

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI MINYAK ATSIRI RIMPANG
BANGLE (*Zingiber cassumunar* R.) dan BIJI PALA (*Myristica fragrans* H.)
TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**



Oleh:

**Rina Setya Ningsih
19133912A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI MINYAK ATSIRI RIMPANG
BANGLE (*Zingiber cassumunar* R.) dan BIJI PALA (*Myristica fragrans* H.)
TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

SKRIPSI

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
Derajat Sarjana Farmasi (S. Farm)
Program Studi S1 Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi*

Oleh:

**Rina Setya Ningsih
19133912A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI MINYAK ATSIRI RIMPANG
BANGLE (*Zingiber cassumunar* R.) dan BIJI PALA (*Myristica fragrans* H.)
TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

**Oleh:
Rina Setya Ningsih
19133912A**

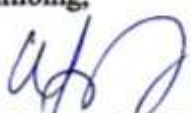
Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 08 Juni 2017

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



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

Pembimbing,

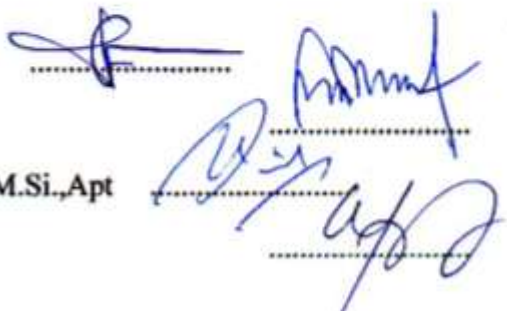

Vivin Nopiyanti, M.Sc., Apt

Pembimbing pendamping,


Ismi Rahmawati, M.Si., Apt

Penguji:

1. Dwi Ningsih, S.Si., M.Farm., Apt
2. Drs. Edy Prasetya
3. Ganet Eko Pramukantoro, S.Farm, M.Si., Apt
4. Vivin Nopiyanti, M.Sc., Apt


.....
.....
.....
.....

PERSEMBAHAN

“Perjuangan Merupakan Pengalaman Berharga yang Dapat Menjadikan Kita
manusia yang Berkualitas”

Yang Utama Dari Segalanya....

Sembah sujud serta syukur kepada Allah SWT. Taburan cinta dan kasih sayang-Mu telah memberikanku kekuatan, membekaliku dengan ilmu serta memperkenalkanku dengan cinta. Atas karunia serta kemudahan yang Engkau berikan akhirnya skripsi yang sederhana ini dapat saya selesaikan. Sholawat dan salam selalu terlimpahkan keharibaan Rosullah Muhammad SAW.

Karya kecil ini kupersembahkan untuk :

Bapak dan ibuk saya, yang telah memberikan dukungan moril maupun materi serta do'a yang tiada henti untuk kesuksesan saya. Karena tiada kata seindah lantunan do'a dan tiada do'a paling khusuk selain do'a yang terucap dari orang tua.

Adek dan kakak tercinta yang senantiasa memberikan dukungan, semangat, senyum dan do'anya untuk keberhasilan ini, cinta kalian adalah memberikan kobaran semangat yang menggebu, terimakasih dan sayang ku untuk kalian.

Teman-teman yang telah banyak membantu.

Almamaterku, USB.

Semua pihak yang membantuku yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu.

Semua ini merupakan anugrah dan pengalaman terindah yang tak dapat terlupakan.

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah 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 dalam daftar pustaka.

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

Surakarta, Juni 2017

Tanda tangan



Rina Setya Ningsih

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa atas kemurahan dan cinta kasih-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan menyusun skripsi yang berjudul **“UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI MINYAK ATSIRI RIMPANG BANGLE (*Zingiber cassumunar* R.) dan BIJI PALA (*Myristica fragrans* H.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923”**. Skripsi ini disusun untuk memenuhi persyaratan guna mencapai gelar Sarjana Farmasi (S.Farm) dalam ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta.

Penelitian dan penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, maka dengan ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Dr. Ir. Djohny 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.
3. Vivin Nopiyanti, M. Sc., Apt, selaku pembimbing utama dan Ismi Rahmawati, M, Si., Apt, selaku pembimbing pendamping yang telah berkenan memberikan waktunya guna membimbing, memberi nasehat, dan memberikan ilmunya sehingga terselesainya skripsi ini.
4. Tim penguji yang telah bersedia menyediakan waktu untuk menguji dan memberikan masukan untuk penyempurnaan skripsi ini.
5. Segenap Dosen, Asisten Dosen, Seluruh Staf Perpustakaan dan Staf Laboratorium Universitas Setia Budi yang telah banyak membantu demi kelancaran dan sempurnanya skripsi ini.
6. Bapak, ibu, adik, kakak dan keluarga besar ku terimakasih untuk kasih sayang, dukungan, do'a dan semangat yang kalian berikan.
7. Teman satu tim skripsiki ku (wulan dan yanti) terimakasih atas bantuan dan kerjasamanya.
8. Sahabat-sahabat ku kost Beta (kak tiara, kak dila, kak febr, ica, ipik, pita, fitri, amel, cika dll) terima kasih untuk semangat dan doa yang kalian beri.

9. Teman-teman ku angkatan 2013 khususnya teori 4.
10. Segenap pihak yang tidak bisa disebutkan satu demi satu telah membantu penulisan ini dapat terselesaikan.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan saran dan kritik yang bersifat membangun untuk memperbaiki skripsi ini. Akhir kata penulis berharap semoga Allah SWT melimpahkan rahmat serta hidayah-Nya atas segala bantuan yang telah diberikan, dan mudah-mudahan skripsi ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu farmasi dan almamater tercinta.

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 Masalah.....	1
B. Perumusan Masalah	3
C. Tujuan Masalah.....	4
D. Kegunaan Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
A. Tanaman Bangle.....	5
1. Sistematika Tanaman Rimpang Bangle (<i>Zingiber cassumunar</i> R.).....	5
2. Nama Daerah	5
3. Morfologi Tanaman.....	5
4. Kandungan Kimia.....	6
5. Penggunaan	6
B. Tanaman Biji Pala	7
1. Sistematika Biji Pala (<i>Myristica fragrans</i> Houtt)	7
2. Nama Daerah	7
3. Morfologi.....	8
4. Kandungan kimia	8
5. Penggunaan	8

C.	Minyak Atsiri	9
1.	Pengertian minyak atsiri	9
2.	Sifat minyak atsiri	9
3.	Isolasi Minyak Atsiri	10
3.1.	Destilasi dengan air (<i>Water Distillation</i>).....	10
3.2.	Destilasi dengan air dan uap (<i>Water and Steam Distillation</i>).....	11
3.3.	Destilasi dengan uap (<i>Steam Distillation</i>).....	11
D.	Simplisia 11	
1.	Pengertian Simplisia.....	11
2.	Pemilihan Simplisia.....	12
E.	Penyulingan.....	12
F.	<i>Staphylococcus aureus</i>	12
1.	Sistematika	12
2.	Morfologi.....	13
3.	Patogenesis	14
G.	Antibakteri.....	14
H.	Antiseptik	14
I.	Media 15	
J.	Sterilisasi 16	
K.	Efek Kombinasi Obat	16
1.	Aditif	17
2.	Antagonis.....	17
3.	Sinergisme	17
L.	Metode Difusi	17
M.	Landasan Teori.....	17
N.	Hipotesis.....	20
BAB III METODE PENELITIAN		21
A.	Populasi dan Sampel	21
1.	Populasi	21
2.	Sampel	21
B.	Variabel Penelitian	21
1.	Identifikasi variabel utama	21
2.	Klasifikasi variabel utama	21
3.	Definisi operasional variabel utama	22
C.	Alat dan Bahan	23
1.	Alat	23
2.	Bahan.....	23
D.	Jalannya Penelitian.....	24
1.	Identifikasi/determinasi tanaman	24
2.	Pengambilan Bahan	24
3.	Isolasi minyak atsiri.....	24
4.	Analisa minyak atsiri.....	25

4.1. Pengamatan organoleptik	25
4.2. Identifikasi minyak atsiri	25
4.3. Penetapan indeks bias minyak atsiri	25
4.4. Penetapan bobot jenis minyak atsiri	25
4.5. Penetapan kelarutan dalam alkohol	26
4.6. Karakterisasi komponen senyawa penyusun minyak atsiri dengan <i>Gas Chromatography - Mass Spectrometry</i> (GC- MS).	26
5. Sterilisasi	26
6. Pembuatan suspensi bakteri uji <i>Staphylococcus aureus</i>	27
7. Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	27
7.1. Identifikasi berdasarkan koloni	27
7.2. Identifikasi mikroskopis secara morfologi	27
7.3. Identifikasi fisiologi <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	27
8. Pembuatan larutan uji	28
9. Pembuatan kombinasi bahan uji	28
10. Pengujian aktivitas antibakteri	28
E. Analisis Hasil	29
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	34
A. Hasil Penelitian	34
1. Identifikasi tanaman	34
2. Pengambilan bahan.....	34
3. Hasil isolasi minyak atsiri rimpang bangle dan biji pala.....	34
4. Analisis minyak atsiri	35
4.1 Pengamatan organoleptik minyak atsiri.	35
4.2 Identifikasi minyak atsiri.	36
4.3 Hasil pemeriksaan indeks bias minyak atsiri rimpang bangle dan biji pala	36
4.4 Hasil penetapan bobot jenis.	37
4.5 Penetapan kelarutan dalam alcohol.....	37
4.6 Karakterisasi komponen senyawa penyusun minyak atsiri dengan <i>Gas Chromatography-Mass Spectrometry</i> (GC-MS).	37
5. Pembuatan suspensi bakteri uji	39
6. Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 berdasarkan koloni	40
7. Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 berdasarkan mikroskopis	40
8. Hasil Identifikasi fisiologi <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	41
8.1 Identifikasi fisiologi-koagulase.....	41
8.2 Identifikasi fisiologi-koagulase.....	41

9. Hasil pengujian aktivitas antibakteri minyak atsiri rimpang bangle dan biji pala secara difusi	41
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	46
A. Kesimpulan	46
B. Saran 46	
DAFTAR PUSTAKA	47
LAMPIRAN.....	53

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Tanaman Rimpang Bangle (<i>Zingiber cassumunar</i> R.).....	5
Gambar 2. Tanamn Biji pala (<i>Myristica fragrans</i> H.)	7
Gambar 3. Bentuk koloni <i>Staphylococcus aureus</i>	13
Gambar 4. Skema isolasi minyak atsiri rimpang bangle.....	30
Gambar 5. Skema isolasi minyak atsiri Biji pala	31
Gambar 6. Skema pembuatan suspensi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	32
Gambar 7. Skema pengujian aktivitas antibakteri secara difusi	33

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Kadar minyak rimpang bangle	34
Tabel 2. Kadar minyak atsiri biji pala	35
Tabel 3. Hasil pemeriksaan organoleptik minyak atsiri rimpang bangle	35
Tabel 4. Hasil pemeriksaan organoleptik minyak atsiri biji pala	35
Tabel 5. Identifikasi minyak atsiri rimpang bangle	36
Tabel 6. Identifikasi minyak atsiri biji pala	36
Tabel 7. Indeks bias minyak atsiri	36
Tabel 8. Hasil analisis komponen utama minyak atsiri rimpang bangle dengan GC-MS	38
Tabel 9. Hasil analisis komponen utama minyak atsiri biji pala dengan GC-MS	38
Tabel 10. Diemeter hambat tunggal dan kombinasi pada konsentrasi 50%	42
Tabel 11. Diemeter hambat tunggal dan kombinasi pada konsentrasi 25%	42
Tabel 12. Diemeter hambat tunggal dan kombinasi pada konsentrasi 12,5%	42

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Surat Keterangan Identifikasi Rimpang Bangle Dan Biji Pala	54
Lampiran 2. Gambar rimpang bangle dan biji pala	55
Lampiran 3. Gambar minyak atsiri rimpang bangle, biji pala dan alat.....	56
Lampiran 4. Alat sterilisasi	57
Lampiran 5. Bahan uji antibakteri.....	58
Lampiran 6. Gambar hasil pemeriksaan identifikasi minyak atsiri rimpang bangle dan biji pala menggunakan kertas saring dan kelarutan dalam alkohol 70%	61
Lampiran 7. Gambar hasil pemeriksaan indeks bias minyak atsiri rimpang bangle dan biji pala pada suhu 27,5°C.....	62
Lampiran 8. Gambar identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	63
Lampiran 9. Perhitungan hasil prosentase rendemen minyak atsiri rimpang bangle dan biji pala.....	64
Lampiran 10. Hasil perhitungan indeks bias minyak atsiri.....	65
Lampiran 11. Perhitungan hasil bobot jenis minyak atsiri rimpang bangle.....	66
Lampiran 12. Hasil analisis GCMS minyak atsiri	69
Lampiran 13. Gambar dan hasil Diameter daya hambat tunggal dan kombinasi dari uji difusi minyak atsiri.....	76
Lampiran 14. Diameter daya hambat tunggal dan kombinasi dari uji difusi minyak atsiri	79
Lampiran 15. Hasil analisis dengan SPSS	85
Lampiran 16. Perhitungan pengenceran konsentrasi minyak atsiri rimpang bangle dan biji pala.....	89
Lampiran 17. Komposisi media	90

INTISARI

NINGSIH, RS., 2017. UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI MINYAK ATSIRI RIMPANG BANGLE (*Zingiber cassumunar R.*) dan BIJI PALA (*Myristica fragrans H.*) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan flora normal pada tubuh. Tanaman rimpang bangle (*Zingiber cassumunar R.*) dan biji pala (*Myristica fragrans H.*) dimanfaatkan masyarakat untuk pengobatan berbagai penyakit. Minyak atsiri rimpang bangle mengandung senyawa sabinene, terpinen-4-ol, seskuioterpen, sineol. Minyak atsiri biji pala mengandung senyawa fenolik dan terpenoid yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui minyak atsiri rimpang bangle dan biji pala atau kombinasi dari keduanya yang memiliki aktivitas paling efektif terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan metode difusi yang menggunakan konsentrasi 50%; 25%; 12,5% dengan perbandingan kombinasi yaitu 1:1; 1:2; 2:1; 1:3; 3:1. Data dari penelitian kemudian diolah menggunakan analisis statistik Analisis of Varian (ANOVA) dengan metode two-way, sehingga didapatkan hasil signifikansi dari data tersebut.

Hasil penelitian dengan metode difusi menunjukkan bahwa minyak atsiri rimpang bangle dan biji pala mempunyai aktivitas antibakteri pada *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa kombinasi minyak atsiri rimpang bangle dan biji pala mempunyai aktivitas lebih besar dibandingkan bentuk tunggal yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan perbandingan konsentrasi 3:1 dengan diameter hambat $24,47 \pm 0,5033$. Kandungan senyawa aktif yang memiliki aktivitas antibakterial dari minyak atsiri rimpang bangle adalah 4-terpineol (70,96%) dan minyak atsiri biji pala adalah sabinene (6,62%).

Kata Kunci : *Staphylococcus aureus*, antibakteri, minyak atsiri, *Zingiber cassumunar R.*, *Myristica fragrans H.*

ABSTRACT

NINGSIH, RS., 2017. COMBINATION ANTIBACTERIAL ACTIVITIES ESSENTIAL OIL Bangle rhizome (*Zingiber cassumunar* R.) and Nutmeg Seed (*Myristica fragrans* H.) TEST AGAINST *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, Thesis, FACULTY OF PHARMACY, UNIVERSITY OF SETIA BUDI, SURAKARTA.

Staphylococcus aureus is a normal flora of the body. Bangle rhizome plants (*Zingiber cassumunar* R.) and nutmeg seed (*Myristica fragrans* H.) are used for the treatment of various diseases. Essential oil of bangle rhizome contains sabinene compound, terpinen-4-ol, sesquiterpen, sineol. Essential oil of nutmeg seed contains phenolic and terpenoid compounds that can inhibit bacterial growth. This study aims to determine the essential oil of rhizome bangle and nutmeg or a combination of both which have the most effective activity against *Staphylococcus aureus* ATCC 259923.

The method in this study using diffusion method concentration 50%; 25%; 12.5% with a combination of 1: 1; 1: 2; 2: 1; 1: 3; 3: 1 Data from the study was processed using statistical analysis Analysis of Variance (ANOVA) with the method of two-way the significance of the results obtained from these data.

The result of research with diffusion method showed that the essential oil of rhizome bangle and nutmeg seed have antibacterial activity on *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Based on the research result it can be concluded that the combination of essential oil of rhizome bangle and nutmeg seed has greater activity than single form which has activity as antibacterial to *Staphylococcus aureus* bacteria with a ratio of 3: 1 concentration with a resistor diameter of $24.47 \pm 0,5033$. The content of active compound which has antibacterial activity of the essential oil of rhizome bangle is 4-terpineol (70,96%) and essential oil of nutmeg seed is sabinene (6,62%).

Keywords: *Staphylococcus aureus*, antibacterial, essential oils, *Zingiber cassumunar* R., *Myristica fragrans* H.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Manusia hidup di alam selalu terpapar oleh mikroorganisme seperti bakteri, virus, fungi, dan parasit. Bakteri merupakan mikroorganisme uniseluler yang banyak terdapat di alam bahkan flora normal dalam tubuh manusia yang terdapat di beberapa bagian tubuh yang salah satunya adalah bakteri *Staphylococcus aureus* (Jawet *et al.* 2005). *Staphylococcus aureus* merupakan flora normal pada saluran pernafasan, kulit dan saluran cerna (Jawet *et al.* 2005). *Staphylococcus aureus* adalah bakteri Gram positif yang dapat mengakibatkan infeksi pada kulit atau luka pada organ tubuh jika bakteri ini mengalahkan mekanisme pertahanan tubuh. Saat bakteri masuk keperedaran darah, bakteri dapat menyebar ke organ lain dan menyebabkan infeksi (Anwar 2009).

Kulit sangat rentan terkena infeksi ataupun penyakit kulit lain yang salah satunya disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* (Ginanjari *et al.* 2010). Kulit juga merupakan organ terbesar dalam tubuh yang bagiannya lebih dari 10% massa tubuh dan sangat memungkinkan akan sering berinteraksi dengan lingkungan sekitarnya (Gibson 1957). Penyebab bakteri *Staphylococcus aureus* paling sering ditularkan dari tangan ketangan (WHO 2013).

Antiseptik merupakan bahan kimia yang dapat menghambat atau membunuh pertumbuhan jasad renik seperti bakteri, jamur dan lain-lain pada jaringan hidup (Subronto & Tjahajati 2001). Antiseptik mempunyai efek kerja cepat pada bahan organik, seperti cairan tubuh dan efektif pada semua macam mikroorganisme tanpa menghancurkan ataupun merusak jaringan. beberapa contoh penyebab infeksi yaitu bakteri *Staphylococcus aureus* yang dapat menyebabkan infeksi pada kulit (Wahyu 2006).

Zingiber cassumunar R. merupakan salah satu tanaman yang berasal dari familia Zingiberaceae yang mempunyai minyak atsiri cukup pada rimpangnya. Rimpang bangle memiliki kandungan senyawa minyak atsiri sebanyak 0,95% (Bhuiyan *et al.* 2008). Kandungan kimia yang terkandung dalam minyak atsiri

rimpang bangle yaitu 4-terpinol (42,5%), β -pinen (23,41%), γ -terpinene (62,28%) dan β -sesquiphellandrene (5,92%) dan berdasarkan penelitian (Kamazerin *et al.* 2003) memiliki komponen penyusun seperti zerumbon (60,77 %), kariofilena (6,44 %) dan α -kariofilena (23,92 %). Minyak atsiri rimpang bangle diketahui memiliki aktivitas antibakteri karena adanya kandungan senyawa 4-terpinol (Merliani 2012). Hasil uji berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan Sayuti *et al.* (2014) bahwa kombinasi minyak atsiri lempuyang wangi dan rimpang bangle terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* didapat hasil diameter daya hambat sebesar $19,67 \pm 0,20$. Berdasarkan uji antibakteri *Staphylococcus aureus* yang dilakukan (Angraini 2015) kombinasi minyak atsiri bangle dan jahe merah didapat hasil diameter daya hambat sebesar $15,47 \pm 0,27$.

Pala (*Myristica fragans* Houtt) merupakan tanaman asli Indonesia, karena tanaman ini berasal dari Banda dan Maluku, yang kemudian menyebar ke pulau-pulau lain sekitarnya, termasuk pulau Jawa. Tanaman pala terkenal karena biji buahnya yang tergolong sebagai rempah-rempah. (Rismunandar 1990). Biji pala mengandung minyak atsiri 0,5-1,7% (Hidayati dkk 2015). Kandungan komponen senyawa yang terkandung pada minyak atsiri biji pala yaitu monoterpen seperti α -pinene, camphene, β -pinene, sabinene, myrcene, α -phellandrene, α -terpinene, limonene, 1,8-cineole, γ -terpinene, linalool, terpinen-4-ol, safrole, metil eugenol dan myristicin (Gupta 2008). Takikawa *et al.* 2002 melaporkan bahwa minyak atsiri biji pala mempunyai aktivitas antimikroba terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan Rachmi *et al.* (2014) memperlihatkan bahwa kandungan senyawa fenolik dan terpenoid dalam biji pala dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Penelitian yang dilakukan (Gupta 2008) minyak atsiri biji pala memiliki aktivitas terhadap *Staphylococcus aureus* dengan diameter daya hambat 14 mm.

Minyak atsiri dikenal dengan istilah minyak mudah menguap merupakan senyawa yang umumnya berwujud cair, diperoleh dari bagian tanaman akar, kulit, batang, daun, buah, biji, maupun dari bunga dengan cara penyulingan. Minyak atsiri diperoleh secara destilasi (Sastrohamidjojo 2004). Minyak atsiri juga mempunyai sifat toksik dalam pengobatan dan mampu menghambat pertumbuhan

bakteri dengan mengganggu proses terbentuknya membran atau dinding sel sehingga tidak terbentuk atau terbentuk tidak sempurna (Triphati *et al.* 2013). Komponen minyak atsiri yang mengandung gugus fenol seperti carvacrol berpotensi sebagai antibakteri dan aktivitas antibakteri minyak atsiri dipengaruhi oleh komposisi dan konsentrasi minyak atsiri serta jumlah dan jenis bakteri (Yuksel *et al.*, 2006).

Penggunaan kombinasi obat ialah campuran dua atau lebih obat dalam satu formulasi, penggunaan dua obat yang berbeda secara bersama-sama dapat memberikan interaksi yakni dapat memperlihatkan kerja berlawanan (antagonis), sehingga efeknya lemah dan interaksi yang satunya dapat memperlihatkan kerja sama yang baik antara kedua obat (sinergisme) sehingga efeknya saling menguatkan (Tjay & Rahardja 2007).

Berdasarkan uraian tersebut, penelitian kombinasi antibakteri senyawa minyak atsiri rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* R.) dan minyak atsiri biji pala (*Myristica fragrans* H.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan untuk mengetahui manakah dari kombinasi atau bahan tunggal yang paling optimal membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan menggunakan metode difusi.

B. Perumusan Masalah

Permasalahan dalam penelitian ini adalah :

1. Apakah minyak atsiri rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* R.) dan biji pala (*Myristica fragrans* H.) dan kombinasinya memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ?
2. Manakah dari minyak atsiri rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* R.) dan biji pala (*Myristica fragrans* H.) atau kombinasi dari keduanya yang memiliki aktivitas paling optimal terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ?

C. Tujuan Masalah

1. Mengetahui minyak atsiri rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* R.) dan biji pala (*Myristica fragrans* H.) dan kombinasi dari keduanya memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
2. Mengetahui dari minyak atsiri rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* R.) dan biji pala (*Myristica fragrans* H.) atau kombinasi dari keduanya yang memiliki aktivitas paling optimal terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 259923.

D. Kegunaan Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi bukti ilmiah tentang manfaat kombinasi minyak atsiri rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* R.), biji pala (*Myristica fragrans* H.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Sebagai salah satu alternatif dalam pengobatan antibakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, serta memberikan informasi kepada masyarakat umum tentang manfaat kombinasi minyak atsiri rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* R.), biji pala (*Myristica fragrans* H.) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Bangle

1. Sistematika Tanaman Rimpang Bangle (*Zingiber cassumunar* R.)

Devisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledoneae
Bangsa	: Zingiberales
Suku	: <i>Zingiberaceae</i>
Marga	: <i>Zingiber</i>
Spesies	: <i>Zingiber purpureum</i> Roxb
Sinonim	: <i>Zingiber cassumunar</i> Roxb. (Herbie 2012).



Gambar 1. Tanaman Rimpang Bangle (*Zingiber cassumunar* R.)

2. Nama Daerah

Panglai (Sunda), bangle (Jawa), pandiyang (Madura), manglai (Sulawesi), bale (Makasar), bangalai (Kalimantan), mungle (Aceh), banglai (Palembang), bunglai, bangle, kunyit bolai (Melayu), banggele (Bali), unin pakei (Ambon), bangle (Ternate, Tidore) (Syukur *et al.* 2001).

3. Morfologi Tanaman

Rimpang bangle merupakan tanaman herba semusim, tumbuh tegak, tinggi 1-1,5 m, membentuk rumpun yang agak padat, berbatang semu, terdiri dari pelepah daun yang dipinggir ujungnya berambut sikat. Daun tunggal, letak

berseling. Helaiian daun lonjong, tipis, ujung runcing, pangkal tumpul, tepi rata, berambut halus, pertulangan menyirip, panjang 23-35 cm, lebar 20-40 mm, warnanya hijau. Bagian yang mengandung bunga berbentuk tandan, bentuk bundar telur atau seperti gelendong, panjang 6-10 cm, lebar 4-5 cm. Daun kelopak tersusun seperti sisik tebal. Kelopak seperti tabung, ujungnya bergerigi 3, warna merah menyala. Bibir bunga bentuknya bundar memanjang, warnanya putih atau pucat.

Bangle mempunyai rimpang yang menjalar dan berdaging, bentuknya hampir bundar sampai lonjong atau tidak beraturan, tebal 2-5 mm. Permukaan luar tidak rata, berkerut, warnanya coklat muda kekuningan, bila dibelah berwarna kuning muda sampai kuning kecoklatan. Rasanya tidak enak, pedas dan pahit (Herbie 2012).

4. Kandungan Kimia

Rimpang bangle mengandung minyak atsiri yang memiliki komponen utama 4-terpinol (42,5%), β -pinen (23,41%), γ -terpinene (62,28%) dan β -sesquiphellandrene (5,92%) dan berdasarkan penelitian (Kamazerin *et al.* 2003) memiliki komponen penyusun seperti zerumbon (60,77 %), kariofilena (6,44 %) dan α -kariofilena (23,92 %). Zerumbon yang terkandung dalam minyak atsiri rimpang bangle merupakan salah satu senyawa seskuiterpen. Senyawa bioaktif ini mempunyai struktur yang unik dengan adanya keton dalam 11 rantai karbon. Senyawa dengan struktur unik ini dapat digunakan sebagai agen antimikroba yang mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan mikroba (Yamamoto *et al.* 2001). Minyak atsiri dari rimpang bangle teruji secara *in vitro* dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan Gram negatif. Penelitian yang dilakukan oleh (Bhuiyan *et al.* 2008) menunjukkan bahwa rimpang bangle menghasilkan 0,95% minyak atsiri dengan salah satu komponen utamanya 4-terpineol. Senyawa 4-terpineol yang terkandung dalam minyak atsiri rimpang bangle diduga merupakan senyawa aktif antibakteri (Marliani 2012).

5. Penggunaan

Bangle mempunyai beberapa khasiat pengobatan dan kegunaan lain. Bagian dari tanaman bangle yang sering digunakan dalam pengobatan adalah

rimpangnya. Kandungan rimpang bangle dapat digunakan sebagai pemanas dan untuk membesihkan udara busuk dari perut. Rimpang bangle juga mempunyai efek sebagai insektisidal, antioksidan, antiinflamatori, antelmintik dan antibakteri (Gunardi *et al.* 2001). Minyak atsiri rimpang bangle diketahui memiliki aktivitas antibakteri karena adanya kandungan senyawa 4-terpinol (Merliani 2012).

B. Tanaman Biji Pala

1. Sistematika Biji Pala (*Myristica fragrans* Houtt)

Taksonomi tumbuhan pala diklasifikasikan sebagai berikut (Herbie 2012).

Devisi	: Spermatophyta
Subdevisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Bangsa	: Magnoliales
Suku	: Myristiceae
Marga	: Myristica
Spesies	: <i>Myristica fragrans</i> Houtt.



Gambar 2. Tanamn Biji pala (*Myristica fragrans* Houtt)

2. Nama Daerah

Pala (Melayu); Falo (Nias); paala (Madura); Kapala (Bima); Bubula (Roti); Pal (Timor); Pala (Makasar); Pala (Bugis); Pahalo (Ambon); Gosora (Ternate) (Herbie 2012).

3. Morfologi

Tanaman ini jika pertumbuhannya baik dan tumbuh dilingkungan terbuka, tajuknya akan rindang dan ketinggiannya dapat mencapai 15-18 meter. Tajuk pohon ini bentuknya meruncing keatas dan puncak tajuknya tumpul. Daunnya berwarna hijau mengkilap dengan ukuran 10-15 cm dan panjang tangkai daun sekitar 1-1,5 cm. Buahnya berbentuk bulat, berwarna kuning, jika sudah masak secara otomatis akan terbelah menjadi dua bagian karena mempunyai alur pembelahan seperti buah durian. Garis tengah atau diameter buah jika sudah tua mencapai sekitar 9 cm. Daging buah tebal dan rasanya asam. Biji buah berbentuk agak bulat dengan diameter sekitar 2,5 cm. Kulit biji berwarna coklat agak kehitam-hitaman dan mengkilat. Selaput biji atau sering disebut fuli atau bunga pala berwarna merah menyala atau merah agak gelap tetapi ada juga yang berwarna putih kekuning-kuningan. Sedangkan kernel (endosperm) biji berwarna putih keabu-abuan (Hatta Sunanta 1993).

4. Kandungan kimia

Biji pala memiliki aktivitas yang serupa dengan dringo dan parsley, karena minyak atsiri pala ini mengandung senyawa elemisin, miristisin, dan safrol yang memiliki struktur molekul yang mirip dengan asaron dan apiol . Minyak atsiri biji pala dalam kadar 10% berisi miristin (yang bersifat membius) sekitar 4%, pinen, 80% kamfer, 8% dipente, safrol 0,6 %, egenol, ko-egenol dan alcohol 6% (Agusta 2000) dan berdasarkan penelitian (Gupta 2008) minyak atsiri biji pala mengandung monoterpen seperti α -pinene, camphene, β -pinene, sabinene, myrcene, α -phellandrene, α -terpinene, limonene, 1,8-cineole, γ -terpinene, linalool, terpinen-4-ol, safrole, metil eugenol dan myristicin serta menunjukkan aktivitas antibakteri yang baik. Kandungan senyawa fenolik dan terpenoid dalam biji pala diduga dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Rachmi *et al.* 2014).

5. Penggunaan

Biji pala Selain sebagai rempah-rempah, biji pala juga berfungsi sebagai salah satu penghasil minyak atsiri yang sering dimanfaatkan sebagai aromaterapi, obat tradisional sebagai obat sakit perut, diare dan bronkhitis dan dalam industri parfum (Nurdjannah 2007). Biji pala juga diketahui memiliki aktivitas bakterisida

karena adanya kandungan senyawa miristin, hidrokarbon terpen, dan turunan fenilpropan (Kusumaningrum *et al.* 2003). Menurut penelitian (Gupta 2008) minyak atsiri biji pala dapat menghambat bakteri Gram positif yaitu *Staphylococcus aureus* dengan daya hambat sebesar 14 mm.

C. Minyak Atsiri

1. Pengertian minyak atsiri

Minyak atsiri, atau dikenal juga sebagai minyak eteris (aetheric oil), minyak esensial, minyak terbang, serta minyak aromatik, adalah kelompok besar minyak nabati yang berwujud cairan kental pada suhu ruang, namun mudah menguap sehingga memberikan aroma yang khas. Minyak atsiri merupakan bahan dasar dari wangi-wangian atau minyak gosok (untuk pengobatan) alami (Robbers *et al.* 1996).

Secara kimia minyak atsiri bukan merupakan senyawa tunggal, tetapi tersusun dari berbagai macam komponen yang secara garis besar terdiri dari kelompok terpenoid dan fenilpropanoid (Padmawinata 1987). Senyawa terpenoid dibangun dari unit isoprena yang dibentuk dari asam asetat melalui jalur asam mevalonat dan rantai samping sehingga membentuk C₅ yang memiliki dua ikatan ganda sedangkan fenilpropanoid terbentuk dari asam amino melalui jalur biosintesis asam sikimat (Agusta 2000).

2. Sifat minyak atsiri

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

Minyak atsiri berupa cairan jernih tidak berwarna, dalam penyimpanan lama akan mengental dan berwarna kekuningan atau kecoklatan. Hal tersebut terjadi karena adanya pengaruh oksidasi dan resinifikasi (berubah menjadi damar dan resin). Untuk mencegah atau memperlambat proses oksidasi dan resinifikasi tersebut, minyak atsiri harus terlindung dari pengaruh sinar matahari yang dapat merangsang terjadinya oksidasi dan oksigen udara yang akan mengoksidasi minyak atsiri. Minyak atsiri tersebut 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).

3. Isolasi Minyak Atsiri

Proses isolasi minyak atsiri adalah proses pemisahan minyak atsiri dari tanaman aromatik. Proses ini meliputi penanganan produk yang bersifat padat dan persiapan bahan dengan menjaga agar keadaan bahan cukup baik sehingga minyak atsiri yang dihasilkan dapat dijamin mutunya (Ketaren 1987).

Minyak atsiri dapat diisolasi dengan metode destilasi. Destilasi adalah suatu proses yang terdiri atas beberapa tahap yang mengubah suatu senyawa menjadi bentuk uapnya, mengkondensasikan uap yang terbentuk menjadi cair kembali dan menampung hasil kondensasi ke dalam suatu penampung (Kristanti 2006). Prinsip destilasi adalah pemisahan komponen yang berupa cairan atau padatan dari dua macam campuran atau lebih berdasarkan perbedaan titik didih. Pengambilan minyak atsiri dengan penyulingan dipengaruhi oleh tiga faktor yaitu: besarnya tekanan uap yang digunakan, bobot molekul masing-masing komponen dalam minyak atsiri dan kecepatan keluarnya minyak atsiri dari simplisia (Ketaren 1987).

Menurut Ketaren (1987) metode destilasi minyak atsiri ada tiga macam yaitu :

3.1. Destilasi dengan air (*Water Distillation*). Metode destilasi dengan air (hidrodestilasi), bahan yang akan didestilasi dikontak langsung dengan air mendidih. Bahan tersebut mengapung di atas air atau terendam secara sempurna,

tergantung dari berat jenis dan jumlah bahan yang didestilasi. Peristiwa pokok yang terjadi pada proses hidrodestilasi yaitu: difusi minyak atsiri dan air panas melalui membran tanaman, hidrolisa terhadap beberapa komponen minyak atsiri dan dekomposisi yang disebabkan oleh panas. Kecepatan penguapan minyak atsiri dalam proses hidrodestilasi bahan tidak dipengaruhi oleh sifat mudah menguapnya komponen-komponen minyak atsiri, melainkan lebih banyak oleh derajat kelarutannya dalam air.

3.2. Destilasi dengan air dan uap (*Water and Steam Distillation*).

Metode destilasi air dan uap, bahan diletakkan di atas saringan berlubang. Ketel suling diisi dengan air sampai permukaan air berada tidak jauh di bawah saringan. Air dapat dipanaskan dengan berbagai cara yaitu dengan uap jenuh yang basah dan bertekanan rendah. Ciri khas metode ini adalah uap selalu dalam keadaan basah, jenuh dan tidak terlalu panas.

3.3. Destilasi dengan uap (*Steam Distillation*). Metode ini pada prinsipnya sama dengan destilasi dengan air dan uap kecuali air tidak diisikan dalam labu. Uap yang digunakan uap jenuh atau kelewat panas pada tekanan lebih dari pada 1 atmosfer. Uap dialihkan melalui pipa uap berlingkar yang berpori yang terletak dibawah bahan dan uap bergerak ke atas melalui bahan yang terletak di atas saringan.

D. Simplisia

1. Pengertian Simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga, kecuali dinyatakan lain berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia memiliki tiga jenis yaitu simplisia nabati, hewani, dan mineral. Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh, bagian dari hewan, atau zat-zat yang berguna yang dihasilkan dari hewan dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia mineral adalah simplisia yang berupa bahan mineral yang belum diolah atau diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni. Eksudat tanaman adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau isi sel dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya (Gunawan & Mulyani 2004).

2. 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 dapat merugikan. Simplisia nabati harus bebas dari serangga, fragmen hewan atau kotoran hewan, tidak boleh menyimpang bau dan warna, tidak boleh mengandung lendir dan cendawan atau menunjukkan tanda-tanda pengotor lain, tidak boleh mengandung bahan yang beracun atau berbahaya (Depkes 1985).

E. Penyulingan

Umumnya minyak atsiri diisolasi dengan menggunakan empat metode. Pertama, metode destilasi/penyulingan terhadap tanaman yang mengandung minyak atsiri. Metode ini memanfaatkan perbedaan titik didih. Kedua, metode penyarian dengan menggunakan pelarut penyari yang cocok. Dasar metode ini adalah adanya perbedaan kelarutan. Minyak atsiri mudah sekali larut dalam pelarut organik tetapi tidak dapat larut di dalam air. Ketiga, metode pengepresan dan pemerasan. Metode ini hanya dapat dilakukan untuk simplisian yang banyak mengandung minyak atsiri dengan kadar yang cukup besar. Metode yang keempat, metode perlekatan bau dengan menggunakan media lilin. Metode ini memanfaatkan aktivitas enzim yang terus aktif selama kurang lebih 15 hari dihitung sejak bahan minyak atsiri dipanen (Gunawan & Mulyani 2014).

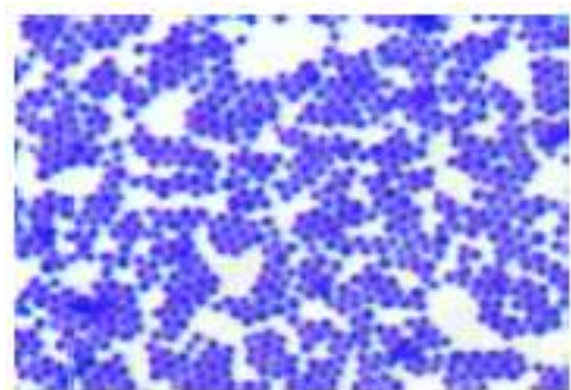
F. *Staphylococcus aureus*

1. Sistematika

Menurut Garrity *et al.* (2007), sistematika ilmiah bakteri *staphylococcus aureus* sebagai berikut:

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Firmicutes
Class	: Bacilli
Order	: Bacillales
Family	: Staphylococcaceae

Genus : *Staphylococcus*
Spesies : *Staphylococcus aureus*



Gambar 3. Bentuk koloni *Staphylococcus aureus*

2. Morfologi

Staphylococcus aureus merupakan bakteri bersifat Gram positif, biasanya tersusun dalam rangkaian tidak beraturan seperti buah anggur. Beberapa di antaranya tergolong flora normal pada kulit dan selaput mukosa manusia, menyebabkan penanahan, abses, berbagai infeksi pirogen dan bahkan septikimia yang fatal. *Staphylococcus aureus* adalah bakteri berbentuk bulat dengan diameter kira-kira 0,7-1,2 μm dan biasanya hidup bergerombol seperti buah anggur. *Staphylococcus aureus* mudah tumbuh dalam keadaan aerob maupun mikronaerob pada suhu optimum 37 °C. Koloni dalam medium padat berbentuk padat, menonjol, dan berkilau. *Staphylococcus aureus* membentuk pigmen berwarna kuning emas (Jawetz *et al.* 2007).

Staphylococcus aureus dapat meragikan banyak karbohidrat dengan lambat, menghasilkan asam laktat tetapi tidak menghasilkan gas. Aktivitas proteolitik sangat bervariasi, tetapi katalase dihasilkan secara tetap. *Staphylococcus aureus* relatif resisten terhadap pengeringan, terhadap panas (bakteri ini tahan 50 °C selama 30 menit). *Staphylococcus aureus* berbeda-beda kepekaanya terhadap sulfonamide dan antibiotika, dan mutan yang resisten terhadap obat ditemukan pada kebanyakan strain. Banyak strain resisten terhadap penisilin karena membentuk penisilinase beta-laktamase, suatu enzim yang merusak penisilin dengan mencegah cincin beta-laktamase. Pembentukan diatur

oleh plasmid yang dapat dipindahkan oleh bakteriofage (transduksi). Plasmid juga membawa kontrol genetik resistensi terhadap antibiotika lainnya, misalnya tetrasiklin dan eritromisin (Jawtez *et al.* 1986).

3. Patogenesis

Staphylococcus aureus merupakan penyebab utama infeksi nosokomial dan menjadi masalah yang berkepanjangan di bidang klinik. Infeksi nosokomial yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* tetap menjadi masalah dalam bidang kesehatan (Radji 2011).

Staphylococcus aureus menyebabkan berbagai jenis infeksi pada manusia, antara lain infeksi pada kulit, seperti bisul dan furunkulosis, infeksi yang lebih serius, seperti pneumonia, mastitis, flebitis, meningitis, dan infeksi pada saluran urin. *Staphylococcus aureus* juga merupakan penyebab infeksi nosokomial akibat luka tindakan operasi dan pemakaian alat-alat perlengkapan perawatan di rumah sakit (Radji 2011).

G. Antibakteri

Antibakteri adalah suatu zat atau senyawa yang dapat menekan atau menghambat pertumbuhan bakteri. Senyawa atau zat digunakan untuk memusnahkan bakteri penyebab infeksi pada manusia, harus memiliki sifat toksisitas selektif. Antibakteri berdasarkan sifat toksisitas selektif, ada yang bersifat menghambat pertumbuhan mikroba dan ada yang bersifat membunuh bakteri (Ganiswara 1995).

Aktivitas suatu senyawa atau zat antibakteri dalam menghambat bakteri dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti kepadatan populasi bakteri, kepekaan terhadap bahan antibakteri, volume bahan antibakteri, lamanya bahan antibakteri yang diaplikasikan, konsentrasi bahan antibakteri, suhu dan kandungan bahan aorganik (Lay 1994).

H. Antiseptik

Antiseptik adalah bahan kimia yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan dan membunuh mikroorganisme berbahaya (patogenik) yang

terdapat pada permukaan tubuh luar makhluk hidup seperti pada permukaan kulit dan membran mukosa. Secara umum antiseptik berbeda dengan obat-obatan maupun disinfektan. Desinfektan berfungsi sebagai zat untuk membunuh mikroorganisme yang terdapat pada benda yang tidak bernyawa seperti meja, lantai dan pisau bedah sedangkan antiseptik digunakan untuk menekan pertumbuhan mikroorganisme pada jaringan tubuh, misalnya kulit (Ayuni 2011).

Mekanisme kerja antiseptik terhadap mikroorganisme berbeda-beda, seperti dengan mendehidrasi (mengeringkan) bakteri, mengoksidasi sel bakteri, mengkoagulasi (menggumpalkan) cairan di sekitar bakteri, atau meracuni sel bakteri (Entjang 2003). Contoh antiseptik yang akan digunakan ialah antiseptik cair yang mengandung zat aktif chloroxyleneol 4,8% w/v. Menurut Meili (2014) dalam penelitian yang telah dilakukan, hasil dari uji aktivitas mempunyai diameter zona inhibitor pada chloroxyleneol 4,8% (41,86) memiliki aktivitas antimikroba terhadap *Staphylococcus aureus* secara in vitro.

I. Media

Media adalah substrat yang diperlukan untuk menumbuhkan dan mengembangkan mikroba. Media harus steril sebelum digunakan untuk penelitian, artinya tidak ditumbuhi oleh mikroba lain. Mikroba dapat tumbuh dan berkembang dengan baik dengan persyaratan tertentu, yaitu media harus mengandung semua unsur hara yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangan mikroba. Media juga harus mempunyai tekanan osmosa, tegangan permukaan dan pH yang sesuai dengan kebutuhan mikroba (Suriawiria 2005).

Ada tiga bentuk media antara lain media cair dapat digunakan untuk berbagai keperluan, seperti pembiakan organisme dalam jumlah besar dan fermentasi. Media padat digunakan untuk mengamati bentuk atau morfologi koloni serta mengisolasi biakan murni. Media seengah padat biasanya digunakan untuk menguji ada tidaknya motilitas mikroba maupun kemampuan fermentasi (Pratiwi 2008).

J. Sterilisasi

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

Bahan atau peralatan yang digunakan di dalam mikrobiologi harus dalam keadaan steril, artinya pada bahan atau peralatan tersebut tidak diperlukan mikroba yang tidak diharapkan kehadirannya, baik yang mengganggu atau merusak media ataupun mengganggu kehidupan dan proses yang sedang dilakukan (Waluyo 2004). Sterilisasi secara kimia yaitu memakai bahan kimia misal dengan penggunaan desinfektan, larutan alkohol, larutan formalin. Sterilisasi secara mekanik yaitu dengan penggunaan saringan atau filter dengan pori-pori halus sehingga dapat menahan bakteri (Suryono 1995).

K. Efek Kombinasi Obat

Obat tradisional memiliki khasiat empiris yang sama (efek sinergis) banyak digunakan saat ini. Obat tradisional akan bermanfaat dan aman jika digunakan dengan tepat. Baik takaran, waktu, dan cara penggunaan serta pemeliharaan bahan yang sesuai dengan indikasi dan efek farmakologi yang saling mendukung satu sama lain (efek komplementer) untuk mencapai efektivitas pengobatan. Obat tradisional memiliki beberapa kelebihan yaitu efek sampingnya yang relatif kecil dan harganya murah. Bahan obat alam juga memiliki kelemahan yang juga merupakan kendala dalam pengembangan obat tradisional. Kelemahan tersebut antara lain, efek farmakologinya lemah, bahan baku belum terstandar, belum dilakukan uji klinik dan mudah tercemar berbagai jenis mikroorganisme (Pramono 2008).

Teori kombinasi dapat dibagi menjadi 3 jenis interaksi antara dua agen aditif, sinergisme dan antagonis, yang masing-masing memberikan efek kombinasi yang sama, lebih besar atau lebih kecil dari efek individu setiap agen (Joyce dan Evelyn 2006).

Efek dari kombinasi ada 3 yaitu:

1. Aditif

Aditif adalah interaksi antara dua obat dengan kerja yang serupa diberikan jumlah dari efek kedua obat dapat menjadi yang diinginkan.

2. Antagonis

Antagonis adalah interaksi dua obat apabila dikombinasikan mempunyai kerja yang berlawanan, maka efek obat-obatan itu akan saling meniadakan atau kerja obat dari kedua obat itu akan hilang.

3. Sinergisme

Sinergisme adalah dua obat atau lebih diberikan bersama-sama, obat yang satu dapat memperkuat obat yang lain.

L. Metode Difusi

Metode difusi adalah metode yang paling sering digunakan. Metode difusi merupakan suatu uji aktifitas yang menggunakan cakram berliang renik atau suatu silinder tidak beralas yang mengandung obat dalam jumlah tertentu ditempatkan pada pembedahan padat yang telah ditanami dengan biakan bakteri yang akan diperiksa (Harminta 2004). Medium padat yang sebelumnya telah diinokulasi bakteri uji pada permukaannya, yang selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Diameter zona hambat disekitar cakram kertas dapat diamati setelah diinkubasi, yang digunakan untuk mengukur kekuatan hambat terhadap organisme uji (Jawetz *et al.* 2001). Diameter daerah hambatan tergantung pada daya resap larutan uji yang digunakan ke dalam agar dan kepekaan kuman terhadap obat tersebut (Bonang & Koeswardono 2004).

M. Landasan Teori

Sebagian besar masyarakat indonesia masih menggunakan bahan-bahan alami untuk keperluan sehari-hari maupun dalam bidang kesehatan. Obat-obat tradisional itu dipercaya dapat mengobati berbagai penyakit. Pengobatan tradisional tanaman rimpang bangle berkhasiat sebagai pemanas, untuk membersihkan udara busuk dari perut, sebagai insektisida, antioksidan,

antiinflamatori, antelmintik. Tanaman ini mengandung minyak atsiri yang memiliki komponen utama 4-terpinol (42,5%), β -pinen (23,41%), γ -terpinene (62,28%) dan β -sesquiphellandrene (5,92%) dan berdasarkan penelitian (Kamazerin *et al.* 2003) memiliki komponen penyusun seperti zerumbon (60,77 %), kariofilena (6,44 %) dan α -kariofilena (23,92 %). Hasil uji Berdasarkan penelitian yang dilakukan Sayuti *et al.* (2014) kombinasi minyak atsiri lempuyang wangi dan rimpang bangle terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* didapat hasil diameter daya hambat sebesar $19,67 \pm 0,20$ mm.

Pala merupakan salah satu tanaman yang terkenal karena biji buahnya yang tergolong sebagai rempah-rempah. Biji pala mengandung minyak atsiri yang sering dimanfaatkan sebagai aromaterapi, obat tradisional sebagai obat sakit perut, diare dan bronkhitis dan dalam industri parfum (Nurdjannah 2007). Minyak atsiri biji pala menurut penelitian (Gupta 2008) menunjukkan aktivitas antibakteri yang baik. Minyak atsiri biji pala mengandung monoterpen seperti α -pinene, camphene, β -pinene, sabinene, myrcene, α -phellandrene, α -terpinene, limonene, 1,8-cineole, γ -terpinene, linalool, terpinen-4-ol, safrole, metil eugenol dan myristicin. Kandungan senyawa fenolik dan terpenoid dalam biji pala diduga dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Rachmi *et al.* 2014). Minyak atsiri biji pala mempunyai nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) untuk bakteri *Staphylococcus aureus* adalah 12,5%.

Minyak atsiri merupakan zat yang memberikan aroma pada tumbuhan. Keadaan segar dan murni tanpa pencemaran, minyak atsiri umumnya berupa cairan jernih tidak berwarna. Penyimpanan lama minyak atsiri dapat teroksidasi dan membentuk resin serta warna berubah menjadi kecoklatan. Mencegah supaya tidak berubah warna, minyak atsiri harus terlindung dari pengaruh sinar matahari, misalnya disimpan dalam wadah berbahan dasar kaca yang berwarna gelap. Minyak atsiri mempunyai sifat-sifat yang tersusun oleh bermacam-macam komponen senyawa, memiliki bau khas, umumnya bau ini mewakili tanaman aslinya, mempunyai rasa getir, kadang-kadang terasa tajam, memberi kesan hangat sampai panas atau justru dingin ketika terasa dikulit, tergantung dari jenis komponen penyusunnya (Gunawan & Mulyani 2004).

Isolasi minyak atsiri rimpang bangle dan biji pala menggunakan metode destilasi uap air. Prinsip metode dengan uap air adalah bahan diletakkan di atas saringan berlubang. Ketel suling diisi dengan air sampai permukaan air berada tidak jauh di bawah saringan. Air dapat dipanaskan dengan berbagai cara yaitu dengan uap jenuh yang basah dan bertekanan rendah. Ciri khas metode ini adalah uap selalu dalam keadaan basah, jenuh dan tidak terlalu panas (Ketaren 1987).

Staphylococcus aureus merupakan bakteri bersifat Gram positif, biasanya tersusun dalam rangkaian tidak beraturan seperti buah anggur. Beberapa di antaranya tergolong flora normal pada kulit dan selaput mukosa manusia, menyebabkan penanahan, abses, berbagai infeksi pirogen. *Staphylococcus aureus* adalah bakteri berbentuk bulat dengan diameter kira-kira 0,7-1,2 μm dan mudah tumbuh dalam keadaan aerob maupun mikron-aerob pada suhu optimum 37 °C (Jawetz *et al.* 2007). *Staphylococcus aureus* menyebabkan berbagai jenis infeksi pada manusia, antara lain infeksi pada kulit, seperti bisul dan furunkulosis, infeksi yang lebih serius, seperti pneumonia, mastitis, flebitis, meningitis, dan infeksi pada saluran urin (Radji 2011).

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

Kombinasi obat adalah perpaduan dua atau lebih obat dalam satu formulasi, yang digunakan pada waktu bersamaan agar khasiatnya masing-masing dapat memberikan efek kombinasi yang sama, lebih besar tau lebih kecil dari efek individu setiap agen (Joyce dan Evelyn 2006).

Pengujian ini akan mengkombinasikan antara minyak atsiri rimpang bangle dan minyak atsiri biji pala, diharapkan kombinasi ini dapat mempunyai efek sebagai antibakteri yang lebih optimal dari pada bentuk tunggal minyak atsiri

masing-masing tersebut. Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

N. Hipotesis

Berdasarkan landasan teori yang sudah dijabarkan di atas dapat disusun hipotesis sebagai berikut:

Pertama, minyak atsiri tunggal dan kombinasi rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* R.), biji pala (*Myristica fragrans* H.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kedua, kombinasi dari minyak atsiri rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* R.) dan biji pala (*Myristica fragrans* H.) memiliki aktivitas lebih efektif terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dari pada tunggalnya.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi adalah semua obyek yang menjadi sasaran penelitian. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* R.) dan biji pala (*Myristica fragrans* H.) yang diperoleh dari Ngarjosari, Samigaluh Kulon Progo Jogja, Jawa Tengah pada bulan November 2016.

2. Sampel

Sampel adalah representasi populasi yang dijadikan sumber informasi bagi semua data yang diperlukan untuk menjawab permasalahan penelitian (sampel merupakan bagian dari populasi). Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* R.) pengambilan rimpang dari tanaman yang telah siap panen berumur 10-12 bulan setelah tanam yang diambil secara acak. Biji pala (*Myristica fragrans* H.) sampel diambil bagian bijinya yang sudah siap panen berumur 3- 4 bulan dipohon diambil secara acak.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama dalam penelitian ini adalah minyak atsiri dari rimpang bangle dan biji pala.

Variabel utama kedua penelitian ini adalah kombinasi minyak atsiri dari rimpang bangle dan biji pala.

Variabel utama ketiga penelitian ini adalah aktivitas antibakteri minyak atsiri dari rimpang bangle dan biji pala beserta kombinasinya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC25923.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama yang telah diidentifikasi dapat diklasifikasikan dalam berbagai macam variabel yaitu variabel bebas, variabel terkontrol dan variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian adalah variabel yang direncanakan

untuk diteliti pengaruhnya terhadap variabel tergantung sedang pengertian variabel tergantung dalam penelitian ini adalah pusat persoalan yang merupakan pengaruh selain variabel bebas.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah kombinasi minyak atsiri rimpang bangle dan biji pala dengan perbandingan konsentrasi 1:1; 1:2; 1:3; 2:1 dan 3:1

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah minyak atsiri rimpang bangle dan minyak atsiri biji pala bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, sterilisasi, suhu, kondisi peneliti, kondisi laboratorium, media dan metode penelitian.

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah diameter zona hambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* (mm).

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* R.) adalah rimpang bangle yang diambil secara acak dari Ngarjosari, Samigaluh Kulon Progo Jogja, Jawa Tengah dengan ciri rimpang bangle yang sudah siap panen berumur 10-12 bulan setelah tanam.

Kedua, biji pala (*Myristica fragrans* H.) adalah biji pala yang diambil secara acak dari Ngarjosari, Samigaluh Kulon Progo Jogja, Jawa Tengah dengan ciri bijinya yang sudah kering dan berwarna kuning kecoklatan.

Ketiga, minyak atsiri rimpang bangle dan biji pala adalah minyak atsiri hasil destilasi rimpang bangle dan biji pala dengan menggunakan destilasi uap air.

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

Kelima, kombinasi minyak atsiri rimpang bangle dan biji pala (1:1) adalah kombinasi dari minyak atsiri rimpang bangle dan biji pala yaitu satu bagian minyak atsiri rimpang bangle dan satu bagian minyak atsiri biji pala.

Keenam, kombinasi minyak atsiri dengan perbandingan (1:2) adalah kombinasi dari minyak atsiri rimpang bangle dan minyak atsiri biji pala yaitu satu bagian minyak atsiri rimpang bangle dan dua bagian minyak atsiri biji pala.

Ketujuh, kombinasi minyak atsiri dengan perbandingan (2:1) adalah kombinasi dari minyak atsiri rimpang bangle dan biji pala yaitu dua bagian minyak atsiri rimpang bangle dan satu bagian minyak atsiri biji pala.

Kedelapan, kombinasi minyak atsiri dengan perbandingan (1:3) adalah kombinasi dari minyak atsiri rimpang bangle dan biji pala yaitu satu bagian minyak atsiri rimpang bangle dan tiga bagian minyak atsiri biji pala.

Kesembilan, kombinasi minyak atsiri dengan perbandingan (3:1) adalah kombinasi dari minyak atsiri rimpang bangle dan biji pala yaitu tiga bagian minyak atsiri rimpang bangle dan satu bagian minyak atsiri biji pala.

Kesepuluh, kontrol positif adalah antiseptik yang mengandung zat aktif chloroxylenol 4,8%.

Kesebelas, uji aktivitas antibakteri minyak atsiri rimpang bangle dan biji pala beserta kombinasinya adalah pengujian aktivitas antibakteri dengan menggunakan metode difusi dengan konsentrasi 50%, 25% dan 12,5% melihat diameter zona hambat pertumbuhan bakteri dalam media uji.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi alat untuk pembuata minyak atsiri yaitu kondensor dan dandang besar. Peralatan untuk uji mikrobiologi yaitu lampu spiritus, jarum ose tangkai panjang, cawan petri steril, kapas lidi steril, inkubator, cakram (6 mm), mikropipet, autovortex mixer, gelas ukur, pipet volume steril, bobot vial steril, inkas, autoklaf, oven, pinset, neraca analitik dan penggaris. Alat untuk analisis minyak atsiri yaitu refraktometer dan GC-MS Shimadzu GCMS-QP2010S.

2. Bahan

Bahan sampel yang digunakan dalam uji mikrobiologi antibakteri adalah minyak atsiri dari rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* R.) dan biji pala (*Myristica fragrans* H.) dengan konsentrasi 50%, 25% dan 12,5% untuk uji difusi.

Bahan kimia yang digunakan adalah Na sulfat eksikatus, aseton, H₂O₂, darah kelinci dan antiseptik. Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Mueler Hinton Agar* (MHA), *Vogel Johnson Agar* (VJA), *Brain Heart Infusion* (BHI), kalium tellurit dan plasma sitrat.

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

D. Jalannya Penelitian

1. Identifikasi/determinasi tanaman

Tahap awal yang dilakukan adalah melakukan determinasi tanaman bangle dan biji pala yang bertujuan untuk menetapkan kebenaran sampel tanaman bangle dan biji pala dengan mencocokkan ciri-ciri morfologi yang ada pada rimpang bangle dan biji pala yang dilakukan di Laboratorium Morfologi dan Sistematik Tumbuhan, Fakultas Farmasi, Universitas Gajah Mada, Yogyakarta..

2. Pengambilan Bahan

Bahan yang digunakan rimpang bangle dan biji pala yang dari Ngarjosari, Samigaluh Kulon Progo Jogja, Jawa Tengah. Bangle yang diambil adalah bagian rimpangnya, lalu dibersihkan dari kotoran-kotaran atau bahan-bahan asing seperti tanah, krikil, rumput, daun, akar yang telah rusak. Biji pala diambil bijinya, lalu dibersihkan dari kuli dan fulinya.

3. Isolasi minyak atsiri

Rimpang bangle dan biji pala masing-masing yang telah dipotong 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 juga. Pemanasan dilakuan dengan api sampai penyulingan dihentikan setelah tidak ada penambahan minyak, kemudian tampung destilat dan ukur volume yang dihasilkan.

Minyak yang diperoleh kemudian dilakukan pemisahan fase air dan minyak menggunakan corong pisah dengan penambahan Na_2SO_4 eksikatus seberat 1% dari volume minyak atsiri sehingga didapat hasil sulingan minyak rimpang bangle dan biji pala yang murni. Minyak yang diperoleh kemudian disimpan dalam botol berwarna gelap (coklat), diisi penuh dan kemudian ditutup rapat serta simpan di ruangan yang terlindung dari cahaya (Depkes 2003).

4. Analisa minyak atsiri

4.1. Pengamatan organoleptik. Pengamatan organoleptik terhadap minyak atsiri meliputi warna, aroma, bentuk, dan rasa dari minyak. Warna minyak atsiri hasil destilasi masing-masing sampel diambil volume sama dan ditempatkan dalam sebuah wadah berbahan kaca yang bersih dan jernih. Bau dan rasa minyak atsiri memiliki bau dan rasa yang khas sesuai dari tanaman asalnya. Organoleptik minyak atsiri rimpang bangle dan biji pala memiliki bau aromatik, rasa agak pahit dan agak pedas (Stahl 2008).

4.2. Identifikasi minyak atsiri. Identifikasi minyak atsiri rimpang bangle dan biji pala seperti identifikasi minyak atsiri pada umumnya yaitu minyak atsiri rimpang bangle dan biji pala minyak atsiri diteteskan pada permukaan air, minyak atsiri akan menyebar dan permukaan air tidak akan keruh. Minyak atsiri diteteskan pada kertas saring, apabila dibiarkan minyak akan menguap sempurna tanpa meninggalkan noda lemak (Gunawan dan Mulyani 2004).

4.3. Penetapan indeks bias minyak atsiri. Penetapan indeks bias ditetapkan dengan alat refraktometer dan diulang sebanyak tiga kali. Badan prisma dibuka dan kemudian dibersihkan dengan kapas yang telah dibasahi alkohol. Refraktometer diatur sehingga garis dan skala tampak jelas, mencatat suhu ruang tempat bekerja kemudian meneteskan cairan yang diukur pada prisma dan kemudian ditutup kembali. Pemutar sebelah kanan diatur sehingga batas gelap dan terang tepat pada garis dan dibaca skala dicatat indeks biasnya (Irawan 2009).

4.4. Penetapan bobot jenis minyak atsiri. Penetapan bobot jenis ditetapkan dengan cara botol timbang dikeringkan dengan cara dioven, kemudian ditimbang botol kosong dan dicatat hasilnya. Minyak atsiri rimpang bangle dan biji pala ditimbang dalam botol timbang dan dicatat hasilnya, penimbangan

diulang sebanyak tiga kali. Data hasil penimbangan botol ditimbang dan minyak atsiri rimpang bangle dan biji pala dikurangkan bobot botol timbang kosong sehingga didapatkan bobot minyak atsiri. Dibandingkan bobot minyak dengan bobot air sehingga didapatkan bobot jenis dari minyak atsiri. Bobot minyak atsiri = bobot botol timbang berisis minyak atsiri – bobot timbang kosong.

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

4.5. Penetapan kelarutan dalam alkohol. Menurut Badan Standar Nasional Indonesia (2006), Uji kelarutan minyak atsiri dalam alkohol dilakukan dengan cara memipet minyak sebanyak 1 ml ke dalam gelas ukur 10 ml, ditambah alkohol 70% dengan cara bertahap. Setiap penambahan alkohol kocok dan amati kejernihannya.

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

5. Sterilisasi

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

6. Pembuatan suspensi bakteri uji *Staphylococcus aureus*

Pembuatan suspensi dengan mengambil biakan murni kurang lebih 2 ose bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Suspensi dibuat dalam tabung yang berisi media *Brain Heart Infusion* (BHI) dan kekeruhannya disesuaikan dengan kekeruhan standar Mc Farland 0,5 setara dengan jumlah $1,5 \times 10^8$ cfu/mL. Tujuan disesuaikannya suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan standar Mc Farland 0,5 yaitu agar jumlah bakteri yang digunakan sama selama penelitian dan mengurangi kepadatan bakteri saat pengujian.

7. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

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

7.2. Identifikasi mikroskopis secara morfologi. Persamaan Gram positif *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menggunakan Gram A (cat Kristal violet sebagai cat utama), Gram B (lugol iodine sebagai mordan), Gram C (etanol aseton = 1 : 1 sebagai peluntur), dan Gram D (cat sarfanian sebagai cat lawan atau penutup). Pewarnaan Gram dilakukan dengan cara buat preparat ulas yang telah difiksasi kemudian ditetesi dengan Gram A sampai semua ulasan berwarna, diamkan selama kurang lebih 1 menit. Cuci dengan aquadestilata mengalir dan dianginkan untuk mengeringkan preparat, 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. Bila diamati di bawah mikroskop bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dinyatakan positif apabila berwarna ungu, berbentuk bulat dan bergerombol seperti buah anggur.

7.3. Identifikasi fisiologi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Identifikasi secara fisiologi ada dua yaitu uji katalase dan koagulase, uji katalase

menggunakan suspensi bakteri uji yang ditanam pada medium nutrient cair dengan H₂O₂ 3%. Hasil positif ditandai dengan adanya gelembung udara sebab *Staphylococcus aureus* mempunyai katalase. Penambahan H₂O₂ akan terurai menjadi H₂ dan O₂, hal ini ditandai dengan timbulnya gelembung udara. Uji koagulase menggunakan plasma darah kelinci yang diberi asam sitrat, diencerkan (1:5) ditambah 1 ose biakan bakteri, diinkubasi pada suhu 37°C. Tabung diperiksa dengan melihat pembentukan selama 1-4 jam. Hasilnya positif kuat jika tabung tes dibalik, gumpalan plasma tidak terlepas dan tetap melekat pada dinding tabung (Jawets *et al.* 2007).

8. Pembuatan larutan uji

Dibuat beberapa konsentrasi minyak atsiri yaitu 50%, 25%, 12,5%, dengan cara pengenceran minyak atsiri rimpang bangle dan biji pala menggunakan aseton 100%.

9. Pembuatan kombinasi bahan uji

Kombinasi minyak atsiri rimpang bangle dan biji pala dengan perbandingan (1:1) dibuat dengan mengambil 0,2 ml minyak atsiri rimpang bangle dan 0,2 ml minyak atsiri biji pala, kombinasi minyak atsiri dengan perbandingan (1:2) dibuat dengan mengambil 0,13 ml minyak atsiri rimpang bangle dan 0,27 ml minyak atsiri biji pala, kombinasi minyak atsiri dengan perbandingan (2:1) dibuat dengan mengambil 0,27 ml minyak atsiri rimpang bangle dan 0,13 ml minyak atsiri biji pala, kombinasi minyak atsiri dengan perbandingan (1:3) dibuat dengan mengambil 0,1 ml minyak atsiri rimpang bangle dan 0,3 ml minyak atsiri biji pala, kombinasi minyak atsiri dengan perbandingan (3:1) dibuat dengan mengambil 0,3 ml minyak atsiri rimpang bangle dan 0,1 ml minyak atsiri biji pala. Volume total dari masing-masing perbandingan adalah 0,4 ml.

10. Pengujian aktivitas antibakteri

Metode yang digunakan untuk uji daya hambat antibakteri adalah metode difusi. Metode difusi digunakan untuk mengetahui adanya daya hambat terhadap bakteri uji dan untuk mengetahui diameter daerah hambat dari minyak atsiri rimpang bangle dan biji pala dengan konsentrasi 50%, 25% dan 12,5%. Penelitian ini menggunakan cawan petri yang berisi MHA. Pertama bakteri diambil dari

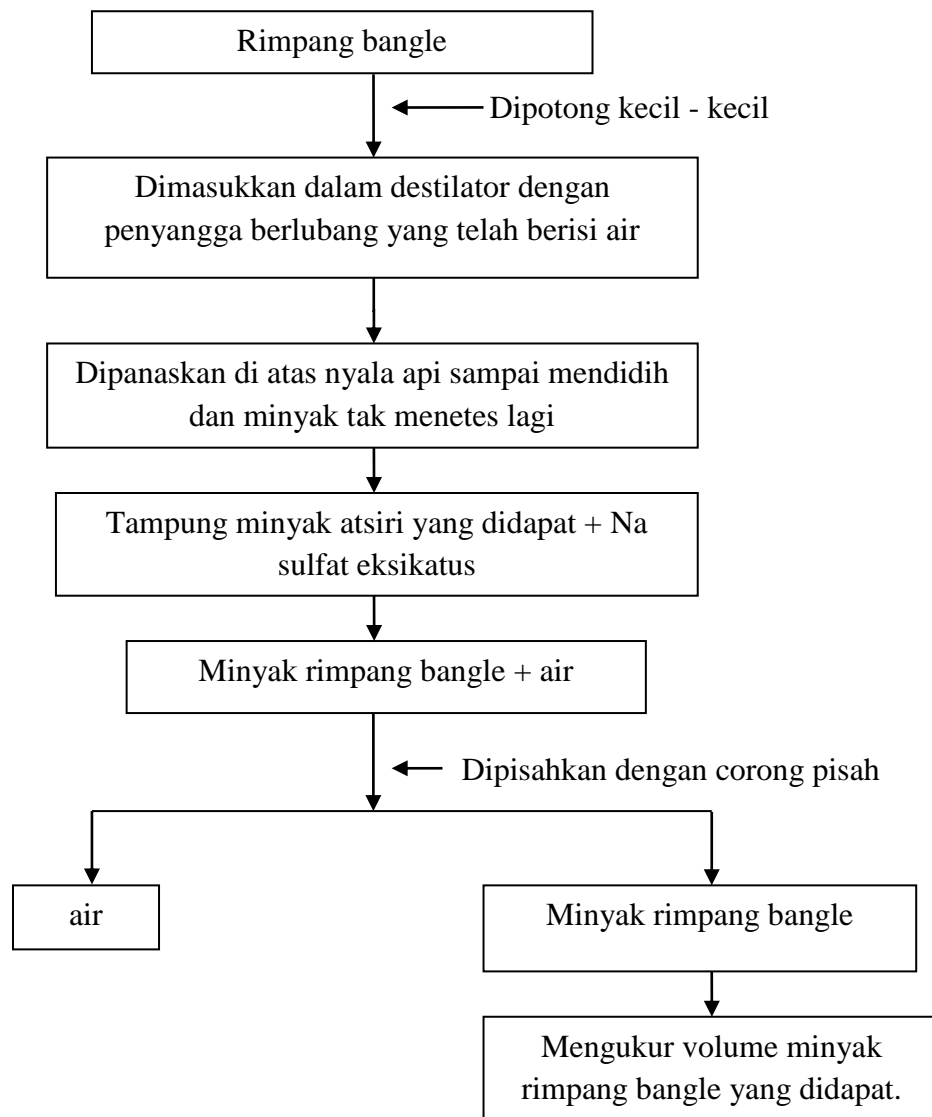
media BHI dengan menggunakan kapas lidi steril sebanyak satu kali kemudian dioleskan pada cawan petri yang berisi MHA tersebut dan tunggu sampai bakteri berdifusi pada media.

Setelah suspensi bakteri diratakan pada MHA, cakram yang berukuran 6 mm ditetesi menggunakan mikropipet sebanyak 10 μ l dalam tiap perbandingan. Dalam satu cawan petri berisi lima perbandingan. Masing-masing bagian cawan petri di tempel cakram dengan larutan kombinasi minyak atsiri rimpang bangle dan biji pala pertama berisi kombinasi 1:1 yaitu 0,2 ml minyak atsiri rimpang bangle dan 0,2 ml minyak atsiri biji pala, pada sudut kedua berisi kombinasi 1:2 yaitu 0,13 ml minyak atsiri rimpang bangle dan 0,27 ml minyak atsiri biji pala, pada sudut ketiga berisi kombinasi 2:1 yaitu 0,27 ml minyak atsiri rimpang bangle dan 0,13 ml minyak atsiri biji pala, pada sudut keempat berisi kombinasi 1:3 yaitu 0,1 ml minyak atsiri rimpang bangle dan 0,3 ml minyak atsiri biji pala, pada sudut kelima berisi kombinasi 3:1 yaitu 0,3 ml minyak atsiri rimpang bangle dan 0,1 ml minyak atsiri biji pala, dengan menggunakan mikropipet. Kontrol positif menggunakan antiseptik chloroxlylenol. Setelah semua cawan petri terisi cakram dengan tiap perbandingan larutan, cawan petri diinkubasi di dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C. Kemudian setelah 24 jam dilakukan inkubasi, zona hambat yang terbentuk dapat diukur.

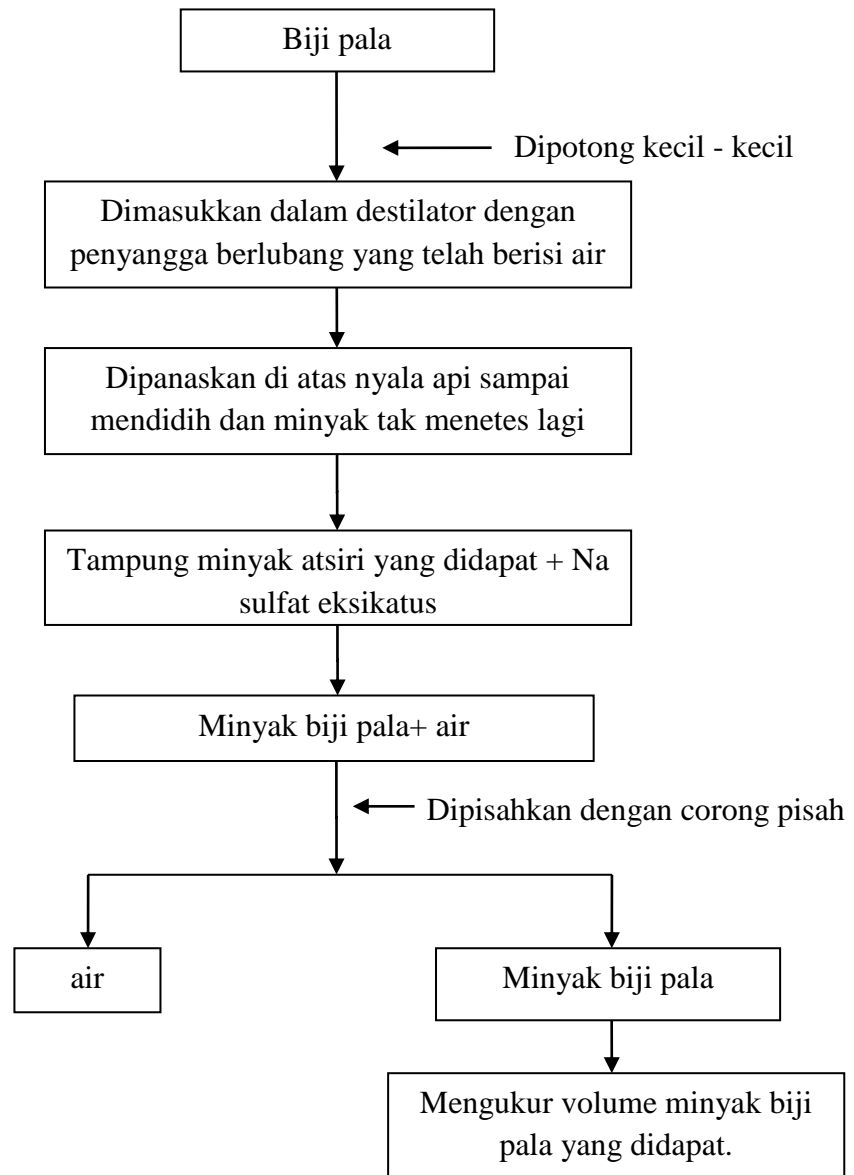
Pengukuran zona hambat disekitar sumuran dilakukan menggunakan penggaris dengan ketelitian 1 mm. Hasil dari pengukuran tersebut dijumlahkan dan dibagi dengan banyaknya pengukuran untuk mendapatkan besarnya zona hambat yang terbentuk.

E. Analisis Hasil

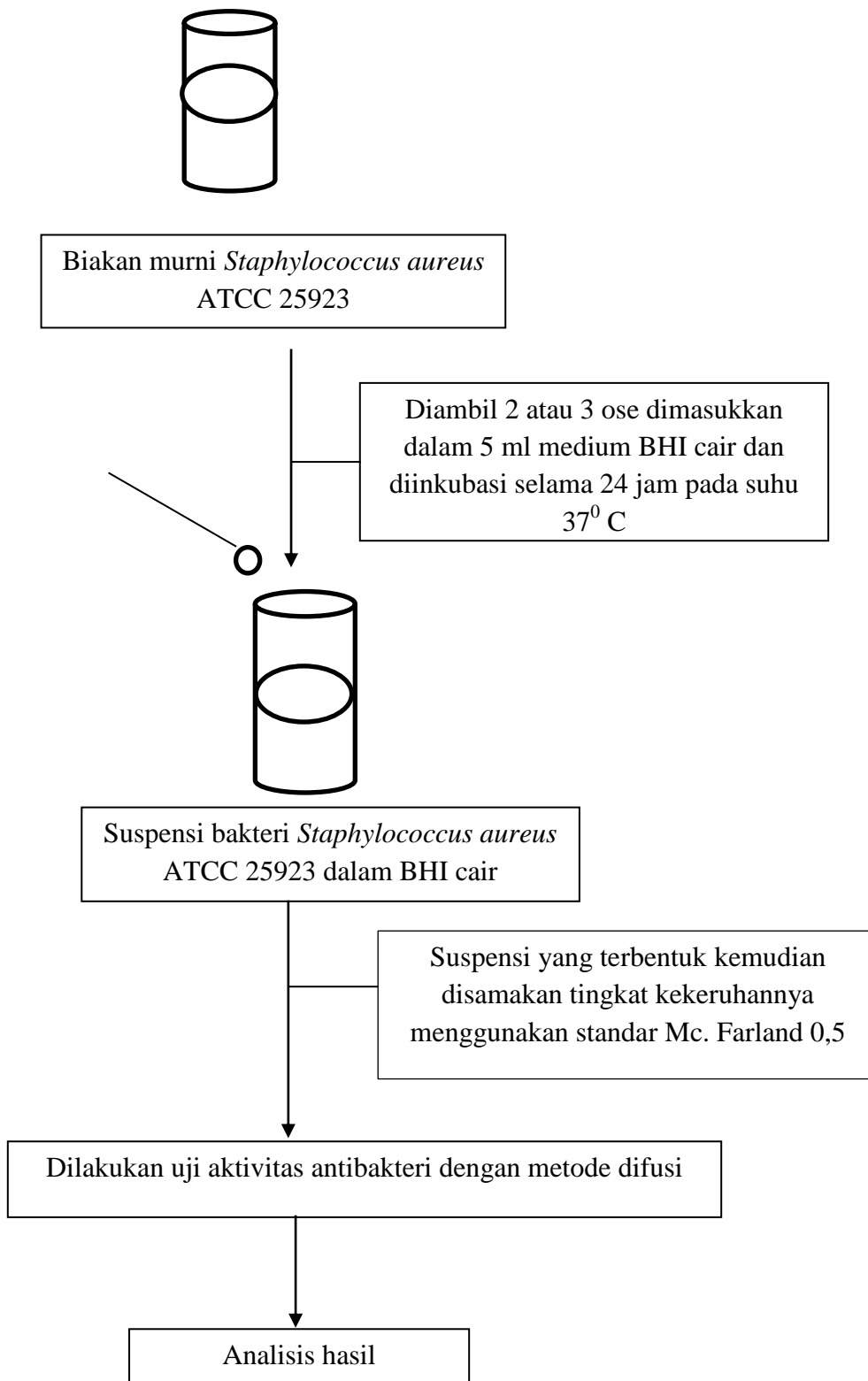
Data hasil penelitian diperoleh dengan mengukur daya sebar dilihat dari adanya daerah hambatan pertumbuhan bakteri uji yang ditunjukkan dengan adanya zona jernih disekeliling cakram yang tidak ditumbuhi bakteri, lalu diukur diameter hambatan pertumbuhannya dari masing-masing lingkaran. Data yang diperoleh dianalisa dengan menggunakan *Shapiro wilk*, jika terdistribusi secara normal dilanjutkan dengan *analysis of varian* (ANOVA) dengan metode two-way.



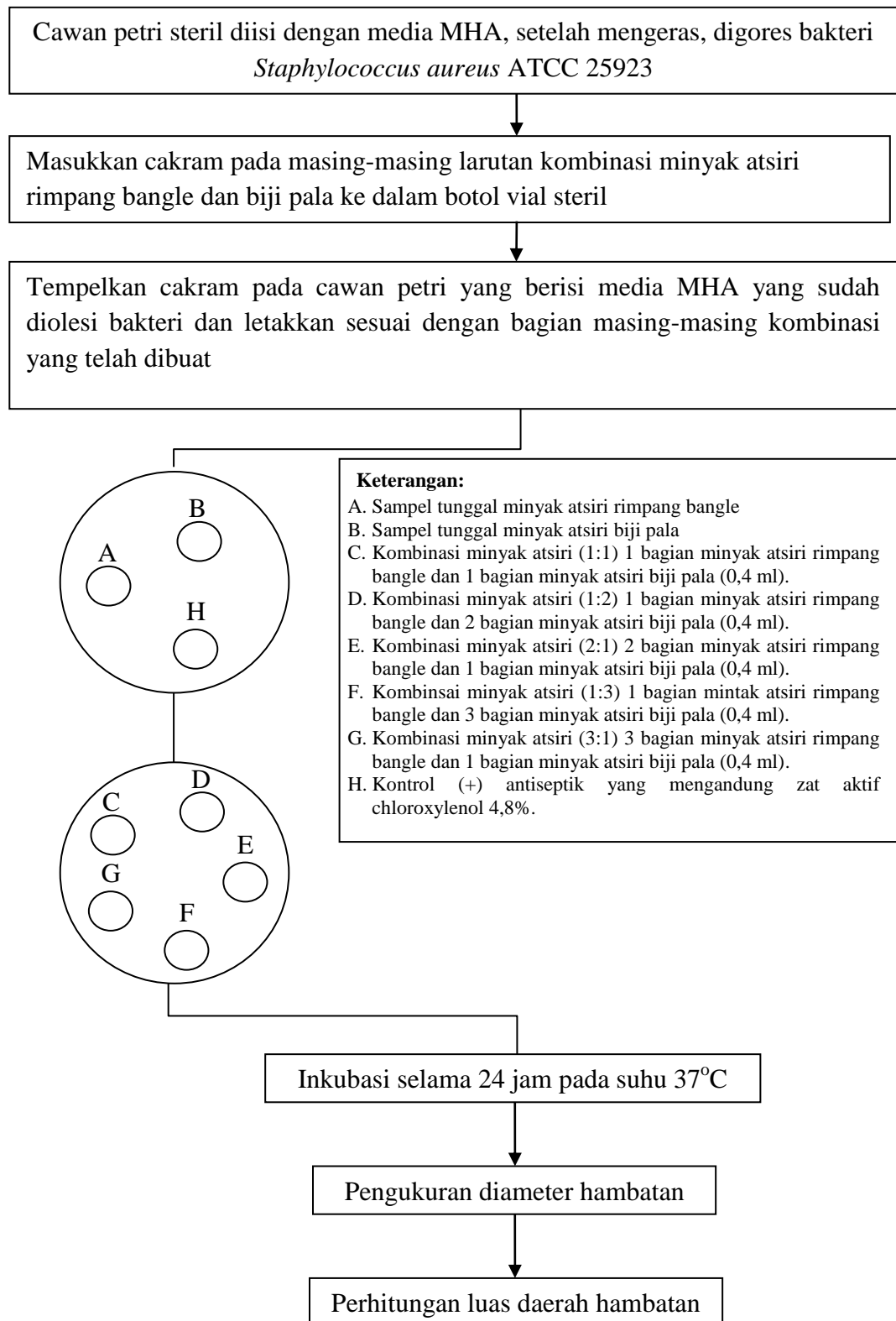
Gambar 4. Skema isolasi minyak atsiri rimpang bangle



Gambar 5. Skema isolasi minyak atsiri Biji pala



Gambar 6. Skema pembuatan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



Gambar 7. Skema pengujian aktivitas antibakteri secara difusi

BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Identifikasi tanaman

Identifikasi tanaman pada penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada. Identifikasi tanaman bertujuan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang diambil, menghindari terjadinya kesalahan dalam pengambilan bahan sampel dan menghindari tercampurnya bahan sampel dan bahan tanaman lain serta mencocokkan ciri morfologi yang ada pada tanaman yang diteliti dengan identifikasi. Berdasarkan identifikasi dapat dipastikan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman rimpang bangle dan biji pala. Hasil identifikasi dapat dilihat pada Lampiran 1.

2. Pengambilan bahan

Tanaman yang digunakan adalah rimpang bangle dan biji pala dalam penelitian ini diperoleh dari Narjosari Samigaluh Kulon Progo Jogja, Jawa Tengah. Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta.

3. Hasil isolasi minyak atsiri rimpang bangle dan biji pala

Isolasi minyak atsiri rimpang bangle dan biji pala dilakukan dengan destilasi uap dan air. Hasil destilasi dari percobaan didapat rendemen minyak atsiri, untuk rendemen minyak atsiri rimpang bangle yang dimaksudkan dalam penelitian ini adalah jumlah minyak atsiri yang didapatkan dalam dua kali destilasi dan pada minyak atsiri biji pala adalah jumlah minyak atsiri yang didapatkan dalam satu kali destilasi. Proses pemisahan destilasi dan hasil minyak atsiri rimpang bangle dan biji pala dapat dilihat pada Lampiran 9.

Tabel 1. Kadar minyak rimpang bangle

Proses destilasi	Bobot sampel (gram)	Volume minyak (ml)	Rendemen (%)
Destilasi 1	2000	4	0,2
Destilasi 2	3000	6	0,2
Total	5000	10	0,2

Tabel 2. Kadar minyak atsiri biji pala

Proses destilasi	Bobot sampel (gram)	Volume minyak (ml)	Rendemen (%)
Destilasi 1	3000	10	0,33
Total	3000	10	0,33

Rimpang bangle mengandung minyak atsiri 0,95% (Bhuiyan *et al.* 2008).

Kadar minyak atsiri rimpang bangle yang diperoleh dalam praktek dengan bobot sampel 5000 dengan volume 10 ml hasil rendemen adalah 0,2%. Biji pala mengandung minyak atsiri 0,5-1,7% (Hidayati dkk 2015). Kadar minyak atsiri biji pala dalam praktek dengan bobot 3000 dengan volume 10 ml hasil rendemen adalah 0,33%. Hasil rendemen minyak atsiri rimpang bangle dan biji pala hasil penelitian sedikit berbeda dengan pustaka. Rendahnya rendemen rimpang bangle dan biji pala pada penelitian ini disebabkan oleh banyak faktor seperti lamanya distilasi, asal tanaman, waktu panen.

4. Analisis minyak atsiri

4.1 Pengamatan organoleptik minyak atsiri. Hasil uji organoleptis dapat dilihat dengan pengamatan secara visual dan panca indra meliputi hidung, mata dan lidah. Hasil pengamatan organoleptik pada minyak atsiri rimpang bangle dan biji pala dapat dilihat pada Tabel 3 dan 4.

Tabel 3. Hasil pemeriksaan organoleptik minyak atsiri rimpang bangle

No	Jenis pemeriksaan	Hasil	Pustaka
1.	Warna	Kuning	Kuning (Depkes 2000)
2.	Bau	Khas bangle	Aromatik khas bangle (Depkes 2000)
3.	Bentuk	Cair	Cairan (Depkes 1979)
4.	Rasa	Pedas dan pahit	Rasa agak pahit dan agak pedas (Depkes 2000)

Tabel 4. Hasil pemeriksaan organoleptik minyak atsiri biji pala

No.	Jenis pemeriksaan	Hasil	Pustaka
1.	Warna	Kuning muda	Jernih kekuningan (Suprihatin <i>et al.</i> 2007)
2.	Bau	Aroma khas pala	Aroma khas pala (Depkes 2000)
3.	Bentuk	Cair	Cairan (Depkes 1979)
4.	Rasa	Pedas agak pahit	Agak pahit dan agak pedas (Depkes 2000)

Warna minyak atsiri hasil destilasi masing-masing sampel diambil pada volume yang sama dan ditempatkan dalam sebuah wadah kaca yang bersih dan jernih, kemudian dibandingkan dengan minyak pembanding pada masing-masing memiliki bau dan rasa yang khas sesuai dari tanaman asalnya. Hasil organoleptik minyak atsiri rimpang bangle dan biji pala dapat disimpulkan bahwa dari hasil praktek sudah sesuai dengan pustaka.

4.2 Identifikasi minyak atsiri. Hasil identifikasi rimpang bangle dan biji pala yang terlampir dalam penelitian dapat dilihat pada Tabel 5 dan 6.

Tabel 5. Identifikasi minyak atsiri rimpang bangle

Zat aktif	Pemeriksaan	Hasil	Pustaka
Minyak atsiri rimpang bangle	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)

Tabel 6. Identifikasi minyak atsiri biji pala

Zat aktif	Pemeriksaan	Hasil	Pustaka
Minyak atsiri biji pala	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)

Hasil identifikasi minyak atsiri rimpang bangle dan biji pala menunjukkan bahwa hasil penelitian sesuai pustaka, bila 1 tetes minyak atsiri ditetaskan pada permukaan air, maka minyak akan terlihat menyebar di permukaan air dan tidak keruh, jika ditetaskan pada kertas saring, minyak tidak meninggalkan noda. Hasil gambar dapat dilihat pada Lampiran 6.

4.3 Hasil pemeriksaan indeks bias minyak atsiri rimpang bangle dan biji pala.

Tabel 7. Indeks bias minyak atsiri

Minyak atsiri	Hasil indeks bias (31°C)	Indeks bias (27°C)	Pustaka
Rimpang bangle	1,495	Indeks bias (27°C) 1,483	(Anggraini 2015)
Biji pala	1,485	Indeks bias (20°C) 1,475-1,485	(SNI. 2006)

Pemeriksaan indeks bias dilakukan dengan refraktometer dan didapatkan hasil menurut penelitian minyak atsiri rimpang bangle 1,495 pada suhu 31°C, sedangkan pada penelitian (Anggraini 2015) menunjukkan hasil indeks bias 1,483 pada suhu 27°C. Perbedaan pengukuran indeks bias minyak atsiri rimpang bangle dengan pustaka dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya tempat tanaman asal dan suhu ruang pengukuran. Hasil pengukuran indeks bias minyak atsiri biji pala 1,485 pada suhu 31°C. Menurut (SNI 2006) menunjukkan hasil indeks bias (20°C) 1,475-1,485. Pengukuran yang dilakukan pada perbedaan suhu tersebut menghasilkan indeks bias yang masih memenuhi rentang dalam literature (Zheljakov *et al.* 2008). Hasil perhitungan indeks bias dapat dilihat pada Lampiran 10.

4.4 Hasil penetapan bobot jenis. Hasil penetapan bobot jenis minyak atsiri rimpang bangle dan biji pala. Bobot jenis menurut praktek minyak atsiri rimpang bangle = 0,899. Bobot jenis menurut praktek minyak atsiri biji pala = 0,907. Jadi bobot jenis menurut praktek setara dengan bobot jenis menurut pustaka. Perhitungan konversi dapat dilihat pada lampiran 11.

4.5 Penetapan kelarutan dalam alcohol. Hasil kelarutan uji minyak atsiri rimpang bangle dan biji pala dalam etanol 70% dengan perbandingan 1:1 (artinya 1 ml minyak atsiri larut dalam 1 ml etanol 70%) menurut hasil penelitian adalah larut dan jernih. Hasil gambar kelarutan dapat dilihat pada Lampiran 6.

4.6 Karakterisasi komponen senyawa penyusun minyak atsiri dengan *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS). Uji analisis dengan GC-MS dilakukan untuk mengetahui komponen senyawa yang terkandung didalam minyak atsiri. Analisis komponen senyawa minyak atsiri rimpang bangle dan biji pala dilakukan dengan menggunakan *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS). Hasil analisis masing-masing komponen senyawa utama rimpang bangle dan biji pala dapat dilihat pada Tabel 8 dan 9.

Tabel 8. Hasil analisis komponen utama minyak atsiri rimpang bangle dengan GC-MS

Peak	Senyawa	RT (min)	BM	Kadar (%)
1	Alpha-pinene	4.118	136	1.76
2	Camphene	4.375	136	0.31
3	Sabinene	4.867	136	22.70
4	Terpinolene	6.100	136	1.04
5	Eucalyptol	6.253	154	0.86
6	Gamma-Terpinene	7.299	136	2.37
7	4- Terpeneol	10.973	154	70.96

Tabel 9. Hasil analisis komponen utama minyak atsiri biji pala dengan GC-MS

Peak	Senyawa	RT (min)	BM	Kadar (%)
1	Sabinene	4.818	136	6.62
2	Myrcene	5.676	136	0.56
3	Alpha-Terpinene	5.965	136	0.51
4	Beta-Phellandrene	6.238	136	5.21
5	Gamma-Terpinene	7.095	136	0.68
6	Terpineol-4	10.711	154	0.70
7	Safrole	14.120	162	4.85
8	Myristic acid	28.800	288	25.75
9	9-Hexadecenoic acid	34.983	254	5.83
10	Benzene, 1-(1,3-dimethyl-3-butenyl-4methoxyl-	41.748	190	3.17
11	Benzeneacetic acid, alpha-hydroxy-4-methoxy-,methyl ester	43.251	196	26.02
12	(-)-Notrachelogenin	43.579	374	3.84
13	3-Buten-2-one, 4-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-	45.333	192	6.05
14	Trimyristin	77.501	722	0.36

Hasil analisis minyak atsiri rimpang bangle terdapat 7 senyawa, sedangkan pada minyak biji pala terdapat 24 senyawa. Berdasarkan pustaka komponen senyawa minyak atsiri rimpang bangle adalah α -pinene, camphene, sabinene, terpinolene, eucalyptol, γ -terpinene, 4-terpineol. Komponen senyawa minyak biji pala adalah sabinene, myrcene, α -terpinene, β -phellandrene, γ -terpinene, terpineol-4, safrol, myristic acid, 9-hexadecenoic acid, Benzene, 1-(1,3-dimethyl-3-butenyl-4methoxyl-, Benzeneacetic acid, alpha-hydroxy-4-methoxy-,methyl ester, (-)-Notrachelogenin, 3-Buten-2-one, 4-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-, Trimyristin. Sedangkan pada hasil analisis senyawa minyak atsiri biji pala pada penelitian yang tidak ada di pustaka yaitu isocineol, cis-sabinenehydrate, elimicin,

Benzaldehyde, 4,6-dihydroxy-2,3-dimethyl, hexadecanoic acid, bicyclo 3.1.0 hex-3-en-2-one, 4-methyl-1(1-methylethyl), benzene, 1-(1,3 dimethyl-3-butenyl-4-methoxy), 8,13-epoxy-14-en-12-one, glycerine-1,3-dimyristate, dodecane, 4,9-dipropyl.

Menurut pustaka kandungan senyawa yang paling besar pada minyak atsiri rimpang bangle adalah 4-terpineol 42,5%; β -pinene 23,41%; γ -terpinene 6,28% dan β -sesquiphellandrene 5,92% (Merliani 2012). Sedangkan pada hasil analisis minyak atsiri rimpang bangle dalam penelitian yaitu 4-terpineol 70,96%; sabinene 22,70% dan γ -terpinene 2,37%. Kandungan senyawa minyak atsiri biji pala yang paling besar menurut (Pires *et al.* 2012) adalah mirisin 32,8%; sabinene 16,1%; α -pinen 9,8%; β -pinen 9,4%; β -felandren 4,9%; safrol 4,1% dan terpinen-4-ol 3,6%. Sedangkan pada hasil penelitian kandungan senyawa minyak atsiri biji pala yang paling besar adalah Benzeneacetic acid, alpha-hydroxy-4-methoxy-, methyl ester 26,02%; myristic acid 25,75%; sabinene 6,62%. Komponen senyawa 4-terpineol pada minyak atsiri rimpang bangle (Bhuiyan *et al.* 2008) dan kandungan senyawa fenolik dan terpenoid dalam biji pala diduga dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Rachmi *et al.* 2014).

Minyak atsiri rimpang bangle dan biji pala dalam penelitian ini memiliki komponen senyawa kimia yang berbeda dibandingkan dari data literatur. Variasi dalam komponen senyawa kimia dari minyak atsiri hasil destilasi dikenal sangat berbeda tidak hanya karena adanya subspecies yang berbeda, tetapi mungkin juga disebabkan oleh faktor lainnya seperti kondisi saat destilasi, daerah asal tanaman dan lainnya. Hasil masing-masing peak dapat dilihat pada Lampiran 12.

5. Pembuatan suspensi bakteri uji

Bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dalam biakan murni diambil masing-masing satu sampel dua ose kemudian dimasukkan secara aseptis ke dalam tabung reaksi steril yang berisi BHI (*Brain Heart Infusion*) yang kekeruhannya disesuaikan dengan kekeruhan standar Mc Farland 0,5. Hal ini bertujuan disesuaikan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan standar Mc Farland 0,5 yaitu agar jumlah bakteri yang digunakan sama

selama penelitian dan sama dengan jumlah $1,5 \times 10^8$ cfu/mL. Hasil pembuatan suspensi dapat dilihat pada Lampiran 8.

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

Identifikasi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 berdasarkan koloni dengan melakukan inokulasi suspensi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada media diferensial *Vogel Johnson Agar* (VJA) yang telah ditetesi 3 tetes kalium tellurit 1% dalam cawan petri dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil pengujian menunjukkan koloni dengan warna hitam, karena *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat mereduksi tellurit menjadi metalik warna medium dan disekitar koloni berwarna kuning karena fermentasi manitol yang dideteksi oleh perubahan warna indikator phenol red dari merah menjadi kuning (asam), dimana dalam kondisi asam menghasilkan pigmen yang bervariasi dan putih sampai kekuningan tua (Jawetz *et al.* 2012). Hasil identifikasi koloni dapat dilihat pada Lampiran 8.

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

Identifikasi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara morfologi. Hasil pengamatan dengan melakukan pewarnaan Gram pada mikroskop dengan perbesaran kuat (100x) akan tampak berwarna ungu, berbentuk bulat dan bergerombol seperti buah anggur. Bakteri Gram positif (*Staphylococcus aureus*) memiliki peptidoglikan yang lebih tebal dari pada Gram negatif, sehingga pada pengecatan Gram *Staphylococcus aureus* dapat mempertahankan warna violet dari Gram A (kristal violet). Tujuan pewarnaan Gram ialah untuk melihat morfologi bakteri dan bentuk sel. Perbedaan respon terhadap mekanisme pewarnaan Gram didasarkan pada struktur dan komposisi dinding sel bakteri. Bakteri Gram positif mengandung protein dalam prevalensi lebih rendah dan dinding selnya tebal. Pemberian kristal violet dan iodine, pemberian alkohol (etanol) pada pewarnaan Gram menyebabkan tidak terestrasinya lipid sehingga memperkecil permeabilitas dinding sel Gram positif. Dinding selnya terhidrasi dengan perlakuan alkohol, pori-pori mengkerut, daya rembes dinding sel dan membran

menurun sehingga pewarnaan safranin tidak dapat masuk sehingga sel berwarna ungu (Pelezar & Chan 2000). Hasil gambar identifikasi secara mikroskopis dapat dilihat pada Lampiran 8.

8. Hasil Identifikasi fisiologi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

8.1 Identifikasi fisiologi-koagulase. Uji koagulase menggunakan plasma darah klinici yang diberi nama asam sitrat, diencerkan (1:5) ditambah satu ose biakan bakteri, diinkubasi pada suhu 37°C. Hasil pengamatan tabung diperiksa dengan melihat pembentukan selama 1-4 jam. Hasil positif kuat jika tabung tes dibalik atau dimiringkan, gumpalan plasma tidak terlepas dan tetap melekat pada dinding tabung. *Staphylococcus aureus* yang bersifat koagulase positif akan menggumpalkan plasma dalam waktu 1 jam (Jawetz *et al.* 2001). Hasil identifikasi pada penelitian ini menunjukkan positif terjadi perubahan plasma darah klinici yang terdenaturasi oleh *Staphylococcus aureus* sehingga terjadi pengumpulan putih. Tes koagulasi ini digunakan untuk membedakan antara bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*, karena *Staphylococcus epidermidis* tidak membentuk gumpalan-gumpalan putih. Hasil gambar identifikasi secara koagulase atau biokimia dapat dilihat pada Lampiran 8.

8.2 Identifikasi fisiologi-katalase. Uji katalase menggunakan suspensi bakteri uji yang ditanam pada medium nutrien cair dengan H₂O₂ 3%. Hasil positif ditandai dengan adanya gelembung udara sebab bakteri *Staphylococcus aureus* mempunyai katalase. Penambahan H₂O₂ akan terurai menjadi H₂ dan O₂, hal ini ditandai dengan timbulnya gelembung udara. Uji katalase dilakukan untuk membedakan antara *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus*. Gambar dapat dilihat pada lampiran 8.

9. Hasil pengujian aktivitas antibakteri minyak atsiri rimpang bangle dan biji pala secara difusi

Metode difusi ini, dari kombinasi minyak atsiri rimpang bangle dan biji pala yang digunakan dalam pengujian daya hambat antibakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan konsentrasi 50%, 25%, 12,5% pada kombinasi perbandingan 1:1, 1:2, 1:3, 2:1, 3:1. Masa inkubasi dilakukan selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil diameter hambat dari uji difusi minyak atsiri rimpang bangle dan biji pala secara tunggal dan kombinasi dapat dilihat pada Tabel 10, 11 dan 12.

Tabel 10. Diemeter hambat tunggal dan kombinasi pada konsentrasi 50%

Konsentrasi 50%	Diameter daerah hambatan (mm)			Rata-Rata±SD
	Replikasi I	Replikai II	Replikasi III	
Chloroxylenol(+)	27	26	27	26,67 ± 0,5774
Rimpang bangle	18,2	19	20	19,07 ± 0,9018
Biji pala	16,2	16,8	16	16,33 ± 0,4163
" 1:1 "	18,2	18	17	17,73 ± 0,6429
" 1:2 "	16,8	16	15	15,5 ± 0,7071
" 2:1 "	21,2	21	20,4	20,87 ± 0,4163
" 1:3 "	20	21,4	21	20,8 ± 0,7211
" 3:1 "	24,4	24	25	24,47 ± 0,5033

Keterangan : Chloroxylenol 5%

Tabel 11. Diemeter hambat tunggal dan kombinasi pada konsentrasi 25%

Konsentrasi 25%	Diameter daerah hambatan (mm)			Rata-Rata±SD
	Replikasi I	Replikai II	Replikasi III	
Chloroxylenol(+)	24,2	25,4	24	24,53 ± 0,7572
Rimpang bangle	16	17	16,4	16,47 ± 0,5033
Biji pala	14	15	15,6	14,87 ± 0,8083
" 1:1 "	14,6	14,8	14	14,47 ± 0,4163
" 1:2 "	15	15,6	15	15,2 ± 0,3464
" 2:1 "	16	17	15,6	16,2 ± 0,7211
" 1:3 "	17,2	17,4	15,8	16,8 ± 0,8718
" 3:1 "	18,6	19,4	17,2	18,4 ± 1,1136

Keterangan : Chloroxylenol 2,5%

Tabel 12. Diemeter hambat tunggal dan kombinasi pada konsentrasi 12,5%

Konsentrasi 12,5%	Diameter daerah hambatan (mm)			Rata-Rata±SD
	Replikasi I	Replikai II	Replikasi II	
Chloroxylenol(+)	20,8	19	20	19,93 ± 0,9018
Rimpang bangle	15	14,6	14,8	14,8 ± 0,2
Biji pala	10,8	11,8	12	11,53 ± 0,6429
" 1:1 "	11,2	11,6	11	11,27 ± 0,3055
" 1:2 "	11,8	12	11,2	11,67 ± 0,4163
" 2:1 "	14,2	14,8	14	14,33 ± 0,4163
" 1:3 "	12,8	12	13	12,6 ± 0,5292
" 3:1 "	15,4	16	15,6	15,67 ± 0,3055

Keterangan: Choloxyleneol 1,25%

Pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi cakram pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25925 dapat dilihat pada tabel 10, 11 dan 12 dimana konsentrasi yang digunakan adalah 50%, 25%, dan 12,5%. Hasil dari uji difusi antara uji tunggal rimpang bangle, tunggal biji pala, kontrol positif dan kombinasi (1:1,1:2,1:3,2:1,3:1). Bahwa yang mempunyai daya hambat paling tinggi dari semua konsentrasi adalah kontrol positif, yang diameter daya

hambatnya yaitu $50\% = 26,67 \pm 0,5774$. Hasil pengamatan daya hambat pada uji kombinasi dengan dengan konsentrasi 50%, 25% dan 12,5%, tidak terlihat adanya pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Hal ini menunjukkan kombinasi minyak atsiri rimpang bangle dan biji pala mempunyai aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 50%, 25% dan 12,5%. Hasil kombinasi daya hambat yang paling tinggi yaitu pada kombinasi 3:1 dengan diameter hambat $24,47 \pm 0,5033$ pada konsentrasi 50%.

Berdasarkan hasil analisis statistik untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan daya hambat yang signifikan dari sampel minyak atsiri tunggal dan kombinasi yang diteliti. Hasil uji Shapiro wilk menunjukkan bahwa nilai signifikasinya lebih besar dari 0,05 sehingga dapat disimpulkan data daya hambat yang diperoleh terdistribusi normal. Hasil uji kemasanan varian dilakukan dengan uji test homogeneity of variances pada kolom *Levene Statistic* menunjukkan bahwa signifikansinya adalah 0,452. Nilai tersebut lebih besar dari 0,05 maka dapat disimpulkan bahwa varian data tunggal dan kombinasi adalah sama. Untuk mengetahui apakah ada perbedaan daya hambat yang signifikan dari data sampel tunggal dan kombinasi, maka dilanjutkan dengan melakukan uji two-way ANOVA. Hasil analisis two-way ANOVA dilakukan dengan menggunakan *Post Hoc Test* dengan melihat Homogeneous Subsets. Hasil bisa dilihat pada kolom subsets bahwa daya hambat kontrol positif memiliki perbedaan yang signifikan dari minyak atsiri tunggal rimpang bangle, biji pala dan kombinasi (1:1; 1:2; 2:1; 1:3; 3:1). Daya hambat minyak atsiri dari kombinasi 3:1 mempunyai perbedaan yang signifikan dari minyak atsiri tunggal rimpang bangle, tunggal biji pala, kontrol positif dan kombinasi (1:1; 1:2; 2:1; 1:3) pada uji Two Way ANOVA, dengan demikian dapat disimpulkan bahwa adanya perbedaan daya hambat yang lebih tinggi adalah kontrol positif. Berdasarkan hasil rata-rata diameter daya hambat pada kombinasi yang lebih tinggi yaitu pada kombinasi dengan perbandingan 3:1 dibandingkan dengan kombinasi 1:1; 1:2; 2:1; 1:3. Hasil tersebut menunjukkan bahwa adanya perbedaan aktivitas penghambatan kombinasi rimpang bangle dan biji pala yang dipengaruhi oleh perbedaan

kandungan senyawa minyak atsiri rimpang bangle dan biji pala. Hasil tersebut juga menunjukkan kombinasi minyak atsiri pada aktivitas antibakteri berpengaruh terhadap *Staphylococcus aureus*.

Kandungan minyak atsiri yang berbeda mempengaruhi lipofilitas minyak atsiri yang dapat mempengaruhi aktivitas kombinasi minyak atsiri (Siswandono & Soekardjo 2000). Interaksi yang terjadi pada kombinasi minyak atsiri rimpang bangle dan biji pala disebabkan oleh adanya hubungan antara jumlah senyawa lipofil yang terkandung dalam masing-masing minyak atsiri dan kelarutan senyawa aktif dalam media dengan mekanisme aksi yang bermacam-macam (Ardani *et al.* 2010).

Senyawa 4-terpineol (70.96%) merupakan salah satu senyawa tertinggi yang terkandung dalam minyak atsiri rimpang bangle. Senyawa 4-terpineol adalah golongan senyawa monoterpen yang mempunyai antibakteri spektrum luas dan mempunyai aktivitas terhadap *Staphylococcus aureus*. Mekanisme kerja dari senyawa 4-terpineol adalah mendisintegrasi membran terluar dari bakteri (Cristine *et al.* 2002). Komponen senyawa pada minyak atsiri biji pala adalah sabinene (6.62%) merupakan senyawa monoterpen juga yang diduga bersifat antibakteri yang kuat. Hal ini didukung oleh hasil penelitian (Sasidhara & Manon 2010) yang melaporkan komponen monoterpen aktif menghambat bakteri *B. Subtilis* dan *P. aeruginosa*. Rachmi *et al.* 2014 melaporkan bahwa kandungan senyawa fenolik dan terpenoid dalam biji pala dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

Aktivitas penghambatan kombinasi minyak atsiri rimpang bangle dan biji pala menunjukkan penghambatan yang tinggi. Aktivitas antibakteri kombinasi minyak atsiri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* bersifat sinergis. Hal ini ditunjukkan dengan adanya kombinasi minyak ini dapat meningkatkan aktivitas penghambatan terhadap *Staphylococcus aureus*.

Aktivitas kerja minyak atsiri dalam menghambat pertumbuhan atau mematikan bakteri yaitu dengan cara mengganggu proses terbentuknya membran dan atau dinding sel, membran atau dinding sel tidak terbentuk atau terbentuk

sencara sempurna (Ajizah 2004). Minyak atsiri juga dapat melarutkan fosfolipid yang merupakan penyusun dinding sel bakteri, hal ini dikarenakan komponen minyak atsiri biji pala hasil GC-MS mempunyai percabangan gugus fenol maupun alkohol. Adanya gugus fenol maupun alkohol berfungsi sebagai racun terhadap mikroba (Cowam 1999). Hasil uji statistik dapat dilihat pada Lampiran 15.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

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

Pertama, minyak atsiri tunggal dan kombinasi (1:1; 1:2; 1:3; 2:1; 3:1) dari rimpang bangle dan biji pala mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kedua, dari uji difusi daya hambat yang paling besar adalah kombinasi rimpang bangle dan biji pala yang pada perbandingan 3:1 dengan diameter daya hambatnya adalah $24,47 \pm 0,503$.

B. Saran

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

1. Perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri minyak atsiri rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* R.) dan biji pala (*Myristica fragrans* H.) dengan kombinasi tanaman lain dan menggunakan spesies bakteri patogen yang berbeda.
2. Perlu dikembangkan formula sediaan topikal terhadap *Staphylococcus aureus* dari minyak atsiri rimpang bangle dan biji pala secara kombinasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Adams, R.P. 2004. *Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectrometry*. Carol stream, Allured.
- Agusta, A., 2000, Minyak Atsiri Tumbuhan Tropika, Penerbit ITB, Bandung, Hal: 1-21, 113.
- Ajizah, A. 2004. Sensitivitas Salmonella Typhimurium Terhadap Ekstrak Daun Psidium Guajava L. Bioscientiae. 1(1):31-38.
- Angraini, FP., (2015). Efek Kombinasi Minyak Atsiri Bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.) dan Jahe Merah (*Zingiber officinale var rubrum*) SEBAGAI ANTIBAKTERI Terhadap Staphylococcus aureus dan Escherichia coli [SKRIPSI]. Jember : Fakultas Farmasi. Universitas Jember.
- Ardani, M., Pratiwi S.U.T. dan Hertiani, T., 2010. Efek Campuran Minyak Atsiri Daun Cenkeh dan Kulit Batang Kayu Manis sebagai Antiplak Gigi. *Majalah Farmasi Indonesia*, 21(3):191-201.
- Bhuiyan M. N. I., Chowdhury J. U., and Begum J. 2008. Volatile constituents of Essential Oils From Leaf and Rhizoma of *Zingiberaceae cassumunar* Roxb. *Bangladesh Jurnal Of pharmacology*, 3(2): 69-73.
- Caused by Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*, United States, 1999-2005, 13 (12).
- Christine, F., Carson., Brian, J., Mee, Thomas, V., Rihey.2002. *Mechanism of Action of Melaleuca Alternifolia (tea Tree) Oil on Staphylococcus aureus Determined by Time Kill, Lysis Leakage, and Salt Tolerance Assays and Electron Microscopy*. *Jurnal American Society for Microbiology*. (46) : 1914-20
- Cowan, M. M. 1999. *Plan product as Antimicrobial Agents*. Oxford. Miami University. Hal. 331.
- Cox. S.d., Mann, C. M., and Markham, J. L., 2001. Interaction between Coponents of the Essentian Oil of *Melaluca alternifolia*. *Journal of Appliad Microbiology*, 91 (3):492-497.
- Davies & Cartwright, 1998. Gentamicin Dosage Intervals in Neonates Longer Dosage Interval Less Toxicity. *Jurnal of Paediatrics and Chil Health*, 34 (6): 577-580.
- [Depkes] RI. 1979. *Farmakope Indonesia*. Edisi III. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

- [DEPKES RI] Departemen Kesehatan RI. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Depkes. 2003. *Pedoman Teknologi Pengolahan Cassiavera*. Jakarta: Departemen Pertanian.
- Dorman H.J.D. & Deans S. G. 2000. Antimicrobial Agents from Plants: Antibacterial Activity of Plant Volatile Oils. *Journal Applied Microbiology*. Vol. 88(2):308-316.
- Garrity GM, Lilburn JR, Cole SH, Harrison J, Euzeby and BJ Tindal. 2007. *Taxonomic outline of the Bacteria and Archaea*, Release 7.7. Michigan: Michigan State University Board of Trustees. P. 364. 464.
- Gibson, 1996, *Perilaku Organisasi*, Rineka Cipta, Jakarta.
- Gibson, M. 1957. *Pharmaceutical Preformulation and Formulation*. Second Edition. Leicestershire. Informa healthcare. Hlm 476.
- Ginanjar, E. F., Retnaningrum, E., Septriani, N. I., Octaviani, A., Wiyati, D. A. T. M., & Rosrinda, E., 2010, *Handy Gel Carrota Hasil Fermentasi Daun Wortel Sebagai Antibakteri Penyebab Penyakit Kulit*, *Seminar Nasional Biologi*, Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 1169.
- Gunardi, M Mansyur, E Fachriyah & M Kurnianingsih. 2001. Daya antalgetik ekstrak rimpang bengle (*Zingiber cassumunar Roxb.*) pada mencit dengan metode induksi nyeri cara kimia (*Laporan Penelitian*). Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro, Semarang.
- Gunawan D, Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi)*. Jilid 1. Jakarta : Penebar Swadaya. Hlm 106-107.
- Gupta, A.D., Vipin Kumar Bansal, Vikash Babu, Nishi Maithil. 2013. Chemistry, antioxidant and antimicrobial potential of nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt), *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*.
- Gupta C., 2008, Antimicrobial Activity of Some Herbal Oils Againsts Common Foodborne Pathogens, *African Journal of Microbiology Research*, 2(2), pp.258–261.
- Hanani, E. Kawira J.A & C. Dilanka. 2000. Pola kromatogram lapis tipis dan gas cair rimpang dan akar *Zingiber cassumunar*. Makalah pada Kongres Nasional Obat Tradisional Indonesia. Surabaya 20-22 September 2000.
- Herbie T. 2015. *Kitab Tanaman Berkhasiat Obat*. Yogyakarta: Octopus Publising House.

- Hidayati, N. et al (2015). Penyulingan Minyak biji pala: Pengaruh Ukuran Bahan, Waktu dan Tekanan Penyulingan Terhadap Kualitas dan Rendemen Minyak. ISSN 1412-9612.
- Holt, J.G., krieg, N.R., Sneath, P.H.A., staley, J.T. dan Wiliams, S.T. (1994). *Bergey's manual of Determinative Bacteriology*, Ninth Edition. USA. Lippincot wiliams & wilkins, philadelphia.
- Inventaris Tanaman Obat Indonesia Depkes & Kesejahteraan Sosial R.I. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Tahun 2000.
- Iskamto bambang. 2009. *Bakteoriologi Kesehatan*. Surakarta: UNS Press. Hlm 14.
- Jawetz, E, Melnick, J.I., and Adelberg, E. A, 1996, *Mikrobiologi Kedokteran*, 234- 240, 286- 290, Diterjemahkan oleh Nugroho, E., dan Maulany Edisi XX, EGC, Jakarta
- Jawetz. E, Melnick, J.L., dan Adelberg, E. A, 2005. *Microbiologi Untuk Profesi Kesehatan*. Terjemahan Huriati dan Hartanto. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 1986. *Review of Medical Mokrobiology*. Ed 16th. California: Lange Medical Publication. Gerald Bonang, penerjemah. Jakarta: Fakultas Kedokteran Unika Atmajaya
- Jawetz E, Melnick J.L, Adelberg EA. 1995. *Review Of Medical Mikrobiologi*. Ed 16th. California: Lange Medical Publication. Gerald Bonang, penerjemah. Jakarta: Fakultas Unika Atmajaya
- Jawetz, E. Melnick, J. L., Adelbergs. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran*. Surabaya: Salemba Medika. Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
- Jawetz E, JL Melnick, EA Adelberg, GF Brooks, JS Butel, LN Ornston. 2007. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi ke-23, Nugroho, Maulany RF, Penerjemah; Jakarta: Buku Kedokteran EGC. Terjemahan dari: *Medical Microbiology*
- Katarnida, S. S., Murniati, D., dan katar, Y. 2014. Evaluasi Penggunaan Antibiotik secara Kualitatif di RS Penyakit Infeksi Sulianti Saroso. *Sari Pediatri*. Vol. 15 (6): 369-376.
- Katzung, B. G. 1997. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Edisi Ke 6. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.

- Ketaren, 1987, Minyak atsiri, UI Press, Terjemahan : Guenther, E., 1947, Essential Oils, Vol.1, John Willey and Sons, New York, Hal : 21-25, 90,132-134, 244-245.
- Koensoemardiyah S. 2010 A to Z *Miyak Atsiri Untuk Industri Makanan, Kosmetik dan Aroma terapi*. Yogyakarta: Penerbit ANDI
- Kusumaningrum, dkk. 2003. Aktivitas Penghambatan Minyak Atsiri dan Ekstrak Kasar Biji Pala (*Myristica fragrans* Houtt dan *Myristica fattua* Houtt) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Xanthomonas campestris* Oammel asal Tanaman Brokoli (*Brassica oleracea* var. *italica*). *Biofarmasi*. 1(1): 20-24.
- Lawrence, B. M., Hogg, J. W., and Tarhun, S. J. 1970. *Essential Oil of Zingiber cassumunar*. *Riechst aromen koerpepjlegem*. Vol. 20 (7): 261-267
- Lay, W. B. 1994. *Analisa Mikroba di Laboratorium*. Edisi 1. Jakarta: PT. Raja Grafindo persada
- Marliani. L., 2012. Aktivitas Antibakteri Dan Telaah Senyawa Komponen Minyak Atsiri Rimpang Bangle (*Zingiber Cassumunar* Roxb.). Bandung: *Prodi S1 Farmasi, Sekolah Tinggi Farmasi Bandung*. ISSN 2089-3582
- Meili Wati. 2014. Perbandingan aktivitas antimikroba isopropanol, chloroxylenol, dan triclosan terhadap *Staphylococcus aureus* *in vitro*. *Jurnal Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Maranatha*. 6:134-135.
- Nurdjannah, N. 2007. *Teknologi Pengolahan Pala*. Balai Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Jakarta.
- Padmawinata, K., dan Sudiro, I., 1987, Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan, ITB, Bandung, Terjemahan: Phytochemical Methods, Harborne, J.B., 1973, Chapman and HallLtd. London.
- Piaru, S.P., Mahmud, A.M.S., Abdul-Majid, S., Ismail, C.N., Man. 2011. Chemical Composition Antioxidant and Cytotoxicity Activities of the Essential Oils of *Myristica fragrans* Houtt and *Morinda citrifolia*. *Journal*.
- PIRAS A., B. MARONGIU , A. ATZERI, MA.DESSI, and D. FALCONIERI. 2012. Extraction and separation of volatile and fixed oils from seeds of *Myristica fragrans* by supercritical CO₂. *J. Food Sci.* 77(4): P 448-453.
- Pithayanukul, P., Tubprasert, J., Wuthi-Udomlert, M. (2007). *In Vitro* Antimicrobial Activity of *Zingiber cassumunar* (plai) Oil and a 5% Plai Oil Gel. *Phytother. Res.*, 21, 164-169
- Pramono, S. 2008. *Persona Sansevieria*. PT. Argomedia Pustaka, Jakarta.

- Purseglove, J.W. 1987. *Tropical Crops; Dicotyledons*. London: Longman.
- Rachmi, W., Zamri, A., dan Yuharmen. 2014. Perbandingan Isolasi Minyak Atsiri Biji Pala (*Myristica fragrans* Houtt) Cara Hidrodistilasi *Microwever* Dan konvensional Serta Uji Aktivitas Antibakteri Dan Antioksidan. Pekanbaru: FMIPA, Bina Widya Pekanbaru.
- Radji M. 2011. *Buku Ajar mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Raharjo, Mono. SMD, Rosita. Sudiarto dan Kosasih. 2004. *Peranan Populasi Tanaman Terhadap Produktivitas Bangle (Zingiber cassumunar Roxb.)*. Jurnal Bahan Alam Indonesia.
- Rismunandar, 1990 . *Budidaya dan Tataniaga pala*. Jakarta: PT. Penebar Swadaya.
- Robbers. J. E., Marylin K. S., Varro E. T., 1996, *Pharmacognosy and Pharmacobiotechnology*, 95- 96, William & Wilkins Baltimore
- Ryan KJ *et al.* 1994.*Medical MicrobiologyAn Intraduction to Infectius Disease*. Edisi ke-3. Connecticut: Appleton & Lange. Hlm. 254
Salemba Medika. Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
- Sari. L. O. R. K. 2006. Pemanfaatan Obat Tradisional dengan Pertimbangan Manfaat dan Keamanannya. *Majalah IlmuKefarmasian*, Vol. III, No.1. Hal. 1-7.
- Sastrohamidjojo H. 2014. *Kimia Minyak Atsiri*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Siswandono & Soekarjo, 2000. *Kimia Medicinal*. Surabaya: Airlangga University press.
- Stahl. E. 2008. *Analisa Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopis*. Padmawinanto K, Sudiro L., Penerjemah: Bandung: Penerbit ITB.
- Subronto dan Tjahadjati, 2001. *Ilmu Penyakit Ternak II*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Supriadi., C. Winarti, dan Hernani. 1999. Potensi daya antibakteri beberapa tanaman rempah dan obat terhadap isolat *Ralstonia solanacearum* asal jahe. *Hayati* 6 (2): 43-46.

- Suriawiria, U., 2005. *Pengantar Mikrobiologi Umum*, Penerbit Angkasa, Bandung, 60-61, 57-58.
- Syamsuhidayat, S.S dan J. R Hutapea, 1991. Inventarisasi Tanaman Obat Indonesia I. Depkes- RI, POM danLitbangKes, Jakarta.
- Syukur, Cheppy. Hernani. 2001. Budi Daya Tanaman Obat Komersial. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Takikawa, A., Keiko Abe, Makiko Yamamoto, Shoko Ishimaru, Mari Yasui, Yoko Okubo, and Kumio Yokoigawa. 2002. Antimicrobial Activity of Nutmeg against *Escherichia coli* O 157, *Jurnal of Bioscience and Bioengineering*, Vol. 94, No. 4,3 15-320.
- Tripathi, Priyanka, Ruby, and Shivangi, 2013. Essential Oil from Family *Zingiberaceae* for Antimicrobial Activity-A Review. *International Jurnal Phamaceutical Biology Science*. Vol. 4(4): 149-162.
- Westphal, E. and P.C.M. Jansen. 1993. Prosea: Plant Resources of SouthEast Asia, A Selection. Bogor: Prosea Foundation. Ir. Hatta Sunanta, BSC. MS., Budidaya Pala, Cetakan Pertama, Penerbit Konisius, Yogyakarta.
- WHO, 2013, Initiative for Vaccine Research (IVR), Staphylococcal infection, (http://www.who.int/vaccine_research/disease/soa_bacterial/en/index2.html diakses tanggal 23 Mei 2013)
- Wirasuta I.M.A.G. and Niruri R., 2006, Toksikologi umum, Dalam pp. 27–28. Xu H. and Lee S.F., 2004, The Antibacterial Principle of *Caesalpinia sappan*, *Phytotherapy Research*, 647–651.
- Wonohadi, E. & Sutarjadi. 2000. Studi komponen dan komponen aktif minyak atsiri rimpang bengle (*Zingiber purpureum* Roxb.). Prosiding Seminar Nasional XVI Tumbuhan Obat Indonesia. Badan Penerbit Univ. Diponegoro Semarang. 113-115.
- Yamamoto, Kitayama, Minagawa, Watanabe, Sawada, Okatomo, and Ustumi. 2001. Antibacterial Agent That Inhibit Histidin Protein Kinase YycG of *Bacillus subtilis*. *Bioscience Biotechnology Biochemistry*.

L

A

M

P

I

R

A

N

Lampiran 1. Surat Keterangan Identifikasi Rimpang Bangle Dan Biji Pala



UNIVERSITAS GADJAH MADA
FAKULTAS FARMASI

Sekip Utara, Yogyakarta 55281 Telp./Fax. +62 274 543120
http://farmasi.ugm.ac.id, E-mail: farmasi@ugm.ac.id

SURAT KETERANGAN
No. : UGM/FA/2017/M/03/02

Kepada Yth. :
Sdri/Sdr. Rina Setya Ningsih
NIM.19133912 A
Fakultas Farmasi USB
Di Surakarta.

Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi sampel yang saudara kirimkan ke Departemen Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi UGM, adalah :

NO.Pendaftaran	Jenis	Suku
112	<i>Zingiber cassumunar</i> Roxb.	Zingiberaceae
	<i>Myristica fragrans</i> Houtt.	Myristicaceae

Demikian, semoga dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Mengetahui,
Dekan

Prof. Dr. Agus Indro Nugroho, M.Si., Apt.



Yogyakarta, 22 Mei 2017
Ketua Departemen Biologi Farmasi

Dr. Indah Purwantini, M.Si., Apt.

Lampiran 2. Gambar rimpang bangle dan biji pala



Rimpang bangle



Biji pala



Rangkaian alat destilasi uap dan air



Pemisahan minyak dan air

Lampiran 3. Gambar minyak atsiri rimpang bangle, biji pala dan alat



Minyak atsiri rimpang bangle



Minyak atsiri biji pala



Refraktometer



Gas Chromatography



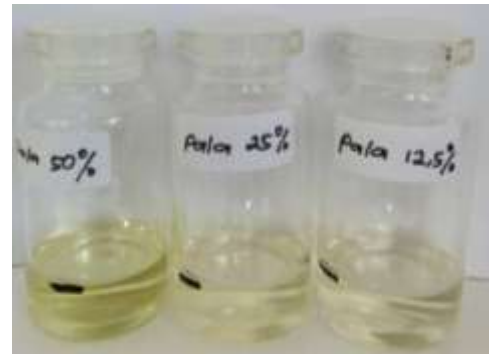
Neraca analitik



Vortex mixer

Lampiran 4. Alat sterilisasi**Autoklaf****Oven****Inkubator****Inkas**

Lampiran 5. Bahan uji antibakteri



Tunggal minyak atsiri rimpang bangle

Tunggal minyak atsiri biji pala



Kombinasi minyak atsiri konsentrasi 50%



Kombinasi minyak atsiri konsentrasi 25%



Kombinasi minyak atsiri konsentrasi 12,5%



Suspensi bakteri difusi



Bakteri murni



Cakram ukuran 6 mm



kontrol (+)

Lampiran 6. Gambar hasil pemeriksaan identifikasi minyak atsiri rimpang bangle dan biji pala menggunakan kertas saring dan kelarutan dalam alkohol 70%



Minyak atsiri rimpang bangle



minyak atsiri biji pala



Minyak atsiri rimpang bangle

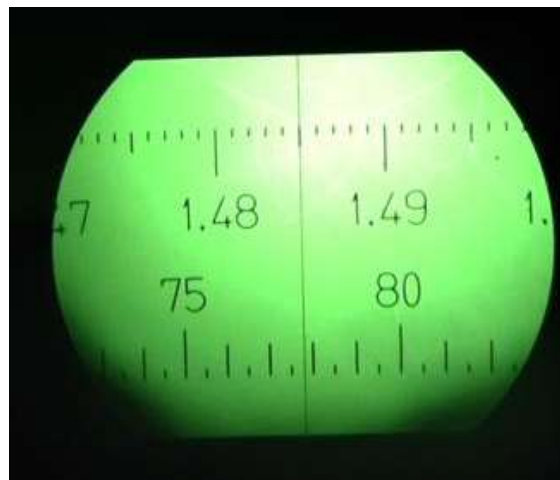


minyak atsiri biji pala

Lampiran 7. Gambar hasil pemeriksaan indeks bias minyak atsiri rimpang bangle dan biji pala pada suhu 27,5°C.

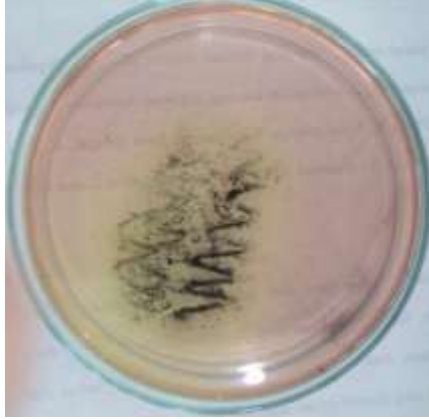


A. Indeks bias minyak atsiri rimpang bangle dengan nilai 1,495

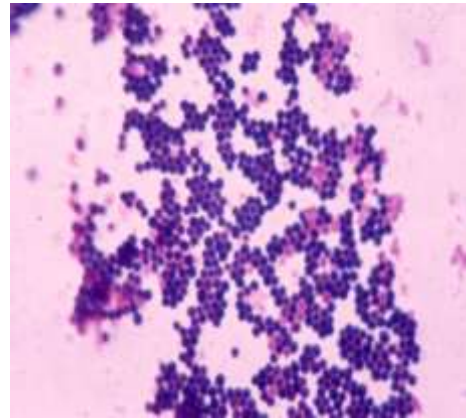


B. Indeks bias minyak atsiri biji pala dengan nilai 1,485

Lampiran 8. Gambar identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



Uji berdasarkan koloni



Uji berdasarkan mikroskopis



Uji berdasarkan katalase



Uji berdasarkan fisiologi-koagulase

Lampiran 9. Perhitungan hasil prosentase rendemen minyak atsiri rimpang bangle dan biji pala

- ✓ Perhitungan kadar rendemen minyak atsiri rimpang bangle:

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{Hasil ekstraksi}}{\text{Bobot sampel}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \text{Persen rendemen} &= \frac{10 \text{ ml}}{5000 \text{ g}} \\ &= 0,2 \% \end{aligned}$$

Jadi, persen rendemen dari hasil destilasi uap air minyak atsiri rimpang bangle adalah 0.2 %

- ✓ Perhitungan kadar rendemen minyak atsiri biji pala:

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{Hasil ekstraksi}}{\text{Bobot sampel}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \text{Persen rendemen} &= \frac{10 \text{ ml}}{3000 \text{ g}} \\ &= 0,33 \% \end{aligned}$$

Jadi, persen rendemen dari hasil destilasi uap air minyak atsiri biji pala adalah 0,33%

Lampiran 10. Hasil perhitungan indeks bias minyak atsiri

Sampel	Indeks bias praktek	Indeks bias pustaka
Rimpang bangle	1,495	1,489
Biji pala	1,485	1,475-1,485

Perhitungan konversi suhu ruang dalam pemeriksaan indeks bias :

Peritungan konversi suhu pada setiap kenaikan $1^{\circ}\text{C} = 0,0044$

Indeks bias teoritis $20^{\circ}\text{C} = 1,489$

Suhu ruang praktek 31°C

Perhitungan :

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

$$\text{Indeks bias pada suhu } 31^{\circ}\text{C} = (1,489 + 0,0044)$$

Jadi indeks bias pada teoritis pada rimpang bangle adalah $= 1,493$

Indeks bias minyak atsiri rimpang bangle menurut praktek adalah 1,495

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

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

$$\text{Indeks bias pada suhu } 31^{\circ}\text{C} = (1,475 + 0,0044) - (1,485 + 0,0044)$$

Jadi indeks bias pada teoritis pada biji pala adalah $= 1,479 - 1,489$

Indeks bias minyak atsiri biji pala menurut praktek adalah 1,485

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

Lampiran 11. Perhitungan hasil bobot jenis minyak atsiri rimpang bangle

Bobot timbang kosong	Bobot timbang air	Bobot timbang + minyak (g)		Berat minyak (g)	
		Rimpang bangle	Biji pala	Rimpang bangle	Biji pala
28,98	30,46	30,37	30,43	1,39	1,45
28,98	30,63	30,39	30,45	1,41	1,47
28,98	30,59	30,40	30,35	1,42	1,37
			Rata-rata	1,407	1,43

Perhitungan bobot jenis

I. Bobot jenis rimpang bangle:

$$\text{Bobot botol timbang kosong + air} = 30,46 \text{ gram}$$

$$\text{Bobot botol timbang kosong} = 28,98 \text{ gram}$$

$$\text{Bobot air} = 1,48 \text{ gram}$$

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

$$= \frac{1,39}{1,48}$$

$$= 0,939$$

$$\text{Bobot botol timbang kosong + air} = 30,63 \text{ gram}$$

$$\text{Bobot botol timbang kosong} = 28,98 \text{ gram}$$

$$\text{Bobot air} = 1,65 \text{ gram}$$

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

$$= \frac{1,41}{1,65}$$

$$= 0,876$$

$$\begin{aligned} \text{Bobot botol timbang kosong + air} &= 30,59 \text{ gram} \\ \text{Bobot botol timbang kosong} &= 28,98 \text{ gram} \end{aligned}$$

$$\text{Bobot air} = 1,61 \text{ gram}$$

$$\begin{aligned} \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{bobot minyak}}{\text{bobot air}} \\ &= \frac{1,42}{1,61} \\ &= 0,882 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata bobot jenis minyak atsiri rimpang bangle} &= \frac{0,939+0,876+0,882}{3} \\ &= 0,899 \end{aligned}$$

II. Bobot jenis biji pala

$$\begin{aligned} \text{Bobot botol timbang kosong + air} &= 30,46 \text{ gram} \\ \text{Bobot botol timbang kosong} &= 28,98 \text{ gram} \end{aligned}$$

$$\text{Bobot air} = 1,48 \text{ gram}$$

$$\begin{aligned} \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{bobot minyak}}{\text{bobot air}} \\ &= \frac{1,45}{1,48} \\ &= 0,979 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Bobot botol timbang kosong + air} &= 30,29 \text{ gram} \\ \text{Bobot botol timbang kosong} &= 28,98 \text{ gram} \end{aligned}$$

$$\text{Bobot air} = 1,65 \text{ gram}$$

$$\begin{aligned} \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{bobot minyak}}{\text{bobot air}} \\ &= \frac{1,47}{1,65} \\ &= 0,891 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Bobot botol timbang kosong + air} &= 30,59 \text{ gram} \\ \text{Bobot botol timbang kosong} &= 28,98 \text{ gram} \end{aligned}$$

$$\text{Bobot air} = 1,61 \text{ gram}$$

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

$$= \frac{1,37}{1,61}$$

$$= 0,851$$

Rata-rata bobot jenis minyak atsiri biji pala = $\frac{0,979+0,891+0,851}{3} = 0,907$

Jadi, bobot jenis minyak atsiri rimpang bangle adalah 1,407 %

Jadi, bobot jenis minyak atsiri biji pala adalah 1,43 %

Perhitungan konversi pada suhu ruang dalam percobaan bobot jenis :

Faktor konversi pada suhu setiap kenaikan 1°C = 0,0007

Berat jenis minyak rimpang bangle teoritis 20 °C = 0,8940

Suhu ruang praktek = 31°C

Perhitungan :

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

$$\text{Jadi, bobot teoritis pada suhu } 31^\circ\text{C} = (0,8940 + 0,0077)$$

$$= 0,9017$$

Berat jenis minyak biji pala teoritis 20 °C = 0,885 – 0,907

Suhu ruang praktek = 31 °C

Perhitungan :

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

$$\text{Jadi, bobot teoritis pada suhu } 31^\circ\text{C} = (0,885+0,0077) - (0,907+0,0077)$$

$$= 0,8927 - 0,9147$$

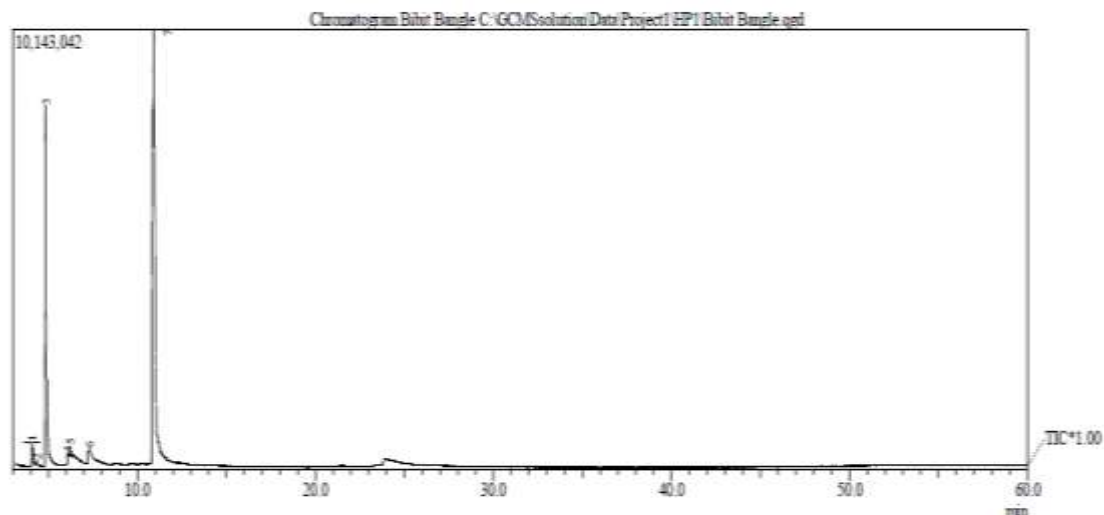
Bobot jenis minyak atsiri rimpang bangle menurut praktek adalah 0,899

Bobot jenis minyak atsiri biji pala menurut praktek adalah 0,907

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

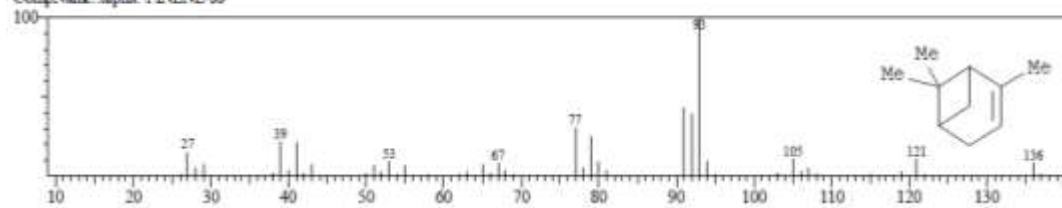
Lampiran 12. Hasil analisis GCMS minyak atsiri

Kromatogram minyak atsiri rimpang bangle

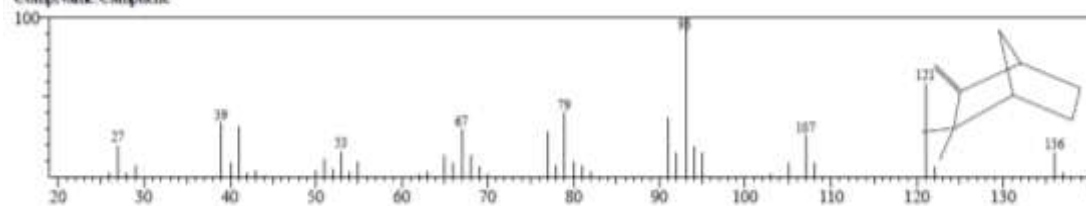


Komponen senyawa minyak atsiri rimpang bangle

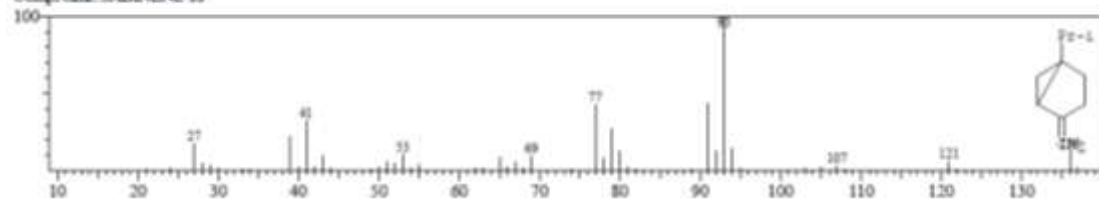
Hit# 1 Entry: 19707 Library: WILEY229.LIB
 SI: 96 Formula: C₁₀H₁₆ CAS: 80-56-8 MolWeight: 136 RefIndex: 0
 CompName: alpha-PINENE SS



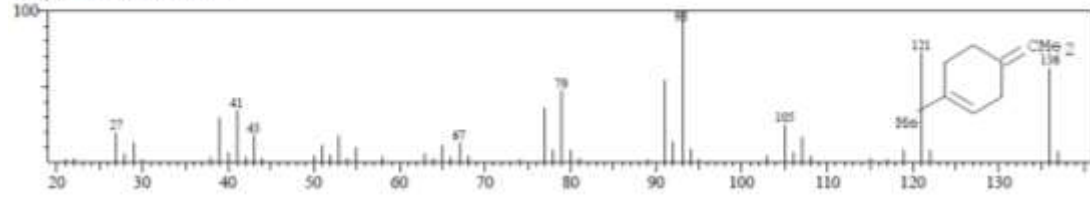
Hit# 4 Entry: 3531 Library: NIST12.LIB
 SI: 92 Formula: C₁₀H₁₆ CAS: 79-92-5 MolWeight: 136 RefIndex: 0
 CompName: Camphene



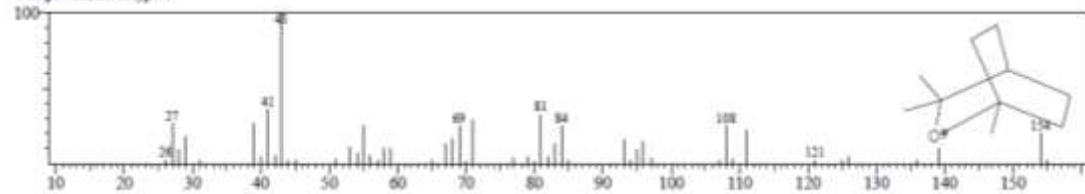
Hit# 2 Entry: 19703 Library: WILEY229.LIB
 SI: 96 Formula: C₁₀H₁₆ CAS: 3387-41-5 MolWeight: 136 RefIndex: 0
 CompName: Sabinene SS



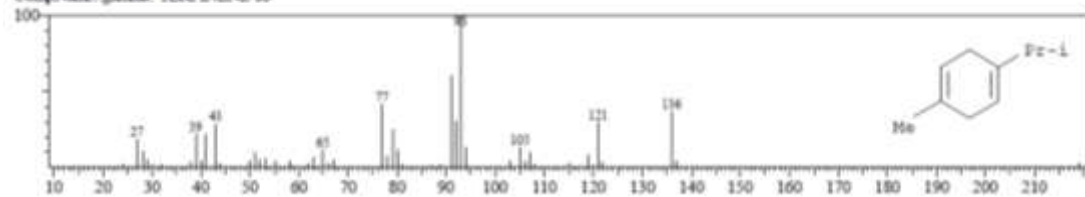
Hit# 3 Entry: 19708 Library: WILEY229.LIB
 SI: 93 Formula: C10H16 CAS: 586-62-9 MolWeight: 136 RetIndex: 0
 CompName: TERPNOLENE 55



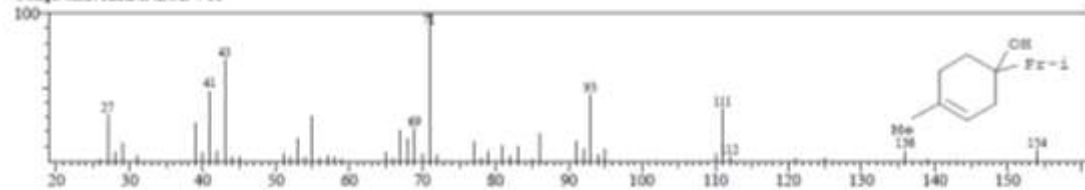
Hit# 1 Entry: 4852 Library: NIST12.LIB
 SI: 94 Formula: C10H18O CAS: 470-82-6 MolWeight: 154 RetIndex: 0
 CompName: Eucalyptol



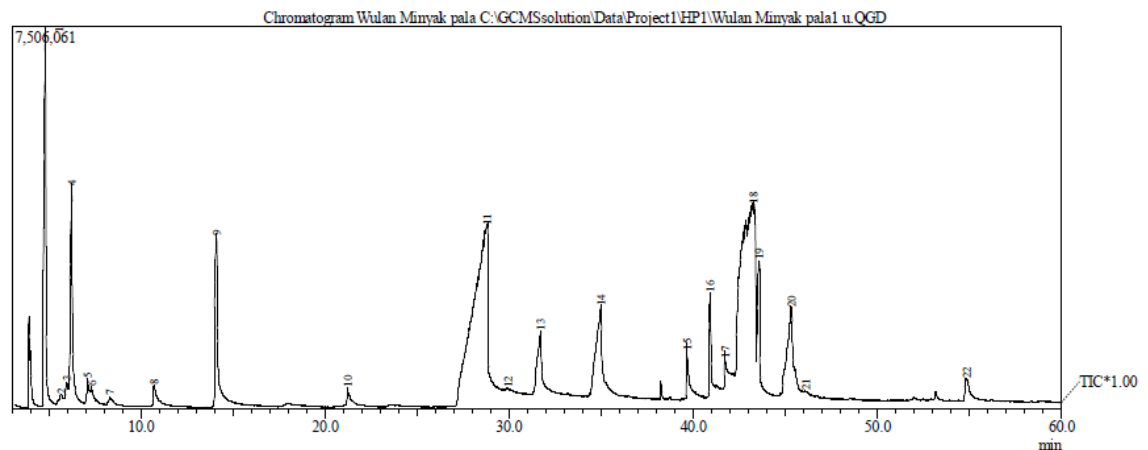
Hit# 2 Entry: 19706 Library: WILEY229.LIB
 SI: 94 Formula: C10H16 CAS: 99-85-4 MolWeight: 136 RetIndex: 0
 CompName: gamma-TERPENE 55



Hit# 1 Entry: 31715 Library: WILEY229.LIB
 SI: 98 Formula: C10H18O CAS: 563-74-3 MolWeight: 154 RetIndex: 0
 CompName: TERPNEOL-4 55

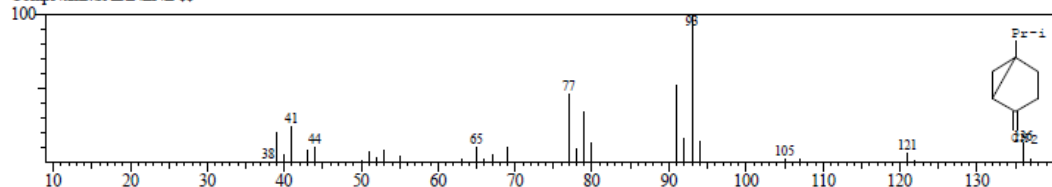


Kromatogram minyak atsiri biji pala

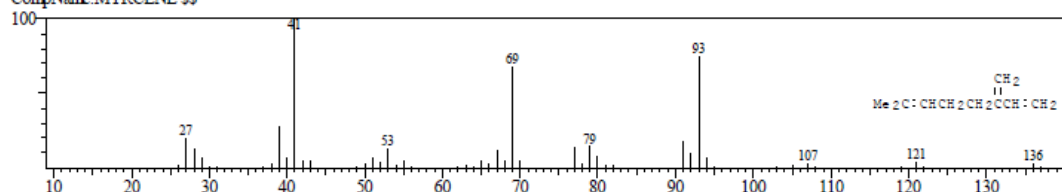


Komponen senyawa minyak atsiri biji pala

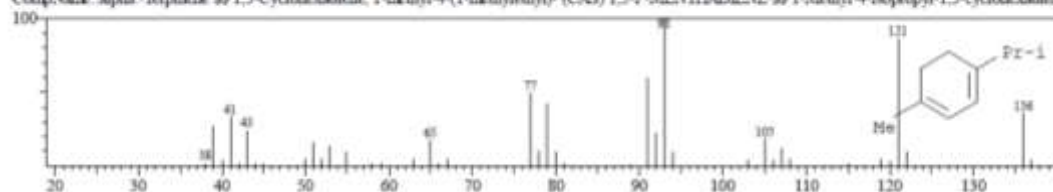
Hit# 4 Entry: 19685 Library: WILEY229.LIB
 SI: 91 Formula: C₁₀H₁₆ CAS: 3387-41-5 MolWeight: 136 RetIndex: 0
 CompName: SABINENE \$\$



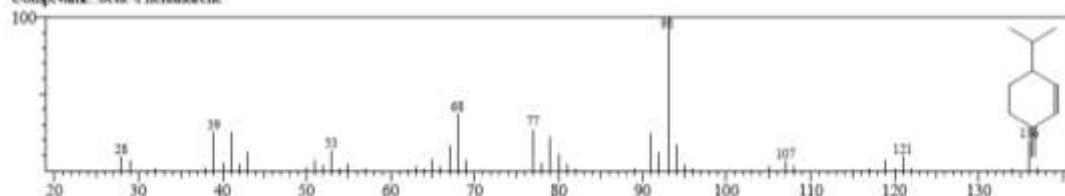
Hit# 1 Entry: 19704 Library: WILEY229.LIB
 SI: 96 Formula: C₁₀H₁₆ CAS: 123-35-3 MolWeight: 136 RetIndex: 0
 CompName: MYRCENE \$\$



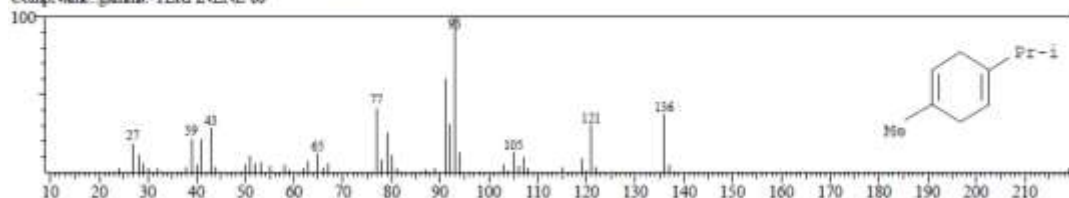
Hit# 2 Entry: 19358 Library: WILEY229.LIB
 SI: 92 Formula: C₁₀H₁₆ CAS: 99-86-5 MolWeight: 136 RetIndex: 0
 CompName: alpha-Terpinene \$\$ 1,3-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)- (CAS) 1,3-P-MENTHADIENE \$\$ 1-Methyl-4-isopropyl-1,3-cyclohexadiene \$\$



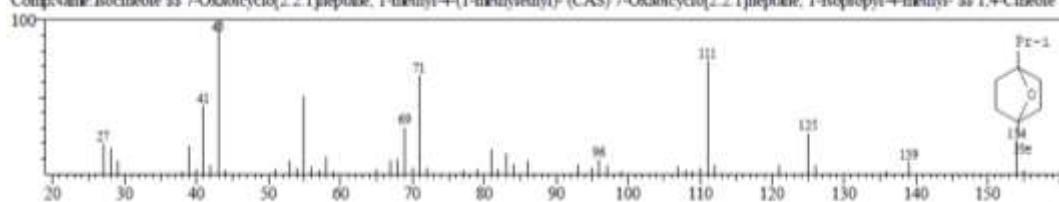
Hit# 1 Entry: 3537 Library: NIST12.LIB
 SI: 93 Formula: C₁₀H₁₆ CAS: 555-10-2 MolWeight: 136 RetIndex: 0
 CompName: beta-Phellandrene



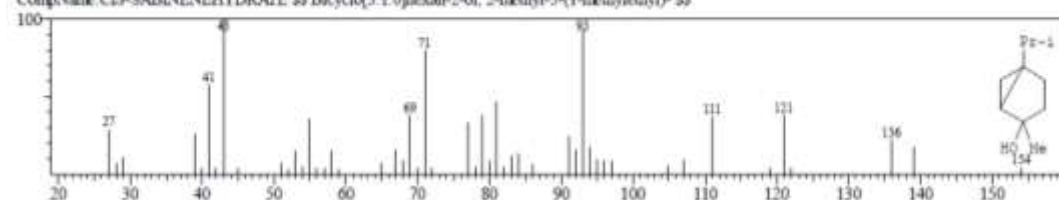
Hit# 4 Entry: 19706 Library: WILEY229.LIB
 SI: 93 Formula: C₁₀H₁₆ CAS: 99-85-4 MolWeight: 136 RetIndex: 0
 CompName: gamma-Terpinene \$\$



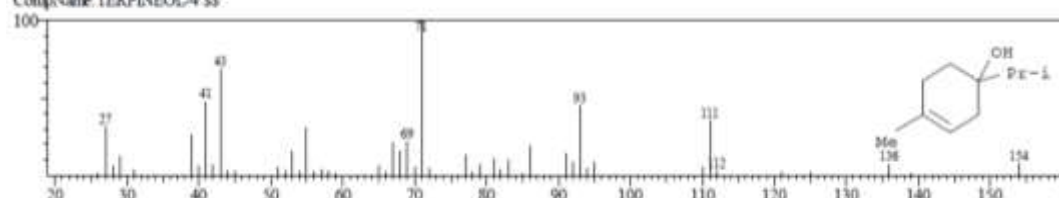
Hit# 1 Entry:31503 Library:WILEY229.LIB
 SI:85 Formula:C10H18O CAS:470-67-7 MolWeight:154 RetIndex:0
 CompName: Isocineole \$5 7-Oxabicyclo[2.2.1]heptane, 1-methyl-4-(1-methylethyl)- (CAS) 7-Oxabicyclo[2.2.1]heptane, 1-isopropyl-4-methyl- \$5 1,4-Cineole \$5



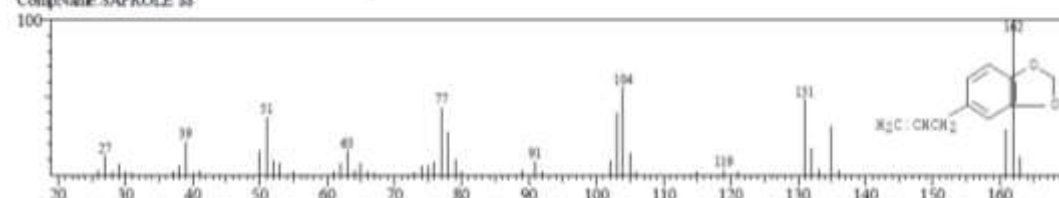
Hit# 1 Entry:31468 Library:WILEY229.LIB
 SI:88 Formula:C10H18O CAS:346-79-2 MolWeight:154 RetIndex:0
 CompName: CIS-SABNENEHYDRATE \$5 Bicyclo[3.1.0]hexan-2-ol, 2-methyl-5-(1-methylethyl)- \$5



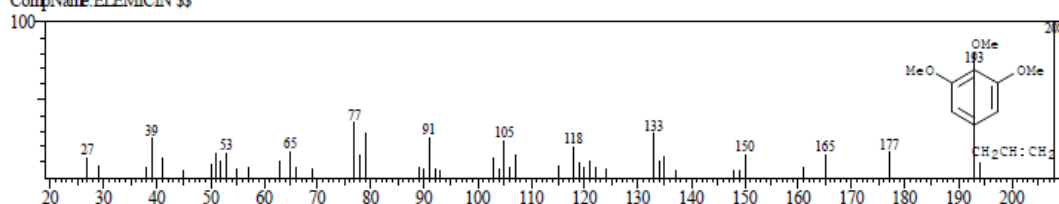
Hit# 1 Entry:31715 Library:WILEY229.LIB
 SI:97 Formula:C10H18O CAS:562-74-3 MolWeight:154 RetIndex:0
 CompName: TERPINEOL-4 \$5



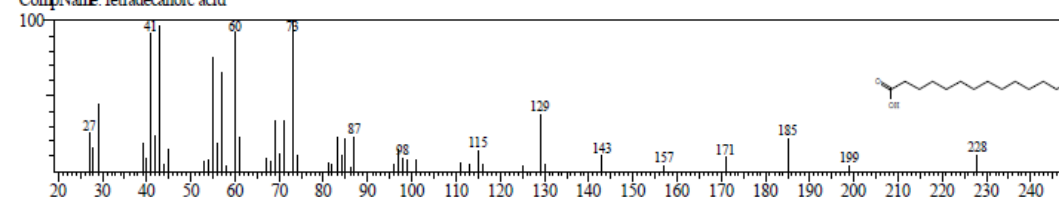
Hit# 4 Entry:36927 Library:WILEY229.LIB
 SI:89 Formula:C10H10O2 CAS:94-59-7 MolWeight:162 RetIndex:0
 CompName: SAFROLE \$5



Hit# 1 Entry:74226 Library:WILEY229.LIB
 SI:83 Formula:C12H16O3 CAS:487-11-6 MolWeight:208 RetIndex:0
 CompName: ELEMICIN \$5



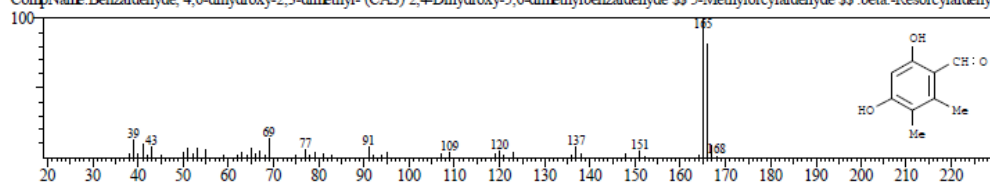
Hit# 1 Entry:8008 Library:NIST112.LIB
 SI:96 Formula:C14H28O2 CAS:544-63-8 MolWeight:228 RetIndex:0
 CompName: Tetradecanoic acid



Hit#1 Entry:39690 Library:WILEY229.LIB

SI:71 Formula:C9H10O3 CAS:2990-31-0 MolWeight:166 RetIndex:0

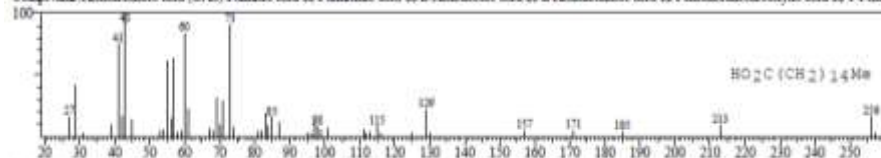
CompName: Benzaldehyde, 4,6-dihydroxy-2,3-dimethyl- (CAS) 2,4-Dihydroxy-5,6-dimethylbenzaldehyde \$\$ 5-Methylcyclyaldehyde \$\$ beta-Resorcylaldehyde, 5,6-dimethyl- \$\$



Hit#1 Entry:114038 Library:WILEY229.LIB

SI:95 Formula:C16H32O2 CAS:57-10-3 MolWeight:256 RetIndex:0

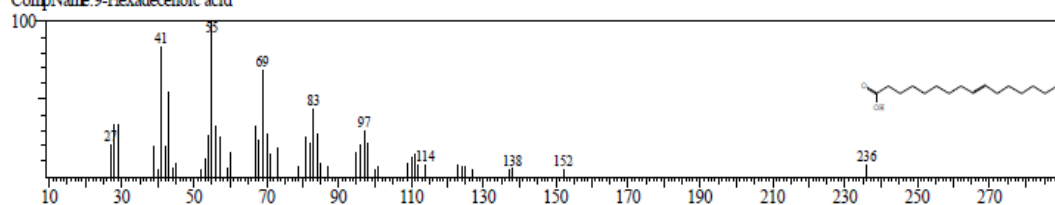
CompName: Hexadecanoic acid (CAS) Palmitic acid \$\$ Palmitic acid \$\$ n-Hexadecanoic acid \$\$ n-Hexadecanoic acid \$\$ Pentadecanecarboxylic acid \$\$ 1-Pentadecanecarboxylic acid \$\$ Palmitic 2960 \$\$



Hit#1 Entry:34770 Library:NIST62.LIB

SI:94 Formula:C16H30O2 CAS:2091-29-4 MolWeight:254 RetIndex:0

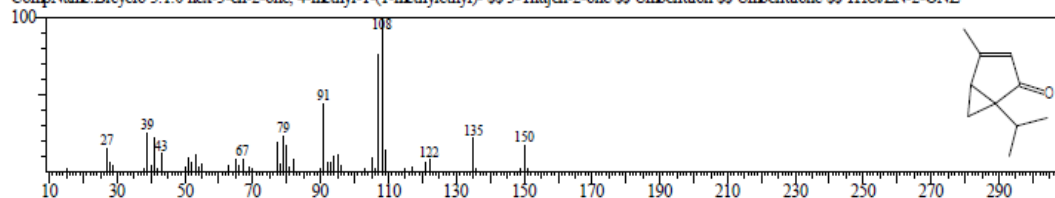
CompName: 9-Hexadecenoic acid



Hit#3 Entry:9784 Library:NIST62.LIB

SI:79 Formula:C10H14O CAS:24545-81-1 MolWeight:150 RetIndex:0

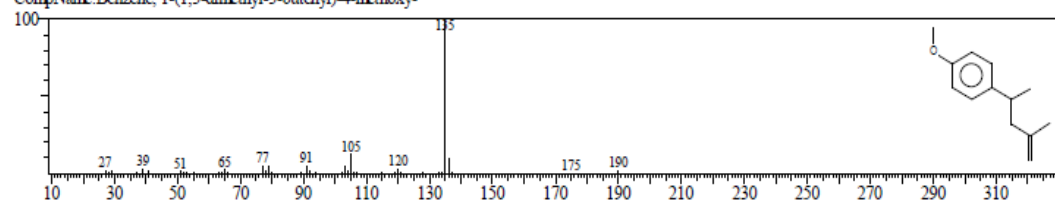
CompName: Bicyclo 3.1.0 hex-3-en-2-one, 4-methyl-1-(1-methylethyl)- \$\$ 3-Thujen-2-one \$\$ Umbellulon \$\$ Umbellulone \$\$ THUJEN-2-ONE



Hit#1 Entry:20356 Library:NIST62.LIB

SI:83 Formula:C13H18O CAS:74672-05-2 MolWeight:190 RetIndex:0

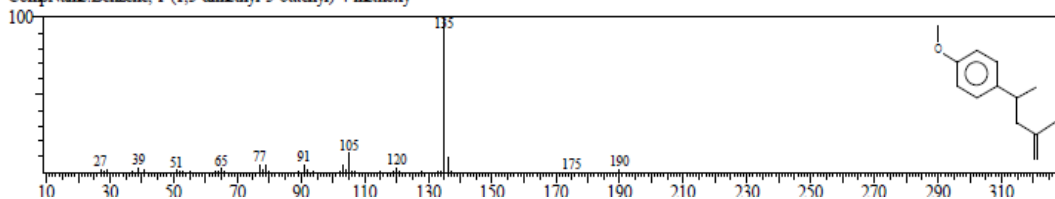
CompName: Benzene, 1-(1,3-dimethyl-3-butenyl)-4-methoxy-



Hit#1 Entry:20356 Library:NIST62.LIB

SI:83 Formula:C13H18O CAS:74672-05-2 MolWeight:190 RetIndex:0

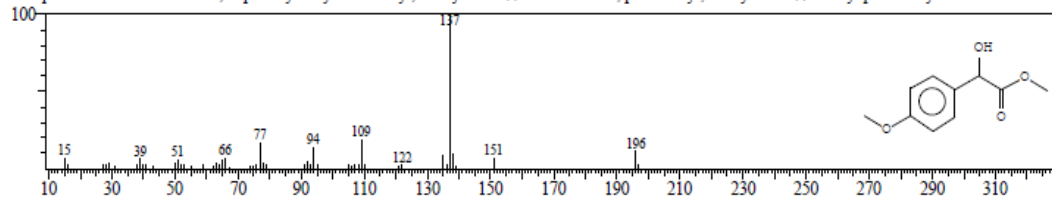
CompName: Benzene, 1-(1,3-dimethyl-3-butenyl)-4-methoxy-



Hit# 1 Entry: 21743 Library: NIST62.LIB

SI: 73 Formula: C₁₀H₁₂O₄ CAS: 13305-14-1 MolWeight: 196 RetIndex: 0

CompName: Benzeneacetic acid, alpha-hydroxy-4-methoxy-, methyl ester \$\$ Mandelic acid, p-methoxy-, methyl ester \$\$ Methyl p-methoxymandelate



Hit# 1 Entry: 5173 Library: NIST62.LIB

SI: 83 Formula: C₂₀H₂₂O₇ CAS: 34444-37-6 MolWeight: 374 RetIndex: 0

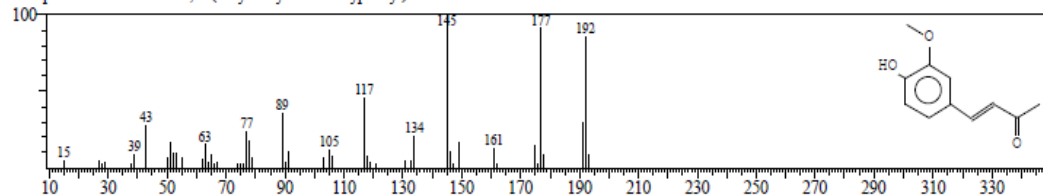
CompName: (-)-Nerolidiolactone \$\$ B641599227 \$\$ Dihydroisovalactone \$\$ Wikstroemia foetida b641599227 \$\$ WIKSTROMIOL \$\$ 2,3-DI-FURANOL-5-HYDRO-3-HYDROXY-3,4-BIS(4-HYDROXY-3-METHOXYPHENYL)-



Hit# 1 Entry: 7060 Library: NIST12.LIB

SI: 61 Formula: C₁₁H₁₂O₃ CAS: 1080-12-2 MolWeight: 192 RetIndex: 0

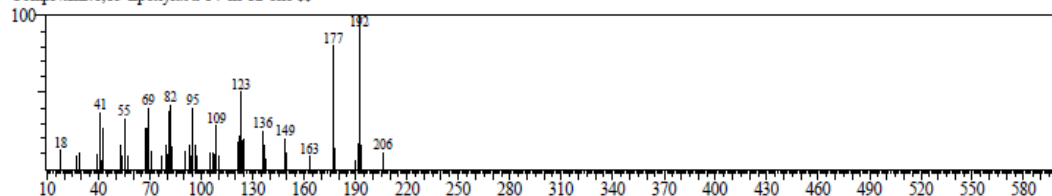
CompName: 3-Buten-2-one, 4-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-



Hit# 1 Entry: 148332 Library: WILEY229.LIB

SI: 58 Formula: C₂₀H₃₂O₂ CAS: 0-00-0 MolWeight: 304 RetIndex: 0

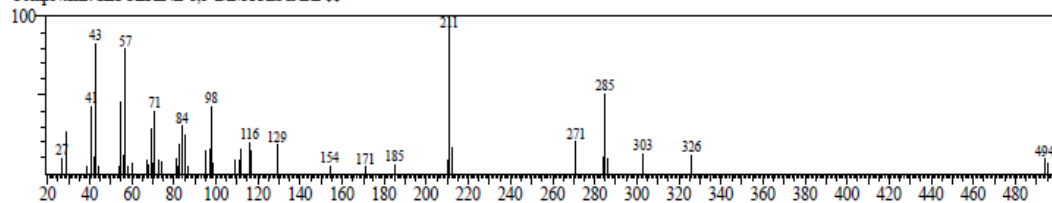
CompName: 8,13-Epoxyabd-14-en-12-one \$\$



Hit# 1 Entry: 216519 Library: WILEY229.LIB

SI: 94 Formula: C₃₁H₆₀O₅ CAS: 0-00-0 MolWeight: 512 RetIndex: 0

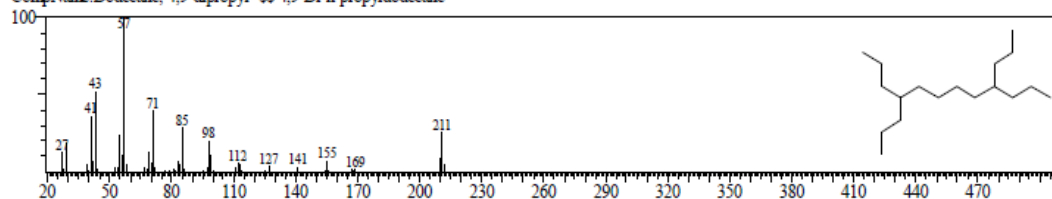
CompName: GLYCERINE-1,3-DIMYRISTATE \$\$

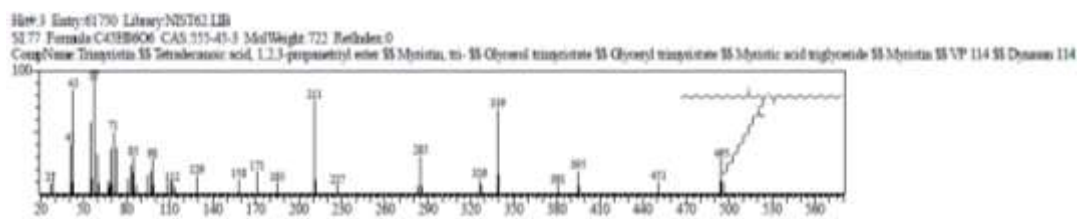


Hit# 1 Entry: 34813 Library: NIST62.LIB

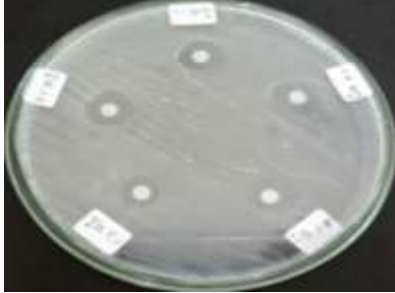
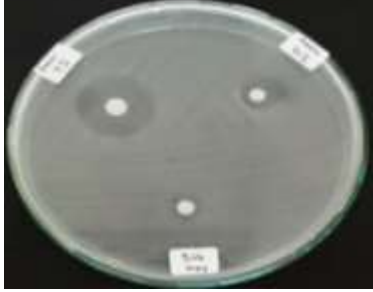
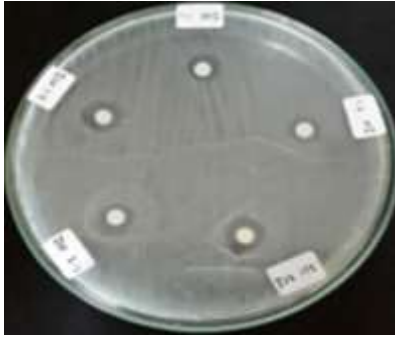
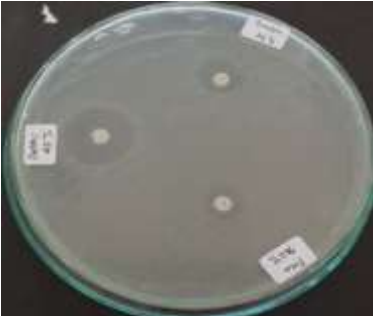

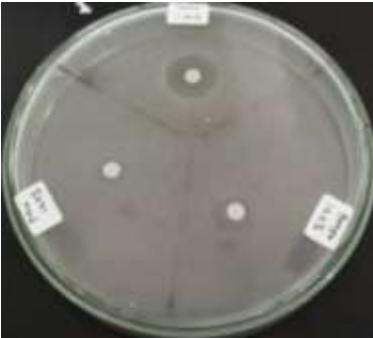
SI: 77 Formula: C₁₈H₃₈ CAS: 3054-63-5 MolWeight: 254 RetIndex: 0

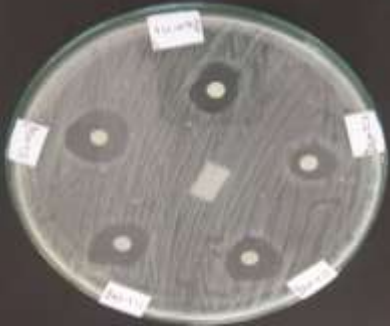
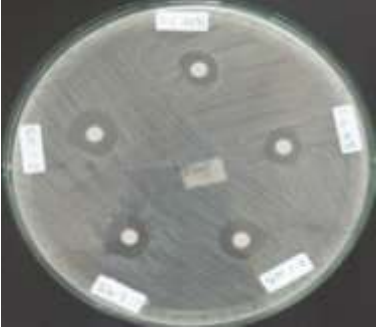
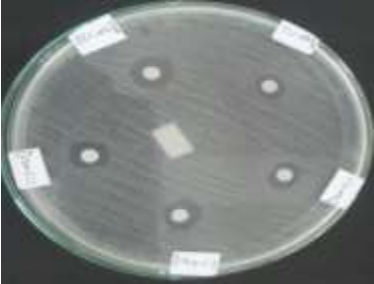
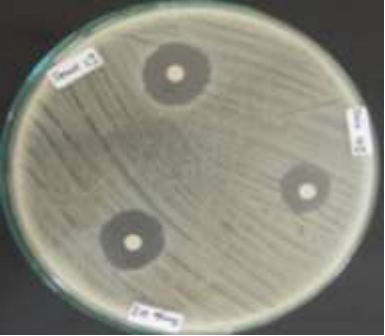

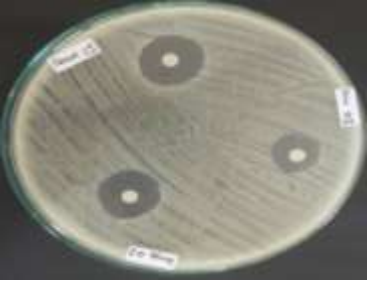

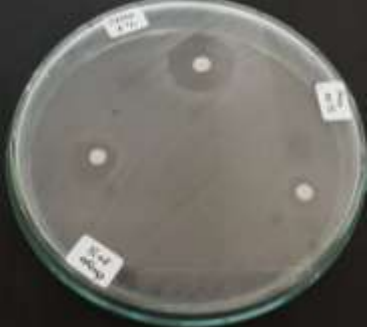
CompName: Dodecane, 4,9-dipropyl- \$\$ 4,9-Di-n-propyldodecane

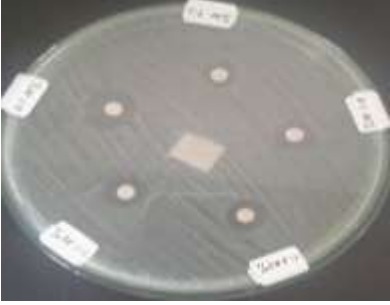
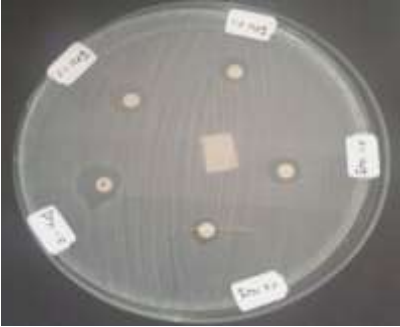
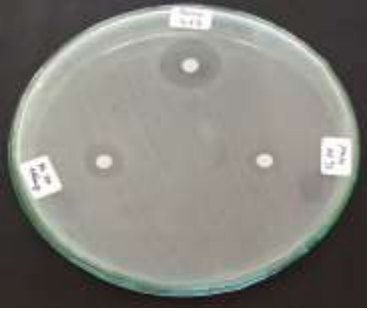
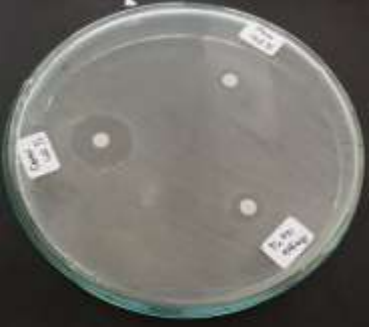




Lampiran 13. Gambar dan hasil Diameter daya hambat tunggal dan kombinasi dari uji difusi minyak atsiri

Replikasi	Kombinasi	Tunggal
1	 <p data-bbox="592 757 817 792">Konsentrasi 50%</p>	 <p data-bbox="1054 770 1279 806">Konsentrasi 50%</p>
	 <p data-bbox="592 1211 817 1247">Konsentrasi 25%</p>	 <p data-bbox="1054 1189 1279 1225">Konsentrasi 25%</p>
	 <p data-bbox="580 1653 828 1688">Konsentrasi 12,5%</p>	 <p data-bbox="1043 1637 1291 1673">Konsentrasi 12,5%</p>

Replikasi	Kombinasi	Tunggal
2	 <p data-bbox="595 707 820 741">Konsentrasi 50%</p>  <p data-bbox="595 1108 820 1142">Konsentrasi 25%</p>  <p data-bbox="584 1467 836 1500">Konsentrasi 12,5%</p>	 <p data-bbox="1054 716 1279 750">Konsentrasi 50%</p>  <p data-bbox="1054 1115 1279 1149">Konsentrasi 25%</p>  <p data-bbox="1043 1473 1289 1507">Konsentrasi 12,5%</p>
3	 <p data-bbox="595 1910 820 1944">Konsentrasi 50%</p>	 <p data-bbox="1054 1910 1279 1944">Konsentrasi 50%</p>

Replikasi	Kombinasi	Tunggal
	 <p data-bbox="595 645 820 678">Konsentrasi 25%</p>  <p data-bbox="584 1077 831 1111">Konsentrasi 12,5%</p>	 <p data-bbox="1054 651 1279 685">Konsentrasi 25%</p>  <p data-bbox="1043 1084 1291 1117">Konsentrasi 12,5%</p>

Lampiran 14. Diameter daya hambat tunggal dan kombinasi dari uji difusi minyak atsiri

Konsentrasi 50%	Diameter daerah hambatan (mm)			Rata-Rata	±SD
	Replikasi I	Replikai II	Replikasi III		
Chloroxylenol(+)	27	26	27	26,67	0,5774
Rimpang bangle	18,2	19	20	19,07	0,9018
Biji pala	16,2	16,8	16	16,33	0,4163
1:1	18,2	18	17	17,73	0,6429
1:2	16,8	16	15	15,5	0,7071
2:1	21,2	21	20,4	20,87	0,4163
1:3	20	21,4	21	20,8	0,7211
3:1	24,4	24	25	24,47	0,5033

Konsentrasi 25%	Diameter daerah hambatan (mm)			Rata-Rata	±SD
	Replikasi I	Replikai II	Replikasi III		
Chloroxylenol(+)	24,2	25,4	24	24,53	0,7572
Rimpang bangle	16	17	16,4	16,47	0,5033
Biji pala	14	15	15,6	14,87	0,8083
1:1	14,6	14,8	14	14,47	0,4163
1:2	15	15,6	15	15,2	0,3464
2:1	16	17	15,6	16,2	0,7211
1:3	17,2	17,4	15,8	16,8	0,8718
3:1	18,6	19,4	17,2	18,4	1,1136

Konsentrasi 12,5%	Diameter daerah hambatan (mm)			Rata-Rata	±SD
	Replikasi I	Replikai II	Replikasi III		
Chloroxylenol(+)	20,8	19	20	19,93	0,9018
Rimpang bangle	15	14,6	14,8	14,8	0,2
Biji pala	10,8	11,8	12	11,53	0,6429
1:1	11,2	11,6	11	11,27	0,3055
1:2	11,8	12	11,2	11,67	0,4163
2:1	14,2	14,8	14	14,33	0,4163
1:3	12,8	12	13	12,6	0,5292
3:1	15,4	16	15,6	15,67	0,3055

Perhitungan rata-rata diameter hambatan :

- Diameter tunggal :

Konsentrasi 50%

- ✓ Chloroxylenol(+) :

$$\text{Replikasi I} = \frac{2,8+2,6+2,7+2,6+2,8}{5} = 2,7 \text{ cm} = 27 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{2,5+2,7+2,5+2,6+2,7}{5} = 2,6 \text{ cm} = 26 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{2,7+2,8+2,6+2,6+2,8}{5} = 2,7 \text{ cm} = 27 \text{ mm}$$

- ✓ Rimpang bangle :

$$\text{Replikasi I} = \frac{1,8+1,9+1,7+1,8+1,8}{5} = 1,82 \text{ cm} = 18,2 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,8+1,9+2+1,9+1,9}{5} = 1,9 \text{ cm} = 19 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{2+1,9+2+2,1+2,1}{5} = 2,0 \text{ cm} = 20 \text{ mm}$$

- ✓ Biji pala :

$$\text{Replikasi I} = \frac{1,7+1,8+1,6+1,5+1,5}{5} = 1,62 \text{ cm} = 16,2 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,6+1,7+1,7+1,8+1,6}{5} = 1,68 \text{ cm} = 16,8 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,6+1,7+1,5+1,6+1,6}{5} = 1,6 \text{ cm} = 16 \text{ mm}$$

Konsentrasi 25%

- ✓ Chloroxylenol(+) :

$$\text{Replikasi I} = \frac{2,3+2,5+2,4+2,5+2,4}{5} = 2,42 \text{ cm} = 24,2 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{2,5+2,4+2,5+2,7+2,6}{5} = 2,54 \text{ cm} = 25,4 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{2,4+2,4+2,3+2,5+2,4}{5} = 2,4 \text{ cm} = 24 \text{ mm}$$

- ✓ Rimpang bangle:

$$\text{Replikasi I} = \frac{1,7+1,6+1,6+1,5+1,6}{5} = 1,6 \text{ cm} = 16 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,6+1,8+1,8+1,6+1,7}{5} = 1,7 \text{ cm} = 17 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,6+1,7+1,7+1,6+1,6}{5} = 1,64 \text{ cm} = 16,4 \text{ mm}$$

✓ Biji pala :

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

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,5+1,4+1,6+1,4+1,6}{5} = 1,5 \text{ cm} = 15 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,7+1,5+1,5+1,6+1,5}{5} = 1,56 \text{ cm} = 15,6 \text{ mm}$$

Konsentrasi 12,5%

✓ Chloroxylenol(+):

$$\text{Replikasi I} = \frac{2,1+2+2,1+2+2,1}{5} = 2,08 \text{ cm} = 20,8 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,8+2+2+1,8+2}{5} = 1,9 \text{ cm} = 19 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{2+2+1,9+2+2,1}{5} = 2,0 \text{ cm} = 20 \text{ mm}$$

✓ Rimpang bangle :

$$\text{Replikasi I} = \frac{1,6+1,5+1,4+1,6+1,4}{5} = 1,5 \text{ cm} = 15 \text{ mm}$$

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

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,4+1,6+1,4+1,5+1,5}{5} = 1,48 \text{ cm} = 14,8 \text{ mm}$$

✓ Biji pala :

$$\text{Replikasi I} = \frac{1,1+1,2+1+1,1+1}{5} = 1,08 \text{ cm} = 10,8 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,2+1,2+1,3+1,1+1,1}{5} = 1,18 \text{ cm} = 11,8 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,2+1,2+1,3+1,2+1,1}{5} = 1,2 \text{ cm} = 12 \text{ mm}$$

• Diameter kombinasi :

Konsentrasi 50%

✓ Kombinasi 1:1

$$\text{Replikasi I} = \frac{1,6+1,9+2+1,7+1,9}{5} = 1,82 \text{ cm} = 18,2 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,9+1,9+1,7+1,8+1,7}{5} = 1,8 \text{ cm} = 18 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,8+1,7+1,6+1,8+1,6}{5} = 1,7 \text{ cm} = 17 \text{ mm}$$

✓ Kombinasi 1:2

$$\text{Replikasi I} = \frac{1,5+1,7+1,7+1,6+1,6}{5} = 1,68 \text{ cm} = 16,8 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,7+1,6+1,5+1,6+1,6}{5} = 1,6 \text{ cm} = 16 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,4+1,6+1,5+1,4+1,6}{5} = 1,5 \text{ cm} = 15 \text{ mm}$$

✓ Kombinasi 2:1

$$\text{Replikasi I} = \frac{2,1+2,2+2,1+2+2,2}{5} = 2,12 \text{ cm} = 21,2 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{2,1+2,1+2,2+2,1+2}{5} = 2,1 \text{ cm} = 21 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{2,1+2,2+2+1,9+2}{5} = 2,04 \text{ cm} = 20,4 \text{ mm}$$

✓ Kombinasi 1:3

$$\text{Replikasi I} = \frac{2+2,2+1,6+2+2,2}{5} = 2,0 \text{ cm} = 20 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{2,5+1,9+2,2+2+2,1}{5} = 2,14 \text{ cm} = 21,4 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{2,1+2,4+1,9+2,2+1,9}{5} = 2,1 \text{ cm} = 21 \text{ mm}$$

✓ Kombinasi 3:1

$$\text{Replikasi I} = \frac{2,5+2,4+2,6+2,4+2,3}{5} = 2,44 \text{ cm} = 24,4 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{2,3+2,5+2,5+2,4+2,3}{5} = 2,4 \text{ cm} = 24 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{2,6+2,4+2,5+2,5+2,6}{5} = 2,5 \text{ cm} = 25 \text{ mm}$$

Konsentrasi 25%

✓ Kombinasi 1:1

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

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,6+1,3+1,6+1,4+1,5}{5} = 1,48 \text{ cm} = 14,8 \text{ mm}$$

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

✓ Kombinasi 1:2

$$\text{Replikasi I} = \frac{1,6+1,6+1,4+1,5+1,4}{5} = 1,5 \text{ cm} = 15 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,6+1,7+1,4+1,6+1,5}{5} = 1,56 \text{ cm} = 15,6 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,5+1,6+1,5+1,5+1,4}{5} = 1,5 \text{ cm} = 15 \text{ mm}$$

✓ Kombinasi 2:1

$$\text{Replikasi I} = \frac{1,8+1,5+1,6+1,6+1,5}{5} = 1,6 \text{ cm} = 16 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,7+1,6+1,8+1,8+1,6}{5} = 1,7 \text{ cm} = 17 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,7+1,5+1,6+1,5+1,5}{5} = 1,56 \text{ cm} = 15,6 \text{ mm}$$

✓ Kombinasi 1:3

$$\text{Replikasi I} = \frac{1,5+2+1,7+1,6+1,8}{5} = 1,72 \text{ cm} = 17,2 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,7+2+1,7+1,6+1,7}{5} = 1,74 \text{ cm} = 17,4 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,6+1,5+1,6+1,7+1,5}{5} = 1,58 \text{ cm} = 15,8 \text{ mm}$$

✓ Kombinasi 3:1

$$\text{Replikasi I} = \frac{2+2+1,9+2+1,9}{5} = 1,86 \text{ cm} = 18,6 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{2+2+1,9+1,9+1,9}{5} = 1,94 \text{ cm} = 19,4 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,8+1,8+1,9+1,7+1,4}{5} = 1,72 \text{ cm} = 17,2 \text{ mm}$$

Konsentrasi 12,5%

✓ Kombinasi 1:1

$$\text{Replikasi I} = \frac{1,2+1,1+1+1,3+1}{5} = 1,12 \text{ cm} = 11,2 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,3+1,2+1+1,1+1,2}{5} = 1,16 \text{ cm} = 11,6 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,1+1,1+1+1,1+1,2}{5} = 1,1 \text{ cm} = 11 \text{ mm}$$

✓ Kombinasi 1:2

$$\text{Replikasi I} = \frac{1,3+1,2+1,1+1,2+1,1}{5} = 1,18 \text{ cm} = 11,8 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,3+1,2+1,2+1,1+1,2}{5} = 1,2 \text{ cm} = 12 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,2+1,1+1+1,1+1,2}{5} = 1,12 \text{ cm} = 11,2 \text{ mm}$$

✓ Kombinasi 2:1

$$\text{Replikasi I} = \frac{1,5+1,4+1,4+1,5+1,3}{5} = 1,42 \text{ cm} = 14,2 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,5+1,5+1,4+1,6+1,4}{5} = 1,48 \text{ cm} = 14,8 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,4+1,4+1,5+1,5+1,4}{5} = 1,4 \text{ cm} = 14 \text{ mm}$$

✓ Kombinasi 1:3

$$\text{Replikasi I} = \frac{1,2+1,3+1,4+1,2+1,3}{5} = 1,28 \text{ cm} = 12,8 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,2+1,1+1,2+1,3+1,2}{5} = 1,2 \text{ cm} = 12 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,2+1,3+1,4+1,3+1,4}{5} = 1,3 \text{ cm} = 13 \text{ mm}$$

✓ Kombinasi 3:1

$$\text{Replikasi I} = \frac{1,6+1,5+1,6+1,6+1,4}{5} = 1,54 \text{ cm} = 15,4 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,6+1,7+1,6+1,5+1,6}{5} = 1,6 \text{ cm} = 16 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,7+1,6+1,5+1,6+1,4}{5} = 1,56 \text{ cm} = 15,6 \text{ mm}$$

Lampiran 15. Hasil analisis dengan SPSS

		Tests of Normality					
Bahan uji		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Diameter daya hambat	kontrol positif	,204	9	,200*	,890	9	,200
	rimpang bangle	,154	9	,200*	,927	9	,455
	biji pala	,190	9	,200*	,899	9	,244
	1:1	,180	9	,200*	,899	9	,245
	1:2	,307	9	,015	,863	9	,103
	2:1	,205	9	,200*	,848	9	,071
	1:3	,183	9	,200*	,911	9	,321
	3:1	,205	9	,200*	,849	9	,073

a. Lilliefors Significance Correction

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

Descriptive Statistics

Dependent Variable: Diameter daya hambat

Bahan uji	konsentrasi	Mean	Std. Deviation	N
kontrol positif	12,5%	19,9333	,90185	3
	25%	24,5333	,75719	3
	50%	26,6667	,57735	3
	Total	23,7111	3,05141	9
rimpang bangle	12,5%	14,8000	,20000	3
	25%	16,4667	,50332	3
	50%	19,0667	,90185	3
	Total	16,7778	1,93506	9
biji pala	12,5%	11,5333	,64291	3
	25%	14,8667	,80829	3
	50%	16,3333	,41633	3
	Total	14,2444	2,20177	9
1:1	12,5%	11,2667	,30551	3
	25%	14,4667	,41633	3
	50%	17,7333	,64291	3
	Total	14,4889	2,83039	9
1:2	12,5%	11,6667	,41633	3
	25%	15,2000	,34641	3
	50%	15,9333	,90185	3
	Total	14,2667	2,04450	9
2:1	12,5%	14,3333	,41633	3
	25%	16,2000	,72111	3
	50%	20,8667	,41633	3
	Total	17,1333	2,95127	9
1:3	12,5%	12,6000	,52915	3
	25%	16,8000	,87178	3
	50%	20,8000	,72111	3
	Total	16,7333	3,60555	9
3:1	12,5%	15,6667	,30551	3
	25%	18,4000	1,11355	3
	50%	24,4667	,50332	3
	Total	19,5111	3,95109	9
Total	12,5%	13,9750	2,82246	24
	25%	17,1167	3,16168	24
	50%	20,2333	3,67727	24
	Total	17,1083	4,10111	72

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

Dependent Variable: Diameter daya hambatan

F	df1	df2	Sig.
1,029	23	48	,452

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

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

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Diameter daya hambatan

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Intercept	21074,045	1	21074,045	89,676	,011
Bauji	654,831	7	93,547	26,411	,000
kons	470,003	2	235,002	66,347	,000
Bauji * kons	49,588	14	3,542 ^b	8,616	,000
Error	470,003	2	235,002		
Error	49,588	14	3,542 ^b		
Error	19,733	48	,411 ^c		

a. MS(kons)

b. MS(Bauji * kons)

c. MS(Error)

Multiple Comparisons

Diameter daya hambatan

LSD

(I) Bahan uji	(J) Bahan uji	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol positif	rimbang bangle	6,9333*	,30225	,000	6,3256	7,5411
	biji pala	9,4667*	,30225	,000	8,8589	10,0744
	1:1	9,2222*	,30225	,000	8,6145	9,8299
	1:2	9,4444*	,30225	,000	8,8367	10,0522
	2:1	6,5778*	,30225	,000	5,9701	7,1855
	1:3	6,9778*	,30225	,000	6,3701	7,5855
	3:1	4,2000*	,30225	,000	3,5923	4,8077
rimbang bangle	kontrol positif	-6,9333*	,30225	,000	-7,5411	-6,3256
	biji pala	2,5333*	,30225	,000	1,9256	3,1411
	1:1	2,2889*	,30225	,000	1,6812	2,8966
	1:2	2,5111*	,30225	,000	1,9034	3,1188
	2:1	-,3556	,30225	,245	-,9633	,2522
	1:3	,0444	,30225	,884	-,5633	,6522
	3:1	-2,7333*	,30225	,000	-3,3411	-2,1256
biji pala	kontrol positif	-9,4667*	,30225	,000	-10,0744	-8,8589
	rimbang bangle	-2,5333*	,30225	,000	-3,1411	-1,9256
	1:1	-,2444	,30225	,423	-,8522	,3633
	1:2	-,0222	,30225	,942	-,6299	,5855
	2:1	-2,8889*	,30225	,000	-3,4966	-2,2812
	1:3	-2,4889*	,30225	,000	-3,0966	-1,8812
	3:1	-5,2667*	,30225	,000	-5,8744	-4,6589
1:1	kontrol positif	-9,2222*	,30225	,000	-9,8299	-8,6145
	rimbang bangle	-2,2889*	,30225	,000	-2,8966	-1,6812
	biji pala	,2444	,30225	,423	-,3633	,8522
	1:2	,2222	,30225	,466	-,3855	,8299
	2:1	-2,6444*	,30225	,000	-3,2522	-2,0367

	1:3	-2,2444*	,30225	,000	-2,8522	-1,6367
	3:1	-5,0222*	,30225	,000	-5,6299	-4,4145
1:2	kontrol positif	-9,4444*	,30225	,000	-10,0522	-8,8367
	rimpang bangle	-2,5111*	,30225	,000	-3,1188	-1,9034
	biji pala	,0222	,30225	,942	-,5855	,6299
	1:1	-,2222	,30225	,466	-,8299	,3855
	2:1	-2,8667*	,30225	,000	-3,4744	-2,2589
	1:3	-2,4667*	,30225	,000	-3,0744	-1,8589
	3:1	-5,2444*	,30225	,000	-5,8522	-4,6367
2:1	kontrol positif	-6,5778*	,30225	,000	-7,1855	-5,9701
	rimpang bangle	,3556	,30225	,245	-,2522	,9633
	biji pala	2,8889*	,30225	,000	2,2812	3,4966
	1:1	2,6444*	,30225	,000	2,0367	3,2522
	1:2	2,8667*	,30225	,000	2,2589	3,4744
	1:3	,4000	,30225	,192	-,2077	1,0077
	3:1	-2,3778*	,30225	,000	-2,9855	-1,7701
1:3	kontrol positif	-6,9778*	,30225	,000	-7,5855	-6,3701
	rimpang bangle	-,0444	,30225	,884	-,6522	,5633
	biji pala	2,4889*	,30225	,000	1,8812	3,0966
	1:1	2,2444*	,30225	,000	1,6367	2,8522
	1:2	2,4667*	,30225	,000	1,8589	3,0744
	2:1	-,4000	,30225	,192	-1,0077	,2077
	3:1	-2,7778*	,30225	,000	-3,3855	-2,1701
3:1	kontrol positif	-4,2000*	,30225	,000	-4,8077	-3,5923
	rimpang bangle	2,7333*	,30225	,000	2,1256	3,3411
	biji pala	5,2667*	,30225	,000	4,6589	5,8744
	1:1	5,0222*	,30225	,000	4,4145	5,6299
	1:2	5,2444*	,30225	,000	4,6367	5,8522
	2:1	2,3778*	,30225	,000	1,7701	2,9855
	1:3	2,7778*	,30225	,000	2,1701	3,3855

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,411.

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

Homogeneous Subsets

Diameter daya hambat

Tukey HSD^{a,b}

Bahan uji	N	Subset			
		1	2	3	4
biji pala	9	14,2444			
1:2	9	14,2667			
1:1	9	14,4889			
1:3	9		16,7333		
rimpang bangle	9		16,7778		
2:1	9		17,1333		
3:1	9			19,5111	
kontrol positif	9				23,7111
Sig.		,992	,885	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

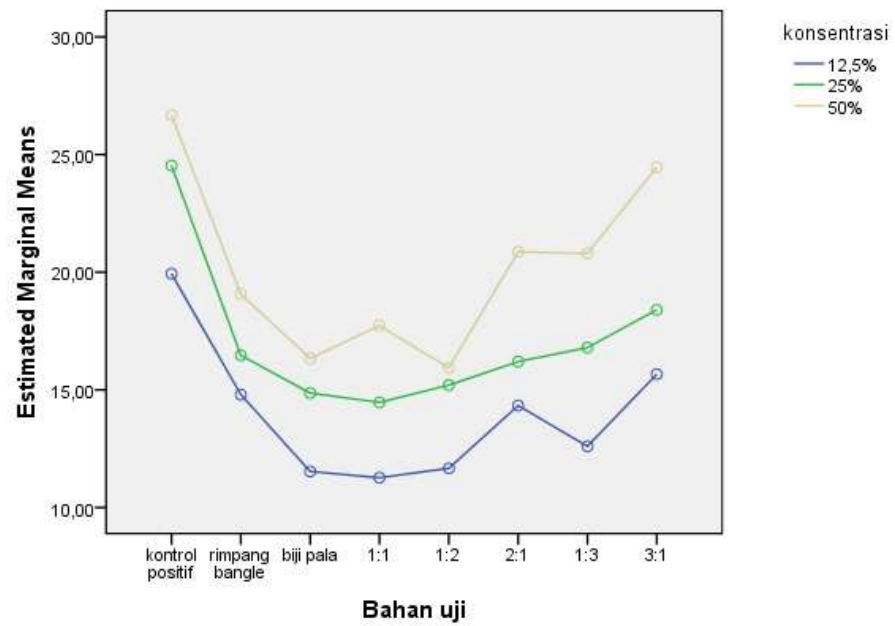
Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,411.

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

b. Alpha = ,05.

Estimated Marginal Means of Diameter daya hambat



Lampiran 16. Perhitungan pengenceran konsentrasi minyak atsiri rimpang bangle dan biji pala

Stok minyak atsiri rimpang bangle = 100 %

Konsentrasi 50% $V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$

$$V_1 \times 100\% = 1,5 \text{ ml} \times 50\%$$

$$V_1 = 0,75 \text{ ml}$$

Konsentrasi 25% $V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$

$$V_1 \times 100\% = 1,5 \text{ ml} \times 25\%$$

$$V_1 = 0,375 \text{ ml}$$

Konsentrasi 12,5% $V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$

$$V_1 \times 100\% = 1,5 \text{ ml} \times 12,5\%$$

$$V_1 = 0,187 \text{ ml}$$

Lampiran 17. Komposisi media

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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