan salah satu jenis mikroba yang tidak kalah penting dalam menyebabkan penyakit infeksi bagi manusia dalam kondisi tertentu. Bakteri dapat dikatakan patogen karena salah satu sifatnya sebagai penyebab penyakit infeksi (Brook *et al.* 2001).

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram positif yang berasal dari genus *Staphylococcus* dan termasuk dalam keluarga *Staphylococcaceae*. Bakteri *S. aureus* merupakan salah satu flora normal yang ada di kulit, namun pada kondisi tertentu *S. aureus* dapat menjadi patogen sehingga menyebabkan timbulnya penyakit infeksi (Jawetz *et al.* 2013). Infeksi dapat terjadi secara langsung maupun tidak langsung, infeksi oleh *S. aureus* ditandai dengan adanya kerusakan jaringan dan diikuti dengan abses bernanah. Bakteri ini masuk ke dalam tubuh melalui folikel rambut, kelenjar keringat atau luka-luka kecil (Dowshen *et al.* 2002), beberapa penyakit infeksi yang disebabkan oleh *S. aureus* antara lain bisul, jerawat, impetigo dan infeksi luka.

Pengobatan infeksi yang paling umum dilakukan adalah dengan terapi antibiotik. Penggunaan antibiotik yang berlebihan dan pemberian dalam jangka waktu yang lama dapat menyebabkan terjadinya resistensi pada bakteri (Maryuni 2008). Hal tersebut dapat menyebabkan antibiotik sintesis menjadi tidak efektif lagi dan menyebabkan terjadinya toksisitas atau efek samping obat dalam penggunaannya (Nwinyi *et al.* 2009).

Penggunaan obat tradisional yang berasal dari tanaman dapat digunakan untuk mengatasi penyakit infeksi akibat bakteri. Obat tradisional yang berasal dari tumbuhan dan bahan-bahan alam murni memiliki efek samping, tingkat bahaya

dan resiko yang jauh lebih rendah dibandingkan dengan obat kimia (Muhlisah 2005).

Khasiat obat pada suatu tanaman umumnya disebabkan oleh kandungan metabolit sekundernya. Metabolit sekunder adalah senyawa-senyawa organik yang berasal dari tanaman dan secara umum memiliki kemampuan bioaktif. Salah satu contohnya adalah minyak atsiri yang berkhasiat sebagai antibakteri. Minyak atsiri merupakan minyak volatil hasil metabolisme sekunder tumbuhan yang diperoleh dari bagian tumbuhan seperti bunga, daun, biji, kulit kayu, buah-buahan dan akar atau rimpang. Minyak atsiri diketahui mengandung campuran berbagai senyawa yaitu terpen, alkohol, aseton, fenol, asam, aldehid dan ester, yang umumnya digunakan sebagai pemberi aroma pada pangan, kosmetika, atau sebagai komponen fungsional pada produk farmasi (Tajkarimi *et al.* 2010).

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan sebelumnya diketahui bahwa minyak atsiri dari rempah-rempah seperti oregano, thymi, sage, rosemary, jahe, kunyit, lengkuas dan rempah-rempah lainnya memiliki aktivitas sebagai antibakteri (Rahayu *et al.* 2008). Jahe merah (*Zingiber officinale* Var. Rubrum) dan lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* Val.) merupakan jenis rempah-rempah dari keluarga Zingiberaceae yang memiliki kandungan aktif senyawa minyak atsiri.

Jahe merah termasuk tanaman jenis rimpang yang tumbuh di daerah dataran rendah sampai wilayah pegunungan dengan ketinggian 0-1.500 meter dari permukaan air laut (Rahminiwati *et al.* 2010). Menurut Kim *et al.* (2005) rimpang jahe merah mengandung gingerol yang memiliki aktivitas antioksidan, antibakteri, antiinflamasi, antikarsinogenik dan antitumor. Penelitian yang dilakukan Lely *et al.* (2016) diperoleh zona hambat 13,8 mm terhadap bakteri *S. aureus* pada konsentrasi 20%, rimpang jahe merah mengandung senyawa minyak atsiri dengan komponen utama E-sitral sebesar 32,16 %, Z-sitral sebesar 18,67 % dan senyawa kamfen sebesar 9,46 %. Senyawa sitral yang merupakan komponen utama dan senyawa geraniol yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri.

Lempuyang wangi merupakan tanaman obat yang sering digunakan oleh masyarakat di Jawa dan Sumatera. Rimpang tanaman ini sering digunakan untuk

obat asma, mengurangi rasa nyeri, membersihkan darah dan menambah nafsu makan (Sudarsono *et al.* 2002). Minyak atsiri lempuyang wangi dilaporkan memiliki aktivitas sebagai antibakteri, dapat menghambat pertumbuhan *Streptococcus alpha* secara *in vitro*, daya antibakteri berbanding lurus dengan konsentrasi. Hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan Respati (2010) minyak atsiri lempuyang wangi mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella thypi* dan *Bacillus cereus*. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Sayuti *et al.* (2014) minyak atsiri lempuyang wangi yang diujikan terhadap bakteri *S. aureus* diperoleh zona hambat sebesar 8,68 mm. Kandungan zerumbon sebesar 31,05% yang terdapat dalam minyak atsiri lempuyang wangi yang mempunyai aktivitas sebagai antibakteri (Kamazeri *et al.* 2012). Menurut Jawetz *et al.* (2002) bila dua agen antimikroba bekerja secara bersamaan pada populasi mikroba yang homogen maka efeknya dapat berupa sinergisme, artinya kerja kombinasi secara nyata lebih besar dari pada jumlah kedua efek.

Berdasarkan uraian tersebut, penulis tertarik melanjutkan penelitian dengan melakukan kombinasi minyak atsiri jahe merah dan lempuyang wangi untuk mengetahui aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* ATCC 25923 dengan menggunakan metode difusi.

B. Rumusan Masalah

Permasalahan dalam penelitian ini adalah :

1. Apakah kombinasi minyak atsiri jahe merah dan lempuyang wangi memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* ATCC 25923?
2. Manakah dari berbagai perbandingan kombinasi minyak atsiri jahe merah dan lempuyang wangi yang memiliki aktivitas paling besar terhadap *S. aureus* ATCC 25923 ?
3. Berapakah Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari kombinasi minyak atsiri jahe merah dan lempuyang wangi yang memiliki aktivitas antibakteri paling optimal terhadap *S. aureus* ATCC 25923 ?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Mengetahui apakah kombinasi minyak atsiri jahe merah dan lempuyang wangi memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* ATCC 25923.
2. Mengetahui manakah dari berbagai perbandingan kombinasi minyak atsiri jahe merah dan lempuyang wangi yang memiliki aktivitas paling besar terhadap *S. aureus* ATCC 25923.
3. Mengetahui pada Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) berapa dari kombinasi minyak atsiri jahe merah dan lempuyang wangi yang memiliki aktivitas paling optimal terhadap *S. aureus* ATCC 25923.

D. Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat dijadikan bukti ilmiah tentang efek kombinasi minyak atsiri jahe merah dan lempuyang wangi dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus* ATCC 25923. Penelitian ini dapat pula memberikan informasi bagi ilmu pengetahuan khususnya di bidang tanaman obat tradisional yang saat ini masih berdasarkan pengalaman, serta kepada khalayak masyarakat tentang kombinasi minyak atsiri jahe merah dan lempuyang wangi sebagai salah satu alternatif dalam pengobatan antibakteri *S. aureus* ATCC 25923.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Jahe Merah

1. Sistematika jahe merah

Sistematika tanaman rimpang jahe merah sebagai berikut :

Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledonae
Ordo	: Zingiberales
Family	: Zingiberaceae
Genus	: Zingiber
Spesies	: <i>Zingiber officinale</i> Var. Rubrum

(Budi Setiawan 2015)

2. Nama daerah

Tanaman jahe memiliki beberapa sebutan, antara lain gember (Aceh), halia (Gayo), goraka (Manado), sipadas (Minangkabau), lai (Sunda), jahe (Jawa), jae (Madura), lia tana', lia (Gorontalo), gihoro, gisoro, (Ternate) (Heyne 1987). Di luar negeri dikenal dengan nama ginger, red ginger (Inggris), sunthi (Kanada), adrak, sunthi (Hindi), djahe (Belanda) (Khare 2007).

3. Morfologi jahe merah

Tanaman jahe (*Zingiber officinale* Rosc.) termasuk dalam keluarga tumbuhan berbunga (temu-temuan). Rimpang jahe memiliki 2 jenis jahe yang telah dikenal secara umum, yaitu jahe merah (*Zingiber officinale* var. Rubrum) dan jahe putih (*Zingiber officinale* var. Amarum) (Gholib 2008).

Jahe merah memiliki rimpang kecil, ramping, kurang mengandung air, berwarna merah atau jingga, dan rasanya pedas. Jahe ini juga dikenal dengan sebutan jahe sunthi. Kadar minyak atsiri pada jahe pedas di atas 3 ml tiap 100 gram rimpang. Jahe ini merupakan bahan penting dalam industri jamu tradisional. Umumnya dipasarkan dalam bentuk rimpang segar dan jahe kering (Lukito 2007).

Batang semu jahe merah berbentuk bulat kecil, berwarna hijau kemerahan, dan agak keras karena diselubungi oleh pelepah daun. Tinggi tanaman mencapai

34,18-62,28 cm. Daun tersusun berselang-seling secara teratur dan memiliki warna yang lebih hijau (gelap) dibandingkan dengan kedua tipe lainnya. Permukaan daun bagian atas berwarna hijau muda dibandingkan dengan bagian bawahnya. Rimpang jahe ini berwarna merah hingga jingga muda. Aromanya tajam dan rasanya sangat pedas. Kandungan minyak atsirinya lebih tinggi dibandingkan klon jahe lainnya, yakni 2,58%-3,72% dihitung atas dasar berat kering (Lanterana 2002).

4. Kandungan jahe merah

Jahe merah mengandung senyawa *volatile* dan *non-volatile*. Senyawa *volatile* terdiri atas berbagai senyawa terpenoid. Senyawa *non-volatile* terdiri atas senyawa-senyawa flavonoid dan polifenol (6-gingerol dan turunannya) yang memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi untuk mencegah adanya radikal bebas dalam tubuh (Hapsari dan Hesti 2014). Menurut Lely *et al.* (2016) terdapat 25 komponen senyawa yang terkandung dalam minyak atsiri jahe merah, dengan komponen utama yang terdiri atas senyawa E-sitral sebesar 32,16%, kemudian Z-sitral sebesar 18,67% dan senyawa kamfen 9,46%.

Senyawa *volatile* dalam jahe merah disebut juga minyak atsiri. Minyak atsiri mengandung beberapa unsur seperti d-camphene, n-nonylaldhyde, geraniol, linalol, citral, zingiberene, methyl heptenone, cineol, d-borneol, dan masih banyak lagi (Supriyanti 2015). Jahe merah memiliki aroma yang tajam dan rasanya sangat pedas. Rimpang jahe merah mengandung zat gingerol, olerosin, dan minyak atsiri yang tinggi, sehingga lebih banyak digunakan sebagai bahan baku obat. Efek farmakologis jahe merah adalah dapat memperkuat khasiat bahan lain yang dicampurkan pada proses pembuatan obat (Herlina 2004).

5. Kegunaan tanaman

Jahe banyak digunakan dalam ramuan obat tradisional yang berfungsi sebagai obat pencernaan dan perut kembung, sakit kepala, kerongkongan, mulas dan batuk kering (Rukmana 2001). Berdasarkan penelitian Lely *et al.* (2016) aktivitas antibakteri minyak atsiri jahe merah dengan konsentrasi 20% yang diujikan terhadap bakteri *S. aureus* diperoleh diameter hambat rata-rata sebesar

13,8 mm. Senyawa sitral yang merupakan komponen utama dan senyawa geraniol yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri.

Fenol pada jahe memiliki kemampuan untuk mendenaturasi protein dan merusak membran sel dengan cara melarutkan lemak yang terdapat pada dinding sel, karena senyawa ini mampu melakukan migrasi dari fase cair ke fase lemak (Ernawati 2010). Flavonoid dalam jahe merah dapat menurunkan kadar kolesterol dalam darah dengan cara menurunkan penyerapan kolesterol dan asam empedu pada usus halus sehingga menyebabkan peningkatan ekskresi lewat feses, hal ini menyebabkan sel-sel hati meningkatkan pembentukan asam empedu dari kolesterol akan menurunkan lemak karena diubah menjadi energi (Harjana 2011).

B. Lempuyang Wangi

1. Sistematika lempuyang wangi

Menurut Anonim (2001) sistematika tanaman rimpang lempuyang wangi sebagai berikut :

Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledonae
Bangsa	: Zingiberales
Suku	: Zingiberaceae
Genus	: Zingiber
Spesies	: <i>Zingiber aromaticum</i> Val.

2. Nama daerah

Tanaman lempuyang wangi di beberapa daerah disebut lempuyang (Sunda), lempuyang wangi (Melayu dan Jawa Tengah), lempuyang room (Madura) (Anonim 2001).

3. Morfologi lempuyang wangi

Habitus berbentuk semak, semusim dengan tinggi ± 75 cm. Batang berwarna hijau, bentuk semu, lunak, merupakan pelepah daun, bulat, di dalam tanah berbentuk rimpang. Jenis daun tunggal, berseling, bulat telur dengan ujung meruncing, bertepi rata, tulang daun menyirip, panjang daun ± 20 cm dengan

lebar ± 9 cm berwarna hijau. Bunga lempuyang wangi berbentuk tandan yang terdapat di ujung tangkai dengan panjang ± 20 cm, kelopak bunga bergigi satu, tajuk berbentuk tabung dengan satu putik dan berwarna hijau kemerah-merahan. Buah seperti bulat telur dengan panjang ± 12 mm dan diameter ± 8 mm berwarna merah. Biji bulat panjang dengan diameter ± 4 mm, akar berserabut berwarna putih kotor (Anonim 2001).

4. Kandungan kimia

Rimpang *Zingiber aromaticum* Val. mengandung saponin, flavonoid, tannin dan minyak atsiri (Anonim, 2001).

5. Kegunaan tanaman

Khasiat dari lempuyang wangi antara lain sebagai obat berak berlendir, anti masuk angin (karminatif), antidiare, radang usus dan berguna untuk menambah nafsu makan (stomakik), serta obat malaria dan obat penambah darah (Alamsari 2000). Minyak atsiri yang terkandung dalam lempuyang wangi mempunyai daya antibakteri terhadap *S.aureus*. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Sayuti *et al.* (2014) aktivitas antibakteri minyak atsiri lempuyang wangi terhadap *S. aureus* diperoleh zona hambat sebesar 8,68 mm.

C. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia adalah bahan alami yang digunakan untuk obat dan belum mengalami perubahan proses apapun, dan kecuali dinyatakan lain umumnya berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dibagi menjadi tiga golongan, yaitu simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia pelikan atau mineral (Gunawan dan Mulyani 2004).

Simplisia nabati adalah simplisia berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Simplisia hewani adalah simplisia berupa hewan utuh atau bagian hewan yang masih berupa zat kimia murni. Simplisia mineral adalah simplisia berupa bahan mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat murni (Gunawan & Mulyani 2004).

2. Pengumpulan simplisia

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

3. Pemilihan simplisia

Proses pemilihan simplisia berguna untuk memisahkan simplisia dari bahan asing yang tidak berbahaya dalam jumlah yang sangat kecil yang terdapat dalam simplisia yang umumnya bersifat merugikan. Simplisia nabati harus bebas dari serangga, fragmen hewan atau kotoran hewan, tidak boleh menyimpang bau dan warnanya, tidak boleh mengandung lendir dan cendawan atau menunjukkan tanda-tanda pengotor lain, tidak boleh mengandung bahan lain yang beracun atau berbahaya (Depkes RI 1985).

4. Cara pembuatan simplisia

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

D. Destilasi

1. Pengertian destilasi

Destilasi merupakan metode yang paling sering digunakan untuk mendapatkan minyak atsiri. Destilasi atau penyulingan adalah suatu metode pemisahan bahan kimia berdasarkan perbedaan kecepatan atau kemudahan menguap bahan atau juga didefinisikan juga teknik pemisahan kimia yang berdasarkan perbedaan titik didih. Prinsip destilasi adalah penguapan cairan dan pengembunan kembali uap tersebut pada suhu titik didih. Cairan yang diembunkan kembali disebut destilat. Tujuan destilasi adalah pemurnian zat cair pada titik didihnya, dan memisahkan cairan tersebut dari zat padat yang terlarut atau dari zat cair lainnya yang mempunyai perbedaan titik didih cairan murni (Sahidin 2008).

2. Macam-macam destilasi

Menurut Sastrohamidjojo (2004) destilasi atau penyulingan ada tiga cara yaitu destilasi dengan air, destilasi dengan uap dan air dan destilasi dengan uap langsung.

2.1. Destilasi dengan air. Pada metode ini bahan yang akan disuling kontak langsung dengan air mendidih, bahan tersebut mengapung di atas air atau terendam secara sempurna tergantung dari berat jenis dan jumlah bahan yang disuling. Air dipanaskan dengan metode pemanasan langsung, mantel uap, pipa uap melingkar tertutup atau dengan bahan memakai pipa uap melingkar terbuka atau berlubang. Ciri khas dari metode ini adalah kontak langsung antara bahan dengan air mendidih.

2.2. Destilasi dengan uap dan air. Bahan tanaman yang akan diproses secara penyulingan uap dan air ditempatkan dalam suatu tempat yang bagian bawah diisi air dan tengah berlubang-lubang yang ditopang di atas dasar alat penyulingan. Air dipanaskan dengan api seperti pada penyulingan air di atas. Bahan tanaman yang akan disuling hanya terkena uap, dan tidak terkena air yang mendidih.

2.3. Destilasi dengan uap langsung. Metode ini disebut destilasi uap atau destilasi uap langsung, pada prinsipnya sama dengan metode destilasi uap dan air

kecuali air tidak diisikan dalam ketel. Uap yang digunakan tidak jenuh atau uap yang dialirkan melalui pipa uap melingkar yang berpori yang terletak di bawah bahan. Uap akan bergerak ke atas melalui bahan yang terletak di atas saringan. Metode ini digunakan untuk penyarian bahan-bahan yang mengandung minyak atsiri dengan komponen bertitik didih tinggi.

E. Minyak Atsiri

1. Pengertian minyak atsiri

Minyak atsiri yang dikenal dengan nama minyak terbang (*volatile oil*) atau minyak eteris (*essential oil*) adalah komoditi ekstrak alami dari jenis tumbuhan yang berasal dari daun, bunga, kayu, biji-bijian bahkan putik bunga. Minyak atsiri merupakan minyak yang mudah menguap, dengan komposisi dan titik didih yang berbeda-beda. Setiap substansi yang dapat menguap memiliki titik didih dan tekanan uap tertentu dan hal ini dipengaruhi oleh suhu (Guenther 2006). Sifat dari minyak atsiri yang lain adalah mempunyai rasa getir (*pungent taste*), berbau wangi sesuai dengan bau tanaman penghasilnya, yang diambil dari bagian-bagian tanaman seperti daun, buah, biji, bunga, rimpang, kulit kayu, bahkan seluruh bagian tanaman. Minyak atsiri mudah larut dalam pelarut organik seperti alkohol, eter, petroleum, benzene, dan tidak larut dalam air.

2. Sumber minyak atsiri

Minyak atsiri merupakan salah satu hasil akhir proses metabolisme sekunder dalam tumbuhan. Tumbuhan penghasil minyak atsiri antara lain termasuk famili *Pinaceae*, *Labiatae*, *Compositae*, *Myrtaceae*, *Rutaceae*, *Piperaceae*, *Zingiberaceae*, *Umbelliferae* dan *Graminae*. Minyak atsiri terdapat pada setiap bagian tumbuhan yaitu di daun, bunga, biji, batang, kulit dan akar (Ketaren 2008).

3. Sifat minyak atsiri

Minyak atsiri memiliki sifat-sifat yang tersusun oleh bermacam-macam komponen senyawa dan memiliki bau khas. Umumnya bau ini mewakili bau tanaman aslinya, mempunyai rasa getir, kadang-kadang terasa tajam, menggigit, memberi kesan hangat sampai panas, atau justru dingin ketika terasa di kulit,

tergantungan 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 biasa berubah menjadi tengik (Gunawan dan Mulyani 2004).

Minyak atsiri 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). Minyak atsiri ini berupa cairan jernih, tidak berwarna, selama penyimpanan akan mengental dan berwarna kekuningan atau kecoklatan. Hal tersebut terjadi karena adanya pengaruh oksidasi dan resinifikasi (berubah menjadi damar atau resin). Proses oksidasi dan resinifikasi dapat dicegah atau diperlambat dengan cara minyak atsiri dilindungi dari pengaruh sinar matahari yang dapat merangsang terjadinya oksidasi dan oksigen udara yang akan mengoksidasi minyak atsiri (Koensoemardiyah 2010).

Minyak atsiri sebaiknya disimpan dalam wadah berbahan dasar kaca yang berwarna gelap (misalnya, botol berwarna coklat atau biru gelap) untuk mengurangi sinar yang masuk. Botol penyimpan minyak atsiri harus terisi penuh agar oksigen udara yang ada dalam ruang udara tempat penyimpanan tersebut kecil (Koensoemardiyah 2010).

4. Penggunaan minyak atsiri

Minyak atsiri dalam industri farmasi digunakan sebagai antibakteri, antifungi, antiseptik, pengobatan lesi, antinyeri, dapat digunakan sangat luas dan spesifik, khususnya dalam berbagai bidang industri. Minyak atsiri digunakan sebagai bahan baku dalam berbagai industri, misalnya industri farfum, kosmetik, *essence*, industri farmasi dan *flavoring agent*. Dalam pembuatan parfum dan wangi-wangian minyak atsiri tersebut berfungsi sebagai zat pewangi. Beberapa jenis minyak atsiri dapat digunakan sebagai zat pengikat bau (*fixative*) dalam parfum, misalnya minyak nilam, minyak akar wangi dan minyak cendana. Minyak atsiri yang berasal dari rempah-rempah, misalnya minyak lada, minyak kayu manis, minyak jahe, minyak cengkeh, minyak ketumbar, umumnya digunakan

sebagai bahan penyedap (*flavoring agent*) dalam bahan pangan dan minuman (Ketaren 2008).

5. Isolasi minyak atsiri

Metode isolasi yang paling lazim digunakan adalah metode destilasi. Beberapa metode destilasi yang populer dilakukan diberbagai perusahaan industri penyulingan minyak atsiri, antara lain metode destilasi kering (langsung dari bahannya tanpa menggunakan air) dan metode destilasi air. Metode destilasi kering paling sesuai untuk bahan kering dan untuk minyak-minyak yang tahan pemanasan (tidak mengalami perubahan bau dan warna saat dipanaskan). Metode destilasi air, meliputi destilasi air dan uap air dan destilasi uap air langsung. Metode ini dapat digunakan untuk bahan kering maupun bahan segar dan terutama digunakan untuk minyak-minyak yang kebanyakan dapat rusak akibat panas kering. Seluruh bahan dihaluskan kemudian dimasukkan ke dalam bejana yang bentuknya mirip dandang (Gunawan dan Mulyani 2004).

6. Penyimpanan minyak atsiri

Pada proses penyimpanan minyak atsiri dapat mengalami kerusakan yang diakibatkan oleh berbagai proses, baik secara kimia maupun secara fisika. Kerusakan biasanya disebabkan oleh reaksi-reaksi yang umum seperti oksidasi, resinifikasi, polimerisasi, hidrolisis ester dan intraksi gugus fungsional. Proses tersebut dipercepat (diaktivasi) oleh panas, adanya udara (oksigen), kelembaban, serta dikatalisis oleh cahaya dan pada beberapa kasus kemungkinan dikatalis oleh logam (Guenther 2006).

F. Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)

Analisis dan karakterisasi komponen minyak atsiri merupakan masalah yang cukup rumit, ditambah dengan sifatnya yang mudah menguap pada suhu kamar sehingga perlu diseleksi metode yang akan diterapkan untuk menganalisis minyak atsiri. 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 (GCMS). Pada alat GC-MS, kedua alat dihubungkan dengan suatu interfase. 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 kromatografi gas (Agusta 2000).

G. Media

1. Pengertian media

Media adalah tempat bagi jaringan untuk tumbuh dan mengambil nutrisi yang mendukung kehidupan jaringan. Media tumbuh menyediakan berbagai bahan yang diperlukan jaringan untuk hidup dan memperbanyak diri. Mikroba dapat tumbuh dan berkembang biak dengan baik didalam media, media yang digunakan harus memenuhi beberapa persyaratan tertentu, yaitu media harus mengandung semua unsur hara yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangan mikroba. Media harus mempunyai tekanan osmosa, tegangan permukaan dan pH yang sesuai dengan kebutuhan mikroba. Media harus dalam keadaan steril artinya sebelum ditanami mikroba yang dimaksud, tidak ditumbuhi mikroba lain (Sriyanti dan Wijayani 2008).

2. Klasifikasi media

Media adalah suatu bahan yang digunakan untuk menumbuhkan dan mengembangkan bakteri. Media yang digunakan harus dalam keadaan steril artinya tidak ditumbuhi oleh mikroba lain yang tidak diharapkan. Agar mikroba dapat tumbuh dan berkembang dengan baik didalam media maka diperlukan untuk persyaratan, antara lain dalam media harus terkandung unsur yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan bakteri, harus mempunyai tekanan osmosa, tegangan permukaan dan pH sesuai dengan kebutuhan mikroba, dan harus steril (Sriyanti dan Wijayani, 2008).

Media secara umum dapat dibagi menjadi tiga jenis yaitu media cair, padat, dan setengah padat. Media cair (*liquid media*) dapat digunakan pembiakan organisme dalam jumlah besar, fermentasi dan berbagai uji. Media padat (*solid media*) digunakan untuk mengamati bentuk dan morfologi koloni serta mengisolasi biakan murni. Media setengah padat (*semisolid media*) digunakan untuk menguji ada atau tidaknya motilitas dan kemampuan fermentasi (Sriyanti dan Wijayani 2008).

H. Sterilisasi

Bahan atau peralatan yang digunakan di dalam mikrobiologi harus dalam keadaan steril, artinya pada bahan atau peralatan tersebut tidak didapatkan mikroba yang tidak diharapkan kehadirannya. Baik yang akan mengganggu atau merusak media ataupun mengganggu kehidupan dalam dan proses yang sedang dikerjakan (Waluyo 2004).

Sterilisasi merupakan suatu tindakan untuk membebaskan alat dan media dari mikroba. Sterilisasi yang umum dilakukan meliputi sterilisasi secara fisik yaitu pemanasan basah dan kering, penggunaan sinar bergelombang pendek seperti sinar-X, sinar α , sinar gamma dan sinar UV. Sterilisasi secara kimia yaitu penggunaan desinfektan, larutan alkohol. Sterilisasi secara mekanik yaitu penggunaan saringan atau filter untuk bahan yang akan mengalami perubahan atau penguraian akibat pemanasan tinggi atau tekanan tinggi (Darmadi 2008).

I. *Staphylococcus aureus*

1. Sistematika *Staphylococcus aureus*

Sistematika bakteri *Staphylococcus aureus* menurut G.M. Garrity, *et al.* (2007) sebagai berikut :

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Firmicutes
Class	: Bacili
Ordo	: Bacillales
Famili	: Staphylococcaceae

Genus : *Staphylococcus*
Spesies : *Staphylococcus aureus*

2. Morfologi dan identifikasi

Staphylococcus berasal dari kata *staphyle* yang berarti kelompok buah anggur dan kokus yang berarti benih bulat. Bakteri ini merupakan bakteri Gram positif yang berbentuk sferis, tidak bergerak, berspora dan menggerombol dalam susunan yang tidak teratur dengan diameter masing-masing antara 0,8-1,0 mikron. *S. aureus* mempunyai warna khas kuning keemasan namun intensitas warnanya dapat bervariasi, koloni yang masih sangat muda tidak berwarna, tetapi dalam pertumbuhannya terbentuk pigmen yang larut dalam alkohol, eter, kloroform, dan benzol.

Pigmen ini termasuk dalam golongan lipolirum dengan alam tetap dalam koloni tidak meresap dalam pembedahan, tetapi larut dalam eksudat jaringan-jaringan sehingga nanah berwarna sedikit kuning keemasan yang merupakan petunjuk tentang adanya infeksi oleh kuman ini (Jawetz *et al* 2001). *S. aureus* merupakan bakteri yang dapat meragikan banyak karbohidrat dengan lambat, menghasilkan asam laktat tetapi tidak menghasilkan gas. Aktivitas proteolitik sangat bervariasi, tetapi katalase dihasilkan secara tetap (Jewetz *et al*. 2002).

S. aureus relatif resisten terhadap pengeringan, terhadap panas (bakteri ini tahan 50°C selama 30 menit). Banyak strain resisten terhadap penisilin karena membentuk penisilinase beta-laktamase, suatu enzim yang merusak penisilin dengan memecah cincin beta-laktam (Jewetz *et al*. 2002).

3. Patogenesis

S. aureus merupakan bakteri penyebab infeksi karena dapat membentuk pus atau nanah. *S. aureus* masuk ke dalam tubuh melalui folikel rambut, *sebaceous gland* (kelenjar keringat) atau luka-luka kecil. *S. aureus* yang patogen mempunyai sifat dapat menghemolisa darah, menghasilkan koagulasi, membentuk pigmen berwarna kuning emas dan dapat memecah manitol menjadi asam (Suryono 2009).

Bisul atau abses setempat, seperti jerawat dan borok merupakan infeksi kulit di daerah folikel rambut dan kelenjar keringat. Mula-mula terjadi nekrosis jaringan setempat, kemudian terjadi koagulasi fibrin di sekitar lesi dan pembuluh

getah bening, sehingga terbentuk dinding yang membatasi proses nekrosis. Infeksi dapat menyebar ke bagian tubuh lain melalui pembuluh getah bening dan pembuluh darah, sehingga terjadi peradangan pada vena, trombosis, bahkan bakterimia. Bakterimia dapat menyebabkan terjadinya endokarditis, osteomielitis akut hematogen, meningitis atau infeksi paru-paru (Jawetz *et al.* 2008). Kontaminasi langsung *S. aureus* pada luka terbuka (seperti luka pascabedah) atau infeksi setelah trauma (seperti osteomielitis kronis setelah fraktur terbuka) dan meningitis setelah fraktur tengkorak, merupakan penyebab infeksi nosokomial (Jawetz *et al.*, 2008).

J. Antibakteri

1. Pengertian

Antibakteri adalah suatu obat atau senyawa kimia yang digunakan untuk membasmi bakteri, khususnya bakteri yang bersifat merugikan manusia. Beberapa istilah yang digunakan untuk menjelaskan proses pembunuhan bakteri yaitu germisid, bakterisida, bakteristatik, antiseptik, desinfektan.

Zat antibakteri dapat bersifat bakterisidal (membunuh bakteri), bakteristatik (menghambat pertumbuhan bakteri), dan germisidal (menghambat germinasi spora bakteri). Kemampuan suatu zat antimikroba dalam menghambat pertumbuhan bakteri dipengaruhi oleh berbagai faktor, diantaranya : 1) konsentrasi zat antimikroba, 2) jenis, jumlah, umur, dan keadaan mikroba, 3) suhu, 4) waktu, 5) sifat-sifat kimia dan fisika makanan termasuk kadar air, pH, jenis dan jumlah komponen didalamnya (Agustrina 2011).

Ruang lingkup bakteri yang dapat dipengaruhi oleh zat antibakteri disebut dengan spektrum antibakteri. Berdasarkan spektrum aksinya, zat antibakteri dibagi menjadi 3, yaitu : 1) spektrum luas, zat antibakteri dikatakan berspektrum luas apabila zat tersebut efektif melawan prokariot, baik membunuh atau menghambat bakteri gram positif dan gram negatif dalam ruang lingkup yang luas. 2) spektrum sempit, zat antibakteri yang efektif melawan sebagian bakteri gram positif atau negatif. 3) spektrum terbatas, zat antibakteri yang efektif melawan spesies bakteri tertentu (Agustrina 2011).

Daya antibakteri dapat ditentukan berdasarkan nilai KHM dan KBM-nya terhadap pertumbuhan suatu bakteri. Konsentrasi minimal yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan bakteri dikenal sebagai konsentrasi hambat minimal (KHM). Konsentrasi minimal yang diperlukan untuk membunuh 99,9% pertumbuhan bakteri dikenal sebagai konsentrasi bunuh minimal (KBM) (Forbes 2007).

2. Mekanisme kerja antibakteri

Antibakteri berdasarkan mekanisme kerjanya dibagi dalam 5 kelompok, yaitu: menghambat sintesis dinding sel bakteri, menghambat fungsi membran sel, menghambat sintesis protein sel bakteri, menghambat sintesis asam nukleat sel bakteri, dan menghambat metabolisme sel bakteri.

2.1. Menghambat sintesis dinding sel bakteri. Dinding sel bakteri terdiri atas polipeptidoglikan yaitu suatu kompleks polimer mukopeptida (glikopeptida). Struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukannya atau merusaknya setelah selesai terbentuk. Kerusakan dinding sel bakteri akan menyebabkan terjadinya lisis. Contoh antibiotik yang bekerja dengan menghambat sintesis dinding sel bakteri adalah penisilin, sefalosporin, vakomisin dan sikloserin. Beberapa obat lain seperti basitrasin, teicoplanin, ristocetin dan novobiocin menghambat pada biosintesis peptidoglikan (Jawetz *et al.* 2012).

2.2. Menghambat fungsi membran sel bakteri. Membran sel berguna sebagai penghalang yang selektif dan menjalankan fungsi transport aktif, meloloskan beberapa zat yang terlarut dan menahan zat-zat yang terlarut lainnya. Kerusakan membran sel menyebabkan keluarnya berbagai komponen dari dalam sel bakteri yaitu makromolekul dan ion dan terjadilah kematian bakteri. Antibiotika polimiksin bekerja dengan merusak membran sel yang berisi fosfatidiletanolamin, yang merupakan komponen utama penyusun membran sel bakteri. Asam nalidiksat bekerja dengan mengganggu fungsi biosintesis dari membran sitoplasma. Daptomisin bekerja sebagai antibakteri dengan membentuk ikatan dengan membran sel dan menyebabkan depolarisasi sehingga menurunkan kemampuan membran sel bakteri. Antibakteri lain yang bekerja menghambat fungsi

membran sel adalah valinomisin, amfoterisin B, kolistin, imidazol dan triazol (Jawetz *et al.* 2012).

2.3. Menghambat 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 eritromisin, linkomisin, tetrasiklin dan kloramfenikol (Jawetz *et al.* 2012).

2.4. Menghambat sintesis asam nukleat sel bakteri. Salah satu mekanisme kerja yang dimiliki oleh antibakteri ini adalah menghalangi sintesis DNA dengan cara memblokir DNA girase, contohnya antibiotik kuinolon dan fluorokuinolon. Rifampin bekerja dengan membentuk ikatan dengan enzim polimerase RNA sehingga menghambat sintesis RNA oleh enzim tersebut (Jawetz *et al.* 2012).

2.5. Menghambat 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. Contohnya antibiotik yang bekerja menghambat metabolisme sel adalah sulfonamida dan trimetoprin (Ganiswara 2009).

3. Uji aktivitas antibakteri

Uji aktivitas antibakteri suatu zat digunakan untuk mengetahui kemampuan zat tersebut dalam membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri uji. Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan berbagai metode, diantaranya adalah metode difusi dan dilusi (Jawetz *et al.* 2012).

3.1. Metode difusi. Metode difusi adalah suatu uji aktivitas dengan menggunakan cakram (*disk*) atau suatu silinder tidak beralas yang mengandung

obat dalam jumlah tertentu ditempatkan pada perbenihan padat yang telah ditanami dengan biakan bakteri uji. Setelah diinkubasi, diameter hambatan jernih yang mengelilingi obat dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan terhadap bakteri yang diperiksa. Pada metode ini, zat yang akan ditentukan aktivitas antibakterinya berdifusi pada lempeng agar yang telah ditanami biakan bakteri uji (Harmita & Radji 2005).

Dasar penggunaannya adalah terbentuk atau tidaknya zona hambatan pertumbuhan bakteri disekeliling cakram atau silinder yang berisi zat antibakteri. Ukuran dari zona hambatan dapat dipengaruhi oleh kepadatan atau viskositas dari media biakan, kecepatan difusi antibiotik, konsentrasi antibiotik pada cakram atau silinder, sensitivitas organisme terhadap antibiotik dan interaksi antibiotika dengan media (Harmita & Radji 2005).

Metode difusi cakram atau silinder dalam proses analisis senyawa atau zat aktif untuk mengetahui aktivitas terhadap antibakteri adalah sederhana dan mudah dilakukan (Harmita & Radji 2005). Kekurangan dari metode difusi adalah tidak dapat mengukur secara kuantitatif konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM), sedangkan kelebihan adalah praktis, cepat, dan dapat digunakan untuk menguji beberapa agen antimikroba dalam satu waktu terhadap suatu mikroba.

3.2. Metode dilusi. Metode dilusi ada 2 macam yaitu dilusi cair dan dilusi padat, pada prinsipnya metode dilusi menggunakan antimikroba dengan kadar yang menurun secara bertahap pada media cair maupun padat. Dilusi cair masing-masing konsentrasi ditambah suspensi bakteri dalam media, sedangkan dilusi padat tiap konsentrasi zat dicampur media agar, kemudian ditanami bakteri, diinkubasi dan diamati konsentrasi antimikroba yang mampu menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri uji (Bonang & Koeswardono 2004).

Metode dilusi cair (pengenceran tabung) dilakukan dengan cara membuat suatu seri konsentrasi yang terdiri dari beberapa tabung reaksi, masing-masing tabung ditambahkan bahan uji yang akan diperiksa kecuali tabung untuk kontrol positif, kemudian ditambahkan biakan bakteri yang telah diencerkan 1:1000 ke dalam tiap-tiap tabung reaksi kecuali untuk kontrol negatif. KHM adalah

pengenceran tertinggi dari obat yang tidak menunjukkan adanya pertumbuhan secara makroskopik (Bonang & Koeswardono 2004).

Kelebihan metode ini adalah memberikan hasil kuantitatif yang menunjukkan jumlah antimikroba yang dibutuhkan untuk menghambat atau mematikan bakteri. Kekurangan metode dilusi adalah dapat mempersulit pengamatan, membutuhkan alat yang banyak dan tidak praktis (Jawetz *et al.* 2012).

K. Kombinasi Obat Herbal

Ada banyak agen herbal yang memiliki kandungan farmakologi yang signifikan. Seringkali agen herbal tersebut hanya memunculkan efeknya secara tunggal saja. Hal tersebut memunculkan suatu anggapan bahwa apabila suatu agen herbal yang memiliki efek tunggal dikombinasikan dengan agen herbal lainnya maka akan dapat memunculkan suatu efek baik komplementer, sinergis, maupun kontraindikasi (Pramono 2006)

Efek komplementer merupakan suatu efek yang saling mendukung antara zat satu dengan zat lainnya. Efek sinergis merupakan suatu efek yang muncul dari dua atau lebih kandungan kimia yang memiliki khasiat sama dan saling menguntungkan. Efek kontraindikasi merupakan suatu efek yang muncul karena terdapat kandungan kimia yang memiliki sifat saling bertentangan (Pramono 2006).

L. Amoksisilin

Berdasarkan uji sensitifitas terhadap amoksisilin sebagian besar isolat *S. aureus* sensitif terhadap amoksisilin. Amoksisilin merupakan antibiotik golongan penicilin yang mempunyai spektrum luas, bersifat bakterisid dan efektif terhadap sebagian besar bakteri Gram positif dan Gram negatif yang patogen. *Staphylococcus* merupakan salah satu bakteri patogen yang sensitif terhadap amoksisilin (Pengov 2003). Mekanisme kerja dari obat golongan ini adalah menghambat pembentukan mukopeptida yang diperlukan untuk sintesis dinding sel mikroba dan hanya bekerja aktif terhadap dinding sel yang terdiri dari peptidoglikan (Ganiswara 2009).

M. Landasan Teori

Jahe merah termasuk tanaman jenis rimpang yang tumbuh di daerah dataran rendah sampai wilayah pegunungan dengan ketinggian 0 - 1.500 meter dari permukaan air laut (Rahminiwati 2010). Rimpang jahe merah mengandung gingerol yang memiliki aktivitas antioksidan, antibakteri, antiinflamasi, antikarsinogenik, antimutagenik dan antitumor (Kim *et al.* 2005). Senyawa sitral yang merupakan komponen utama dan senyawa geraniol memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Senyawa sitral mampu mengganggu permeabilitas membran sel dan merusak serta mengacaukan permeabilitas dinding sel mikroba, sehingga suplai nutrisi, ion dan air mengalami gangguan yang mengakibatkan bakteri tidak mampu melakukan metabolisme dengan sempurna dan terjadilah kematian sel bakteri. Hasil uji aktivitas antibakteri minyak atsiri dari konsentrasi 20% yang diujikan terhadap bakteri *S. aureus* diperoleh diameter hambat rata-rata sebesar 13,8 mm (Lely *et al.* 2016).

Lempuyang wangi merupakan tanaman obat yang sering digunakan oleh masyarakat di Jawa dan Sumatera. Rimpang tanaman ini sering digunakan untuk obat asma, mengurangi rasa nyeri, membersihkan darah dan menambah nafsu makan (Sudarsono *et al.* 2002). Minyak atsiri lempuyang wangi mempunyai daya antibakteri terhadap *S. aureus* lebih baik dibanding terhadap *E. coli*. Potensi daya antibakteri minyak atsiri lebih besar dari perasan rimpang dan lebih besar dari infusa. Penelitian yang dilakukan Sayuti *et al.* (2014) tentang minyak atsiri dari lempuyang wangi yang diujikan terhadap bakteri *S. aureus* diperoleh zona hambat sebesar 8,68 mm.

Amoksisilin dalam penelitian ini digunakan sebagai kontrol positif. Amoksisilin merupakan antibiotik golongan penisilin yang mempunyai spektrum luas, bersifat bakterisid dan efektif terhadap sebagian besar bakteri Gram positif dan Gram negatif yang patogen. *Staphylococcus* merupakan salah satu bakteri patogen yang sensitif terhadap amoksisilin (Pengov 2003). Mekanisme kerja dari obat golongan ini adalah menghambat pembentukan mukopeptida yang diperlukan untuk sintesis dinding sel mikroba dan hanya bekerja aktif terhadap dinding sel yang terdiri dari peptidoglikan. N-Heksan dalam penelitian ini

digunakan sebagai kontrol negatif. N-Heksan merupakan pelarut non-polar yang efektif melarutkan berbagai bahan kimia organik maupun anorganik, dengan menggunakan pipet droper.

Metode yang digunakan dalam penelitian adalah metode destilasi uap dan air. Pengujian antibakteri pada penelitian ini menggunakan metode difusi dan dilusi. Metode difusi digunakan untuk menentukan diameter zona hambatan. Metode difusi merupakan uji aktivitas dengan menggunakan cakram kertas yang berisi sejumlah tertentu obat yang kemudian ditempatkan pada permukaan medium padat yang sebelumnya telah diinokulasi bakteri uji pada permukaannya, setelah diinkubasi garis tengah daerah hambatan jernih yang mengelilingi larutan uji dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan terhadap bakteri uji (Jawetz *et al* 2001). Metode dilusi adalah penghambatan pertumbuhan kuman dalam pemburnihan cair oleh suatu obat yang dicampur kedalam pemburnihan. Pemburnihan yang dipakai harus merupakan pemburnihan yang dapat menumbuhkan kuman secara optimum dan tidak menetralkan obat yang digunakan (Bonang dan Koeswardono 2004). Metode dilusi bertujuan untuk mencari Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya maka dilakukan penelitian lanjutan terhadap aktivitas antibakteri kombinasi minyak atsiri jahe merah dan lempuyang wangi terhadap bakteri *S. aureus* ATCC 25923. Penelitian ini menggunakan kombinasi karena kombinasi dapat dilakukan untuk mengatasi toleransi bakteri, mencegah resistensi, mengurangi toksisitas, dan dapat untuk mencegah inaktivasi oleh enzim (Mulyono dan Isman 2011). Kombinasi antara minyak atsiri jahe merah dan lempuyang wangi diharapkan dapat mempunyai efek sebagai antibakteri yang lebih optimal dari pada bentuk tunggal masing-masing minyak atsiri tersebut.

N. Hipotesis

Berdasarkan landasan teori yang ada, disusun hipotesis sebagai berikut :

Pertama, kombinasi minyak atsiri jahe merah dan lempuyang wangi memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* ATCC 25923.

Kedua, kombinasi minyak atsiri jahe merah dan lempuyang wangi dengan perbandingan tertentu memiliki aktivitas paling besar terhadap *S. aureus* ATCC 25923.

Ketiga, pada KHM dan KBM dari kombinasi minyak atsiri jahe merah dan lempuyang wangi memiliki aktivitas paling optimal terhadap *S. aureus* ATCC 25923.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang dari tanaman jahe merah dan rimpang lempuyang wangi yang diperoleh di daerah Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah pada bulan Januari 2017.

2. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang jahe merah dan lempuyang wangi yang diambil dengan kisaran umur 12 bulan, segar dan bebas dari hama.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama dalam penelitian ini adalah minyak atsiri jahe merah dan lempuyang wangi beserta kombinasinya.

Variabel utama kedua penelitian ini adalah aktivitas antibakteri minyak atsiri jahe merah dan lempuyang wangi beserta kombinasinya terhadap bakteri *S.aureus* ATCC 25923.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama yang telah diidentifikasi dapat diklasifikasi kedalam berbagai macam variabel yaitu variabel bebas, variabel terkontrol dan variabel tergantung. Variabel bebas adalah variabel yang sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel terkontrol adalah variabel yang mempengaruhi variabel tergantung sehingga perlu ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang diperoleh tidak tersebar dan dapat diulang oleh peneliti lain secara cepat dan variabel tergantung adalah titik pusat persoalan yang merupakan kriteria penelitian ini.

2.1. Variabel bebas. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi minyak atsiri jahe merah, lempuyang wangi beserta kombinasinya dengan perbandingan (1:1), (1:3), (3:1).

2.2. Variabel terkontrol. Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah minyak atsiri jahe merah, minyak atsiri lempuyang wangi, bakteri. *S. aureus* ATCC 25923, kondisi peneliti, kondisi laboratorium (antara lain: kondisi inkas, alat dan bahan yang digunakan harus steril, media yang digunakan dalam penelitian, tempat tumbuh tanaman, waktu panen dan metode penelitian).

2.3. Variabel terikat. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah aktivitas antibakteri minyak atsiri jahe merah dan lempuyang wangi beserta kombinasinya dengan dilihat pertumbuhannya pada media uji.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, minyak atsiri rimpang jahe merah adalah minyak atsiri yang dihasilkan dari proses destilasi uap dan air bagian rimpang jahe merah yang diambil di daerah Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah, dengan ciri-ciri populasi dan sampel jahe merah yaitu umur 12 bulan, segar dan tidak berpenyakit.

Kedua, minyak atsiri rimpang lempuyang wangi adalah minyak atsiri yang dihasilkan dari proses destilasi uap dan air bagian rimpang jahe merah yang diambil di daerah Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah, dengan ciri-ciri populasi dan sampel jahe merah yaitu umur 12 bulan, segar dan tidak berpenyakit.

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

Keempat, kombinasi minyak atsiri rimpang jahe merah dan lempuyang wangi adalah campuran minyak atsiri rimpang jahe merah dan minyak atsiri rimpang lempuyang wangi dengan perbandingan (1:1),(1:3),(3:1).

Kelima, kontrol positif dalam penelitian ini adalah disk antibiotik amoksisilin.

Keenam, kontrol negatif dalam penelitian ini adalah larutan N-Heksan.

Ketujuh, uji aktivitas antibakteri kombinasi minyak atsiri jahe merah dan lempuyang wangi dengan menggunakan metode difusi dengan cakram atau disk

dengan konsentrasi 50%; 25%; 12,5%, aktivitas antibakteri dengan melihat diameter zona hambat pertumbuhan bakteri dalam media uji.

Kedelapan, uji aktivitas antibakteri dengan metode dilusi yaitu berupa seri pengenceran dalam berbagai konsentrasi berikut : 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,562%, 0,781%; kontrol negatif adalah kombinasi minyak atsiri jahe merah dan lempuyang wangi dan kontrol positif adalah biakan murni bakteri.

Kesembilan, diameter zona hambat dalam media uji adalah garis tengah daerah hambatan jernih yang mengelilingi cakram yang berisi bahan uji dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan terhadap bakteri *S. aureus* ATCC 25923.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu kondensor dan dandang besar, lampu spiritus, jarum ose tangkai panjang, tabung reaksi, rak tabung reaksi, cawan petri, kapas lidi, inkubator, cakram ukuran 6 mm, mikropipet, vortex, refraktometer, gelas ukur, pipet volume, botol vial, inkas, autoklaf, oven, pinset, neraca analitik dan penggaris.

2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah minyak atsiri jahe merah, minyak atsiri lempuyang wangi dengan konsentrasi 50%; 25%; 12,5%, untuk uji difusi dan berbagai konsentrasi 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,562%, 0,781%; untuk uji dilusi, Na sulfat eksikatus, amoksisilin, N-Heksan, Twin 80, *Nutrien Agar* (NA), *Mueler Hinton Agar* (MHA), *Vogel Johnson Agar* (VJA), *Brain Heart Infusion* (BHI), kalium tellurit dan plasma sitrat, *S. aureus* ATCC 25923.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman

Tahap pertama dari penelitian ini adalah melakukan determinasi tanaman jahe merah dan lempuyang wangi yang dimaksudkan untuk menetapkan kebenaran sampel jahe merah dan lempuyang wangi dengan mencocokkan ciri-ciri morfologi yang ada dalam tanaman jahe merah dan lempuyang wangi

terhadap pustaka dan dibuktikan di Laboratorium Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

2. Pengambilan bahan

Sampel jahe merah dan lempuyang wangi yang diperoleh di daerah Tawangmangu, Karangayar, Jawa Tengah. Rimpang jahe merah dan lempuyang wangi yang diambil yang masih segar dan bebas dari hama dengan umur tanaman 12 bulan, kemudian dibersihkan dari tanah dan kotoran lain yang menempel. Sebelum diproses rimpang dirajang dahulu menjadi potongan-potongan kecil kemudian diangin-anginkan.

3. Isolasi minyak atsiri

Rimpang jahe merah dan lempuyang wangi masing-masing yang telah dipotong kecil-kecil dimasukkan ke dalam alat penyulingan minyak dan air yang menyerupai dandang dengan penyangga berlubang yang telah terisi air. Penyulingan dilakukan di atas api sampai air mendidih. Uap air yang dihasilkan dialirkan pada pipa ke bagian kondensor dan mengalami proses kondensasi, bersama dengan uap air tersebut terbawa dengan minyak atsiri. Pemanasan dilakukan dengan api sampai penyulingan dihentikan setelah tidak ada penambahan minyak, kemudian ditampung destilat dan diukur volume yang dihasilkan.

Minyak yang diperoleh kemudian dilakukan pemisahan fase air dan minyak menggunakan corong pisah dengan penambahan Na_2SO_4 eksikatus untuk memisahkan antara minyak dan air, seberat 1% dari volume minyak atsiri sehingga didapat hasil sulingan minyak jahe merah dan lempuyang wangi murni. Minyak diperoleh kemudian disimpan dalam botol coklat dan ditempat yang sejuk, hal ini dilakukan untuk menghindari minyak atsiri yang didapat tidak rusak atau teroksidasi.

4. Analisis minyak atsiri

4.1 Pengamatan organoleptik. Sifat-sifat minyak atsiri antara lain tersusun oleh bermacam-macam komponen senyawa dan memiliki bau khas. Umumnya bau ini mewakili bau tanaman asalnya. Pada pemeriksaan organoleptik minyak atsiri jahe merah dan lempuyang wangi 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 dari aspek bentuk, warna, aroma, dan rasa.

4.2 Identifikasi minyak atsiri. Minyak atsiri dari jahe merah dan lempuyang wangi diteteskan pada permukaan air, minyak atsiri akan menyebar dan permukaan air tidak keruh. Dalam keadaan murni atau belum tercemar oleh senyawa lain, mudah menguap pada suhu kamar sehingga bila diteteskan pada selembar kertas maka ketika dibiarkan menguap, tidak meninggalkan bekas noda pada benda yang ditempel.

4.3 Pemeriksaan 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 diteteskan 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, kemudian dibilas dengan alkohol.

4.4 Penetapan bobot jenis minyak atsiri. Bobot jenis minyak atsiri adalah perbandingan bobot minyak atsiri dengan bobot air pada suhu dan volume yang sama, maka untuk menetapkan bobot jenis minyak atsiri perlu ditentukan atau dihitung berat minyak atsiri dan berat air pada volume yang sama yaitu 1 ml. Penetapan berat minyak atsiri dan air ditetapkan dengan dengan cara botol timbang dikeringkan dengan cara dioven, kemudian ditimbang botol timbang kosong dan dicatat hasilnya. Ditimbang masing-masing 1 ml minyak atsiri jahe merah dan 1 ml minyak atsiri lempuyang wangi serta 1 ml air dimasukkan dalam masing-masing botol timbang yang telah dicatat ditimbang.

Botol timbang yang berisi air dan minyak atsiri tersebut ditimbang, selanjutnya dicatat hasilnya. Data hasil penimbangan botol timbang dengan minyak atsiri serta botol timbang dengan air dikurangkan dengan berat masing-masing botol timbang kosong sehingga didapatkan berat minyak atsiri dan berat air, selanjutnya yaitu membandingkan atau membagi berat minyak atsiri dengan berat air dengan cara :

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

4.5 Uji 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 4 ml dengan cara bertahap. Pada setiap penambahan etanol kocok dan diamati kejernihannya.

4.6 Karakterisasi komponen senyawa penyusun minyak atsiri dengan Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS). Pengujian komponen senyawa penyusun minyak atsiri jahe merah dan lempuyang wangi menggunakan Shimadzu GCMS-QP2010S (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan) dilengkapi dengan Capillary Column Model Number: RTX-5MS, fase diam Phenyl Methyl Siloxane (diameter dalam 0,25 mm, panjang 30 m, dan ketebalan film 0.25 μm) dan detektor yang digunakan FTD. Kondisi GC: suhu awal 60°C dinaikkan sampai 300°C, gas pembawa Helium dengan kecepatan aliran 0,75 ml/min. Senyawa diidentifikasi dengan membandingkan retention index dan membandingkan mass spectra dengan yang ada di database *wiley library*.

5. Sterilisasi

Media dan alat gelas seperti gelas ukur dan beker glass yang digunakan dalam penelitian ini disterilkan terlebih dahulu dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit 2 atm, sedangkan alat seperti jarum ose disterilkan dengan pemanas api langsung dan inkas disterilkan menggunakan alkohol.

6. Pembuatan suspensi bakteri uji *S. aureus* ATCC 25923

Pembuatan suspensi bakteri untuk difusi dan dilusi dibuat dengan mengambil bakteri *Staphylococcus aureus* dari biakan menggunakan jarum ose yang steril selanjutnya ditanam ke dalam tabung yang berisi 5 ml medium BHI kemudian diinkubasi selama 5-8 jam pada suhu 37°C. Kekeruhan disesuaikan dengan standar Mc Farland 0,5 yaitu $1,5 \times 10^8$ CFU/ml. Tujuan disesuaikan kekeruhan bakteri *S. aureus* dengan standar Mc Farland 0,5 yaitu agar jumlah bakteri yang digunakan sama selama penelitian dan mengurangi kepadatan bakteri saat pengujian dilakukan.

7. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

7.1 Identifikasi mikroorganisme dengan pewarnaan Gram. Tujuan dari pewarnaan Gram adalah untuk memastikan bakteri *S.aureus* adalah bakteri Gram positif. Pewarnaan Gram *S.aureus* ATCC 25923 menggunakan Gram A (cat Kristal violet sebagai cat utama), Gram B (lugol iodine sebagai mordan), Gram C (etanol aseton = 1 : 1 sebagai peluntur), dan Gram D (cat sarfianian sebagai cat lawan atau penutup). Pewarnaan Gram dilakukan dengan cara membuat preparat ulas yang telah difiksasi kemudian ditetesi dengan Gram A sampai semua ulasan terwarnai, diamkan selama kurang lebih 1 menit. Preparat selanjutnya dicuci dengan aquadestilata mengalir dan dikering anginkan. Preparat ditetesi dengan Gram B diamkan selama kurang lebih 1 menit selanjutnya dicuci dengan aquadestilata mengalir dan dikering anginkan, preparat dilunturkan dengan Gram C dan didiamkan selama kurang lebih 30 detik, dicuci dengan aquadestilata mengalir kemudian ditetesi Gram D dan diamkan selama kurang lebih 1 menit. Cuci dengan aquadestilata mengalir kemudian keringkan preparat. Bakteri *S.aureus* ATCC 25923 dinyatakan positif apabila berwarna ungu, berbentuk bulat dan bergerombol seperti buah anggur ketika diamati di bawah mikroskop.

7.2 Identifikasi mikroskopis secara morfologi. Suspensi bakteri *S.aureus* ATCC 25923 yang sudah siap, digoreskan pada media VJA dan penambahan kalium telurit 1%, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Tujuan penambahan kalium telurit 1% adalah untuk menghambat pertumbuhan mikroba selain *S. aureus*. Hasil pengujian ditunjukkan dengan warna koloni hitam dan warna medium disekitar kuning, sebab *S. aureus* ATCC 25923 dapat memfermentasikan manitol dan mereduksi telurit sehingga membentuk koloni warna hitam. Adanya *fenol red* maka media disekitar koloni berwarna kuning karena *S. aureus* ATCC 25923 mereduksi manitol.

7.3 Identifikasi *S. aureus* ATCC 25923 dengan uji biokimia. Ada dua jenis pengujian yaitu uji koagulase dan uji katalase.

7.3.1 Uji koagulase. Uji koagulase dapat dilakukan dengan cara menginokulasikan koloni *S. aureus* ke dalam BHI 2 ml kemudian diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Inokulum tersebut dipindahkan sejumlah 0,2-

0,3 ml ke dalam tabung reaksi yang sudah disterilkan kemudian ditambahkan 0,5 ml koagulase plasma kemudian diaduk dan diinkubasi pada suhu 37°C. Diamati tiap jam sampai empat jam pertama dan dilanjutkan sampai 24 jam. Hal ini dimaksudkan untuk melihat atau mengecek koagulan yang terbentuk. Koagulan yang terbentuk secara padat atau solid serta tidak jatuh apabila tabung dibalik dinyatakan positif bahwa bakteri tersebut memang *S. aureus*.

7.3.2 Uji katalase. Suspensi bakteri uji ditanam pada medium Nutrien cair dengan volume 0,5 ml kemudian ditambah 2-3 tetes H₂O₂ 3%. Hasil positif ditandai dengan adanya gelembung udara sebab *S. aureus* mempunyai katalase. Penambahan H₂O₂ akan terurai menjadi 2H₂ dan O₂, hal ini ditandai dengan timbulnya gelembung udara.

8. Pembuatan kombinasi bahan uji

Minyak atsiri rimpang jahe merah dan rimpang lempuyang wangi dibuat 3 variasi konsentrasi yaitu 50%; 25%; dan 12,5% dan minyak atsiri tersebut dibuat kombinasi dengan perbandingan dalam volume yang dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Volume yang dibutuhkan untuk membuat sampel uji

No	Nama Sampel Uji	Volume yang ditambahkan (ml)			Volume Akhir
		MJM	MLW	N-Heksan	
1.	MJM tunggal 50%	1,5	-	1,5	3
	MLW tunggal 50%	-	1,5	1,5	3
	MJM-MLW 50% (1:1)	0,5	0,5	-	1
	MJM-MLW 50% (1:3)	0,25	0,75	-	1
	MJM-MLW 50% (3:1)	0,75	0,25	-	1
2.	MJM tunggal 25%	0,75	-	2,25	3
	MLW tunggal 25%	-	0,75	2,25	3
	MJM-MLW 25% (1:1)	0,5	0,5	-	1
	MJM-MLW 25% (1:3)	0,25	0,75	-	1
	MJM-MLW 25% (3:1)	0,75	0,25	-	1
3.	MJM tunggal 12,5%	0,375	-	2,625	3
	MLW tunggal 12,5%	-	0,375	2,625	3
	MJM-MLW 12,5% (1:1)	0,5	0,5	-	1
	MJM-MLW 12,5% (1:3)	0,25	0,75	-	1
	MJM-MLW 12,5% (3:1)	0,75	0,25	-	1

9. Pengujian aktivitas antibakteri

Minyak atsiri yang diperoleh dari rimpang jahe merah dan lempuyang wangi dengan metode destilasi uap dan air diuji secara mikrobiologi dengan bakteri uji *S. aureus* ATCC 25923. Metode yang digunakan adalah metode difusi agar dengan cakram atau disk yang mengandung larutan antibakteri dan metode

dilusi dengan berbagai konsentrasi. Kontrol positif yang digunakan adalah amoksisilin dan kontrol negatif yang digunakan adalah N-Heksan. Metode difusi digunakan untuk mengetahui adanya daya hambat terhadap bakteri uji dan untuk menentukan diameter zona hambat dari minyak atsiri jahe merah dan lempuyang wangi dengan konsentrasi 50%; 25%; 12,5%. Penelitian ini menggunakan cawan petri yang berisi media MHA.

Metode ini dilakukan dengan cara menyelupkan kapas lidi yang steril pada suspensi yang telah dibuat dan ditekan-tekan pada ujung tabung, dioleskan pada media MHA sampai rata dan ditunggu sampai bakteri berdifusi pada media. Setelah suspensi bakteri yang 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 sebanyak 10 μ L dengan larutan kombinasi minyak atsiri jahe merah dan lempuyang wangi. Kombinasi yang pertama berisi kombinasi 1:1, yang kedua berisi kombinasi 1:3, yang ketiga berisi kombinasi 3:1. Kontrol positif menggunakan amoksisilin dan kontrol negatif menggunakan N-Heksan. Setelah itu cakram diletakkan atau ditempelkan pada media MHA dengan menggunakan pinset, cawan petri diinkubasi di dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C. Kemudian setelah 24 jam dilakukan inkubasi, zona hambat yang terbentuk dapat diukur. Pengujian tiap kombinasi minyak atsiri jahe merah dan lempuyang wangi dilakukan sebanyak 3 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.

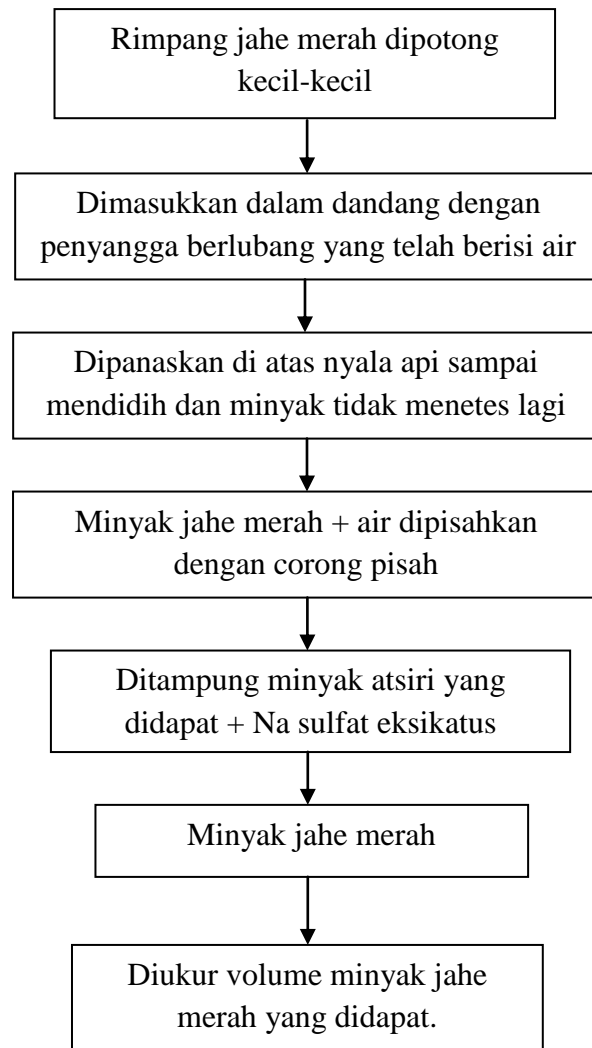
Uji dilusi dilakukan untuk mengetahui KHM dan KBM minyak atsiri terhadap bakteri dengan konsentrasi pengenceran 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,562%, 0,781%. Metode dilusi dilakukan dengan cara pengenceran 9 tabung reaksi yang steril dan dibuat secara aseptis. Metode ini dilakukan dengan cara memasukkan bahan uji ke dalam masing-masing tabung reaksi kecuali tabung nomor 9 sebagai kontrol positif yang berisi suspensi bakteri dan kontrol negatif yang berisi larutan kombinasi minyak atsiri jahe merah dan lempuyang

wangi, masing-masing tabung tersebut mempunyai beberapa konsentrasi bahan uji yang berbeda dengan menambahkan bahan pengencer atau media BHI. Suspensi bakteri yang setara dengan standard Mc Farland 0,5 dimasukkan kedalam masing-masing tabung uji kecuali tabung nomor 1 sebagai kontrol negatif. Seluruh tabung diinkubasi pada suhu kamar selama 24 jam pada suhu 37⁰C, kemudian diamati kekeruhannya. Semua tabung uji dilakukan pengujian kembali untuk membuktikan apakah bakteri tersebut memang tidak dapat tumbuh dalam konsentrasi tersebut dengan menggunakan media VJA untuk melihat pertumbuhan bakterinya dan untuk menentukan KHM dan KBM dari minyak atsiri tersebut.

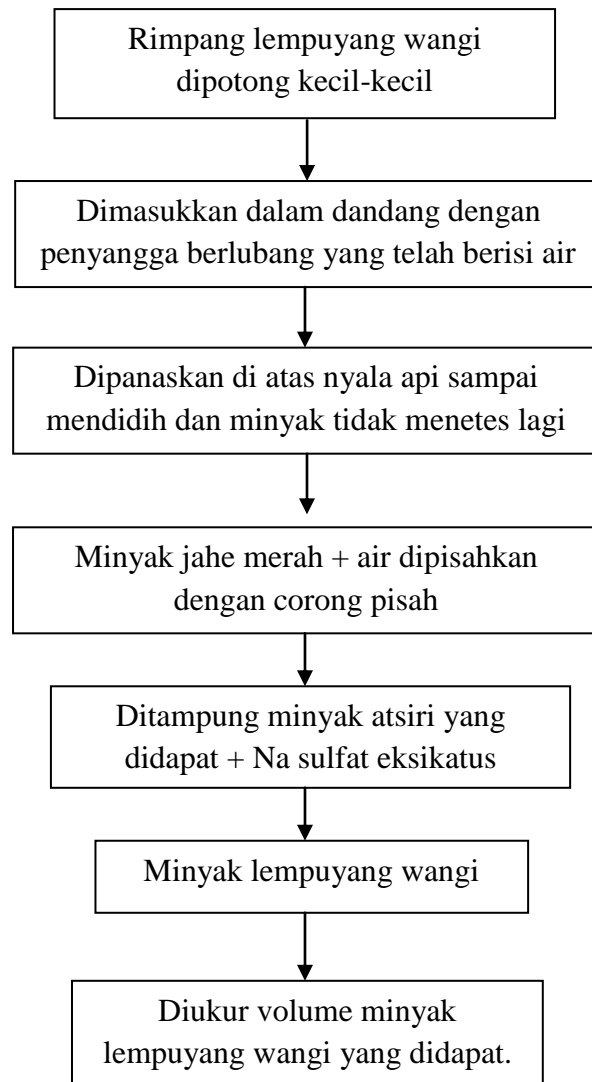
E. Analisis hasil

Data hasil penelitian diperoleh dengan mengukur daya sebar dilihat dari adanya daerah hambatan pertumbuhan bakteri uji yang ditunjukkan dengan adanya zona jernih di sekeliling cakram yang tidak ditumbuhi bakteri, kemudian diukur diameter hambatan pertumbuhan bakterinya dari masing-masing lingkaran. Data yang diperoleh dianalisis 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*. Analisis dengan menggunakan uji *Tukey* apabila terdapat perbedaan, jika data tidak homogen maka dilanjutkan dengan uji *Kruskal-Wallis*. Apabila terdapat perbedaan maka dilanjutkan dengan uji *Man-Whitney*, sehingga dapat diketahui perbedaan antar kelompok.

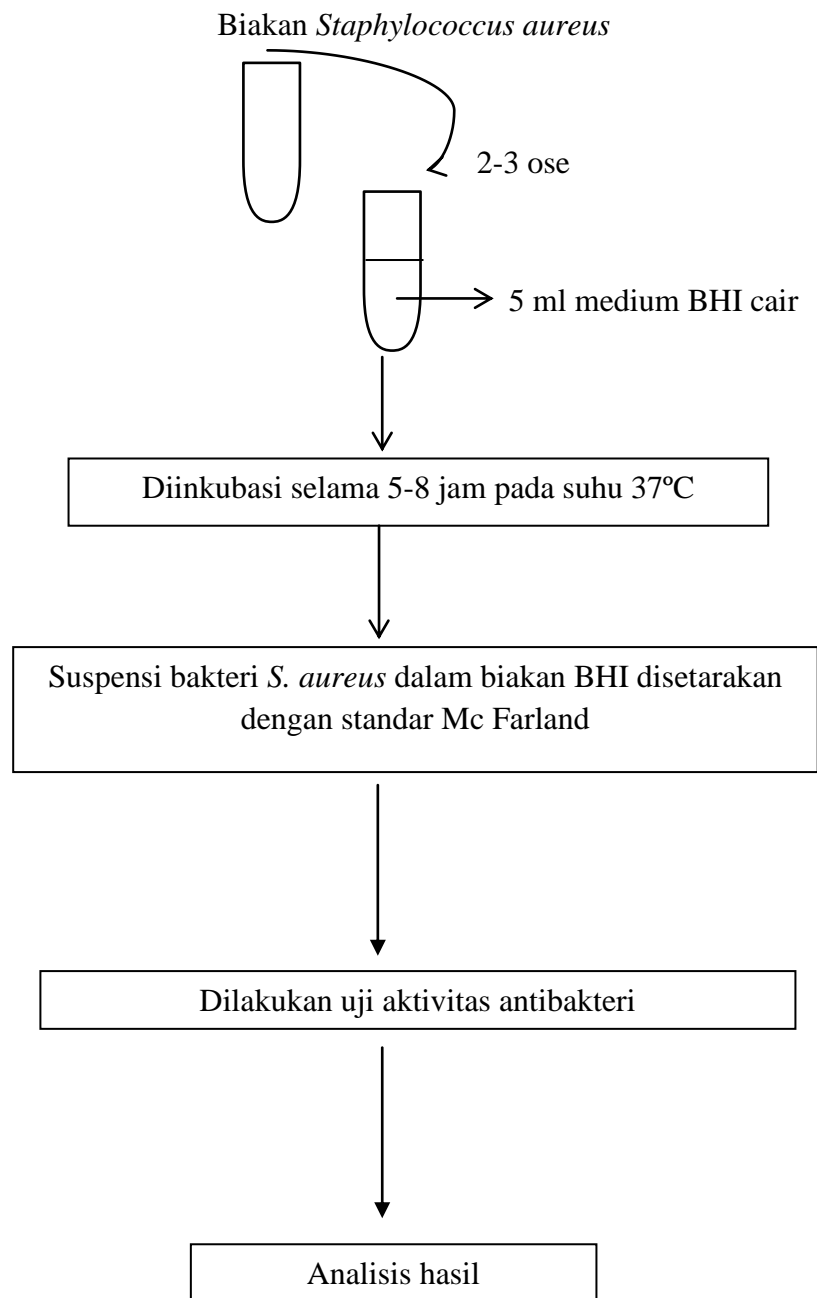
Analisis hasil yang digunakan pada metode dilusi adalah dengan melihat pertumbuhan bakteri *S. aureus* ATCC 25923 pada tabung reaksi. KHM ditentukan berdasarkan hasil pengamatan dimana konsentrasi terkecil yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan bakteri. KBM ditentukan berdasarkan hasil pengamatan, dimana konsentrasi terkecil yang tidak ada pertumbuhan ditentukan sebagai KBM.



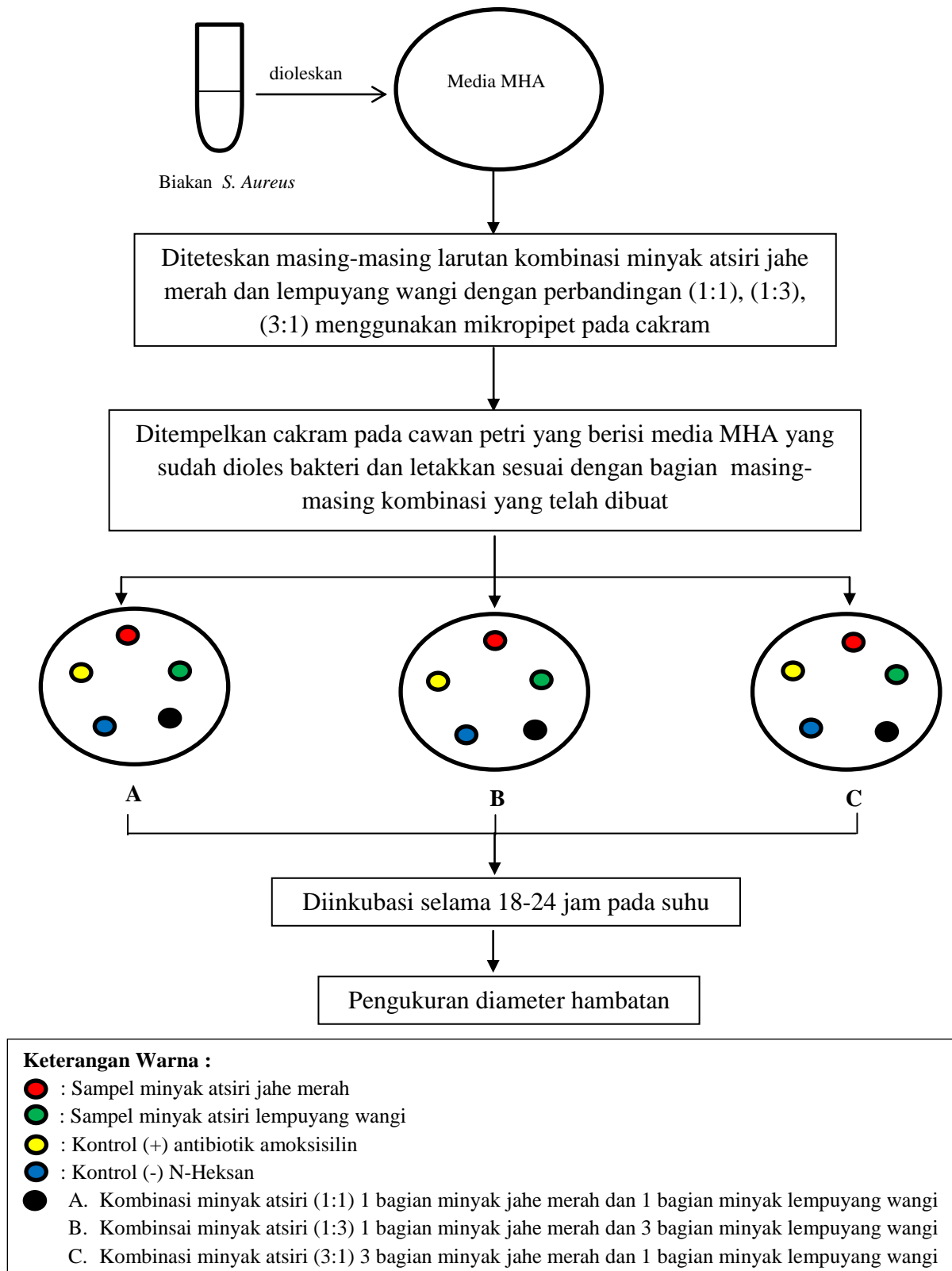
Gambar 1. Skema isolasi minyak atsiri rimpang jahe merah



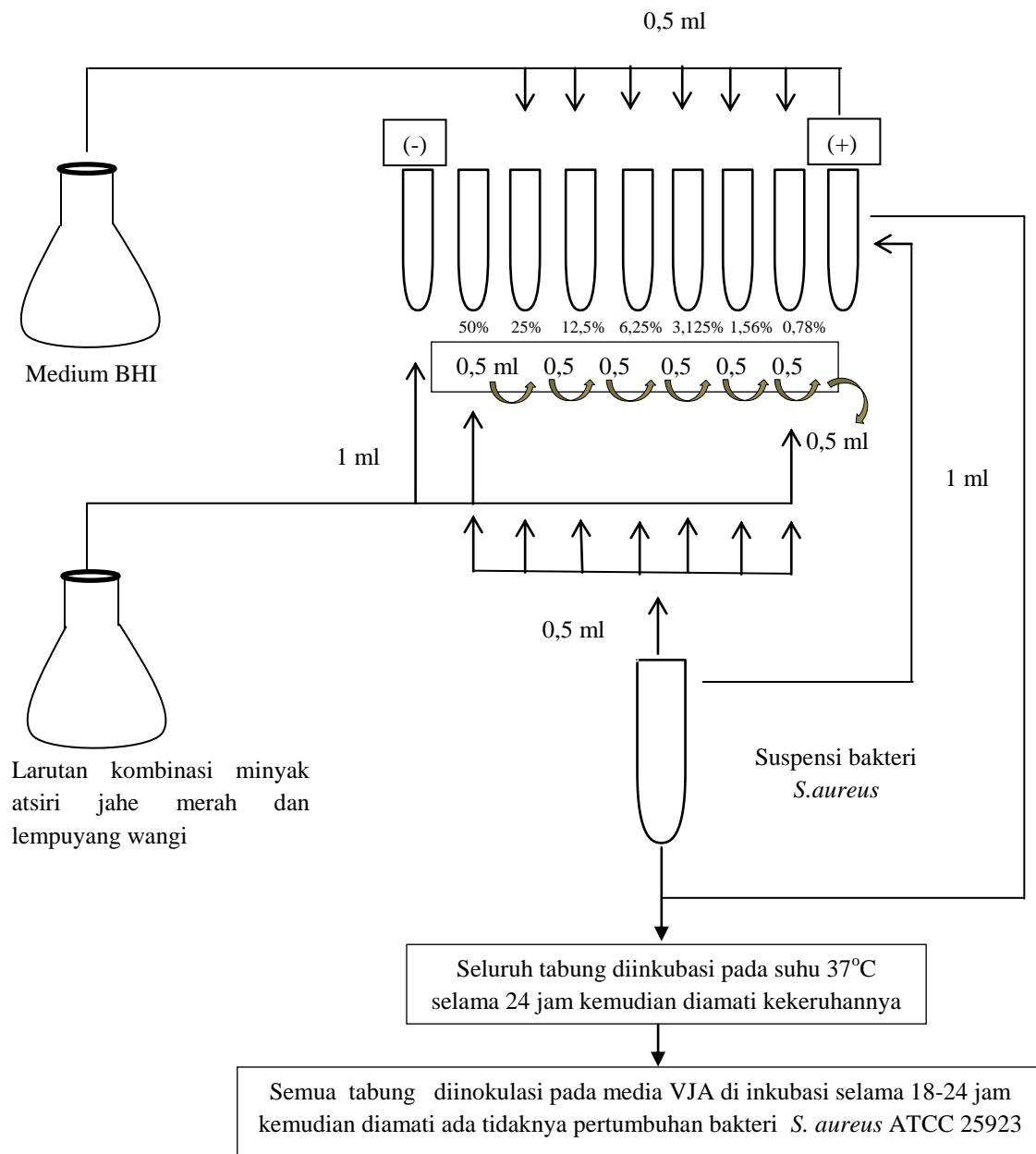
Gambar 2. Skema isolasi minyak atsiri rimpang lempuyang wangi



Gambar 3. Skema pembuatan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



Gambar 4. Skema pengujian aktivitas antibakteri secara difusi



Gambar 5. Skema pengujian aktivitas antibakteri kombinasi minyak atsiri jahe merah dan lempuyang wangi terhadap bakteri *S. aureus* ATCC 25923 secara dilusi

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Determinasi tanaman

Determinasi adalah proses membandingkan suatu tanaman dengan tanaman lain yang sudah dikenal sebelumnya. Determinasi bertujuan untuk mencocokkan tanaman yang diteliti berdasarkan ciri-ciri morfologis tanaman pada kunci determinasi sehingga dapat diketahui kebenaran tanaman yang diteliti dan dapat mencegah kemungkinan tercampurnya bahan dengan tanaman lain. Tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman jahe merah (*Zingiber officinale* Var. Rubrum) dan lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* Val.) yang termasuk familia Zingiberaceae yang telah dideterminasi di Laboratorium Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret, Surakarta. Berdasarkan hasil determinasi dapat dipastikan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman jahe merah (*Zingiber officinale* Var. Rubrum) dan lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* Val.) yang dapat dilihat pada lampiran 1.

2. Pengambilan bahan

Tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang jahe merah dan rimpang lempuyang wangi yang diperoleh di daerah Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah pada bulan Januari 2017. Umur rimpang 12 bulan dengan berat jahe merah 8 kg dan lempuyang wangi 6 kg. Waktu pengambilan tanaman rimpang jahe merah dan lempuyang wangi dilakukan pada siang hari. 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 jahe merah dan lempuyang wangi dilakukan dengan menggunakan metode destilasi uap dan air. Hasil destilasi dari proses isolasi didapat rendemen minyak atsiri, rendemen yang dimaksud dalam penelitian ini

adalah jumlah minyak atsiri yang didapatkan dalam dua kali destilasi. Perhitungan rendemen bertujuan untuk mengetahui besar kecilnya presentase minyak atsiri yang didapat selama proses destilasi dilakukan.

Tabel 2. Kadar minyak atsiri jahe merah

Proses destilasi	Bobot sampel (gram)	Volume minyak (ml)	Rendemen (%)
Destilasi 1	4000	5	0,13
Destilasi 2	4000	5	0,13
Total	8000	10	0,13

Tabel 3. Kadar minyak atsiri lempuyang wangi

Proses destilasi	Bobot sampel (gram)	Volume minyak (ml)	Rendemen (%)
Destilasi 1	4000	8	0,20
Destilasi 2	2000	4	0,20
Total	6000	12	0,20

Jahe merah mengandung minyak atsiri yang terdiri dari E-sitral, Z-sitral dan kamfen (Lely *et al.* 2016) nilai rendemen yang diperoleh dari proses destilasi uap dan air adalah 0,13%. Lempuyang wangi mengandung minyak atsiri yang terdiri dari zerumbon 31,05% (Kamazeri *et al.* 2012) nilai rendemen yang diperoleh dari proses destilasi uap dan air adalah 0,20%. Hasil rendemen minyak atsiri jahe merah lebih besar dibandingkan dengan minyak atsiri lempuyang wangi dari uji masing-masing rendemen sampel minyak atsiri. Perbedaan hasil rendemen yang diperoleh dapat dipengaruhi oleh perbedaan ukuran rajangan pada saat persiapan tanaman sebelum dilakukan destilasi. Semakin kecil ukuran rajangan maka nilai rendemen hasil semakin tinggi. Ukuran rajangan yang kecil-kecil menyebabkan jaringan pada rimpang hancur sehingga sebagian besar kantong minyak pecah dan mempermudah minyak keluar dari jaringan dan ikut terbawa oleh uap air pada proses destilasi (Novalny 2009). Berdasarkan penelitian sebelumnya didapatkan rendemen minyak atsiri jahe merah adalah 0,18% (Lely *et al.* 2016) dan rendemen minyak atsiri lempuyang wangi adalah 0,93% (Respati 2010). Hasil rendemen minyak atsiri yang besar menunjukkan jumlah minyak atsiri yang didapatkan semakin besar. Perbedaan hasil rendemen pada hasil uji dengan pustaka dapat dipengaruhi oleh perbedaan daerah dan waktu panen serta

perbedaan metode destilasi yang dilakukan. Data perhitungan lengkap dapat dilihat pada lampiran 13.

4. Analisa minyak atsiri

4.1 Pengamatan organoleptik. Pengamatan organoleptik dapat dilakukan secara visual dan panca indra meliputi hidung, mata dan lidah. Pada pemeriksaan organoleptis minyak atsiri jahe merah dan lempuyang wangi minyak atsiri hasil destilasi masing-masing sampel diambil pada volume yang sama dan ditempatkan dalam sebuah tempat kaca yang bersih dan jernih. Kemudian diamati dari aspek bentuk, warna, aroma, dan rasa. Hasil pengamatan uji organoleptik pada minyak atsiri jahe merah dan lempuyang wangi dapat dilihat pada tabel 4 dan 5.

Tabel 4. Hasil pemeriksaan organoleptik minyak atsiri jahe merah

No.	Jenis pemeriksaan	Hasil	Pustaka (Depkes 1995)
1.	Warna	Kuning tua	Kuning
2.	Bau	Khas jahe	Khas jahe
3.	Bentuk	Cair	Cairan
4.	Rasa	Hangat, pedas	Pedas dan hangat

Tabel 5. Hasil pemeriksaan organoleptik minyak atsiri lempuyang waangi

No.	Jenis pemeriksaan	Hasil	Pustaka (Depkes 1987)
1.	Warna	Kuning muda	Kuning muda
2.	Bau	Khas lempuyang wangi	Khas lempuyang wangi
3.	Bentuk	Cair	Cairan
4.	Rasa	Pahit	Pahit , getir

Warna minyak atsiri hasil destilasi masing-masing sampel diambil pada volume yang sama dan ditempatkan pada sebuah tempat kaca yang bersih dan jernih, kemudian dibandingkan dengan dengan pustaka. Bau dan rasa minyak atsiri jahe merah dan lempuyang wangi memiliki bau dan rasa yang khas sesuai dengan tanaman asalnya.

4.2 Identifikasi minyak atsiri. Hasil identifikasi minyak atsiri jahe merah dan lempuyang wangi dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Hasil identifikasi minyak atsiri jahe merah dan lempuyang wangi

Zat aktif	Pemeriksaan	Hasil	Pustaka
Minyak atsiri jahe merah dan lempuyang wangi	Secara tunggal minyak atsiri jahe merah dan lempuyang wangi. 1 tetes minyak atsiri ditetaskan pada kertas saring	Minyak atsiri menguap tanpa meninggalkan noda	Minyak atsiri tidak meninggalkan noda bila ditetaskan pada kertas saring (Gunawan dan Mulyani 2004)
	Secara tunggal minyak atsiri jahe merah dan lempuyang wangi. 1 tetes minyak atsiri ditetaskan pada permukaan air	Minyak atsiri menyebar dan permukaan air tidak keruh	Minyak atsiri menyebar diatas permukaan air dan tidak keruh (Depkes 1979)

Hasil identifikasi minyak atsiri jahe merah dan lempuyang wangi menunjukkan bahwa identifikasi sesuai dengan pustaka, yaitu 1 tetes minyak atsiri jika ditetaskan pada kertas saring minyak tidak meninggalkan noda, 1 tetes minyak atsiri jika ditetaskan pada permukaan air maka minyak akan terlihat menyebar dipermukaan air dan tidak keruh. Gambar hasil identifikasi dapat dilihat pada lampiran 7.

4.3 Penetapan indeks bias minyak atsiri. Hasil pemeriksaan indeks bias minyak atsiri jahe merah dan lempuyang wangi dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 7. Indeks bias minyak atsiri jahe merah dan lempuyang wangi

Minyak atsiri	Hasil indeks bias (31°C)	Pustaka
Jahe merah	1,48	Indeks bias (25°C) 1,4841-1,4899 (SNI no. 06-1312-1998)
Lempuyang wangi	1,49	Indeks bias (20°C) 1,4915-1,4981 (Depkes 1987)

Pemeriksaan indeks bias minyak atsiri jahe merah sebesar 1,48 dan minyak atsiri lempuyang wangi sebesar 1,49 yang diteliti sesuai dengan pustaka. Indeks bias pada minyak atsiri jahe merah adalah 1,4841-1,4899 dan indeks bias pada minyak atsiri lempuyang wangi adalah 1,4915-1,4981 bilangan angka tersebut menunjukkan perbandingan antara sinus sudut datang dengan sinus sudut bias cahaya yang diukur dengan alat refraktometer. Indeks bias minyak atsiri berhubungan erat dengan komponen-komponen yang tersusun dalam minyak

atsiri yang dihasilkan. Komponen penyusun minyak atsiri dapat mempengaruhi besar atau kecilnya nilai indeks biasanya. Semakin banyak komponen senyawa rantai panjang seperti sesquiterpen ataupun komponen bergugus oksigen tersuling, maka kerapatan medium minyak atsiri akan bertambah sehingga cahaya yang datang akan lebih sukar untuk dibiaskan dan menyebabkan indeks bias minyak menjadi lebih besar (Wiyono *et al.* 2000). Hasil perhitungan indeks bias dapat dilihat pada Lampiran 13.

4.4 Penetapan bobot jenis minyak atsiri. Hasil penetapan bobot jenis minyak atsiri jahe merah dan lempuyang wangi dapat dilihat pada tabel 8 dan 9.

Tabel 8. Hasil penetapan bobot jenis minyak atsiri jahe merah

Percobaan	Bobot jenis minyak	Pustaka
I	0,87	Bobot jenis minyak atsiri
II	0,88	(25°C) 0,8720-0,8890
III	0,88	(SNI no. 06-1312-1998)
Rata-rata	0,88	

Tabel 9. Hasil penetapan bobot jenis minyak atsiri lempuyang wangi

Percobaan	Bobot jenis minyak	Pustaka
I	0,93	Bobot jenis minyak atsiri
II	0,93	(20°C) 0,9241-0,9315
III	0,93	(Depkes 1987)
Rata-rata	0,93	

Hasil bobot jenis minyak atsiri jahe merah berdasarkan hasil penelitian adalah 0,88 dan bobot jenis pada lempuyang wangi adalah 0,93. Berdasarkan pustaka bobot jenis minyak atsiri jahe merah pada suhu 25°C adalah 0,8720-0,8890 dan pada lempuyang wangi pada suhu 20°C adalah 0,9241-0,9315. Bobot jenis minyak atsiri jahe merah dan lempuyang wangi pada hasil penelitian dikonversi sesuai dengan suhu ruangan saat penelitian yaitu pada suhu 31°C sehingga bobot jenis teoritik minyak atsiri jahe merah adalah 0,87 – 0,89 dan pada minyak atsiri lempuyang wangi adalah 0,93 – 0,94. Bobot jenis adalah salah satu kriteria penting dalam menentukan mutu dan kemurnian suatu minyak atsiri. Semakin rendah nilai bobot jenis minyak atsiri yang didapat maka semakin rendah tingkat kemurnian minyak atsiri tersebut. Besar atau kecilnya bobot jenis suatu minyak atsiri dapat dipengaruhi oleh jenis serta jumlah komponen kimia yang terdapat didalam minyak atsiri, sehingga semakin banyak komponen kimia yang terdapat didalam minyak atsiri maka semakin besar pula bobot jenisnya

(Wiyono *et al* 2000). Perhitungan konversi lebih lengkap dapat dilihat pada lampiran 16.

4.5 Uji kelarutan dalam etanol. Hasil kelarutan minyak atsiri jahe merah dan lempuyang wangi dalam etanol 70% dengan perbandingan 1:4 (artinya 1 ml minyak atsiri larut dalam 4 ml etanol 70%) menurut hasil penelitian adalah larut dan jernih. Minyak atsiri mempunyai sifat yang mudah larut dalam pelarut organik dan tidak larut dalam air. Tingkat kelarutan minyak atsiri dalam alkohol dipengaruhi oleh jenis dan konsentrasi senyawa yang dikandungnya. Hasil gambar kelarutan dapat dilihat pada Lampiran 7.

4.6 Karakteristik komponen senyawa minyak atsiri dengan *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS). Hasil karakterisasi komponen senyawa minyak atsiri jahe merah dan lempuyang wangi dengan GC-MS dapat dilihat pada tabel 10 dan 11.

Tabel 10. Hasil analisis komponen utama minyak atsiri ja he merah dengan GC-MS

Peak	RT (min)	Area (%)	BM	Senyawa Terduga
5	5.131	1,38	136	Beta-myrcine
20	12.403	1,39	204	Zingiberen
19	12.335	1,93	202	Benzene
2	4.467	1,97	136	Alpha-pinene
4	5.065	2,65	126	6-methyl-5-hepten-2-one
9	6.747	2,76	154	Linalool
3	4.867	11,28	136	Camphene
6	5.809	17,27	154	Eucalyptol (1,8-cineole)
16	9.349	19,25	152	Z-citral
15	8.915	27,68	152	E-citral

Tabel 11. Hasil analisis komponen utama minyak atsiri lempuyang wangi dengan GC-MS

Peak	RT (min)	Area (%)	BM	Senyawa Terduga
2	4.467	1,72	136	Alpha-pinene
21	14.180	2,53	220	Humulene oxyde
20	14.033	2,68	204	Beta-selinene
10	5.904	2,99	154	Eucalyptol (1,8-cineole)
17	12.109	3,00	204	Alpha-humulene
14	8.032	3,32	154	3-cyclohexen
13	7.567	5,24	152	Camphor
3	4.685	7,37	136	Camphene
12	6.768	23,24	154	L-linalool
24	15.768	39,38	218	Zerumbon

Analisis minyak atsiri dengan menggunakan Gas Chromatography-Massa Spectrometry (GS-MS) bertujuan untuk mengetahui komponen senyawa kimia yang terdapat pada minyak atsiri jahe merah dan lempuyang wangi. Hasil analisis menggunakan GC-MS diperoleh dua data yaitu kromatogram yang merupakan hasil analisis GC dan spektra massa yang merupakan hasil analisis MS. Hasil masing-masing kromatogram dari minyak atsiri jahe merah dan lempuyang wangi menunjukkan adanya 24 puncak yang terdeteksi. Identifikasi komponen lebih lanjut menggunakan MS sehingga diperoleh hasil spektra massa dari masing-masing puncak yang telah terdeteksi pada kromatogram minyak atsiri jahe merah dan lempuyang wangi. Hasil analisis komponen senyawa minyak atsiri jahe merah dan lempuyang wangi pada tabel 10 dan 11 menunjukkan kandungan senyawa terduga yang memiliki komposisi paling besar. Komponen senyawa terduga minyak atsiri yang dianalisis memiliki kemiripan dengan senyawa yang terdapat pada *library WILEY 7.LIB*. Komponen senyawa minyak atsiri dari hasil penelitian ini menunjukkan persamaan dengan komponen senyawa yang diperoleh berdasarkan penelitian sebelumnya seperti pada minyak atsiri jahe merah tersusun atas E-citral, Z-citral, camphene, zingiberene, eucalyptol (1,8-cineole) dan masih banyak lagi senyawa lainnya (Lely *et al.*, 2016) serta lempuyang wangi yang tersusun atas zerumbon, linalool, camphene, camphor, 3-cyclohexen dan masih banyak lagi senyawa lainnya (Respati 2010). Komponen senyawa utama seperti E-citral, Z-citral dan eucalyptol (1,8-cineole) pada minyak atsiri jahe merah serta zerumbon pada minyak atsiri lempuyang wangi diduga merupakan senyawa yang bekerja sebagai antibakteri. Mekanisme antibakteri senyawa E-citral, Z-citral dan eucalyptol (1,8-cineole) pada jahe merah dengan menghambat fungsi membran sel bakteri yang menyebabkan kerusakan membran sel selanjutnya terjadilah kematian bakteri (Lely *et al.* 2016). Mekanisme antibakteri senyawa Zerumbon pada lempuyang wangi dengan cara menghambat sintesis protein sel bakteri yang menyebabkan protein yang terbentuk menjadi abnormal (Yamamoto *et al.* 2001). Hasil kromatogram dan spektrum massa dari minyak atsiri jahe merah dan lempuyang wangi dapat dilihat pada lampiran 17.

5. Pembuatan suspensi bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Hasil suspensi bakteri *S. aureus* pada media BHI yang digunakan untuk uji difusi dan uji dilusi kekeruhannya disetarakan dengan standar Mc. Farland 0,5. Tujuan disetarakannya kekeruhan suspensi bakteri *S. aureus* dengan standar Mc. Farland 0,5 adalah agar jumlah bakteri yang digunakan selama penelitian tetap sama dan untuk mengurangi kepadatan bakteri saat pengujian dilakukan. Hasil pembuatan suspensi dapat dilihat pada lampiran 6.

6. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

6.1 Identifikasi mikroorganisme dengan pewarnaan Gram. Tujuan dari pewarnaan Gram adalah untuk memastikan bahwa bakteri yang digunakan adalah bakteri *Staphylococcus aureus* dengan melihat warna dan bentuk sel bakteri. Pewarnaan Gram dilakukan dengan menggunakan pewarna Gram A, Gram B, Gram C dan Gram D, hasil pewarnaan Gram dilihat menggunakan mikroskop dengan perbesaran 100x (kuat) bakteri tampak berwarna ungu, berbentuk bulat dan bergerombol seperti buah anggur. Bakteri Gram positif (*S. aureus*) memiliki lapisan peptidoglikan yang lebih tebal dibandingkan bakteri Gram negatif, sehingga pada pengecatan Gram *S. aureus* dapat mempertahankan warna violet dari Gram A (kristal violet). Pemberian kristal violet dan iodin, pemberian alkohol (etanol) pada pewarnaan Gram menyebabkan tidak terestraksinya lipid sehingga memperkecil permeabilitas dinding sel Gram positif. Dinding selnya terdehidrasi dengan perlakuan alkohol, pori-pori mengkerut, daya rembes dinding sel dan membran menurun sehingga pewarnaan safranin tidak dapat masuk sehingga sel berwarna ungu. Perbedaan respon terhadap mekanisme pewarnaan Gram didasarkan pada struktur dan komposisi dinding sel bakteri (Pelczar dan Chan 2000). Bakteri Gram positif mengandung protein dalam prevalensi lebih rendah dan dinding selnya tebal. Hasil gambar identifikasi mikroorganisme dengan pewarnaan Gram dapat dilihat pada Lampiran 9.

6.2 Identifikasi morfologi pada media VJA. Identifikasi dilakukan dengan cara menginokulasi suspensi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada media *Vogel Johnson Agar* (VJA) yang telah ditetesi 3 tetes kalium tellurit 1%

dalam cawan petri. Hasil dari pengujian menunjukkan koloni berwarna hitam dan warna medium disekitar kuning, karena bakteri *S. aureus* ATCC 25923 dapat mereduksi kalium telurit menjadi metalik telurit sehingga membentuk koloni warna hitam. Adanya *fenol red* maka media disekitar koloni berwarna kuning karena *S. aureus* ATCC 25923 memfermentasi manitol. Hasil identifikasi dapat dilihat pada lampiran 9.

6.3 Identifikasi *S. aureus* ATCC 25923 dengan uji biokimia.

6.3.1 Uji koagulase. Koagulase merupakan protein yang menyerupai enzim yang apabila ditambahkan dengan oksalat ataupun sitrat maka akan menyebabkan penggumpalan plasma karena adanya faktor serum. Faktor serum akan bereaksi dengan koagulase sehingga terbentuk esterase dan aktivitas penggumpalan serta mengaktifasi protrombin menjadi trombin. Trombin yang aktiv akan membentuk fibrin yang kemudian akan berpengaruh terhadap penggumpalan plasma yang terjadi (Bonang 2004). Uji koagulase dilakukan untuk menunjukkan sifat virulensi pada bakteri *S. aureus* yaitu dapat melindungi dirinya dari fagositosis dan menghalangi kerja sistem imunitas inang. Pada uji koagulase dinyatakan hasil positif kuat jika tabung uji dibalik, gumpalan plasma tidak terlepas dan tetap melekat pada dinding tabung. Hasil uji koagulase pada penelitian ini dinyatakan positif karena terjadi perubahan plasma darah kelinci yang terdenaturasi oleh *S. aureus* sehingga terbentuk koagulan (gumpalan). Hasil gambar dapat dilihat pada lampiran 9.

6.3.2 Uji katalase. Katalase adalah enzim yang dihasilkan bakteri *S. aureus* untuk menetralkan zat toksik dari hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida terbentuk karena adanya reaksi kimia dari H_2O_2 . Uji katalase dapat digunakan untuk membedakan bakteri *S. aureus* dengan *Streptococcus sp.* dimana *Streptococcus sp.* pada penambahan 3% H_2O_2 tidak akan menghasilkan gelembung udara sedangkan *S. aureus* menghasilkan gelembung udara. Uji katalase dinyatakan positif jika adanya gelembung-gelembung udara. Hasil penelitian dari uji katalase ini dinyatakan positif karena terbentuknya gelembung-gelembung udara pada suspensi uji sebab *S.aureus* menghasilkan enzim katalase.

Penambahan H_2O_2 akan terurai menjadi $2H_2O$ dan O_2 , hal ini ditandai dengan timbulnya gelembung udara. Hasil gambar dapat dilihat pada lampiran 9.

7. Pengujian aktivitas antibakteri

7.1 Pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi. Uji aktivitas antibakteri minyak atsiri jahe merah dan lempuyang wangi dalam penelitian ini menggunakan metode difusi. Pengujian daya hambat antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* ATCC 25923 dengan konsentrasi 50%; 25% dan 12,5% pada kombinasi jahe merah : lempuyang wangi dengan perbandingan 1:1; 1:3 dan 3:1. Masa inkubasi dilakukan selama 24 jam pada suhu $37^\circ C$. Hasil diameter hambat dari uji difusi minyak atsiri jahe merah dan lempuyang wangi secara tunggal dan kombinasi dapat dilihat pada tabel 12, 13 dan 14.

Tabel 12. Diameter hambat konsentrasi 50% dari uji difusi minyak atsiri

Konsentrasi 50%	Replikasi			Rata-rata \pm SD (mm)
	I	II	III	
Amoksisilin (K+)	32,3	30,6	31,3	$31,40 \pm 0,85$
N-heksan (K-)	0	0	0	$0,00 \pm 0,00$
Jahe merah	23,6	22	22,3	$22,63 \pm 0,85$
Lempuyang wangi	17	16,3	17	$16,77 \pm 0,40$
Kombinasi 1:1	20	20	20,3	$20,10 \pm 0,17$
Kombinasi 1:3	15	15	16,3	$15,43 \pm 0,75$
Kombinasi 3:1	24,6	23,3	25	$24,30 \pm 0,89$

Tabel 13. Diameter hambat konsentrasi 25% dari uji difusi minyak atsiri

Konsentrasi 25%	Replikasi			Rata-rata \pm SD (mm)
	I	II	III	
Amoksisilin (K+)	34	33,6	31,6	$32,97 \pm 1,23$
N-heksan (K-)	0	0	0	$0,00 \pm 0,00$
Jahe merah	19	18,3	18,6	$18,63 \pm 0,35$
Lempuyang wangi	12,3	13	13,3	$12,87 \pm 0,51$
Kombinasi 1:1	16	15,3	15,6	$15,63 \pm 0,35$
Kombinasi 1:3	13	12	12,3	$12,43 \pm 0,51$
Kombinasi 3:1	18,6	17,3	18	$17,97 \pm 0,65$

Tabel 14. Diameter hambat konsentrasi 12,5% dari uji difusi minyak atsiri

Konsentrasi 12,5%	Replikasi			Rata-rata \pm SD (mm)
	I	II	III	
Amoksisilin (K+)	32,6	33,6	31	$32,40 \pm 1,31$
N-heksan (K-)	0	0	0	$0,00 \pm 0,00$
Jahe merah	15,3	14,6	16	$15,30 \pm 0,70$
Lempuyang wangi	9	8,6	9	$8,87 \pm 0,23$
Kombinasi 1:1	11,3	11	10,6	$10,97 \pm 0,35$
Kombinasi 1:3	8	7,6	7	$7,53 \pm 0,50$
Kombinasi 3:1	15	14,6	15,3	$14,97 \pm 0,35$

Keterangan :

Kombinasi (1:1) 1 bagian minyak jahe merah dan 1 bagian minyak lempuyang wangi

Kombinasi (1:3) 1 bagian minyak jahe merah dan 3 bagian minyak lempuyang wangi

Kombinasi (3:1) 3 bagian minyak jahe merah dan 1 bagian minyak lempuyang wangi

Berdasarkan hasil uji yang dilakukan dengan metode difusi didapatkan daya hambat terhadap bakteri *S. aureus* ATCC 25923 yang paling besar adalah pada kombinasi minyak atsiri jahe merah dan lempuyang wangi dengan perbandingan 3:1 pada konsentrasi 50% yang diameter daya hambatnya adalah $24,30 \pm 0,89$ mm. Komponen utama minyak atsiri yang diduga memiliki aktivitas sebagai antibakteri pada rimpang jahe merah adalah E-citral 27,68%; Z-citral 19,25%; 1,8-cineole 17,27% serta camphene 11,28%. Komponen utama minyak atsiri yang diduga memiliki aktivitas sebagai antibakteri pada rimpang lempuyang wangi adalah Zerumbon 39,38%; L-linalool 23,24%; camphene 7,37% serta camphor 5,24%. Kandungan kimia pada minyak atsiri jahe merah memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* lebih besar dari pada kandungan kimia pada minyak atsiri lempuyang wangi dilihat pada uji tunggalnya dimana pada konsentrasi terbesar 50% minyak atsiri jahe merah memberikan zona hambat sebesar $22,63 \pm 0,85$ mm sedangkan lempuyang wangi $16,77 \pm 0,40$ mm. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Lely *et al.* (2016) pada konsentrasi 20% memberikan zona hambat $13,8 \pm 0,10$ mm dan penelitian yang dilakukan Sayuti *et al.* (2014) memberikan zona hambat $8,68 \pm 0,12$ mm terhadap , sehingga dapat disimpulkan pada perbandingan 3:1 dimana kandungan minyak atsiri jahe merah lebih besar daripada kandungan minyak atsiri lempuyang wangi menyebabkan daya hambat semakin besar dibandingkan dengan perbandingan lainnya. Selain itu, diduga karena adanya efek sinergis antara senyawa yang ada pada minyak atiri jahe merah dan lempuyang wangi. Efek sinergis adalah efek yang muncul karena adanya dua atau lebih kandungan kimia yang memiliki khasiat sama dan saling menguntungkan (Pramono 2006). Amoksisilin pada penelitian ini digunakan sebagai kontrol positif. Amoksisilin memiliki mekanisme kerja menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara mengganggu sintesis dinding sel bakteri.

Terganggunya sintesis dinding sel bakteri mengakibatkan proses sintesis peptidoglikan terhenti sehingga terjadi kematian pada bakteri (Katzung 2007).

Berdasarkan data hasil analisis yang diperoleh dilakukan analisis statistik untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan daya hambat yang signifikan dari sampel minyak atsiri jahe merah dan lempuyang wangi tunggal beserta kombinasi yang diteliti. Analisa pertama yang dilakukan adalah uji *shapiro-wilk* untuk mengetahui apakah data hasil penelitian yang diperoleh terdistribusi normal atau tidak. Hasil uji *shapiro-Wilk* menunjukkan bahwa nilai signifikansi masing-masing bahan uji berturut turut adalah 0,68; 0,49; 0,12; 0,10; 0,23; 10. Nilai tersebut lebih besar dari 0,05 sehingga dapat disimpulkan data daya hambat yang diperoleh terdistribusi secara normal. Untuk uji kesamaan varian dilakukan dengan uji test homogeneity of variances pada kolom *Levene Statistic* menunjukkan bahwa signifikansinya adalah 0,090. Nilai tersebut lebih besar dari 0,05 maka dapat disimpulkan bahwa varian data tunggal dan kombinasi sama.

Untuk mengetahui apakah ada perbedaan daya hambat yang signifikan dari data sampel tunggal dan kombinasi, maka dilanjutkan dengan melakukan uji ANOVA dua jalan. Hasil analisis ANOVA dua jalan dilakukan dengan menggunakan *Post Hoc Test*. Dilihat berdasarkan *homogeneous subsets* terdapat perbedaan yang signifikan antara kontrol positif, tunggal jahe merah dan lempuyang wangi serta kombinasi keduanya (1:1 dan 1:3). Namun pada subsets 4 terdapat 2 nilai variabel yaitu tunggal jahe merah dan kombinasi 3:1 yang artinya tunggal jahe merah dan kombinasi 3:1 tidak memiliki perbedaan yang signifikan. Nilai variabel tertinggi terdapat pada subset ke-4 dengan nilai variabel sebesar 19,07 pada perbandingan 3:1. Hasil uji statistik dapat dilihat pada lampiran 18.

7.2 Pengujian aktivitas antibakteri dengan metode dilusi. Pengujian menggunakan metode dilusi bertujuan untuk menentukan nilai KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum) dan KHM (Konsentrasi Hambat Minimum). KBM adalah konsentrasi terendah dari bahan uji yang dapat membunuh 99,9% inokulum bakteri sedangkan KHM adalah kadar minimum yang digunakan untuk

menghambat pertumbuhan bakteri. Hasil kombinasi minyak atsiri dari uji difusi yang paling besar daya hambatnya kemudian dilanjutkan dengan melakukan uji dilusi untuk mengetahui berapa hasil KBM dalam bentuk konsentrasi. Hasil uji difusi paling besar yang didapatkan yaitu pada kombinasi minyak atsiri lempuyang wangi dan jahe merah dengan perbandingan 3:1 yang diperoleh dari hasil statistik *Analysis of Varian* (ANOVA) dua arah, kemudian dilakukan uji dilusi dengan cara pengenceran bertingkat. Konsentrasi yang digunakan adalah 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,56%; 0,78% kontrol negatif yaitu kombinasi minyak atsiri dan kontrol positifnya adalah suspensi bakteri. Hasil uji dilusi dari kombinasi minyak atsiri lempuyang wangi dan jahe merah terhadap *S. aureus* ATCC 25923 dapat dilihat pada tabel 15.

Tabel 15. Hasil uji dilusi kombinasi minyak atsiri lempuyang wangi dan jahe merah (1:3) pada bakteri *Staphylococcus aureus*.

Konsentrasi (%)	I	II	III
Kombinasi MJ:ML perbandingan 3:1 (K-)	-	-	-
50	-	-	-
25	-	-	-
12,5	-	-	-
6,25	-	-	-
3,125	-	-	-
1,56	+	+	+
0,78	+	+	+
Suspensi bakteri (K+)	+	+	+

Keterangan :
 (-) : Tidak ada pertumbuhan bakteri
 (+) : Ada pertumbuhan bakteri
 Kontrol (-) : Berisi kombinasi minyak atsiri jahe merah (MJ) dan lempuyang wangi (ML)
 Kontrol (+) : Berisi suspensi bakteri
 I, II, III : Jumlah replikasi

Pada uji dilusi menggunakan deret seri konsentrasi minyak atsiri untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dilihat dari kejernihan tabung yang menunjukkan bahwa pada tabung dengan konsentrasi tertentu dapat menghambat pertumbuhan bakteri, selanjutnya dilakukan inokulasi bakteri pada media VJA dari semua tabung seri dilusi. Hal ini dilakukan karena dalam penelitian ini tidak dapat dilihat kejernihan tabung seri dilusi yang disebabkan

kerena tertutup oleh kekeruhan dari bahan kombinasi minyak atsiri yang digunakan. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dapat ditentukan dengan menginokulasi sediaan yang ada pada tabung uji ke media VJA dalam cawan petri. KBM dilihat pada media VJA dengan konsentrasi minimum yang tidak menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri, dari hasil uji yang dilakukan dapat dilihat adanya pertumbuhan bakteri dimulai pada konsentrasi 1,56% pada media VJA. Pada media VJA koloni *S. aureus* berwarna hitam dan disekeliling koloninya berwarna kuning. KBM berfungsi untuk menegaskan dari hasil kejernihan pada tabung suspensi yang berisi bakteri, media BHI dan minyak atsiri untuk membuktikan bahwa bakteri *S. aureus* ATCC 25923 memang tidak tumbuh pada konsentrasi tersebut, dengan melakukan penggoresan pada setiap tabung-tabung jernih ke media VJA dan jika tidak ada pertumbuhan bakteri yang terlihat sampai pada goresan terakhir, maka konsentrasi pada goresan terakhir yang dianggap sebagai konsentrasi bunuh minimum.

Hasil uji yang dilakukan pada aktivitas antibakteri kombinasi minyak atsiri jahe merah dan lempuyang wangi dapat menunjukkan adanya hubungan yang positif antara daya bunuh atau daya hambat dengan konsentrasi, semakin besar konsentrasi maka semakin besar pula daya antibakterinya. Hal ini karena semakin besar konsentrasinya maka semakin tinggi kandungan senyawa aktif dalam minyak atsiri jahe merah dan lempuyang wangi.

Kandungan minyak atsiri jahe merah berupa senyawa citral memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Senyawa citral mampu mengganggu permeabilitas membran sel dan merusak serta mengacaukan permeabilitas dinding sel mikroba, sehingga suplai nutrisi, ion dan air mengalami gangguan yang mengakibatkan bakteri tidak dapat melakukan metabolisme dengan sempurna dan terjadilah kematian sel bakteri (Lely *et al.* 2016). Kandungan minyak atsiri berupa senyawa zerumbon yang merupakan golongan seskuiterpen memiliki struktur kimia yang unik yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri dengan cara menghambat pertumbuhan mikroba dengan jalan menghambat sintesis protein sel bakteri (Yamamoto *et al.* 2001). Hasil tabel 14 menunjukkan KBM kombinasi minyak atsiri jahe merah dan lempuyang wangi terhadap bakteri *S. aureus* ATCC 25923. Hasil gambar KBM dapat dilihat pada lampiran 11.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

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

Pertama, kombinasi minyak atsiri jahe merah (*Zingiber officinale* Var. Rubrum) dan minyak atsiri lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* Val.) dengan kombinasi 3:1 konsentrasi 50% memiliki aktivitas paling besar terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan diameter daya hambat $24,30 \pm 0,89$ mm.

Kedua, Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM) kombinasi jahe merah dan lempuyang wangi pada perbandingan 3:1 adalah sebesar 3,125% yang memiliki aktivitas paling optimal terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

B. Saran

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

Pertama, perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri minyak atsiri jahe merah dan lempuyang wangi dengan kombinasi tanaman lain.

Kedua, perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram positif atau bakteri Gram negatif yang lain.

Ketiga, perlu dilanjutkan uji aktivitas antibakteri secara *in vivo*.

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.
- Alamsari, O.S. 2000. Pengaruh Larutan Lempuyang Wangi (*Zingiber aromaticum*) Terhadap Produksi Ookista *Eimeria* spp Pada Ayam. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Anonim, 2001. Inventaris Tanaman Obat Indonesia (1) Jilid 2. Jakarta : Departemen Kesehatan dan Kesejahteraan Sosial RI Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Badan Standardisasi Nasional (BSN). (2001). Sistem manajemen mutu-persyaratan, Jakarta : BSN; (SNI 19-9001-2001).
- Badan Standardisasi Nasional (BSN). (1998). Sistem manajemen mutu-persyaratan, Jakarta : BSN; (SNI 06-1312-1998).
- Bonang G, Koeswardono ES. 2004. *Mikrobiologi Kedokteran untuk Laboratorium dan Klinik*. Jakarta: Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Brook, I. 2001. *Recovery of Anaerobic Bacteria From Four Children With Postthoracotomy Sternal Wound Infection*. Pediatric.
- 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. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Depkes RI. 1987. *Analisis Obat Tradisional*. Edisi ke-1. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- Depkes RI. 1995. *Farmakope Indonesia*. Edisi IV. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- Depkes RI. 2007. *Riset Kesehatan Dasar*. Edisi III. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dowshen, et al. 2002. *Staphylococcus aureus*. <http://ud/ac.id/primahapsa/files/2012/06/jtptunimus-gdl-primahapsa-5337-1-bab1.pdf>. Diakses tanggal 1 September 2016.

- Ernawati. 2010. Pemanfaatan Sari Rimpang Jahe (*Zingiber officinale*) sebagai Antibakterial Alami pada Susu Pasteurisasi Berdasarkan Penurunan Jumlah Bakteri *Escherichia coli*. Artikel Ilmiah. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.
- Esti, *et al.* 2012. Rendemen Minyak Atsiri dan Diamete Organ Serta Ukuran Sel Minyak Tanaman Adas (*Foeniculum vulgare* Mill) yang Dibudidayakan di Kabupaten Semarang dan Kota Salatiga. Jurnal Ilmiah. Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro, Semarang.
- Forbes, A Berty. 2007. *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology*. 12th ed. St Louis: Mosby. P. 270.
- Ganiswara. 2009. *Farmakologi dan Terapan*. Edisi V (cetak ulang). Jakarta: Bagian Farmakologi. Fakultas Kedokteran. Universitas Indonesia.
- Garrity GM, Lilburn JR, Cole SH, Harrison J, Euzeby and BJ Tindall. 2007. *Taxonomic Outline of the Bacteria and Archaea*, Release 7.7. Michigan: Michigan State University Board of Trustees. P. 364. 464
- Gholib. 2008. Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. rubrum) dan Jahe Putih (*Zingiber officinale* var. amarum) Terhadap *Trichophyton mentagrophytes* dan *Cryptococcus neoformans*. Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Bogor.
- Guenther, E. 2006. *Minyak Atsiri*, UI-Press. Jilid 1. Jakarta.
- Gunawan D, Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi)*. Jilid 1. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Hapsari, Hanum Putri dan H.M. Rahayuningsih. 2014. "Pengaruh Pemberian Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. Rubrum) terhadap Kadar Kolesterol LDL Wanita Dislipidemia". *Journal of Nutrition College*, 3(4): 871-879.
- Harjana, Tri. 2011. "Kajian Tentang Potensi Bahan-bahan Alami untuk Menurunkan Kadar Kolesterol Darah". Makalah disajikan dalam Prosiding Seminar Nasional Penelitian, Pendidikan dan Penerapan MIPA, Universitas Negeri Yogyakarta, 14 Mei
- Harminta RM. 2004. *Analisa Hayati*. Jakarta: Departemen Farmasi FMIPA Universitas Indonesia.
- Herlina, R. 2004. *Khasiat dan Manfaat Jahe Merah si Rimpang Ajaib*. PT Agromedia Pustaka. Jakarta
- Jawetz E, Melnick, J L, EA, 2012. *Medical Microbiology*. 26th. Ed. Elferia Nr. Penerjemah; Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.

- Jawetz E, Melnick. J.L Adelberg. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran: Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universtas Airlangga*. Surabaya: Penebar Swadaya.
- Jawetz Z, Melnick & Adelberg. 2002. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi XXII. Jakarta: Salemba Medika.
- Jawetz, Melnick, Adelberg. 2008. *Mikrobiologi Kedokteran*. (H. Hartanto, C. Rachman, A. Dimanti, A. Diani). Jakarta : EGC.p.199 – 200 : 233.
- Jawetz E, Melnick. J.L Adelberg. E.A. 2013. *Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan*. Edisi XVI. Bonang G, penerjemah. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran.
- Kamazeri., et al. 2012. Antimicrobial activity and essential oils of *Curcuma aeruginosa*, *Curcuma mangga*, and *Zinger cassumunar* from Malaysia. *Asian pacific journal of Tropical Medicine*.
- Katzung BG. 2007. *Farmakologi Dasar Dan Klinik*. Andrianto. Penerjemah; Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. Terjemahan dari: *Basic and Clinical Pharmacology*.
- Ketaren, S. 2008. *Minyak dan Lemak Pangan*. Cetakan Pertama. Jakarta : Universitas Indonesia Press.
- Khare, 2007, *Indian Medicinal Plants*, Springer Science and Business Media, New York.
- Kim et al., 2005. [6]-Gingerol, a pungent ingredient of Ginger, inhibits angiogenesis in vitro and in vivo. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 335: 300–308.
- Koensoemardiyah S. 2010. *A to Z Minyak Atsiri untuk Industri Makanan, Kosmetik dan Aromaterapi*. Yogyakarta: Penerbit ANDI.
- Lantera, T. 2002. *Khasiat dan Manfaat Jahe Merah: Si Rimpang Ajaib*. Agro Media Pustaka. Jakarta.
- Lely Nilda, Firdiawan A., Martha S., 2016. Efektivitas antibakteri minyak atsiri rimpang jahe merah (*Zingiber officinale var. Rubrum*) terhadap bakteri jerawat. *Journal scientia*, vol. 6 (1) : 44-49
- Lukito, A. M. 2007. *Petunjuk Praktis Beranam Jahe*. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Maryuni, A. 2008. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Antibakteri Minyak Atsiri Daun Zodia (Evodia sp.)*. IPB. Bogor.
- Muhlisah F. 2005. *Tanaman Obat Keluarga*. Jakarta: Penerbit Swadaya.

- Mulyono dan Isman. 2011. *Bertahan Di Tengah Krisis*. Jakarta: PT. Agromedia Pustaka. hlm 195.
- Novalny, Dian. 2006. Pengaruh Ukuran Rajangan Daun dan Lama Penyulingan Terhadap Rendemen an Karakteristik Minyak Sirih (*Piper betle* L.) (Skripsi). Bogor : Fakultas Teknologi Pertanian INSTITUT PERTANIAN BOGOR.
- Nwinyi, Obinna C., Chinedu, Nwodo S., Ajani, Olayinka, Chinwe I., Ogunniran & Kehinde, O. 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.
- Pengov, A. And Ceru, S. (2012) Antimicrobial drug susceptibility of *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine and ovine mammary glands. *J. Dairys Sci.* 86: 3157-3163.
- Pramono S., Katno. 2006. *Tingkat Manfaat dan Keamanan Tanaman Obat Tradisional*, Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.
- Radji M. 2011. *Buku Ajar Mikrobiologi: Panduan Mahasiswa Farmasi & Kedokteran*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Rahayu WP., Mawaddah R., Nurjanah S., Panggabean RI., Nikastri E. 2008. Kajian hasil riset potensi antimikroba alami dan aplikasinya dalam produk pangan nabati. Dalam : *Proceeding Seminar PATPI* 2008. 406-414.
- Rahminiwati dkk. 2010. Bioprospeksi ekstrak jahe gajah sebagai anti-Crd: Kajian aktivitas antibakteri terhadap *Mycoplasma galliseptikum* dan *E.Coli* in vitro. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, Vol.15.(1) hlm. 7-13.
- Respati, NWB., 2010. Isolasi, Identifikasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Lempuyang Wangi (*Zingiber aromaticum* Val.) (Skripsi). Surakarta: F.MIPA Universitas Sebelas Maret.
- Rukmana, R. 2001. *Aneka Olahan Jahe*. Yogyakarta: PT. Kanisus.
- Sahidin, 2008. *Penuntun Praktikum Kimia Organik I*. Unhalu. Kendari.
- Sastrohamidjojo, H. 2004. *Kimia Minyak Atsiri*. Yogyakarta: Penerbit Gajah Mada University Press.
- Sayuti *et al.*, 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Minyak Atsiri Lempuyang Wangi (*Zingiber aromaticum* Val.) dan Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa.
- Setiawan, Budi. 2015. *Peluang Usaha Budidaya Jahe*. Pustaka Baru Press. Yogyakarta.

- Sriyanti, D. P. dan A Wijayani. 2008. *Teknik Kultur Jaringan*. Yogyakarta: Kanisius.
- Sudarsono, Gunawan, D., Wahyuono, S., Donatus, I.A., dan Purnomo, 2002, Tumbuhan Obat II, Hasil Penelitian, Sifat-sifat dan Penggunaan, 96-100, *Pusat Studi Obat Tradisional*, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Supriyanti, H. 2015. *Untung Besar Budidaya Jahe Merah*. Yogyakarta: Araska
- Suryono B. 2009. *Bakteriologi Umum dan Bakteriologi Klinik*. Kediri: Akademi Analisis Kesehatan Bhakti Jaya.
- Tajkarimi, M.M., Ibrahim, S.A. dan Cliver, D.O. 2010. Review: antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Contaminant* 21: 1199-1218.
- Waluyo, L. 2004. *Mikrobiologi Umum*. Edisi I. Malang: Universitas Muhammadiyah Press.
- 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 130-135.
- Yamamoto, K., T. Kitayama, S. Minagawa, T. Watanabe, S. Sawada, T. Okamoto and R. Utsumi. 2001. Antibacterial agents that inhibit histidine protein kinase YycG of *Bacillus subtilis*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 65: 2306-2310.

L

A

M

P

I

R

A

N

Lampiran 1. Hasil determinasi tanaman jahe merah



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

Nomor : 049/UN27.9.6.4/Lab/2017
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan
Lampiran : -
Nama Pemesan : Rahmatul Insyirah
NIM : 19133826A
Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

Nama Sampel : *Zingiber officinale* var. *rubrum* Theilade
Familia : Zingiberaceae

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-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-76b-333b-
334b-335b-336a-337b-338a-339b-340a **207. Zingiberaceae**
1a-2b-6a **1. Zingiber**
1a-2b-6a-7a ***Zingiber officinale* var. *rubrum* Theilade**

Deskripsi Tumbuhan :

Habitus : tera, menahun, tumbuh tegak, tinggi 0.3-1 m. Rimpang : menjalar, tebal dan berdaging, berbentuk silindris sampai jorong atau tidak beraturan, terdapat buku-buku dan sisik, diameter 2-5 cm, bercabang-cabang, bagian luar permukaannya tidak rata, berkerut, warnanya putih keabu-abuan tetapi bagian rimpang yang berbatasan dengan pangkal batang semu berwarna merah, bagian dalamnya berwarna kuning muda di bagian tengah dan kuning kemerahan di bagian tepi, sisik berwarna merah, rasanya pedas. Akar : melekat pada rimpang, tipe akar serabut, berwarna putih hingga kuning kotor atau coklat kekuningan. Batang : batang sejati pendek, di dalam tanah, membentuk rimpang yang bercabang-cabang, batang semu berada di atas tanah, tumbuh tegak, lunak, dibentuk oleh kumpulan pelepah daun, berwarna hijau, pangkal batang semu merah. Daun : tunggal, tersusun berseling, helaian berbentuk lanset sempit memanjang hingga garis, panjang 15-23 cm, lebar 8-15 mm, berwarna hijau permanen, menggulung memanjang ketika masih kuncup, ujung sangat runcing atau meruncing, tepi rata, pangkal runcing atau sedikit tumpul, pertulangan daun menyirip, permukaan daun berambut pada ibu tulang daun, selebihnya gundul; ligula tegak, memanjang, ujungnya tumpul, tipis seperti selaput, permukaannya gundul, panjang 0.75-1 cm; tangkai daun berambut, panjang 2-4 mm. Bunga : bunga majemuk, terdiri dari kumpulan bunga yang rapat berupa bulir berbentuk bulat telur sempit, ujungnya runcing, panjang 3.5-5 cm, lebar 1.5-1.75 cm, terletak di ujung batang (terminal) yang berdaun atau tidak; ibu tangkai bunga hampir gundul, panjangnya mencapai 25 cm; braktea banyak, berbentuk bulat telur terbalik dengan ujungnya membulat, permukaan gundul, hijau muda, panjang sekitar 2.5 cm, lebar 1-1.25 cm; kelopak berbentuk tabung, taju kelopak bunga ujungnya tumpul; mahkota bunga berwarna kuning kehijauan, panjang tabung mahkota bunga 2-2.5 cm, cuping mahkota bunga berbentuk sempit, ujungnya runcing, panjang 1.5-2.5 cm, lebar 2-3.5 mm; kepala sari berwarna ungu, panjang 9 mm; tangkai putik bercabang 2, memajang; bibir bunga (*labellum*) berbentuk membulat hingga bulat telur terbalik, panjang 12-15 mm, lebar 13 mm, warnanya ungu gelap. Buah : berupa buah buni, berbentuk bulat telur terbalik. Biji : bijinya kecil-kecil, berbentuk bulat memanjang, dan berwarna hitam ketika masak.

Kepala Lab. Program Studi Biologi

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

Surakarta, 1 Februari 2017
Penanggungjawab
Determinasi Tumbuhan

Siratman, 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 lempuyang 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) 663375 Fax (0271) 663375
http://www.biology.mipa.uns.ac.id, E-mail biologi @ mipa.uns.ac.id

Nomor : 051/UN27.9.6.4/Lab/2017
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan
Lampiran :-
Nama Pemesan : Rahmatul Insyirah
NIM : 19133826A
Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

Nama Sampel : *Zingiber aromaticum* Val.
Familia : Zingiberaceae

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-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-76b-333b-334b-335b-336a-337b-338a-339b-340a **207. Zingiberaceae**
1a-2b-6a **1. Zingiber**
1a-2a-3a-4a-5b **Zingiber aromaticum** Val.

Deskripsi Tumbuhan :

Habitus : terna menahun, tinggi 1 m. Rimpang : menjalar, tebal dan berdaging, berbentuk silindris sampai jorong atau tidak beraturan, diameter 2-5 cm, bercabang-cabang, bagian luar permukaannya tidak rata, berkerut, warnanya coklat muda kekuningan, bagian dalamnya berwarna kuning muda sampai kuning kecoklatan, rasanya pedas, aromanya wangi. Akar : melekat pada rimpang, tipe akar serabut, berwarna putih hingga kuning kotor atau coklat kekuningan. Batang : batang sejati pendek, di dalam tanah, membentuk rimpang yang bercabang-cabang; batang semu berada di atas tanah, tumbuh tegak, lunak, dibentuk oleh kumpulan pelepah daun, berwarna hijau. Daun : tunggal, tersusun berseling, helaian berbentuk lanset sempit memanjang hingga garis, panjang 14-40 cm, lebar 3-8.5 cm, berwarna hijau permanen, menggulung memanjang ketika masih kuncup, ujung sangat runcing atau meruncing, tepi rata, pangkal runcing atau tumpul, pertulangan daun menyirip, permukaan daun berambut pada kedua permukaan terutama pada ibu tulang daun; ligula tegak, memanjang, ujungnya tumpul, tipis seperti selaput, permukaannya berambut, panjang 1.5-3 cm. Bunga : bunga majemuk, terdiri dari kumpulan bunga yang rapat berupa tandan berbentuk ovoid, panjangnya 2-2.5 kali lebarnya, runcing, terletak di ujung batang (terminal); panjang ibu tangkai bunga 9-31 cm; braktea berbentuk bulat telur lebar, ujungnya rata; kelopak berbentuk tabung, panjang kelopak bunga 13-17 mm; mahkota bunga berwarna kuning terang atau kuning gelap, panjang tabung mahkota bunga 2-3 cm, cuping mahkota bunga berbentuk bulat telur memanjang, panjang 1.5-2.5 cm, lebar 1-2 cm; kepala sari berbentuk lanset memanjang, kuning terang, panjang 8-10 mm; bibir bunga (*labellum*) berbentuk bulat telur hingga membulat, panjang 12-20 mm, lebar 15-20 mm, warnanya oranye. Buah : berupa buah buni, berbentuk bulat telur terbalik, panjang 12 mm, diameter 8 mm, berwarna merah. Biji : bijinya kecil-kecil, berbentuk bulat memanjang, panjang 4 mm, dan berwarna hitam ketika masak.

Kepala Lab. Program Studi Biologi

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

Surakarta, 1 Februari 2017
Penanggungjawab
Determinasi Tumbuhan

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

Mengetahui
Kepala Program Studi Biologi FMIPA UNS
Dr. Rattia Seryaningsih, M.Si.
NIP. 19660714 199903 2 001

Lampiran 3. Jahe merah, lempuyang wangi dan destilasi



Jahe merah



Lempuyang wangi



Rangkaian destilasi uap dan air



Pemisahan minyak dan air

Lampiran 4. Minyak atsiri jahe merah dan lempuyang wangi



Minyak atiri jahe merah



Minyak atiri lempuyang wangi

Lampiran 5. Alat-alat

Timbangan elektrik



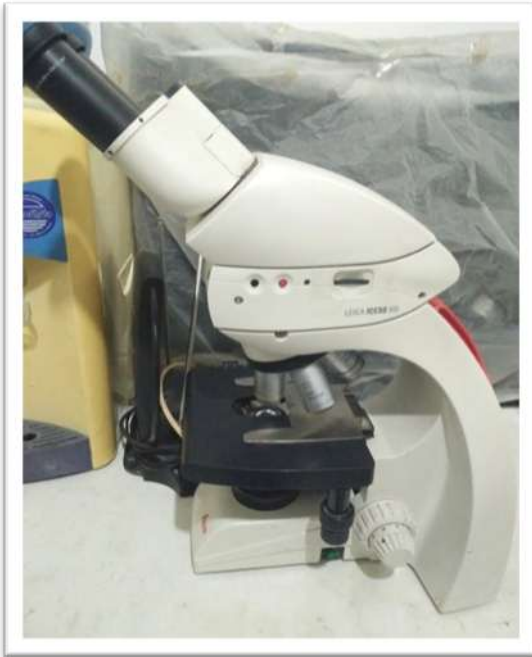
Refraktometer



Vortex



Sentrifugase



Mikroskop



Inkas



Autoklaf



Inkubator



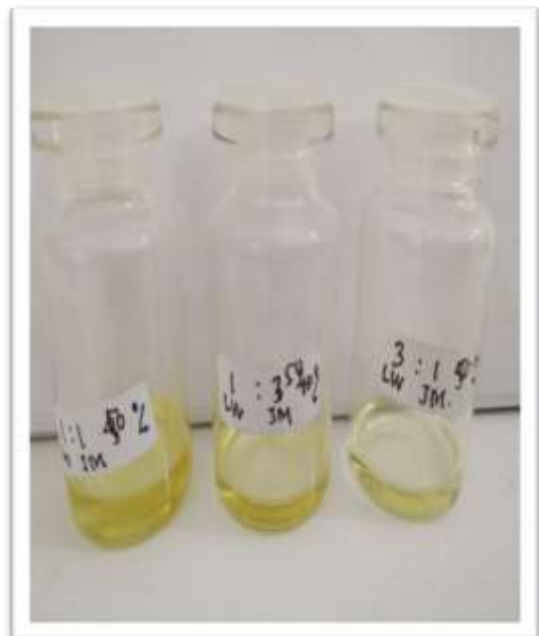
Oven



GC-MS

Lampiran 6. Bahan uji antibakteri

Minyak atsiri jahe merah dan lempuyang wangi dengan berbagai konsentrasi





Blank disk



Biakan murni



Disk Antibiotik



Suspensi bakteri

Lampiran 7. Identifikasi minyak atsiri dan kelarutan dalam alkohol

Jahe merah



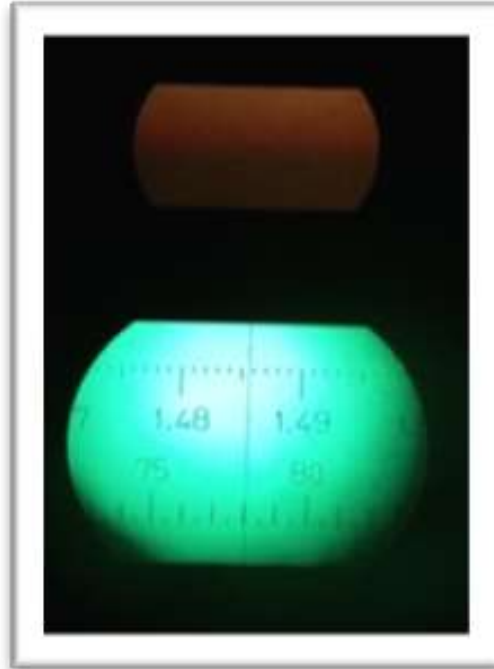
Lempuyang wangi



Jahe merah



Lempuyang wangi

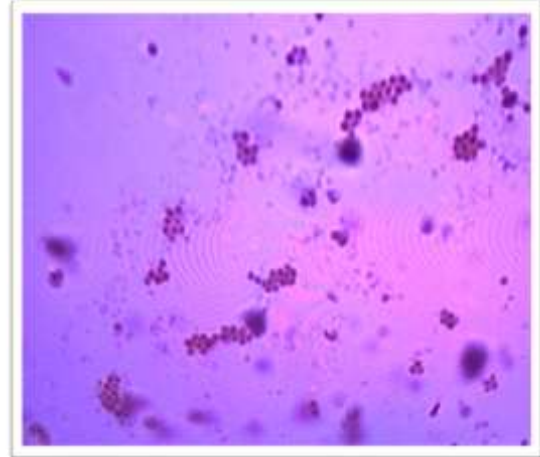
Lampiran 8. Identifikasi minyak atsiri indeks bias

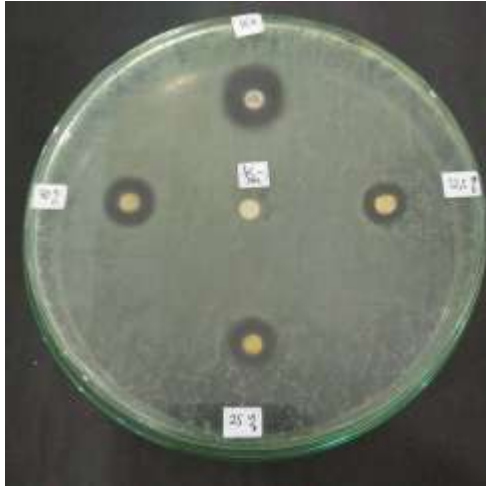
Jahe merah



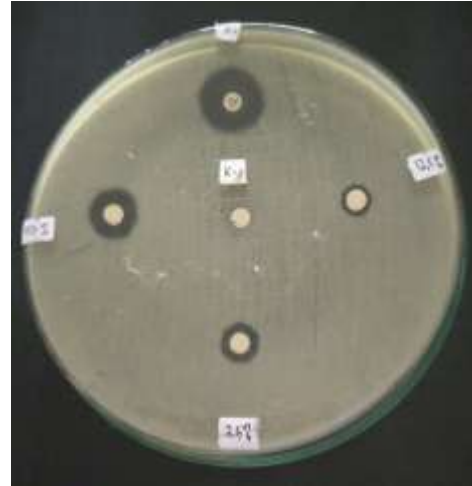
Lempuyang wangi

Lampiran 9. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus*



Lampiran 10. Hasil uji aktivitas antibakteri dengan difusi**Replikasi 1**

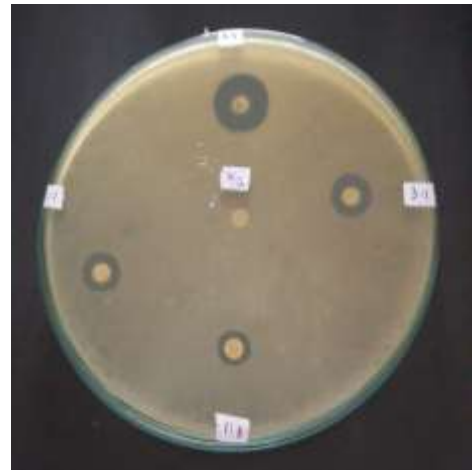
Jahe Merah Tunggal



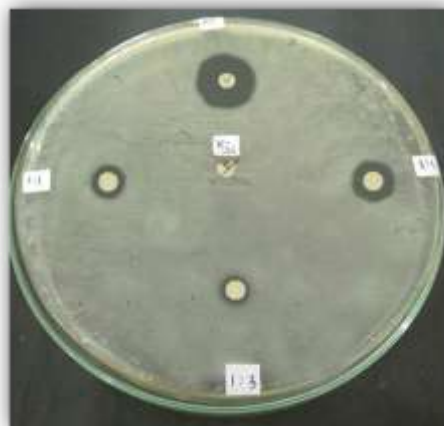
Lempuyang wangi Tunggal



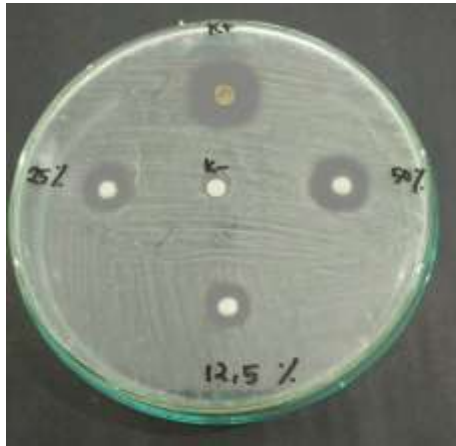
Kombinasi konsentrasi 50%



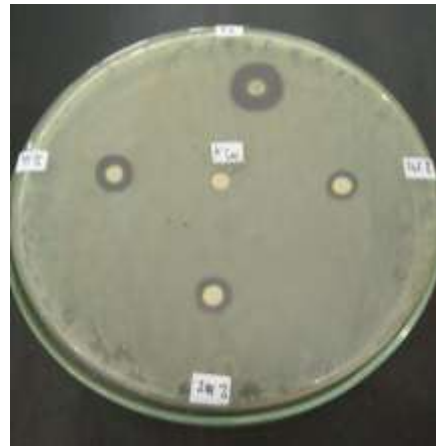
Kombinasi konsentrasi 25%



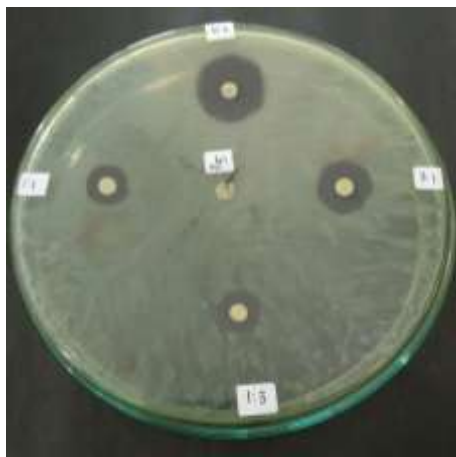
Kombinasi konsentrasi 12,5%

Replikasi 2

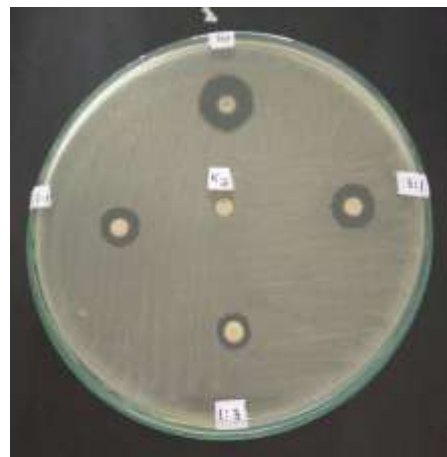
Jahe Merah Tunggal



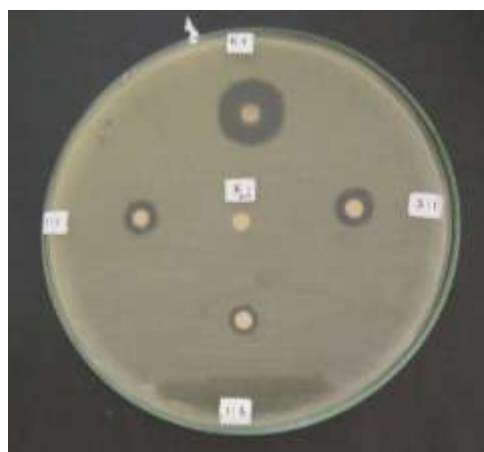
Lempuyang wangi Tunggal



Kombinasi konsentrasi 50%

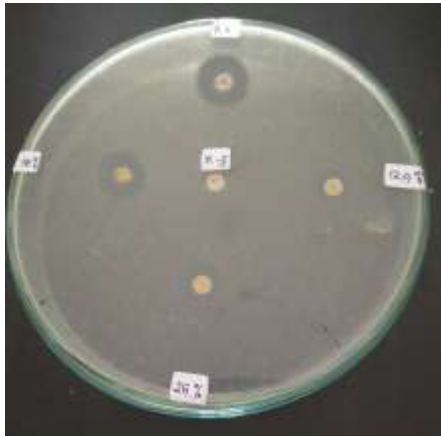


Kombinasi konsentrasi 25%

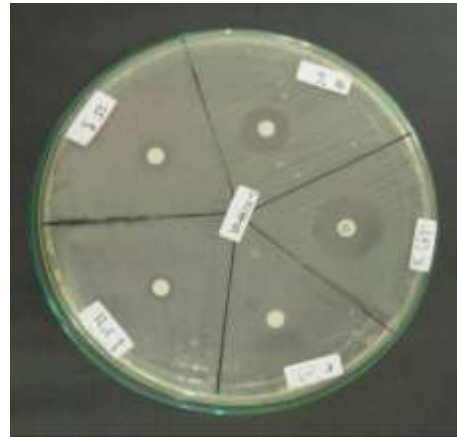


Kombinasi konsentrasi 12,5%

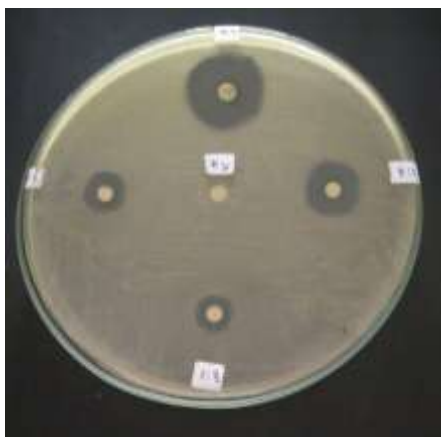
Replikasi 3



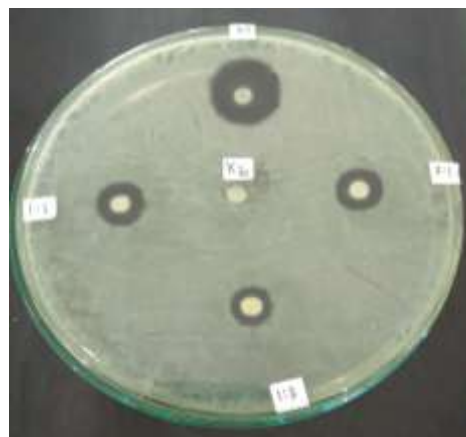
Jahe Merah Tunggal



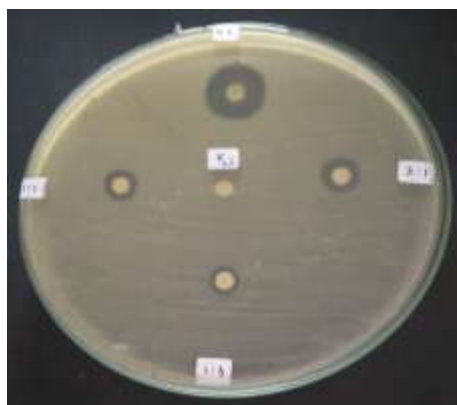
Lempuyang wangi Tunggal



Kombinasi konsentrasi 50%



Kombinasi konsentrasi 25%

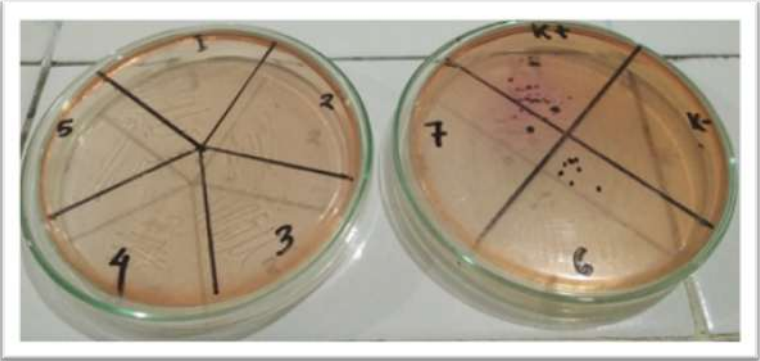
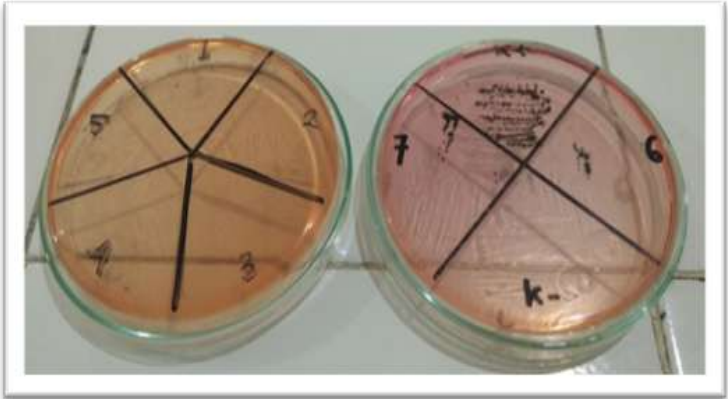


Kombinasi konsentrasi 12,5%

Lampiran 11. Hasil uji aktivitas antibakteri dengan dilusi



Replikasi	Penggoresan pada media VJA
1	

Replikasi	Penggoresan pada media VJA
2	
3	

Lampiran 12. Perhitungan kadar minyak atsiri jahe merah

Proses destilasi	Bobot basah (gram)	Volume minyak atsiri (ml)	Rendemen (% v/b)
Destilasi 1	4000	5	0,125 %
Destilasi 2	4000	5	0,125 %
Total	8000	10	0,125 %

Perhitungan % Rendemen :

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

Destilasi I =

$$\frac{5 \text{ ml}}{4000 \text{ gram}} \times 100 \% = 0,125 \%$$

Destilasi II =

$$\frac{5 \text{ ml}}{4000 \text{ gram}} \times 100 \% = 0,125 \%$$

$$\text{Total Rendemen} = \frac{10\text{ml}}{8000\text{ gram}} \times 100 \% = 0,125 \%$$

Jadi, kadar minyak atsiri jahe merah (*Zingiber officinale* Var. Rubrum) adalah 0,125%

Lampiran 13. Perhitungan kadar minyak atsiri lempuyang wangi

Proses destilasi	Bobot basah (gram)	Volume minyak atsiri (ml)	Rendemen (% v/b)
Destilasi 1	4000	8	0,2 %
Destilasi 2	2000	4	0,2 %
Total	6000	12	0,2 %

Perhitungan % Rendemen :

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

Destilasi I =

$$\frac{8 \text{ ml}}{4000 \text{ gram}} \times 100 \% = 0,2 \%$$

Destilasi II =

$$\frac{4 \text{ ml}}{2000 \text{ gram}} \times 100 \% = 0,2 \%$$

Total Rendemen =

$$\frac{12 \text{ ml}}{6000 \text{ gram}} \times 100 \% = 0,2 \%$$

Jadi, kadar minyak atsiri jahe merah (*Zingiber aromaticum* Val.) adalah 0,2%

Lampiran 14. Hasil perhitungan indeks bias minyak atsiri

Sampel	Indeks bias praktek (31°C)	Indeks bias pustaka (20°C)
Jahe merah	1,487	Indeks bias (25°C) 1,4841-1,4899 (SNI no. 06-1312-1998)
Lempuyang wangi	1,496	Indeks bias (20°C) 1,4915-1,4981 (DepKes 1987)

Perhitungan konversi suhu ruang dalam pemeriksaan indeks bias :

Faktor konversi suhu pada setiap kenaikan 1°C = 0,0004

Indeks bias teoritis 25°C = 1,4841-1,4899

Suhu ruang praktek 31°C

Perhitungan :

$$= ((31-25) \times 0,0004) = 0,0024$$

$$\text{Indeks bias pada suhu } 31^\circ\text{C} = (1,4841 + 0,0024) - (1,4899 + 0,0024)$$

Jadi, indeks bias teoritis pada jahe merah adalah = 1,4865 – 1,4923

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

$$\text{Indeks bias pada suhu } 31^\circ\text{C} = (1,4915 + 0,0044) - (1,4981 + 0,0044)$$

Jadi, indeks bias teoritis pada lempuyang wangi adalah = 1,4959 – 1,5025

Indeks bias minyak atsiri jahe merah menurut praktek adalah 1,487

Indeks bias minyak atsiri lempuyang wangi menurut praktek adalah 1,496

Jadi, Indeks bias menurut hasil penelitian sama dengan indeks bias menurut pustaka.

Lampiran 15. Perhitungan bobot jenis minyak atsiri

Bobot timbang kosong (g)	Bobot timbang + air (g)	Bobot timbang + minyak (g)		Bobot minyak (g)	
		Jahe merah	Lempuyang wangi	Jahe merah	Lempuyang wangi
18,807	19,592	19,494	19,538	0,687	0,731
18,807	19,591	19,498	19,540	0,691	0,733
18,807	19,592	19,503	19,543	0,696	0,736
Rata –Rata				0,6913	0,7333

Perhitungan bobot jenis :

I. Bobot jenis jahe merah :

$$\begin{aligned}
 \text{Bobot timbang + air} &= 19,592 \\
 \text{Bobot timbang kosong} &= \underline{18,807} - \\
 \text{Bobot air} &= 0,785 \\
 \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{berat minyak}}{\text{bobot air}} \\
 &= \frac{0,687}{0,785} = 0,8751
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Bobot timbang + air} &= 19,591 \\
 \text{Bobot timbang kosong} &= \underline{18,807} - \\
 \text{Bobot air} &= 0,784 \\
 \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{berat minyak}}{\text{bobot air}} \\
 &= \frac{0,691}{0,784} = 0,8813
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Bobot timbang + air} &= 19,592 \\
 \text{Bobot timbang kosong} &= \underline{18,807} - \\
 \text{Bobot air} &= 0,785 \\
 \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{berat minyak}}{\text{bobot air}} \\
 &= \frac{0,696}{0,785} = 0,8866
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Rata-rata bobot jenis minyak atsiri jahe merah} &= \frac{0,8751 + 0,8813 + 0,8866}{3} \\
 &= 0,8810
 \end{aligned}$$

II. Bobot jenis lempuyang wangi :

$$\begin{aligned}
 \text{Bobot timbang + air} &= 19,592 \\
 \text{Bobot timbang kosong} &= \underline{18,807} - \\
 \text{Bobot air} &= 0,785 \\
 \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{berat minyak}}{\text{bobot air}} \\
 &= \frac{0,731}{0,785} = 0,9312
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Bobot timbang + air} &= 19,591 \\
 \text{Bobot timbang kosong} &= \underline{18,807} - \\
 \text{Bobot air} &= 0,784 \\
 \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{berat minyak}}{\text{bobot air}} \\
 &= \frac{0,733}{0,784} = 0,9349
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Bobot timbang + air} &= 19,592 \\
 \text{Bobot timbang kosong} &= \underline{18,807} - \\
 \text{Bobot air} &= 0,785 \\
 \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{berat minyak}}{\text{bobot air}} \\
 &= \frac{0,736}{0,785} = 0,9375
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Rata-rata bobot jenis minyak atsiri lempuyang wangi} \\
 &= \frac{0,9312 + 0,9349 + 0,9375}{3}
 \end{aligned}$$

$$= 0,9345$$

Jadi, bobot jenis minyak atsiri jahe merah adalah 0,8810

Jadi, bobot jenis minyak atsiri lempuyang wangi adalah 0,9345

Perhitungan konversi suhu ruang dalam percobaan bobot jenis :

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

Berat jenis minyak jahe merah teoritis $25^{\circ}\text{C} = 0,8720-0,8890$

Suhu ruang praktek = 31°C

Perhitungan :

$$(31-25) \times 0,0007 = 0,0042$$

$$\begin{aligned}
 \text{Jadi, bobot teoritis pada suhu } 31^{\circ}\text{C} &= (0,8720 + 0,0042) - (0,8890 + \\
 &0,0042)
 \end{aligned}$$

$$= 0,8762 - 0,8932$$

Berat jenis minyak lempuyang wangi teoritis $20^{\circ}\text{C} = 0,9241-0,9315$

Suhu ruang praktek = 31°C

Perhitungan :

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

$$\text{Jadi, bobot teoritis pada suhu } 31^{\circ}\text{C} = (0,9241 + 0,0077) - (0,9315 + 0,0077)$$

$$= 0,9318 - 0,9392$$

Bobot jenis minyak atsiri jahe merah menurut praktek adalah 0,8810

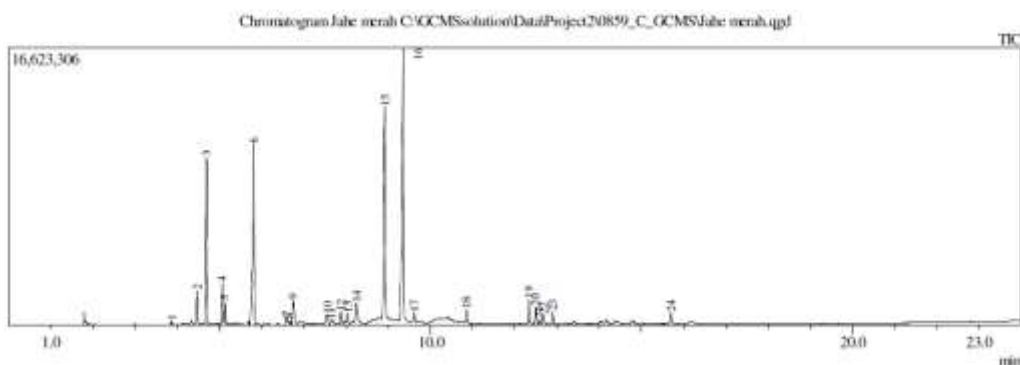
Bobot jenis minyak atsiri lempuyang wangi menurut praktek adalah 0,9345

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

Lampiran 16. Hasil analisis GCMS minyak atsiri

Kromatogram minyak atsiri jahe merah

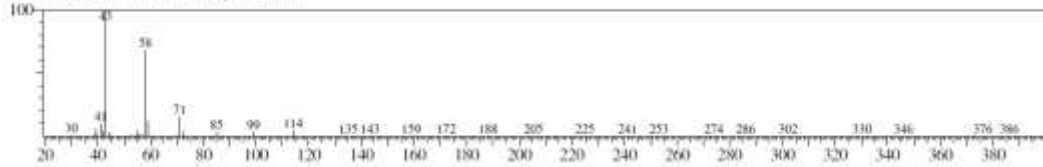
Sample Information
 Analyzed by : Admin
 Analyzed : 3/3/2017 2:43:22 PM
 Sample Name : Jahe merah
 Sample ID : 6
 Injection Volume : 0.10
 Data File : C:\GCMSsolution\Data\Project20859_C_GCMS\Jahe merah.gcd
 Tuning File : C:\GCMSsolution\System1\Tuning_14112016.qgt



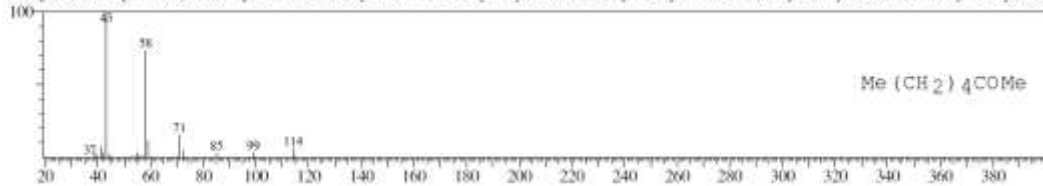
Peak	Senyawa Terduga	RT (min)	Area (%)	BM
1	2-Heptanone	3.858	0,23	114
2	Alpha-pinine	4.467	1,97	136
3	Camphene	4.687	11,28	136
4	6-methyl-5-hepten-2-one	5.065	2,65	126
5	Beta-myrcine	5.131	1,38	136
6	Eucalyptol (1,8-cineole)	5.809	17,27	154
7	2-nonanone	6.583	0,56	142
8	Alpha-terpinolone	6.625	0,22	136
9	Lonalool	6.747	2,76	154
10	Camphore	7.556	1,19	152
11	Exo-methyl-camphenilol	7.650	0,52	154
12	Di-nerbonil ketone	7.874	0,83	218
13	3-cyclohexen-1-0-1	8.030	1,23	154
14	3-cyclohexen-1-methanol	8.243	2,62	154
15	Z-citral	8.915	19,25	152
16	E-citral	9.349	27,68	152
17	Endobornyl acetate	9.611	0,83	196
18	Geranyl acetate	10.855	1,01	196
19	Benzene	12.335	1,93	202
20	Zingiberen	12.493	1,39	204
21	Farnese	12.581	0,30	204
22	Beta-bisabolene	12.675	0,93	204
23	Beta-sesquiphellandrene	12.895	0,98	204
24	Zerumbon	15.696	1,01	218

komponen senyawa minyak atsiri jahe merah :

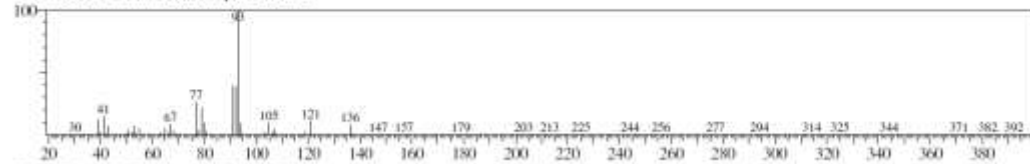
Line#:1 R.Time:3.850(Scan#:463) MassPeaks:217
RawMode:Averaged 3.842-3.858(462-464) BasePeak:42.95(73489)
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:12606 Library:WILEY7.LIB
SI:98 Formula:C7H14O CAS:110-43-0 MolWeight:114 RetIndex:0
CompName:2-Heptanone (CAS) Heptan-2-one SS Butylacetone SS Methyl amyl ketone SS Amyl methyl ketone SS Methyl n-nyl ketone SS n-Amyl methyl keto



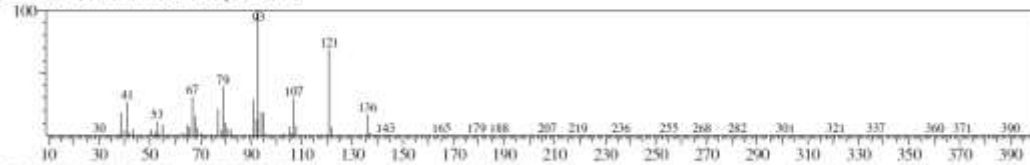
Line#:2 R.Time:4.467(Scan#:537) MassPeaks:211
RawMode:Averaged 4.458-4.475(536-538) BasePeak:93.00(432484)
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



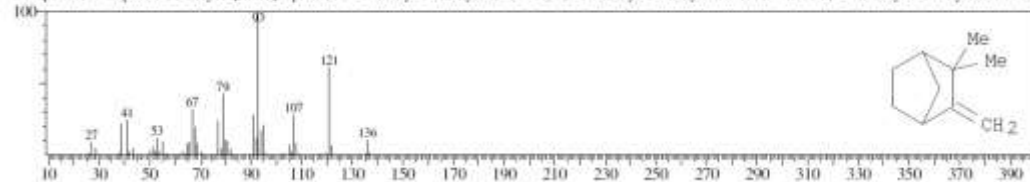
Hit#:1 Entry:26447 Library:WILEY7.LIB
SI:97 Formula:C10H16 CAS:80-56-8 MolWeight:136 RetIndex:0
CompName:ALPHA-PINENE (-) SS Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene, 2,6,6-trimethyl- (CAS) Pinene SS 2-Pinene SS alpha-Pinene SS 2,6,6-Trimethylbicyclo[3.1.1]



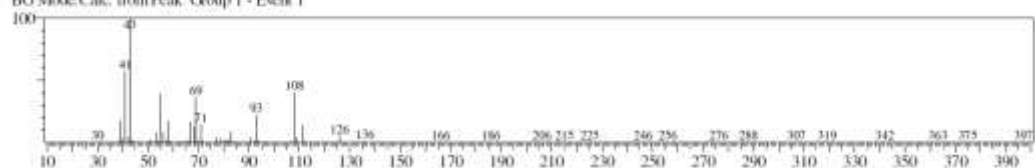
Line#:3 R.Time:4.683(Scan#:563) MassPeaks:226
RawMode:Averaged 4.675-4.692(562-564) BasePeak:93.00(1511531)
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



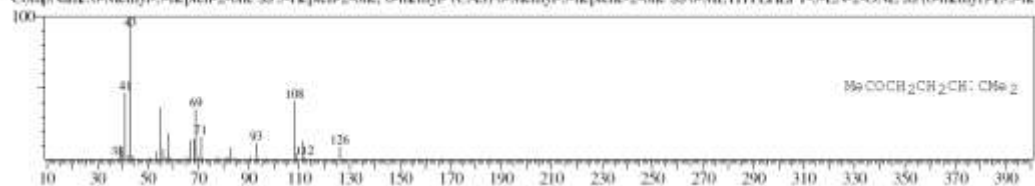
Hit#:1 Entry:26396 Library:WILEY7.LIB
SI:97 Formula:C10H16 CAS:79-92-5 MolWeight:136 RetIndex:0
CompName:Camphene SS Bicyclo[2.2.1]heptane, 2,2-dimethyl-3-methylene- (CAS) 3,3-Dimethyl-2-methylenenorbornane SS 2,2-Dimethyl-3-methylenenorbornane



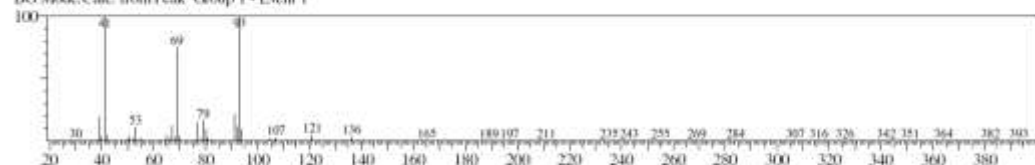
Line# 4 R-Time: 5.067(Scan# 609) MassPeaks: 230
 RawMode: Averaged 5.058-5.075(608-610) BasePeak: 42.95(403503)
 BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1



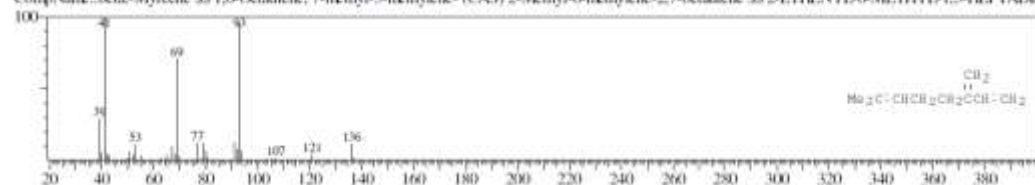
Hit# 1 Entry: 18892 Library: WILEY7.LIB
 SE: 96 Formula: C₈H₁₄O CAS: 110-93-0 MolWeight: 126 RetIndex: 0
 CompName: 6-Methyl-5-hepten-2-one SS 5-Hepten-2-one, 6-methyl- (CAS) 6-Methyl-5-heptene-2-one SS 6-METHYLHEPT-5-EN-2-ONE SS (6-methyl)-E-5-he



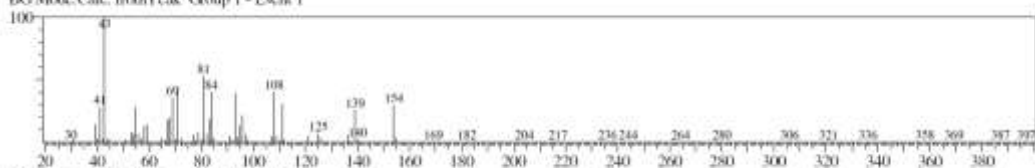
Line# 5 R-Time: 5.133(Scan# 617) MassPeaks: 210
 RawMode: Averaged 5.125-5.142(616-618) BasePeak: 41.00(222094)
 BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1



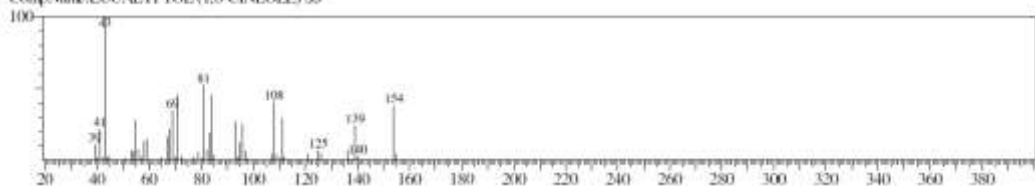
Hit# 1 Entry: 26203 Library: WILEY7.LIB
 SE: 95 Formula: C₁₀H₁₆ CAS: 123-35-3 MolWeight: 136 RetIndex: 0
 CompName: beta-Myrcene SS 1,6-Octadiene, 7-methyl-3-methylene- (CAS) 2-Methyl-6-methylene-2,7-octadiene SS 2-ETHENYL-6-METHYL-1,5-HEPTADIEN



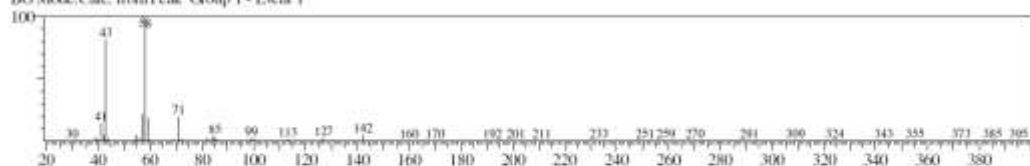
Line# 6 R-Time: 5.808(Scan# 698) MassPeaks: 258
 RawMode: Averaged 5.800-5.817(697-699) BasePeak: 42.95(1223539)
 BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1



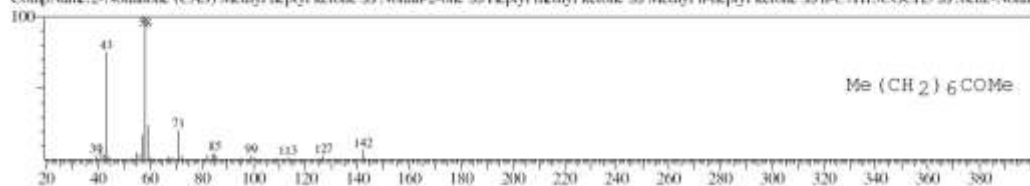
Hit# 1 Entry: 43026 Library: WILEY7.LIB
 SE: 97 Formula: C₁₀H₁₈O CAS: 0-00-0 MolWeight: 154 RetIndex: 0
 CompName: EUCALYPTOL (1,8-CINEOLE) SS



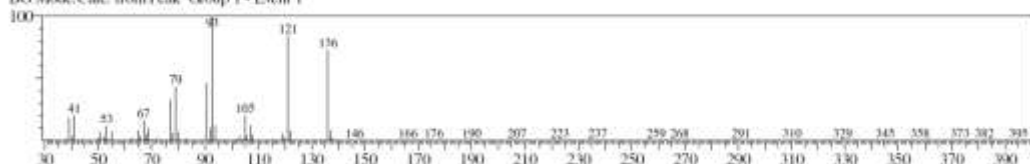
Line# 7 R-Time: 6.583 (Scan# 791) MassPeaks: 202
 RawMode: Averaged 6.575-6.592 (790-792) BasePeak: 58.00 (98962)
 BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1



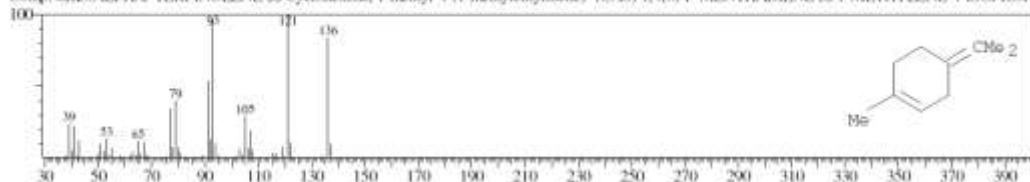
Hit# 1 Entry: 31669 Library: WILEY7.LIB
 SE97 Formula: C₉H₁₈O CAS: 821-55-6 MolWeight: 142 RetIndex: 0
 CompName: 2-Nonanone (CAS) Methyl heptyl ketone SS Nonan-2-one SS Heptyl methyl ketone SS Methyl n-heptyl ketone SS n-C₇H₁₅COCH₃ SS .beta.-Nonu



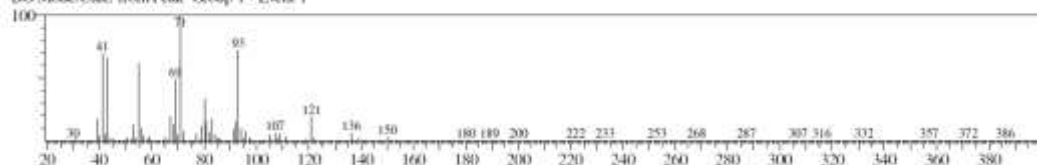
Line# 8 R-Time: 6.625 (Scan# 796) MassPeaks: 191
 RawMode: Averaged 6.617-6.633 (795-797) BasePeak: 92.95 (12630)
 BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1



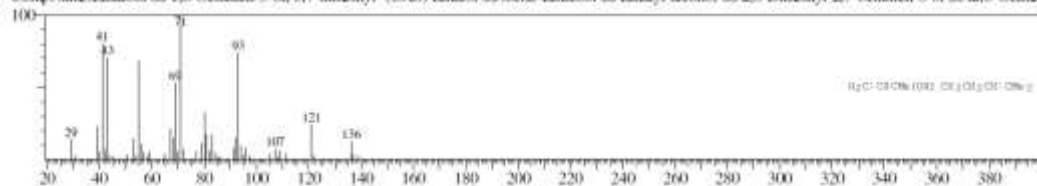
Hit# 1 Entry: 26339 Library: WILEY7.LIB
 SE93 Formula: C₁₀H₁₆ CAS: 586-62-9 MolWeight: 136 RetIndex: 0
 CompName: ALPHA-TERPINOLENE SS Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethylidene)- (CAS) 1,4(8)-P-MENTHADIENE SS 1-METHYLENE-4-ISOPROP



Line# 9 R-Time: 6.750 (Scan# 811) MassPeaks: 212
 RawMode: Averaged 6.742-6.758 (810-812) BasePeak: 71.00 (172999)
 BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1



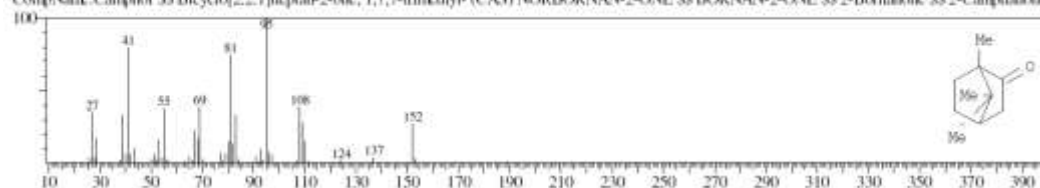
Hit# 1 Entry: 43693 Library: WILEY7.LIB
 SE97 Formula: C₁₀H₁₈O CAS: 78-70-6 MolWeight: 154 RetIndex: 0
 CompName: Linalool SS 1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl- (CAS) Linalol SS .beta.-Linalool SS Linalyl alcohol SS 2,6-Dimethyl-2,7-octadien-6-ol SS allo-Ocimer



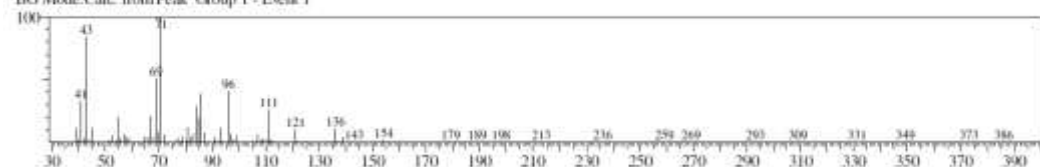
Line#:10 R.Time:7.558(Scan#:908) MassPeaks:229
 RawMode:Averaged 7.550-7.567(907-909) BasePeak:95.00(70675)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



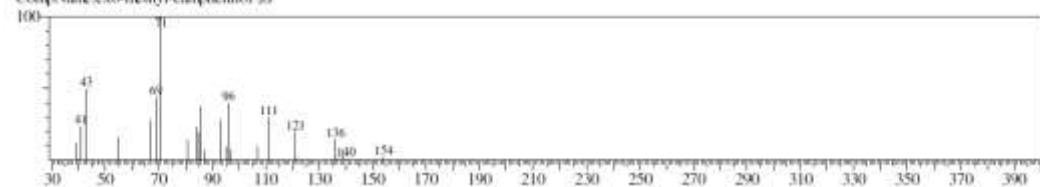
Hit#:1 Entry:41215 Library:WILEY7.LIB
 SE96 Formula:C10H16O CAS:76-22-2 MolWeight:152 RetIndex:0
 CompName:Camphor SS Bicyclo[2.2.1]heptan-2-one, 1,7,7-trimethyl- (CAS) NORBORNAN-2-ONE SS BORNAN-2-ONE SS 2-Bornanone SS 2-Camphanone



Line#:11 R.Time:7.650(Scan#:919) MassPeaks:195
 RawMode:Averaged 7.642-7.658(918-920) BasePeak:71.00(28029)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1

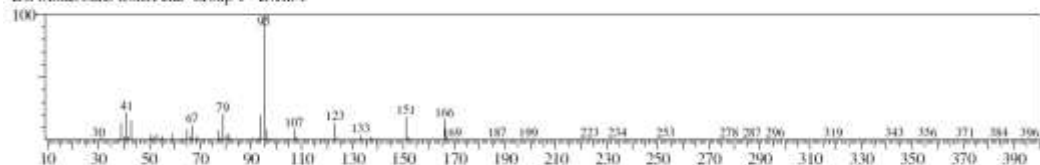


Hit#:1 Entry:42879 Library:WILEY7.LIB
 SE85 Formula:C10H18O CAS:0-00-0 MolWeight:154 RetIndex:0
 CompName:exo-methyl-camphenol SS

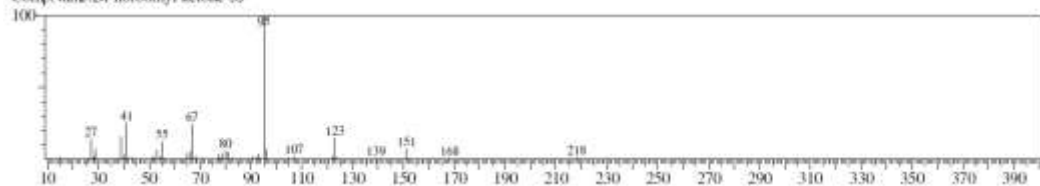


<< Target >>

Line#:12 R.Time:7.875(Scan#:946) MassPeaks:242
 RawMode:Averaged 7.867-7.883(945-947) BasePeak:94.95(161880)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:117900 Library:WILEY7.LIB
 SE83 Formula:C15H22O CAS:0-00-0 MolWeight:218 RetIndex:0
 CompName:Di-norbonyl ketone SS

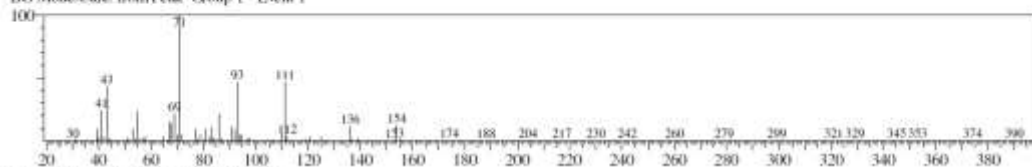


<< Target >>

Line#:13 R.Time:8.033(Scan#:965) MassPeaks:250

RawMode:Averaged 8.025-8.042(964-966) BasePeak:70.95(105659)

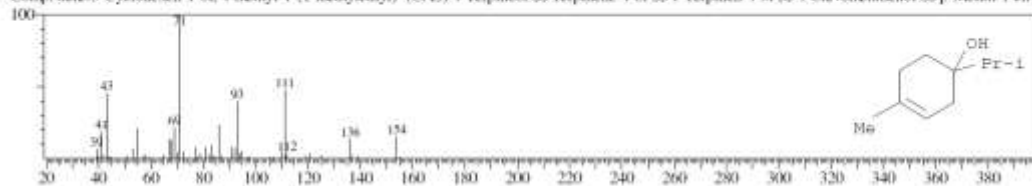
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



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

SE97 Formula:C10H18O CAS:562-74-3 MolWeight:154 RetIndex:0

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

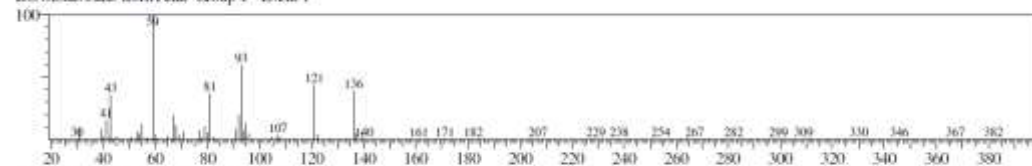


<< Target >>

Line#:14 R.Time:8.242(Scan#:990) MassPeaks:207

RawMode:Averaged 8.233-8.250(989-991) BasePeak:59.00(204726)

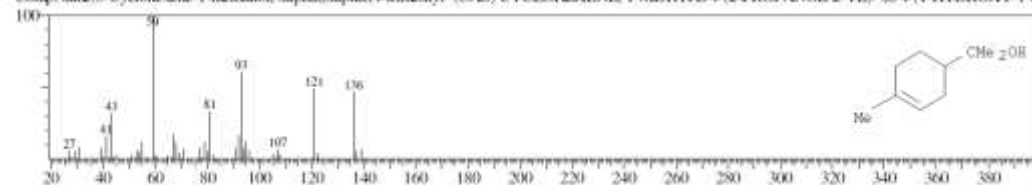
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:43777 Library:WILEY7.LIB

SE98 Formula:C10H18O CAS:98-55-5 MolWeight:154 RetIndex:0

CompName:3-Cyclohexene-1-methanol, alpha, alpha, 4-trimethyl- (CAS) CYCLOHEXENE, 1-METHYL-4-(2-PROPANOL-2-YL)- SS 4-(1-HYDROXY-1-M

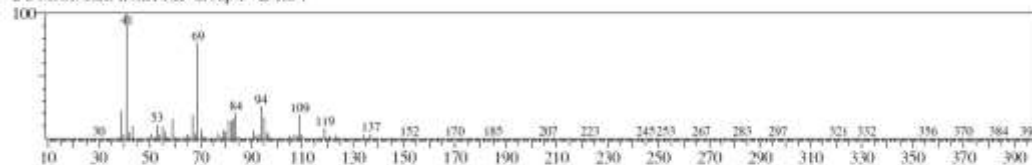


<< Target >>

Line#:15 R.Time:8.917(Scan#:1071) MassPeaks:291

RawMode:Averaged 8.908-8.925(1070-1072) BasePeak:41.00(226914)

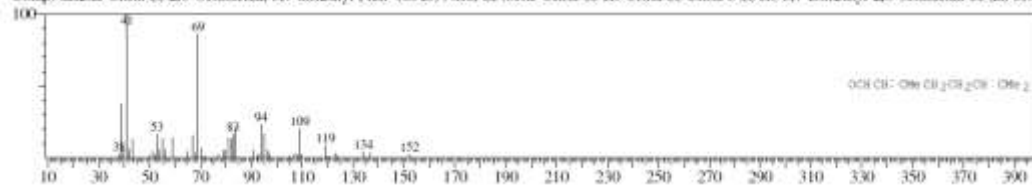
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:40967 Library:WILEY7.LIB

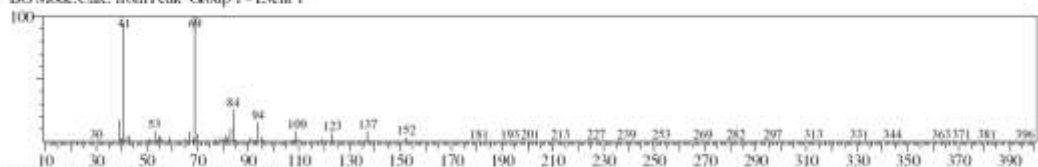
SE96 Formula:C10H16O CAS:106-26-3 MolWeight:152 RetIndex:0

CompName:Z-Citral SS 2,6-Octadecenal, 3,7-dimethyl-, (Z)- (CAS) Nerol SS beta-Citral SS cis-Citral SS Citral b SS cis-3,7-Dimethyl-2,6-octadecenal SS (Z)-3,7-



<< Target >>

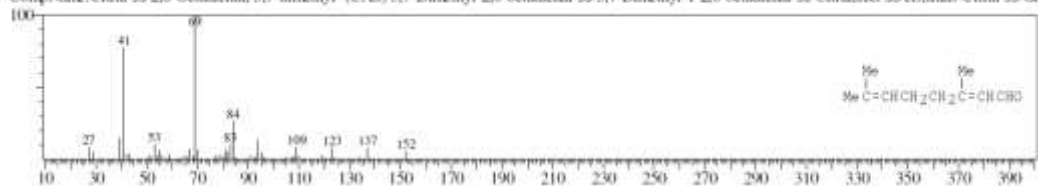
Line#:16 R.Time:9.350(Scan#:1123) MassPeaks:291
 RawMode:Averaged 9.342-9.358(1122-1124) BasePeak:69.00(378853)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:40970 Library:WILEY7.LIB

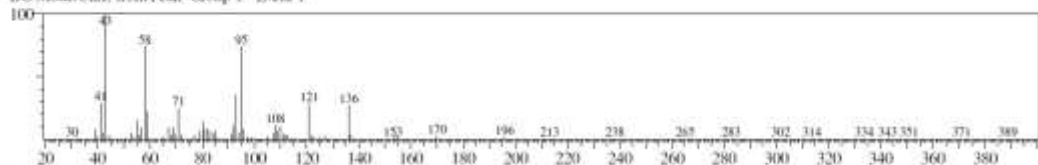
SE:97 Formula:C10H16O CAS:5392-40-5 MolWeight:152 RetIndex:0

CompName:Citral SS 2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl- (CAS) 3,7-Dimethyl-2,6-octadienal SS 3,7-Dimethyl-1-2,6-octadienal SS Citral.c&t SS cis,trans-Citral SS G



<< Target >>

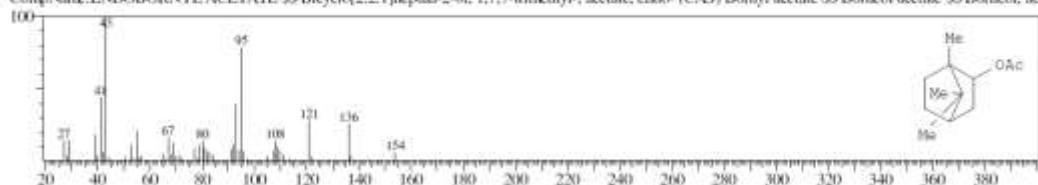
Line#:17 R.Time:9.608(Scan#:1154) MassPeaks:213
 RawMode:Averaged 9.600-9.617(1153-1155) BasePeak:42.95(77318)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:91077 Library:WILEY7.LIB

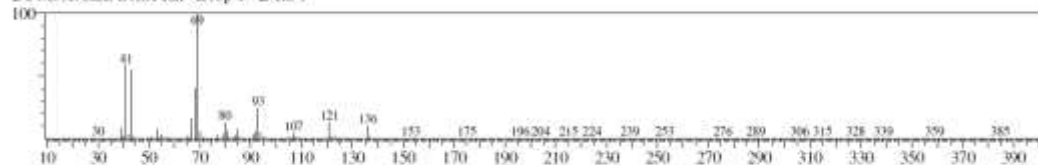
SE:85 Formula:C12H20O2 CAS:76-49-3 MolWeight:196 RetIndex:0

CompName:ENDO Bornyl acetate SS Bicyclo(2.2.1)heptan-2-ol, 1,7,7-trimethyl-, acetate, endo- (CAS) Bornyl acetate SS Borneol acetate SS Borneol, ac



<< Target >>

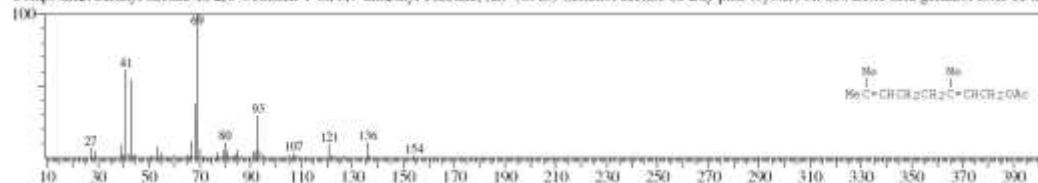
Line#:18 R.Time:10.858(Scan#:1304) MassPeaks:219
 RawMode:Averaged 10.850-10.867(1303-1305) BasePeak:69.00(157752)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:91009 Library:WILEY7.LIB

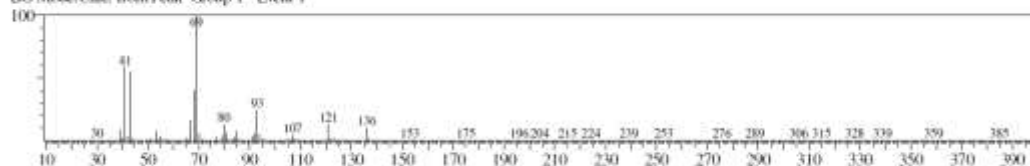
SE:97 Formula:C12H20O2 CAS:105-87-3 MolWeight:196 RetIndex:0

CompName:Geranyl acetate SS 2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, acetate, (E)- (CAS) Geranyl acetate SS Bay pine (oyster) oil SS Acetic acid geranyl ester SS tr



<< Target >>

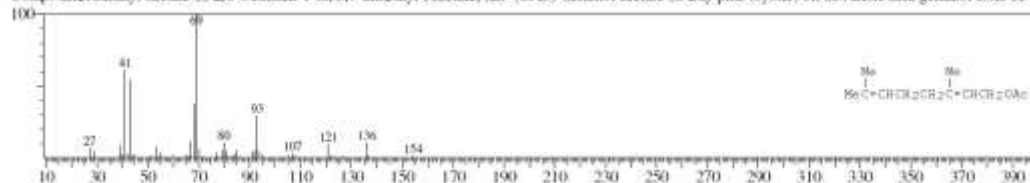
Line#:18 R.Time:10.858(Scan#:1304) MassPeaks:219
 RawMode:Averaged 10.850-10.867(1303-1305) BasePeak:69.00(157752)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:91009 Library:WILEY7.LIB

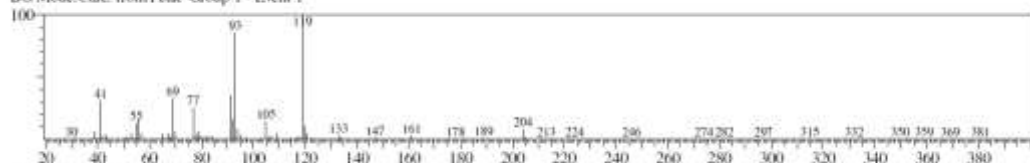
SI:97 Formula:C12 H20 O2 CAS:105-87-3 MolWeight:196 RetIndex:0

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



<< Target >>

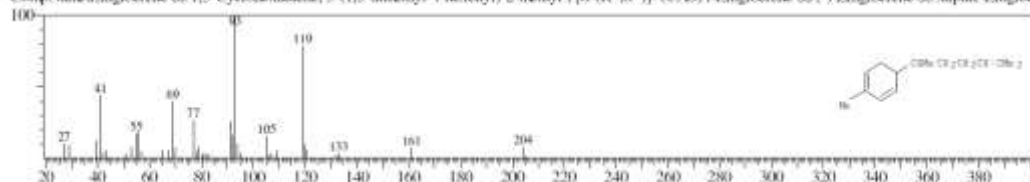
Line#:20 R.Time:12.492(Scan#:1500) MassPeaks:211
 RawMode:Averaged 12.483-12.500(1499-1501) BasePeak:119.00(174813)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:100701 Library:WILEY7.LIB

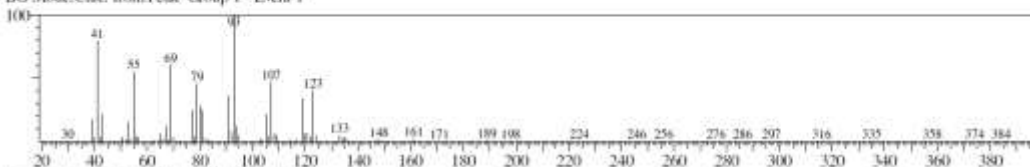
SI:93 Formula:C15 H24 CAS:495-60-3 MolWeight:204 RetIndex:0

CompName:Zingiberene SS 1,3-Cyclohexadiene, 5-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-2-methyl-, [S-(R*,S*)]- (CAS) 1-Zingiberene SS (-)-Zingiberene SS .alpha.-Zingibe



<< Target >>

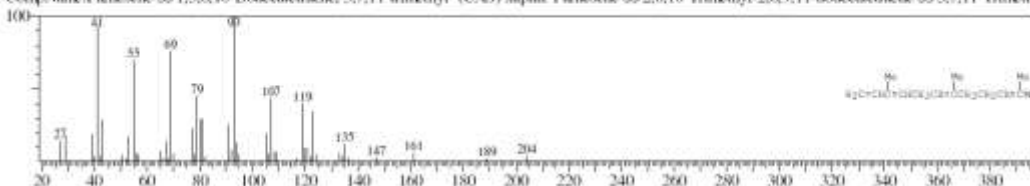
Line#:21 R.Time:12.583(Scan#:1511) MassPeaks:218
 RawMode:Averaged 12.575-12.592(1510-1512) BasePeak:92.95(23708)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:100668 Library:WILEY7.LIB

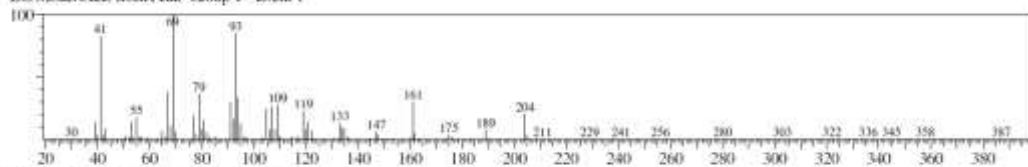
SI:95 Formula:C15 H24 CAS:502-61-4 MolWeight:204 RetIndex:0

CompName:Farnesene SS 1,3,6,10-Dodecatetraene, 3,7,11-trimethyl-, (CAS) .alpha.-Farnesene SS 2,6,10-Trimethyl-2,6,9,11-dodecatetraene SS 3,7,11-Trimethyl



<< Target >>

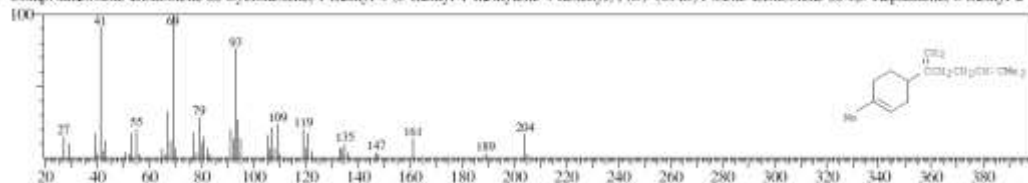
Line#:22 R.Time:12.675(Scan#:1522) MassPeaks:243
 RawMode:Averaged 12.667-12.683(1521-1523) BasePeak:69.00(55804)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:100710 Library:WILEY7.LIB

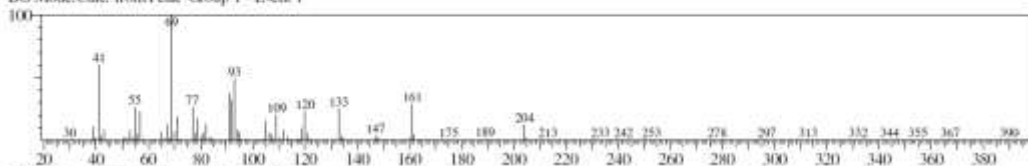
SE:95 Formula:C15 H24 CAS:495-61-4 MolWeight:204 RetIndex:0

CompName:beta-Bisabolene SS Cyclohexene, 1-methyl-4-(5-methyl-1-methylene-4-hexenyl)-, (S)- (CAS) 1-beta-Bisabolene SS 1,5-Heptadiene, 6-methyl-2-(



<< Target >>

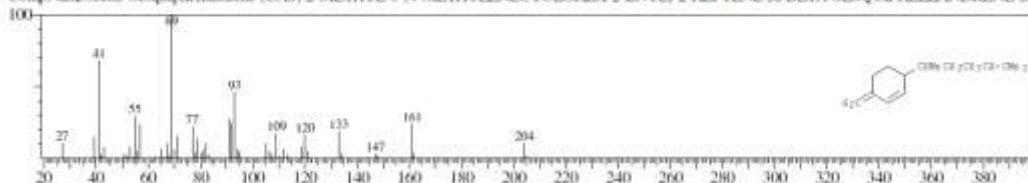
Line#:23 R.Time:12.892(Scan#:1548) MassPeaks:247
 RawMode:Averaged 12.883-12.900(1547-1549) BasePeak:69.00(91065)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:100703 Library:WILEY7.LIB

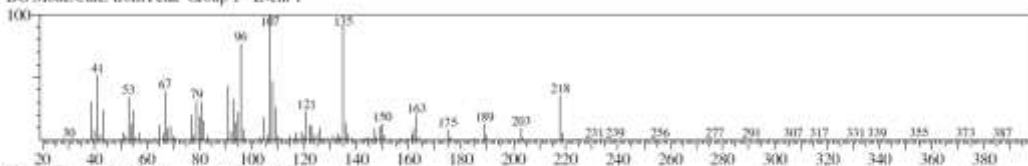
SE:96 Formula:C15 H24 CAS:20307-83-9 MolWeight:204 RetIndex:0

CompName:beta-Sesquiphellandrene (CAS) 2-METHYL-6-(4-METHYLENOCYCLOHEX-2-ENYL)-2-HEPTENE SS BETA-SESQUIPHELLANDRENE SS



<< Target >>

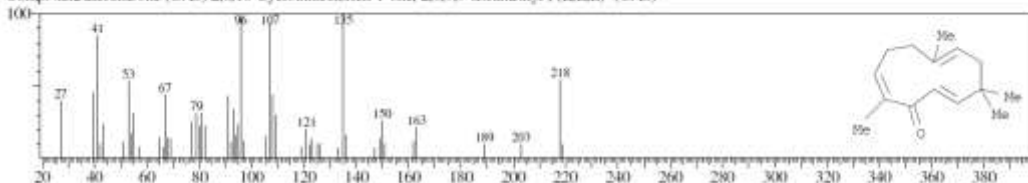
Line#:24 R.Time:15.700(Scan#:1885) MassPeaks:254
 RawMode:Averaged 15.692-15.708(1884-1886) BasePeak:107.00(48930)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:118285 Library:WILEY7.LIB

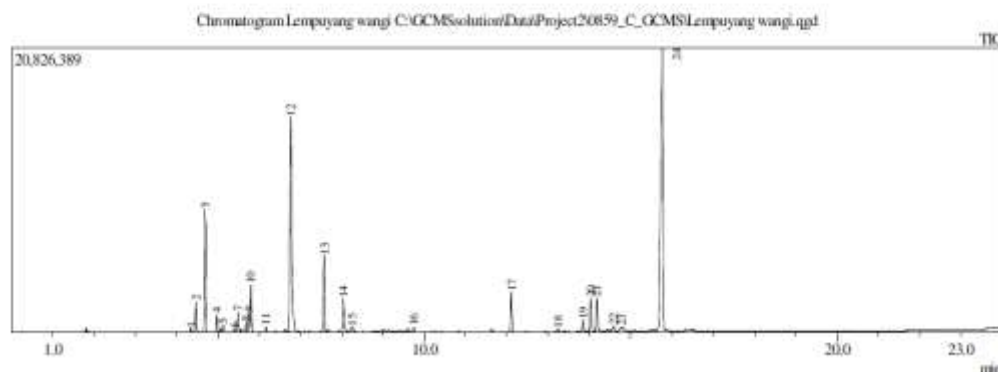
SE:93 Formula:C15 H22 O CAS:471-05-6 MolWeight:218 RetIndex:0

CompName:Zerumbone (CAS) 2,6,10-Cycloundecatrien-1-one, 2,6,9,9-tetramethyl-, (E,E,E)- (CAS)



Kromatogram minyak atsiri lempuyang wangi

Sample Information
 Analyzed by : Admin
 Analyzed : 3/3/2017 1:46:35 PM
 Sample Name : Lempuyang wangi
 Sample ID : 4
 Injection Volume : 0.10
 Data File : C:\GCMSsolution\Data\Project20859_C_GCMS\Lempuyang wangi.qgd
 Tuning File : C:\GCMSsolution\System1\Tuning 14112016.qgt

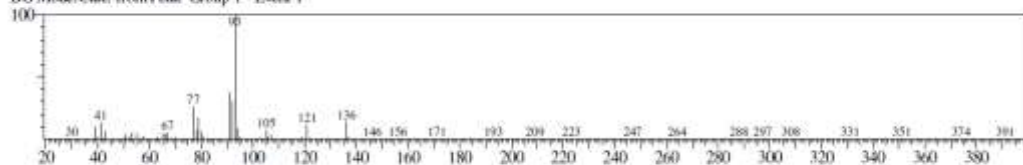


Peak	Senyawa Terduga	RT (min)	Area (%)	BM
1	Tricycline	4.338	0,24	136
2	Alpha-pinene	4.467	1,72	136
3	Camphene	4.685	7,37	136
4	Beta-phellandrene (sabinene)	4.972	1,01	136
5	Beta-myrcine	5.131	0,39	136
6	1-phellandrene	5.397	0,21	136
7	Delta,3-cerene	5.489	1,23	136
8	Benzene	5.677	0,65	134
9	Cyclohexene	5.744	1,30	136
10	Eucalyptol (1,8-cineole)	5.804	2,99	154
11	Gamma terpinene	6.169	0,31	136
12	L-linalool	6.768	23,24	154
13	Camphore	7.567	5,24	152
14	3-cyclohexen-1-ol	8.032	3,32	154
15	3-cyclohexen-1-methanol	8.246	0,62	154
16	Ethanone	9.753	0,28	150
17	Alpha-humulene	12.109	3,00	204
18	Cyclohexene	13.329	0,24	178
19	Caryophyllene oxyde	13.849	0,90	220
20	Beta-selinene	14.033	2,68	204
21	Humulene oxyde	14.180	2,53	220
22	1,5-cycloundecadiene	15.583	0,38	190
23	Beta-eudesmol	14.780	0,76	222
24	Zerumbon	15.768	39,38	219

Komponen senyawa minyak atsiri lepyang wangi :

<< Target >>

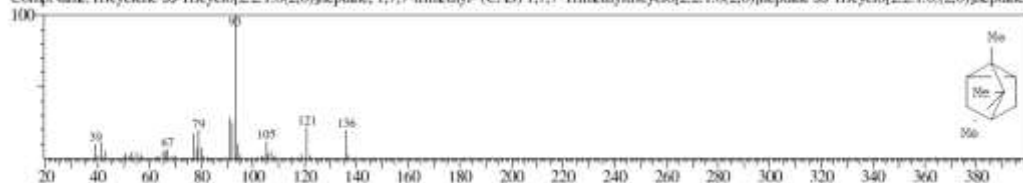
Line# 1 R.Time:4.342(Scan#:522) MassPeaks:236
RawMode:Averaged 4.333-4.350(521-523) BasePeak:92.95(63606)
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit# 1 Entry:26509 Library:WILEY7.LIB

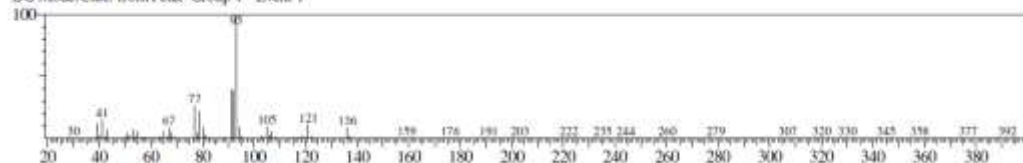
SI95 Formula:C10H16 CAS:508-32-7 MolWeight:136 RetIndex:0

CompName:Tricyclicene SS Tricyclo[2.2.1.0(2,6)]heptane, 1,7,7-trimethyl- (CAS) 1,7,7-Trimethyltricyclo[2.2.1.0(2,6)]heptane



<< Target >>

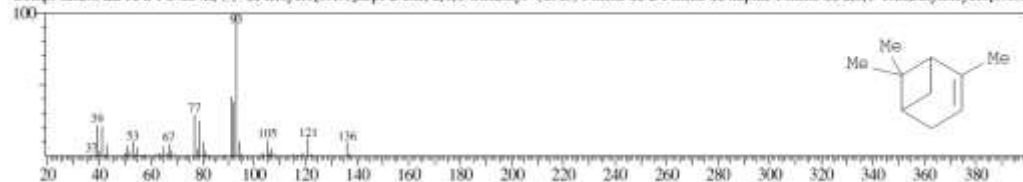
Line# 2 R.Time:4.467(Scan#:537) MassPeaks:247
RawMode:Averaged 4.458-4.475(536-538) BasePeak:93.00(484360)
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit# 1 Entry:26447 Library:WILEY7.LIB

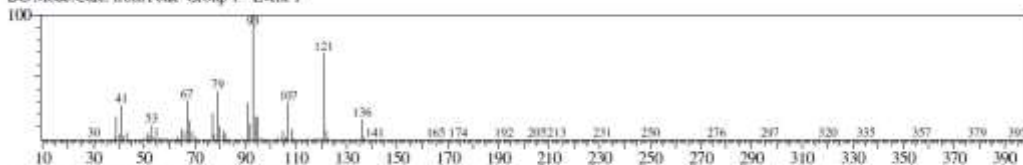
SI97 Formula:C10H16 CAS:80-56-8 MolWeight:136 RetIndex:0

CompName:ALPHA-PINENE, (-)- SS Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene, 2,6,6-trimethyl- (CAS) Pinene SS 2-Pinene SS.alpha-Pinene SS 2,6,6-Trimethylbicyclo[3.1.1]



<< Target >>

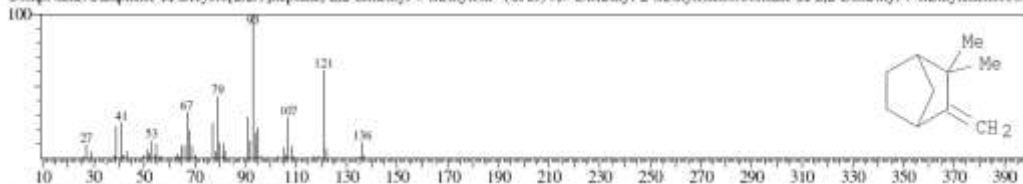
Line# 3 R.Time:4.683(Scan#:563) MassPeaks:261
RawMode:Averaged 4.675-4.692(562-564) BasePeak:93.00(1329781)
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit# 1 Entry:26396 Library:WILEY7.LIB

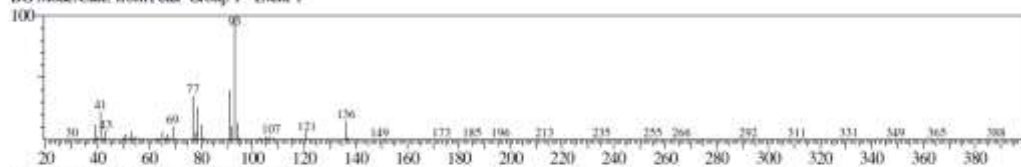
SI97 Formula:C10H16 CAS:79-92-5 MolWeight:136 RetIndex:0

CompName:Camphor SS Bicyclo[2.2.1]heptane, 2,2-dimethyl-3-methylene- (CAS) 3,3-Dimethyl-2-methylenenorbornane SS 2,2-Dimethyl-3-methylenenorbornane



<< Target >>

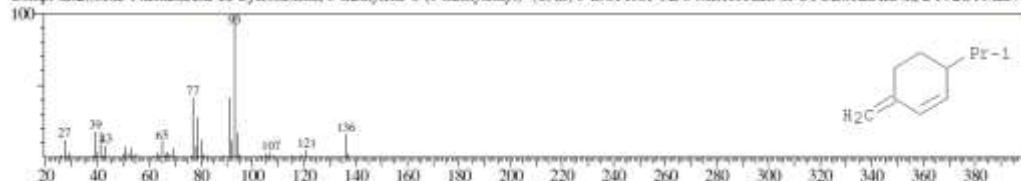
Line# 4 R.Time: 4.975(Scan#: 598) MassPeaks: 237
 RawMode: Averaged 4.967-4.983(597-599) BasePeak: 92.95(285981)
 BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit# 1 Entry: 26356 Library: WILEY7.LIB

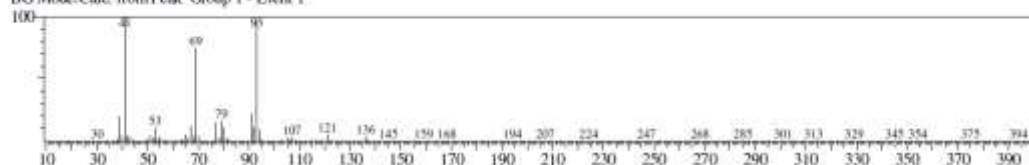
SI: 97 Formula: C10H16 CAS: 555-10-2 MolWeight: 136 RetIndex: 0

CompName: beta-Phellandrene SS Cyclohexene, 3-methylene-6-(1-methylethyl)- (CAS) 3-ISOPROPYL-6-METHYLENE-CYCLOHEXENE, 2-PARAMENTH-1-ENE



<< Target >>

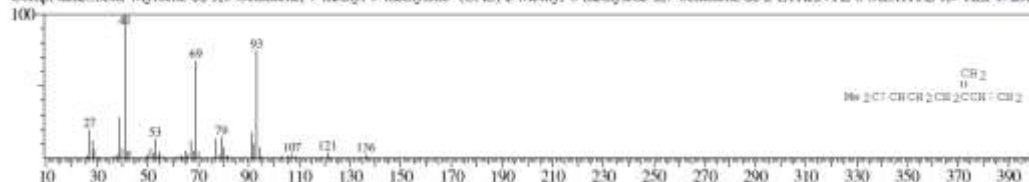
Line# 5 R.Time: 5.133(Scan#: 617) MassPeaks: 194
 RawMode: Averaged 5.125-5.142(616-618) BasePeak: 41.00(89999)
 BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit# 1 Entry: 26199 Library: WILEY7.LIB

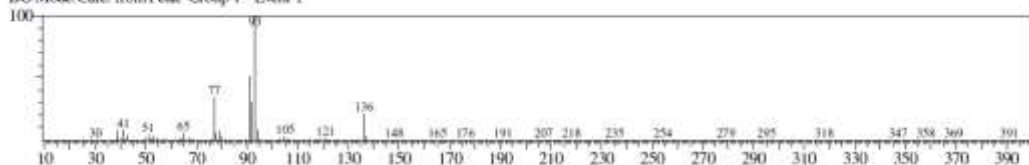
SI: 96 Formula: C10H16 CAS: 123-35-3 MolWeight: 136 RetIndex: 0

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



<< Target >>

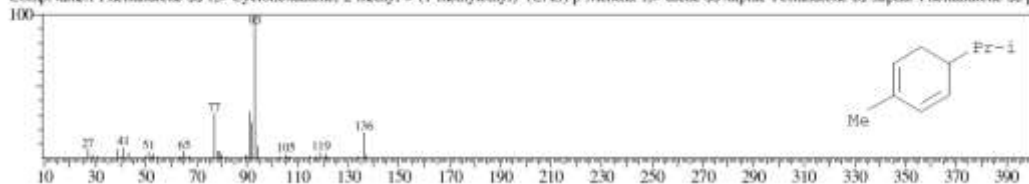
Line# 6 R.Time: 5.400(Scan#: 649) MassPeaks: 214
 RawMode: Averaged 5.392-5.408(648-650) BasePeak: 93.00(69593)
 BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit# 1 Entry: 26246 Library: WILEY7.LIB

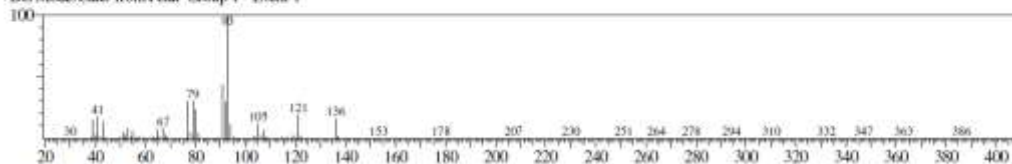
SI: 95 Formula: C10H16 CAS: 99-83-2 MolWeight: 136 RetIndex: 0

CompName: l-Phellandrene SS 1,3-Cyclohexadiene, 2-methyl-5-(1-methylethyl)- (CAS) p-Mentha-1,5-diene SS alpha-Fellandrene SS alpha-Phellandrene SS p-Mentha-1,5-diene

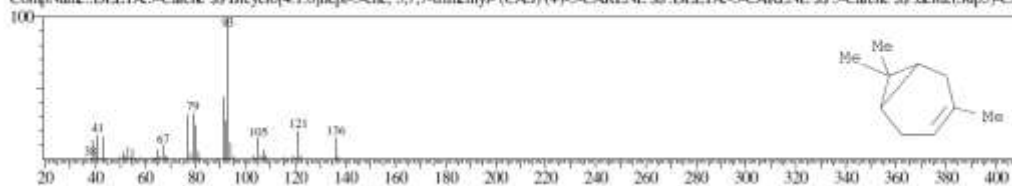


<< Target >>

Line#7 R.Time:5.492(Scan#660) MassPeaks:216
 RawMode:Averaged 5.483-5.500(659-661) BasePeak:93.00(277238)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1

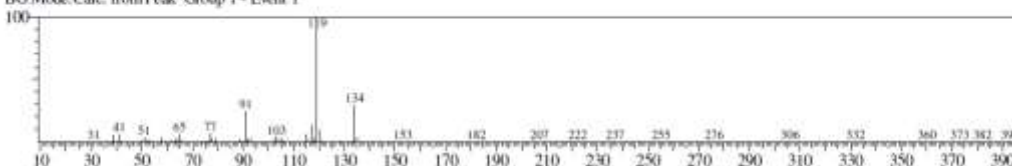


Hit#1 Entry:26489 Library:WILEY7.LIB
 SI:98 Formula:C10H16 CAS:13466-78-9 MolWeight:136 RetIndex:0
 CompName:DELTA-3-Carene \$\$ Bicyclo[4.1.0]hept-3-ene, 3,7,7-trimethyl- (CAS) (+)-3-CARENE \$\$ DELTA-3-CARENE \$\$ 3-Carene \$\$ delta.(Sup3)-Car

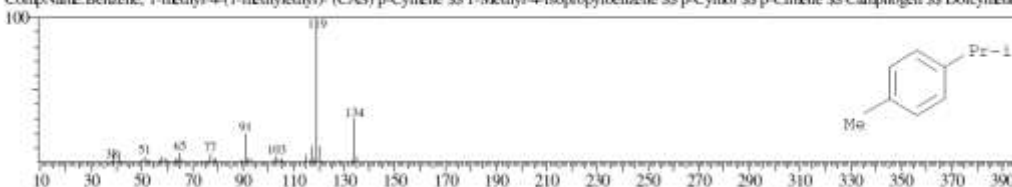


<< Target >>

Line#8 R.Time:5.675(Scan#682) MassPeaks:192
 RawMode:Averaged 5.667-5.683(681-683) BasePeak:119.00(233303)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1

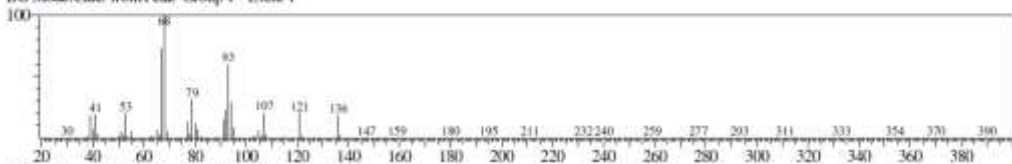


Hit#1 Entry:24439 Library:WILEY7.LIB
 SI:97 Formula:C10H14 CAS:99-87-6 MolWeight:134 RetIndex:0
 CompName:Benzen, 1-methyl-4-(1-methylethyl)- (CAS) p-Cymene \$\$ 1-Methyl-4-isopropylbenzene \$\$ p-Cymol \$\$ p-Cimene \$\$ Camphogen \$\$ Dolcymene \$

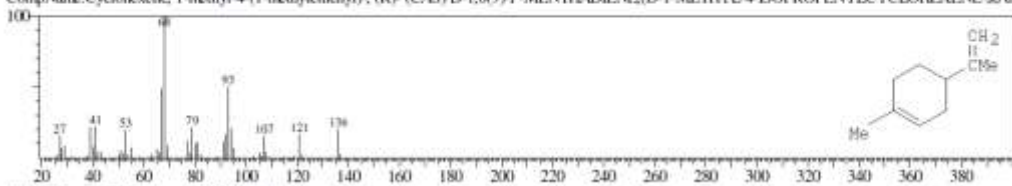


<< Target >>

Line#9 R.Time:5.742(Scan#690) MassPeaks:198
 RawMode:Averaged 5.733-5.750(689-691) BasePeak:68.00(190447)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1

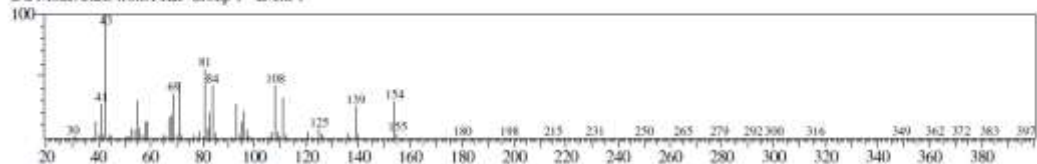


Hit#1 Entry:26298 Library:WILEY7.LIB
 SI:94 Formula:C10H16 CAS:5989-27-5 MolWeight:136 RetIndex:0
 CompName:Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, (R)- (CAS) D-1,8(9)-P-MENTHADIENE,(D-1-METHYL-4-ISOPROPENYL)CYCLOHEXENE \$\$ d

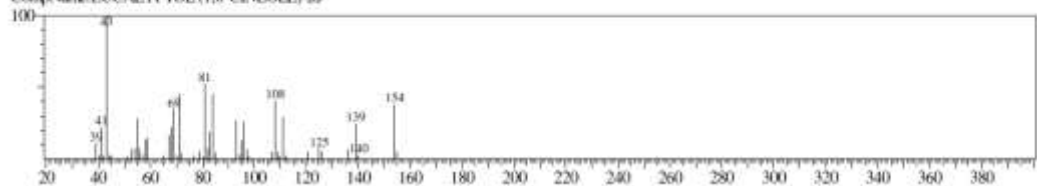


<< Target >>

Line#:10 R.Time:5.800(Scan#:697) MassPeaks:230
 RawMode:Averaged 5.792-5.808(696-698) BasePeak:42.95(365353)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1

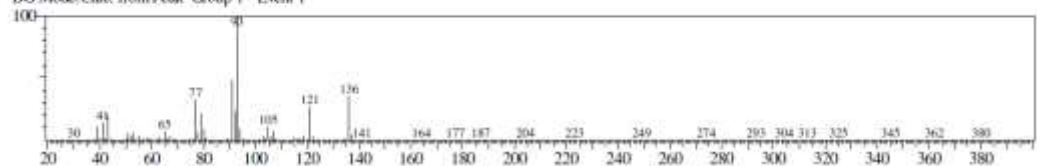


Hit#:1 Entry:43026 Library:WILEY7.LIB
 SI:98 Formula:C10 H18 O CAS:0-00-0 MolWeight:154 RetIndex:0
 CompName:EUCALYPTOL (1,8-CINEOLE) SS

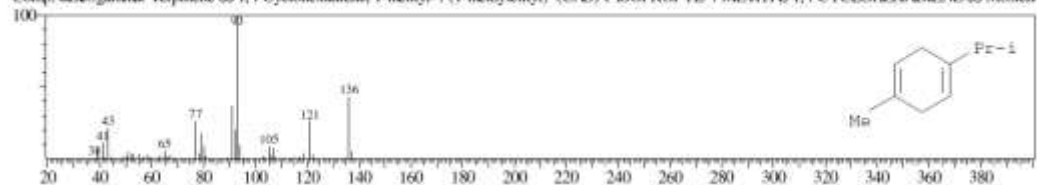


<< Target >>

Line#:11 R.Time:6.167(Scan#:741) MassPeaks:201
 RawMode:Averaged 6.158-6.175(740-742) BasePeak:93.00(72907)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1

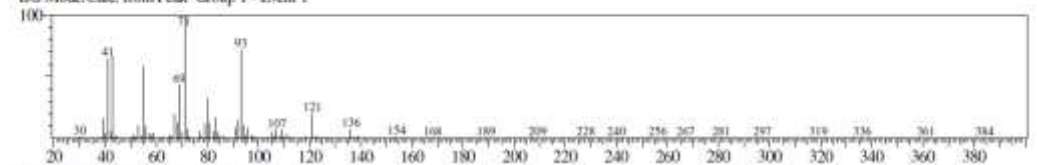


Hit#:1 Entry:26276 Library:WILEY7.LIB
 SI:96 Formula:C10 H16 CAS:99-85-4 MolWeight:136 RetIndex:0
 CompName:gamma-Terpinene SS 1,4-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)- (CAS) 1-ISOPROPYL-4-METHYL-1,4-CYCLOHEXADIENE SS Moslen

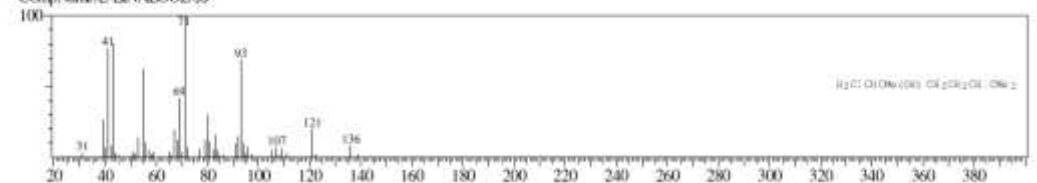


<< Target >>

Line#:12 R.Time:6.767(Scan#:813) MassPeak:277
 RawMode:Averaged 6.758-6.775(812-814) BasePeak:71.00(2026589)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1

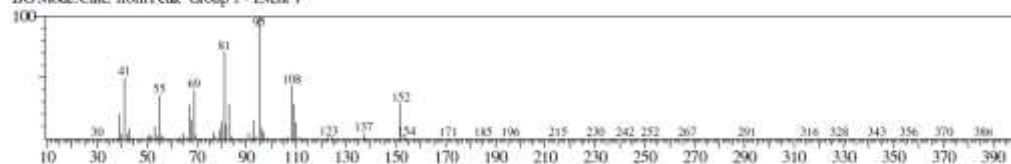


Hit#:1 Entry:42910 Library:WILEY7.LIB
 SI:97 Formula:C10 H18 O CAS:78-70-6 MolWeight:154 RetIndex:0
 CompName:L-LINALOOL SS

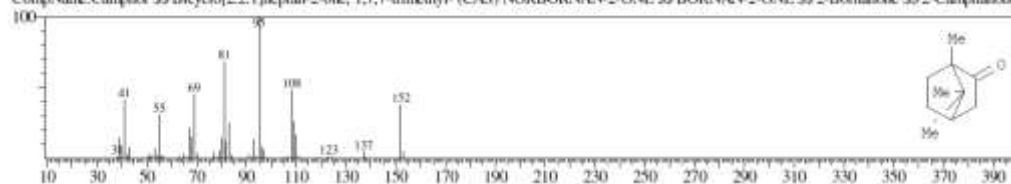


<< Target >>

Line# 13 R.Time:7.567(Scan# 909) MassPeaks:257
 RawMode:Averaged 7.558-7.575(908-910) BasePeak:95.00(765318)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1

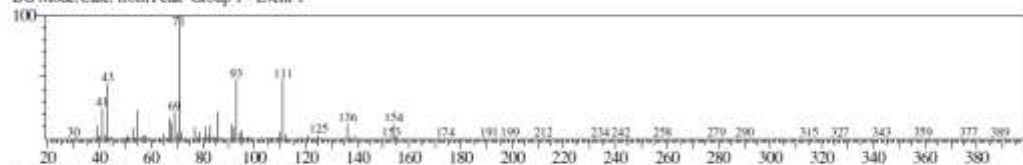


Hit# 1 Entry:41219 Library:WILEY7.LIB
 S197 Formula:C10H16O CAS:76-22-2 MolWeight:152 RefIndex:0
 CompName:Camphor SS Bicyclo[2.2.1]heptan-2-one, 1,7,7-trimethyl- (CAS) NORBORNAN-2-ONE SS BORNAN-2-ONE SS 2-Bornanone SS 2-Camphorone

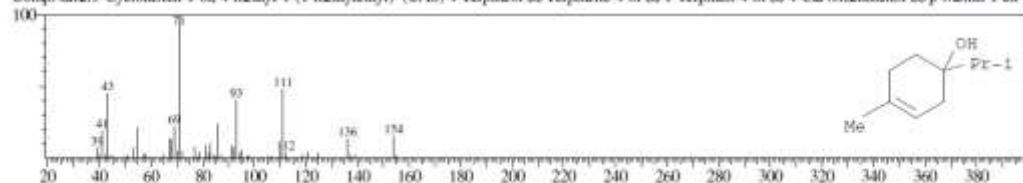


<< Target >>

Line# 14 R.Time:8.033(Scan# 965) MassPeaks:255
 RawMode:Averaged 8.025-8.042(964-966) BasePeak:70.95(409188)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1

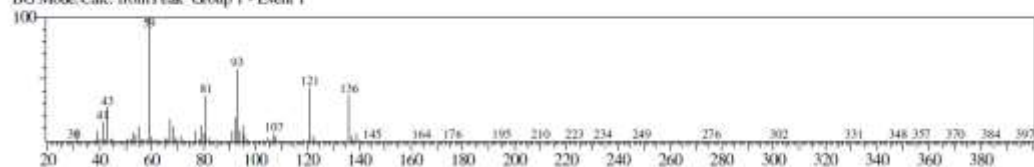


Hit# 1 Entry:43755 Library:WILEY7.LIB
 S197 Formula:C10H18O CAS:562-74-3 MolWeight:154 RefIndex:0
 CompName:3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)- (CAS) 4-Terpineol SS Terpinene-4-ol SS 1-Terpinen-4-ol SS 4-Carvomenthenol SS p-Menth-1-en-4

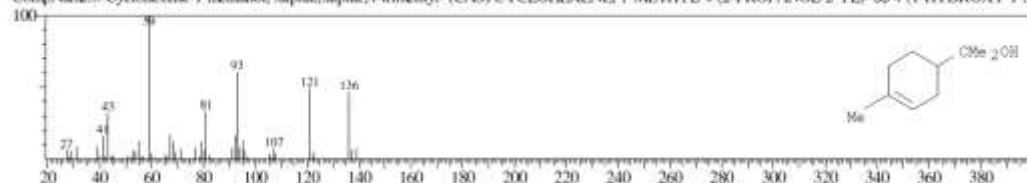


<< Target >>

Line# 15 R.Time:8.250(Scan# 991) MassPeaks:234
 RawMode:Averaged 8.242-8.258(990-992) BasePeak:59.00(55775)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1

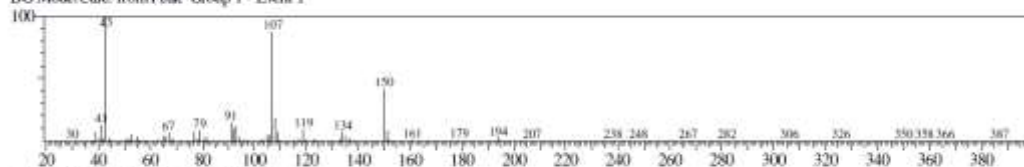


Hit# 1 Entry:43777 Library:WILEY7.LIB
 S198 Formula:C10H18O CAS:98-55-5 MolWeight:154 RefIndex:0
 CompName:3-Cyclohexene-1-methanol, .alpha.,.alpha.,4-trimethyl- (CAS) CYCLOHEXENE, 1-METHYL-4-(2-PROPANOL-2-YL)- SS 4-(1-HYDROXY-1-M



<< Target >>

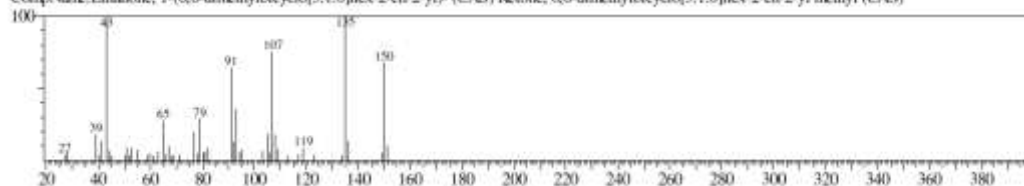
Line#: 16 R.Time: 9.750(Scan#: 1171) MassPeaks: 224
 RawMode: Averaged 9.742-9.758(1170-1172) BasePeak: 42.95(57193)
 BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#: 1 Entry: 37985 Library: WILEY7.LIB

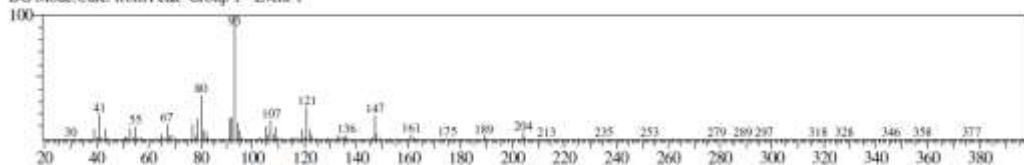
SE: 80 Formula: C10 H14 O CAS: 24555-40-6 MolWeight: 150 RetIndex: 0

CompName: Ethanone, 1-(6,6-dimethylbicyclo[3.1.0]hex-2-en-2-yl)- (CAS) Ketone, 6,6-dimethylbicyclo[3.1.0]hex-2-en-2-yl methyl (CAS)



<< Target >>

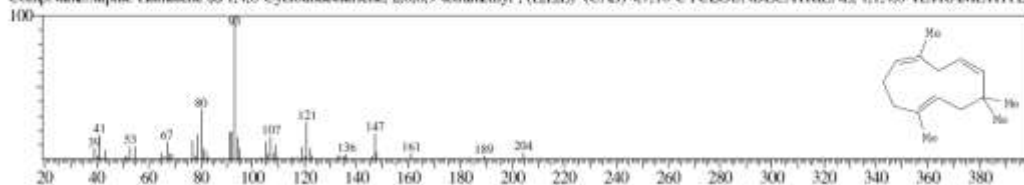
Line#: 17 R.Time: 12.108(Scan#: 1454) MassPeaks: 253
 RawMode: Averaged 12.100-12.117(1453-1455) BasePeak: 92.95(565917)
 BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#: 1 Entry: 100734 Library: WILEY7.LIB

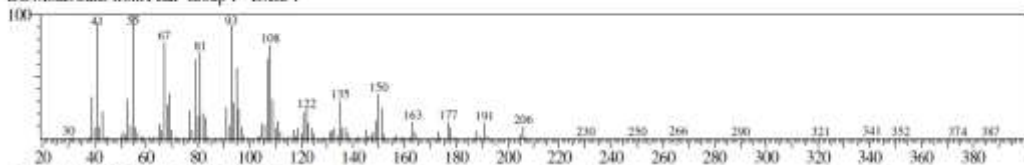
SE: 98 Formula: C15 H24 CAS: 6753-98-6 MolWeight: 204 RetIndex: 0

CompName: alpha-Humulene SS 1,4,8-Cycloundecatriene, 2,6,6,9-tetramethyl-, (E,E,E)- (CAS) 4,7,10-CYCLOUNDECATRIENE, 1,1,4,8-TETRAMETHYL-



<< Target >>

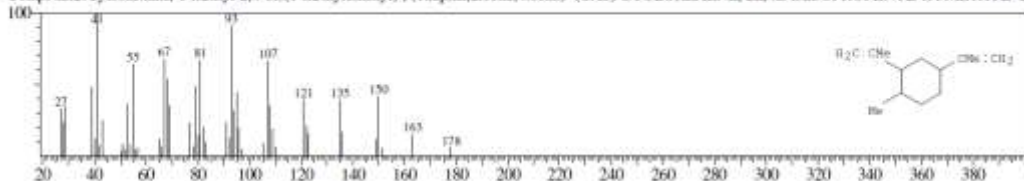
Line#: 18 R.Time: 13.242(Scan#: 1590) MassPeaks: 243
 RawMode: Averaged 13.233-13.250(1589-1591) BasePeak: 54.95(13616)
 BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#: 1 Entry: 69054 Library: WILEY7.LIB

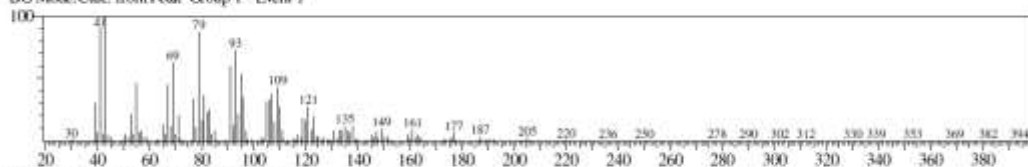
SE: 89 Formula: C13 H22 CAS: 62337-95-5 MolWeight: 178 RetIndex: 0

CompName: Cyclohexane, 1-methyl-2,4-bis(1-methylethenyl)-, (1.alpha.,2.beta.,4.beta.)- (CAS) CYCLOHEXENE, 2E,4E-DIISOPROPENYL-1A-METHYL- S



<< Target >>

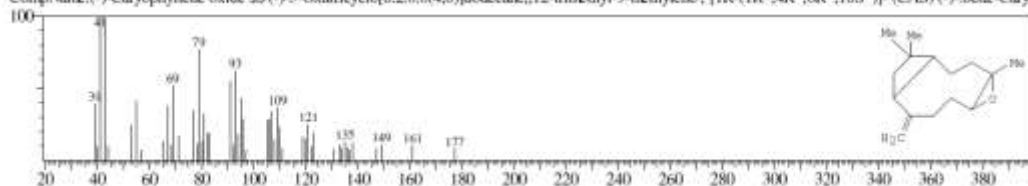
Line#:19 R.Time:13.850(Scan#:1663) MassPeaks:250
 RawMode:Averaged 13.842-13.858(1662-1664) BasePeak:42.95(51092)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:121056 Library:WILEY7.LIB

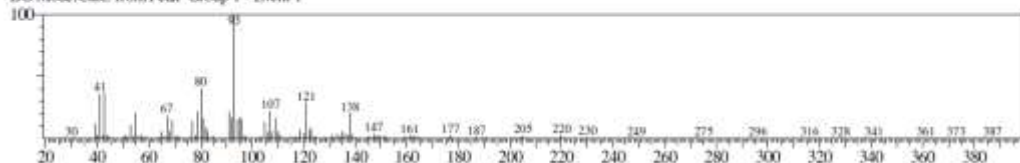
SE96 Formula:C15 H24 O CAS:1139-30-6 MolWeight:220 RefIndex:0

CompName:(-)-Caryophyllene oxide SS (-)-5-Oxatricyclo[8.2.0.0(4,6)]dodecane-,12-trimethyl-9-methylene-, [1R-(1R*,4R*,6R*,10S*)]- (CAS) (-)-beta.-Caryo



<< Target >>

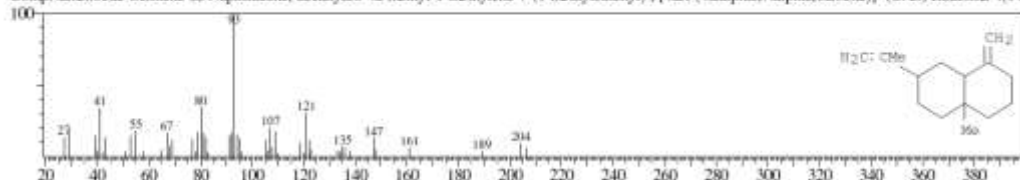
Line#:20 R.Time:14.033(Scan#:1685) MassPeaks:281
 RawMode:Averaged 14.025-14.042(1684-1686) BasePeak:93.00(311664)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:100915 Library:WILEY7.LIB

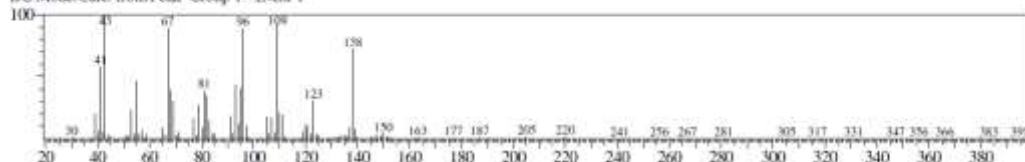
SE90 Formula:C15 H24 CAS:17066-67-0 MolWeight:204 RefIndex:0

CompName:.beta.-Selinene SS Naphthalene, decahydro-4a-methyl-1-methylene-7-(1-methylethenyl)-, [4aR-(4a.alpha.,7.alpha.,8a.beta.)]- (CAS) Eudesma-4(14)



<< Target >>

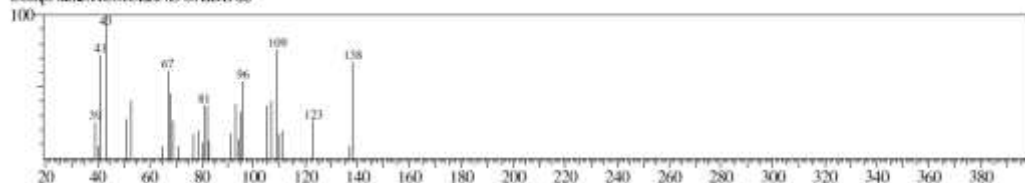
Line#:21 R.Time:14.183(Scan#:1703) MassPeaks:231
 RawMode:Averaged 14.175-14.192(1702-1704) BasePeak:42.95(178833)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:120452 Library:WILEY7.LIB

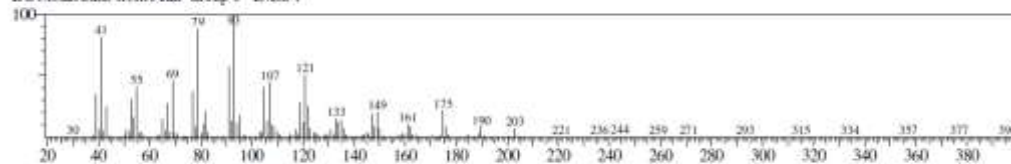
SI87 Formula:C15 H24 O CAS:0-00-0 MolWeight:220 RefIndex:0

CompName:HUMULENE OXIDE SS

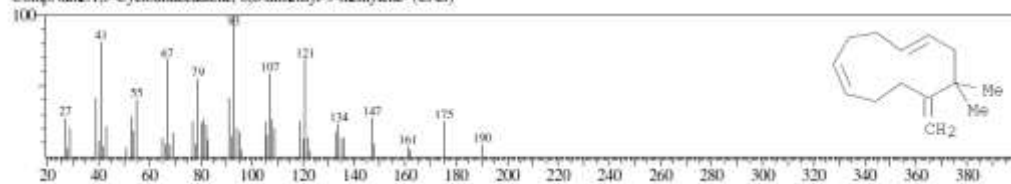


<< Target >>

Line#:22 R.Time:14.583(Scan#:1751) MassPeaks:243
 RawMode:Averaged 14.575-14.592(1750-1752) BasePeak:93.00(18292)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1

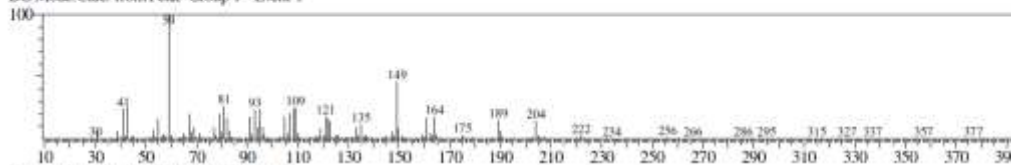


Hit#:1 Entry:83067 Library:WILEY7.LIB
 SI:88 Formula:C14 H22 CAS:62338-54-9 MolWeight:190 RetIndex:0
 CompName:1,5-Cycloundecatriene, 8,8-dimethyl-9-methylene- (CAS)

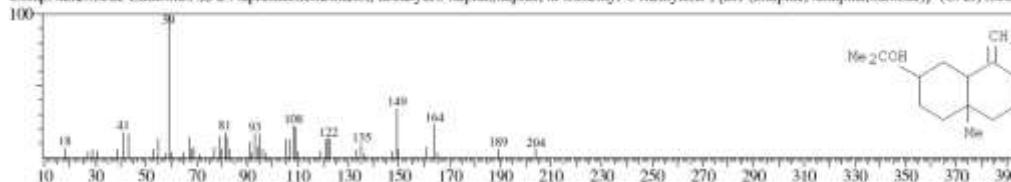


<< Target >>

Line#:23 R.Time:14.783(Scan#:1775) MassPeaks:241
 RawMode:Averaged 14.775-14.792(1774-1776) BasePeak:59.00(32238)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1

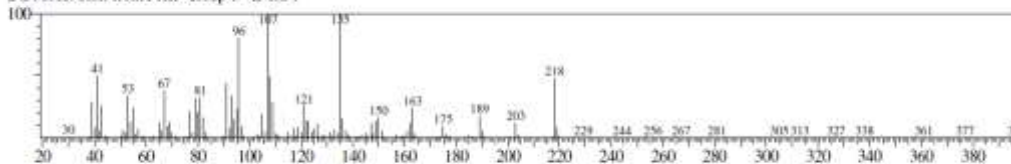


Hit#:1 Entry:124046 Library:WILEY7.LIB
 SI:92 Formula:C15 H26 O CAS:473-15-4 MolWeight:222 RetIndex:0
 CompName:.beta.-Eudesmol SS 2-Naphthalenemethanol, decahydro-.alpha.,.alpha.,4a-trimethyl-8-methylene-, [2R-(2.alpha.,4a.alpha.,8a.beta.)]- (CAS).beta.-S

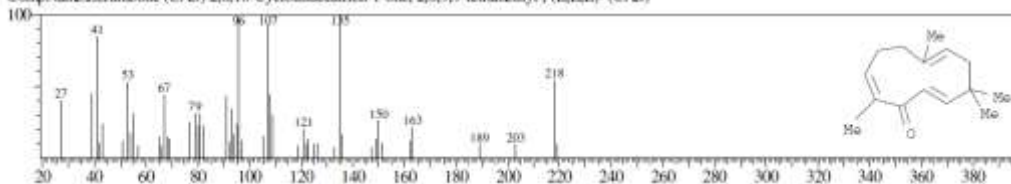


<< Target >>

Line#:24 R.Time:15.767(Scan#:1893) MassPeaks:319
 RawMode:Averaged 15.758-15.775(1892-1894) BasePeak:107.00(1509865)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:118285 Library:WILEY7.LIB
 SI:93 Formula:C15 H22 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)



Lampiran 17. Diameter daya hambat tunggal dan kombinasi dari uji difusi minyak atsiri

Konsentrasi 50%				Rata-rata ± SD
	I	II	III	
Amoksisilin (K+)	32,3	30,6	31,3	31,40 ± 0,85
N-heksan (K-)	0	0	0	0,00 ± 0,00
Jahe merah	23,6	22	22,3	22,63 ± 0,85
Lempuyang wangi	17	16,3	17	16,77 ± 0,40
Kombinasi 1:1	20	20	20,3	20,10 ± 0,17
Kombinasi 1:3	15	15	16,3	15,43 ± 0,75
Kombinasi 3:1	24,6	23,3	25	24,30 ± 0,89

Konsentrasi 25%				Rata-rata ± SD
	I	II	III	
Amoksisilin (K+)	34	33,6	31,6	32,97 ± 1,23
N-heksan (K-)	0	0	0	0,00 ± 0,00
Jahe merah	19	18,3	18,6	15,63 ± 0,35
Lempuyang wangi	12,3	13	13,3	12,87 ± 0,51
Kombinasi 1:1	16	15,3	15,6	15,63 ± 0,35
Kombinasi 1:3	13	12	12,3	12,43 ± 0,51
Kombinasi 3:1	18,6	17,3	18	17,97 ± 0,65

Konsentrasi 12,5%				Rata-rata ± SD
	I	II	III	
Amoksisilin (K+)	32,6	33,6	31	32,40 ± 1,31
N-heksan (K-)	0	0	0	0,00 ± 0,00
Jahe merah	15,3	14,6	16	15,30 ± 0,70
Lempuyang wangi	9	8,6	9	8,87 ± 0,23
Kombinasi 1:1	11,3	11	10,6	10,97 ± 0,35
Kombinasi 1:3	8	7,6	7	7,53 ± 0,50
Kombinasi 3:1	15	14,6	15,3	14,97 ± 0,35

Perhitungan rata-rata diameter hambatan :

Konsentrasi 50% :

- Amoksisilin :

Replikasi I $= \frac{3,2+3,2+3,2}{3} = 3,2 \text{ cm} = 32 \text{ mm}$

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

Replikasi III $= \frac{3,2+3,1+3,1}{3} = 3,13 \text{ cm} = 31,3 \text{ mm}$
- Jahe merah :

Replikasi I $= \frac{2,3+2,4+2,4}{3} = 2,36 \text{ cm} = 23,6 \text{ mm}$

- Replikasi II $= \frac{2,2+2,2+2,2}{3} = 2,2 \text{ cm} = 22 \text{ mm}$
- Replikasi III $= \frac{2,2+2,2+2,3}{3} = 2,23 \text{ cm} = 22,3 \text{ mm}$
3. Lempuyang wangi :
- Replikasi I $= \frac{1,7+1,7+1,7}{3} = 1,7 \text{ cm} = 17 \text{ mm}$
- Replikasi II $= \frac{1,7+1,6+1,6}{3} = 1,63 \text{ cm} = 16,3 \text{ mm}$
- Replikasi III $= \frac{1,7+1,7+1,7}{3} = 1,7 \text{ cm} = 1,7 \text{ mm}$
4. Kombinasi 1:1 :
- Replikasi I $= \frac{2,0+2,0+2,0}{3} = 2,0 \text{ cm} = 20 \text{ mm}$
- Replikasi II $= \frac{2,0+2,0+2,0}{3} = 2,0 \text{ cm} = 20 \text{ mm}$
- Replikasi III $= \frac{2,1+2,0+2,0}{3} = 2,03 \text{ cm} = 20,3 \text{ mm}$
5. Kombinasi 1:3 :
- Replikasi I $= \frac{1,5+1,5+1,5}{3} = 1,5 \text{ cm} = 15 \text{ mm}$
- Replikasi II $= \frac{1,5+1,5+1,5}{3} = 1,5 \text{ cm} = 15 \text{ mm}$
- Replikasi III $= \frac{1,6+1,6+1,7}{3} = 1,63 \text{ cm} = 16,3 \text{ mm}$
6. Kombinasi 3:1 :
- Replikasi I $= \frac{2,5+2,5+2,4}{3} = 2,46 \text{ cm} = 24,6 \text{ mm}$
- Replikasi II $= \frac{2,3+2,3+2,4}{3} = 2,33 \text{ cm} = 23,3 \text{ mm}$
- Replikasi III $= \frac{2,5+2,5+2,5}{3} = 2,5 \text{ cm} = 25 \text{ mm}$

Konsentrasi 25% :

1. Amoksisilin :
 - Replikasi I $= \frac{3,4+3,4+3,4}{3} = 3,4 \text{ cm} = 34 \text{ mm}$
 - Replikasi II $= \frac{3,3+3,3+3,4}{3} = 3,33 \text{ cm} = 33,3 \text{ mm}$
 - Replikasi III $= \frac{3,1+3,2+3,2}{3} = 3,13 \text{ cm} = 31,3 \text{ mm}$
2. Jahe merah :
 - Replikasi I $= \frac{1,9+1,9+1,9}{3} = 1,9 \text{ cm} = 19 \text{ mm}$
 - Replikasi II $= \frac{1,8+1,8+1,9}{3} = 1,83 \text{ cm} = 18,3 \text{ mm}$
 - Replikasi III $= \frac{1,9+1,9+1,8}{3} = 1,86 \text{ cm} = 18,6 \text{ mm}$
3. Lempuyang wangi :
 - Replikasi I $= \frac{1,2+1,2+1,3}{3} = 1,23 \text{ cm} = 12,3 \text{ mm}$
 - Replikasi II $= \frac{1,3+1,3+1,3}{3} = 1,3 \text{ cm} = 13 \text{ mm}$
 - Replikasi III $= \frac{1,4+1,3+1,3}{3} = 1,33 \text{ cm} = 13,3 \text{ mm}$
4. Kombinasi 1:1 :
 - Replikasi I $= \frac{1,6+1,6+1,6}{3} = 1,6 \text{ cm} = 16 \text{ mm}$
 - Replikasi II $= \frac{1,5+1,5+1,6}{3} = 1,53 \text{ cm} = 15,3 \text{ mm}$
 - Replikasi III $= \frac{1,6+1,5+1,6}{3} = 1,56 \text{ cm} = 15,6 \text{ mm}$
5. Kombinasi 1:3 :
 - Replikasi I $= \frac{1,3+1,3+1,3}{3} = 1,3 \text{ cm} = 13 \text{ mm}$
 - Replikasi II $= \frac{1,2+1,2+1,2}{3} = 1,2 \text{ cm} = 12 \text{ mm}$

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,2+1,2+1,3}{3} = 1,23 \text{ cm} = 12,3 \text{ mm}$$

6. Kombinasi 3:1 :

$$\text{Replikasi I} = \frac{1,9+1,9+1,9}{3} = 1,9 \text{ cm} = 19 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,8+1,7+1,7}{3} = 1,73 \text{ cm} = 17,3 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,8+1,8+1,8}{3} = 1,8 \text{ cm} = 18 \text{ mm}$$

Konsentrasi 12,5% :

1. Amoksisilin :

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

$$\text{Replikasi II} = \frac{3,3+3,4+3,4}{3} = 3,36 \text{ cm} = 33,6 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{3,1+3,1+3,1}{3} = 3,1 \text{ cm} = 31 \text{ mm}$$

2. Jahe merah :

$$\text{Replikasi I} = \frac{1,5+1,5+1,6}{3} = 1,53 \text{ cm} = 15,3 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,5+1,4+1,4}{3} = 1,46 \text{ cm} = 14,6 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,6+1,6+1,6}{3} = 1,6 \text{ cm} = 16 \text{ mm}$$

3. Lempuyang wangi :

$$\text{Replikasi I} = \frac{0,9+0,9+0,9}{3} = 0,9 \text{ cm} = 9 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{0,8+0,9+0,9}{3} = 0,86 \text{ cm} = 8,6 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{0,9+0,9+0,9}{3} = 0,9 \text{ cm} = 9 \text{ mm}$$

4. Kombinasi 1:1 :

$$\text{Replikasi I} = \frac{1,1+1,2+1,1}{3} = 1,13 \text{ cm} = 11,3 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,1+1,1+1,1}{3} = 1,1 \text{ cm} = 11 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,1+1,0+1,1}{3} = 1,06 \text{ cm} = 10,6 \text{ mm}$$

5. Kombinasi 1:3 :

$$\text{Replikasi I} = \frac{0,8+0,8+0,8}{3} = 0,8 \text{ cm} = 8 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{0,8+0,7+0,8}{3} = 0,76 \text{ cm} = 7,6 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{0,7+0,7+0,7}{3} = 0,7 \text{ cm} = 0,7 \text{ mm}$$

6. Kombinasi 3:1 :

$$\text{Replikasi I} = \frac{1,5+1,5+1,5}{3} = 1,5 \text{ cm} = 15 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,4+1,5+1,5}{3} = 1,46 \text{ cm} = 14,6 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,6+1,5+1,5}{3} = 1,53 \text{ cm} = 15,3 \text{ mm}$$

Lampiran 18. Hasil analisis dengan SPSS

Npar Test

Tests of Normality

	kombinasi bahan uji	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
daya hambat	kontrol positif	,150	9	,200*	,949	9	,683
	JM Tunggal	,168	9	,200*	,932	9	,498
	LW Tunggal	,201	9	,200*	,872	9	,129
	kombinasi 1:1	,202	9	,200*	,864	9	,105
	kombinasi 1:3	,195	9	,200*	,897	9	,236
	kombinasi 3:1	,212	9	,200*	,862	9	,102

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

a. Lilliefors Significance Correction

Descriptive Statistics

Dependent Variable: daya hambat

kombinasi bahan uji	konsentrasi bahan uji	Mean	Std. Deviation	N
kontrol positif	konsentrasi 50%	31,4000	,85440	3
	konsentrasi 25%	32,9667	1,23423	3
	konsentrasi 12,5%	32,4000	1,31149	3
	Total	32,2556	1,21049	9
JM Tunggal	konsentrasi 50%	22,6333	,85049	3
	konsentrasi 25%	18,6333	,35119	3
	konsentrasi 12,5%	15,3000	,70000	3
	Total	18,8556	3,23192	9
LW Tunggal	konsentrasi 50%	16,7667	,40415	3
	konsentrasi 25%	12,8667	,51316	3
	konsentrasi 12,5%	8,8667	,23094	3
	Total	12,8333	3,43839	9
kombinasi 1:1	konsentrasi 50%	20,1000	,17321	3
	konsentrasi 25%	15,6333	,35119	3
	konsentrasi 12,5%	10,9667	,35119	3
	Total	15,5667	3,96390	9
kombinasi 1:3	konsentrasi 50%	15,4333	,75056	3
	konsentrasi 25%	12,4333	,51316	3
	konsentrasi 12,5%	7,5333	,50332	3
	Total	11,8000	3,49249	9
kombinasi 3:1	konsentrasi 50%	24,3000	,88882	3
	konsentrasi 25%	17,9667	,65064	3
	konsentrasi 12,5%	14,9667	,35119	3
	Total	19,0778	4,16677	9
Total	konsentrasi 50%	21,7722	5,47495	18
	konsentrasi 25%	18,4167	7,13049	18
	konsentrasi 12,5%	15,0056	8,55085	18
	Total	18,3981	7,55984	54

Twoway**Levene's Test of Equality of Error Variances^a**

Dependent Variable: daya hambat

F	df1	df2	Sig.
1,695	17	36	,090

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

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

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: daya hambat

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Intercept	18278,560	1	18278,560	88,710	,011
perbandingan	2476,970	5	495,394	40,284	,000
Kons	412,099	2	206,050	16,756	,001
perbandingan * kons	122,974	10	12,297 ^b	26,093	,000
Error	16,967	36	,471 ^c		

a. MS(kons)

b. MS(perbandingan * kons)

c. MS(Error)

Post Hoc Test**daya hambat**Tukey HSD^{a,b}

kombinasi bahan uji	N	Subset				
		1	2	3	4	5
kombinasi 1:3	9	11,8000				
LW Tunggal	9		12,8333			
kombinasi 1:1	9			15,5667		
JM Tunggal	9				18,8556	
kombinasi 3:1	9				19,0778	
kontrol positif	9					32,2556
Sig.		1,000	1,000	1,000	,982	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,471.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 9,000.

b. Alpha = 0,05.

Multiple Comparisons

Dependent Variable: daya hambat

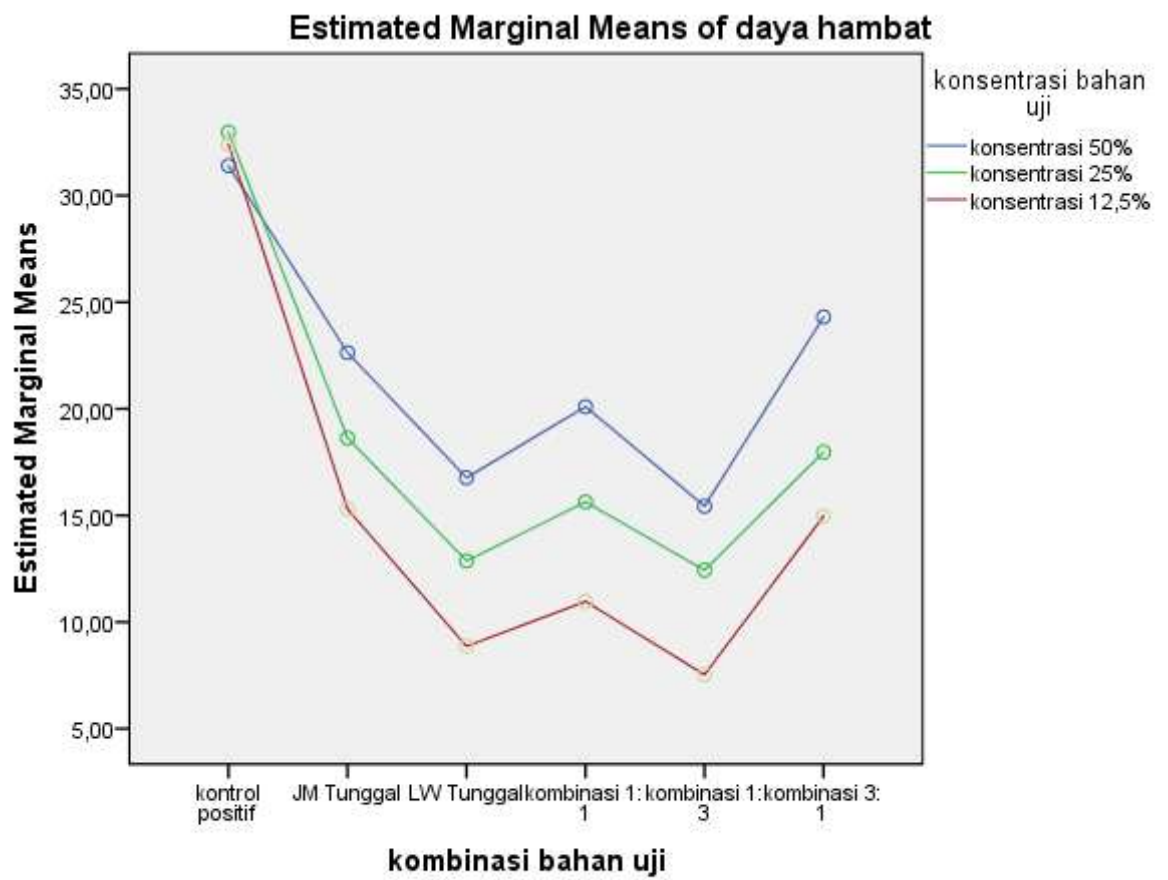
Tukey HSD

(I) kombinasi bahan uji	(J) kombinasi bahan uji	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol positif	JM Tunggal	13,4000 [*]	,32362	,000	12,4264	14,3736
	LW Tunggal	19,4222 [*]	,32362	,000	18,4486	20,3959
	kombinasi 1:1	16,6889 [*]	,32362	,000	15,7152	17,6625
	kombinasi 1:3	20,4556 [*]	,32362	,000	19,4819	21,4292
	kombinasi 3:1	13,1778 [*]	,32362	,000	12,2041	14,1514
JM Tunggal	kontrol positif	-13,4000 [*]	,32362	,000	-14,3736	-12,4264
	LW Tunggal	6,0222 [*]	,32362	,000	5,0486	6,9959
	kombinasi 1:1	3,2889 [*]	,32362	,000	2,3152	4,2625
	kombinasi 1:3	7,0556 [*]	,32362	,000	6,0819	8,0292
	kombinasi 3:1	-,2222	,32362	,982	-1,1959	,7514
LW Tunggal	kontrol positif	-19,4222 [*]	,32362	,000	-20,3959	-18,4486
	JM Tunggal	-6,0222 [*]	,32362	,000	-6,9959	-5,0486
	kombinasi 1:1	-2,7333 [*]	,32362	,000	-3,7070	-1,7597
	kombinasi 1:3	1,0333 [*]	,32362	,032	,0597	2,0070
	kombinasi 3:1	-6,2444 [*]	,32362	,000	-7,2181	-5,2708
kombinasi 1:1	kontrol positif	-16,6889 [*]	,32362	,000	-17,6625	-15,7152
	JM Tunggal	-3,2889 [*]	,32362	,000	-4,2625	-2,3152
	LW Tunggal	2,7333 [*]	,32362	,000	1,7597	3,7070
	kombinasi 1:3	3,7667 [*]	,32362	,000	2,7930	4,7403
	kombinasi 3:1	-3,5111 [*]	,32362	,000	-4,4848	-2,5375
kombinasi 1:3	kontrol positif	-20,4556 [*]	,32362	,000	-21,4292	-19,4819
	JM Tunggal	-7,0556 [*]	,32362	,000	-8,0292	-6,0819
	LW Tunggal	-1,0333 [*]	,32362	,032	-2,0070	-,0597
	kombinasi 1:1	-3,7667 [*]	,32362	,000	-4,7403	-2,7930
	kombinasi 3:1	-7,2778 [*]	,32362	,000	-8,2514	-6,3041
kombinasi 3:1	kontrol positif	-13,1778 [*]	,32362	,000	-14,1514	-12,2041
	JM Tunggal	,2222	,32362	,982	-,7514	1,1959
	LW Tunggal	6,2444 [*]	,32362	,000	5,2708	7,2181
	kombinasi 1:1	3,5111 [*]	,32362	,000	2,5375	4,4848
	kombinasi 1:3	7,2778 [*]	,32362	,000	6,3041	8,2514

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,471.

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

Means Plots

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.