

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI MINYAK ATSIRI RIMPANG BANGLE  
(*Zingiber cassumunar* Roxb.) dan DAUN KEMANGI (*Ocimum basilicum* L.)  
TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**



oleh:

**Yanti Anggrenie  
19133907A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2017**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI MINYAK ATSIRI RIMPANG BANGLE  
(*Zingiber cassumunar* Roxb.) dan DAUN KEMANGI (*Ocimum basilicum* L.)  
TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

**SKRIPSI**



**oleh:**

**Yanti Anggrenie  
19133907A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2017**

**PENGESAHAN SKRIPSI**

Berjudul

**I AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI MINYAK ATSIRI RIMPANG BANGLE (Zingiber cassumunar Roxb.) dan DAUN KEMANGI (Ocimum basilicum L.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

Oleh

**Yanti Anggrenie  
19133907 A**

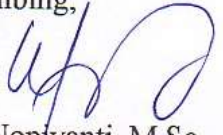
Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi  
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi  
Pada tanggal 6 Juni 2017

Mengetahui,  
Fakultas Farmasi  
Universitas Setia Budi  
Dekan



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

Pembimbing,

  
Vivin Nopiyanti, M.Sc., Apt

Pembimbing pendamping,

  
Dra. Nony Puspawati, M.Si

Penguji:

1. Opstaria Saptarini, M.Si., Apt.
2. Ghani Nurfiana, M.Farm., Apt.
3. Destik Wulandari, S.Pd., M.Si
4. Vivin Nopiyanti, M.Sc., Apt

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

## PERSEMBAHAN

“Janganlah hendaknya kamu kuatir tentang apapun juga, tetapi nyatakanlah dalam segala hal keinginanmu kepada Allah dalam doa dan permohonan dengan ucapan syukur” (Filipi 4 : 6)

“Serahkanlah perbuatanmu kepada Tuhan, maka terlaksanalah segala rencanamu” (Amsal 16 : 3)

“Bersukacitalah senantiasa. Tetaplah berdoa. Mengucap syukurlah dalam segala hal, sebab itulah yang dikehendaki Allah di dalam Kristus Yesus bagi kamu” (1 Tesalonika 5 : 16-18)

*Kupersembahkan skripsi ini untuk:*

*Tuhan Yesus Kristus yang selalu menjaga dan melindungi saya dalam setiap nafas kehidupan.*

*Papah, Mamah, Kak Berry, Kak Doddy, Kak Septi, Kak Gabby tercinta yang selalu memberikan nasehat, dukungan, semangat serta doanya.*

*Keluarga besar Tumon dan Ilon yang selalu memberikan dukungan serta doa selama ini.*

*Teman-teman ku tercinta Kak Gace, Kak Tirwi, Kak Nove, SiskaUche, Nadia, Mellong dan kakak Gumiwang (Kak Uyunk, Dirot, Ita, Sukma, Astuti).*

*Kelompok minyak atsiri ku Wulan, Rina, Tia, dan Teori 4-2013, FKK 4-2013 dan Teman seangkatan yang gak bisa disebutin satu persatu. Thank you all.*

*Almamater Fakultas Farmasi USB 2013, Bangsa dan Negara ku Indonesia.*

## **PERNYATAAN**

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

Surakarta, Juni 2017



Yanti Anggrenie

## KATA PENGANTAR

Segala puji syukur kepada Tuhan Yesus Kristus atas segala berkat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi ini untuk memenuhi persyaratan guna mencapai gelar Sarjana Farmasi (S.Farm) di Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

Puji Tuhan penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI MINYAK ATSIRI RIMPANG BANGLE (*Zingiber cassumunar* Roxb.) dan DAUN KEMANGI (*Ocimum basilicum* L.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923** diharapkan dapat memberikan sumbangan bagi ilmu pengetahuan dalam bidang teknologi farmasi.

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

1. Tuhan Yesus Kristus yang senantiasa memberikan anugerah, nikmat serta petunjuk disetiap langkah hidupku.
2. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA., selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
3. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.
4. Vivin Nopiyanti, M.Sc., Apt. selaku dosen pembimbing utama dan Dra. Nony Puspawati, M.Si. selaku dosen pembimbing pendamping yang telah banyak memberikan ilmu, masukan, pengarahan dan bimbingan selama penyusunan Skripsi ini.

5. Opstaria Saptarini, M.Si., Apt. selaku Dosen Penguji yang telah meluangkan waktu untuk menguji dan memberikan masukan untuk Skripsi ini.
6. Ghani Nurfiana, M.Farm., Apt. selaku Dosen Penguji yang telah meluangkan waktu untuk menguji dan memberikan masukan untuk Skripsi ini.
7. Destik Wulandari, S.Pd., M.Si selaku Dosen Penguji yang telah meluangkan waktu untuk menguji dan memberikan masukan untuk Skripsi ini.
8. Segenap dosen, instruktur laboratorium yang banyak memberikan bantuan dan kerjasama selama penyusunan penelitian Skripsi ini.
9. Orang tuaku tercinta, kakakku, semua saudara dan teman yang telah membantu, mendukung, dan memberi semangat serta doa.

Penulis menyadari banyak kekurangan dan masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu Penulis mengharap segala saran dan kritik dari pembaca untuk menyempurnakan Skripsi ini. Semoga Skripsi ini bisa berguna bagi siapa saja yang membacanya.

Surakarta, Juni 2017

Yanti Anggrenie

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	ii
PENGESAHAN SKRIPSI .....	ii
PERSEMBAHAN.....	iii
PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR .....	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
INTI SARI.....	xiv
ABSTRACT.....	xv
<b>BAB I     PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Perumusan Masalah .....	3
C. Tujuan Penelitian .....	3
D. Kegunaan Penelitian.....	4
<b>BAB II     TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>5</b>
A. Bangle .....	5
1. Klasifikasi Tanaman Bangle ( <i>Zingiber cassumunar</i> Roxb.)..	5
2. Nama lain .....	5
3. Morfologi Tanaman Bangle .....	5
4. Manfaat dan Khasiat .....	6
5. Kandungan Kimia .....	6
B. Tanaman Kemangi .....	7
1. Sistematika Tanaman Kemangi ( <i>Ocimum basilicum</i> L.) .....	7
2. Nama Lain.....	7
3. Morfologi Tanaman Kemangi.....	7



4.	Manfaat dan Khasiat .....	8
5.	Kandungan Kimia .....	8
C.	Minyak Atsiri .....	8
1.	Pengertian minyak atsiri.....	8
2.	Sifat minyak atsiri .....	9
3.	Metode isolasi minyak atsiri .....	9
4.	Identifikasi minyak atsiri .....	10
D.	Sterilisasi.....	10
E.	Simplisia.....	10
1.	Pengertian Simplisia .....	10
2.	Pengumpulan simplisia .....	11
3.	Cara pembuatan simplisia .....	11
4.	Pengemasan dan penyimpanan .....	11
F.	Penyulingan.....	12
G.	Media.....	12
H.	<i>Staphylococcus aureus</i> .....	13
1.	Klasifikasi <i>Staphylococcus aureus</i> .....	13
2.	Morfologi dan identifikasi .....	13
3.	Patogenesis.....	14
I.	Antibakteri.....	14
J.	Kombinasi Obat .....	15
K.	Metode Dilusi.....	16
L.	Sistem <i>Checkerboard</i> .....	16
M.	Landasan Teori.....	17
N.	Hipotesis.....	19
BAB III	METODE PENELITIAN .....	20
A.	Populasi dan Sampel .....	20
1.	Populasi.....	20
2.	Sampel.....	20
B.	Variabel Penelitian .....	20
1.	Identifikasi variabel utama.....	20
2.	Klasifikasi variabel utama.....	20
3.	Definisi operasional variabel utama.....	21
C.	Alat Dan Bahan .....	22
1.	Alat.....	22
2.	Bahan .....	22
D.	Jalannya Penelitian.....	22
1.	Identifikasi/determinasi tanaman .....	22
2.	Pengambilan Bahan.....	22

3.	Isolasi minyak atsiri .....	23
4.	Analisa minyak atsiri .....	23
4.1.	Pengamatan organoleptik. ....	23
4.2.	Identifikasi minyak atsiri. ....	23
4.3.	Penetapan indeks bias minyak atsiri. ....	24
4.4.	Penetapan bobot jenis minyak atsiri.....	24
4.5.	Penetapan kelarutan dalam alkohol.....	24
4.6.	Karakterisasi komponen senyawa penyusun minyak atsiri dengan Gas Chromatography - Mass Spectrometry (GC-MS). ....	24
5.	Sterilisasi.....	25
6.	Pembuatan suspensi bakteri uji <i>Staphylococcus aureus</i> .....	25
7.	Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 ...	25
7.1.	Identifikasi berdasarkan koloni.....	25
7.2.	Identifikasi mikroskopis secara morfologi.....	26
7.3.	Identifikasi fisiologi <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	26
8.	Pembuatan konsentrasi bahan uji .....	26
9.	Pengujian aktivitas antibakteri .....	27
E.	Analisis Hasil .....	28
<b>BAB IV</b>	<b>HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>34</b>
A.	Hasil Penelitian .....	34
1.	Identifikasi tanaman .....	34
2.	Pengambilan Bahan.....	34
3.	Isolasi minyak atsiri .....	34
4.	Analisa minyak atsiri .....	35
4.1.	Pengamatan organoleptik minyak atsiri. ....	35
4.2.	Identifikasi minyak atsiri. ....	36
4.3.	Penetapan indeks bias minyak atsiri. ....	36
4.4.	Penetapan bobot jenis minyak atsiri. ....	37
4.5.	Penetapan kelarutan dalam alkohol .....	38
4.6.	Karakterisasi komponen senyawa penyusun minyak atsiri dengan Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS). ....	38
5.	Pembuatan suspensi bakteri uji .....	40
6.	Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 ...	40
6.1.	Identifikasi berdasarkan koloni.....	40
6.2.	Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 berdasarkan mikroskopis. ....	40

6.3. Hasil Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 berdasarkan fisiologi-katalase.....	41
6.4. Hasil Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 berdasarkan fisiologi-koagulasi. ....	41
7. Hasil pengujian aktivitas antibakteri minyak atsiri rimpang bangle dan daun kemangi dengan metode dilusi secara <i>checkboard</i> .....	41
8. Hasil <i>Fractional Inhibitory Concentration</i> (FIC) dan <i>Fractional Inhibitory Concentration Index</i> (FICI) minyak atsiri rimpang bangle dan daun kemangi .....	43
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	46
A. Kesimpulan .....	46
B. Saran.....	46
DAFTAR PUSTAKA .....	47
LAMPIRAN.....	53

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Rimpang bangle ( <i>Zingiber cassumunar</i> Roxb.).....	5
Gambar 2. Tanaman Kemangi ( <i>Ocimum basilicum</i> L.).....	7
Gambar 3. Skema isolasi minyak atsiri rimpang bangle .....	30
Gambar 4. Skema isolasi minyak atsiri daun kemangi.....	31
Gambar 5. Skema pembuatan suspensi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29523 .....	32
Gambar 6. Skema pengujian aktivitas antibakteri secara dilusi dengan sistem <i>checkerboard</i> .....	33

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Kadar minyak atsiri rimpang bangle .....	34
Tabel 2. Kadar minyak atsiri daun kemangi .....	35
Tabel 3. Hasil pemeriksaan organoleptik minyak atsiri rimpang bangle .....	35
Tabel 4. Hasil pemeriksaan organoleptik minyak atsiri kemangi.....	35
Tabel 5. Identifikasi minyak atsiri rimpang bangle .....	36
Tabel 6. Identifikasi minyak atsiri daun kemangi .....	36
Tabel 7. Indeks bias minyak atsiri .....	36
Tabel 8. Hasil penetapan bobot jenis minyak atsiri rimpang bangle.....	36
Tabel 9. Hasil penetapan bobot jenis minyak atsiri daun kemangi .....	36
Tabel 10. Hasil analisis komponen utama minyak atsiri rimpang bangle dengan GC-MS .....	36
Tabel 11. Hasil analisis komponen utama minyak atsiri daun kemangi dengan GC-MS .....	36
Tabel 12. Hasil uji dilusi secara checkerboard kombinasi minyak atsiri rimpang bangle dan daun kemangi pada bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29523 .....	42
Tabel 13. Hasil perhitungan FIC dan FIC Index kombinasi minyak atsiri rimpang bangle dan daun kemangi pada bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29523 .....	44

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil determinasi tanaman bangle dan kemangi .....	54
Lampiran 2. Rimpang bangle, daun kemangi dan destilasi .....	55
Lampiran 3. Minyak atsiri rimpang bangle, daun kemangi dan alat .....	56
Lampiran 4. Alat sterilisasi .....	57
Lampiran 5. Bahan uji antibakteri .....	58
Lampiran 6. Identifikasi minyak atsiri dan kelarutan dalam alkohol .....	59
Lampiran 7. Identifikasi minyak atsiri indeks bias .....	59
Lampiran 8. Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 .....	60
Lampiran 9. Hasil uji aktivitas antibakteri dengan dilusi .....	61
Lampiran 10. Perhitungan kadar minyak atsiri rimpang bangle .....	67
Lampiran 11. Perhitungan kadar minyak atsiri daun kemangi .....	68
Lampiran 12. Perhitungan bobot jenis minyak atsiri .....	69
Lampiran 13. Perhitungan pengenceran konsentrasi minyak atsiri .....	71
Lampiran 14. Hasil replikasi dilusi secara <i>checkerboard</i> .....	72
Lampiran 15. Perhitungan FIC dan FIC Index .....	73
Lampiran 16. Perhitungan persen (%) kemurnian berdasarkan indeks bias .....	76
Lampiran 17. Hasil analisis GCMS minyak atsiri .....	77
Lampiran 18. Komposisi media .....	86

## INTI SARI

**ANGGRENIE, Y. 2017. UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI MINYAK ATSIRI RIMPANG BANGLE (*Zingiber cassumunar* Roxb.) dan DAUN KEMANGI (*Ocimum basilicum* L.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.**

Minyak atsiri rimpang bangle dan daun kemangi mengandung terpineol-4, sabinene, sitral, linalool, eugenol dan lain-lain. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas dari kombinasi minyak atsiri rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) dan daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Metode penelitian ini menggunakan metode dilusi sistem *checkerboard* dengan konsentrasi bertingkat yaitu 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,56%; 0,78%. Sistem *checkerboard* menggunakan 48 tabung, 36 tabung berisi kombinasi dari kedua minyak atsiri, 6 tabung berisi minyak atsiri rimpang bangle tunggal dan 6 tabung berisi minyak atsiri daun kemangi tunggal. Data KBM yang diperoleh dianalisa menggunakan perhitungan *Fractional Inhibitory Concentration Index* (FIC Index) untuk mengetahui efek kombinasi sinergis, aditif atau antagonis.

Hasil penelitian menunjukkan minyak atsiri rimpang bangle, daun kemangi dan kombinasi mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Hasil yang efektif adalah minyak atsiri tunggal rimpang bangle dengan KBM 6,25%, daun kemangi KBM 12,5% dan pada kombinasi yang efektif adalah minyak atsiri rimpang bangle konsentrasi 0,78 % dengan daun kemangi 3,125% dan minyak atsiri rimpang bangle konsentrasi 1,56% dengan daun kemangi 1,56%. Hasil kombinasi minyak atsiri rimpang bangle dan daun kemangi memiliki efek sinergis dengan nilai FIC indeks 0,3748 dan 0,3744 (<0,5).

---

**Kata kunci** : *Staphylococcus aureus* ATCC 29523, antibakteri, minyak atsiri, *Zingiber cassumunar* Roxb., *Ocimum basilicum* L.

## ABSTRACT

**ANGGRENIE, Y. 2017. ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST COMBINATION OF ESSENTIAL OIL BANGLE RHIZOME (*Zingiber cassumunar* Roxb.) AND BASIL LEAVES (*Ocimum basilicum* L.) TO *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, THESIS, PHARMACY FACULTY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.**

The essential oil of bangle rhizome and basil leaves contains terpineol-4, sabinene, citral, linalool, eugenol and others. The purpose of this research is to know the activity of combination on essential oil bangle rhizome (*Zingiber cassumunar* Roxb.) and basil leaves (*Ocimum basilicum* L.) as antibacterial to *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

The method used in this research using dilution method with *checkerboard* system use the concentration of 25%; 12.5%; 6.25%; 3.125%; 1.56%; 0.78%. The *checkerboard* system use 48 tubes, 36 tubes containing a combination of both essential oils, while 6 tubes contain the essential oil of single bangle rhizome and 6 other tubes containing the essential oil of single basil leaves. MBC obtained was analyzed using *Fractional Inhibitory Concentration Index* (FIC Index) calculation to determine the effect combination of synergistic, additive or antagonist.

The study results showed that essential oil of bangle rhizome, basil leaves and combination had antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. The effective results on single essential oil of bangle rhizome with MBC 6.25%, basil leaves MBC 12.5% and the effective combination is at the concentration of essential oil bangle rhizome 0,78% with basil essential oil 3,125% and the concentration of essential oil rhizome bangle 1.56% with basil essential oil 1.56%. The combination of essential oil of rhizome bangle and basil leaf has a synergistic effect with the FIC index value of 0,3748 and 0.3744 (<0.5).

---

**Keywords:** *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, antibacterial, essential oil, *Zingiber cassumunar* Roxb., *Ocimum basilicum* L.



# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang Masalah**

Manusia hidup di alam selalu kontak dengan mikroorganisme, bakteri, virus, fungi, dan berbagai bentuk kehidupan parasit. Infeksi terjadi bila mikroorganisme yang masuk ke dalam tubuh menyebabkan berbagai gangguan fisiologi normal tubuh sehingga timbul penyakit infeksi dan bagian tubuh yang dapat terkena infeksi adalah kulit. Kulit merupakan pembungkus elastik yang melindungi tubuh dari pengaruh lingkungan, baik dari cuaca, polusi, temperatur udara dan sinar matahari (Setiadi 2011).

Penyakit infeksi yang disebabkan bakteri *Staphylococcus aureus* akan timbul tanda-tanda khas yaitu peradangan dan pembentukan abses (Jawetz *et al.* 2012). *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri yang dapat memproduksi nanah, secara umum menyebabkan infeksi nosokomial pada luka bedah, sedangkan dalam komunitas menyebabkan infeksi kulit dan jaringan lunak, infeksi saluran pernafasan, endokarditis infeksi serta akne vulgaris (Sutrisno 2014).

Antiseptik adalah agen kimia yang menghentikan, memperlambat atau pertumbuhan, mencegah mikroorganisme pada permukaan luar tubuh dan membantu mencegah infeksi. Antiseptik digunakan untuk mencegah infeksi pada luka memar, luka iris, luka lecet dan luka bakar ringan. Pertimbangan utama pemilihan antiseptik ialah indeks terapi, hubungan antara konsentrasi efektif bahan antiseptik terhadap mikroorganisme dibandingkan dengan satu produk yang mempunyai efek samping berbahaya seperti iritasi jaringan lokal. Indeks terapeutik digunakan sebagai pertimbangan akan timbulnya reaksi hipersensitif dan derajat absorpsi obat untuk menunjukkan toksisitas sistemik (Entjang 2003).

Pengobatan tradisional dengan memanfaatkan tumbuhan sebagai upaya penanggulangan masalah kesehatan telah banyak diterapkan masyarakat, di antaranya tanaman bangle (*Zingiber casumunar* Roxb.) dan tanaman kemangi (*Ocimum basilicum* L.). Bangle adalah tumbuhan obat berasal dari famili *Zingiberaceae* yang secara tradisional digunakan sebagai obat demam, sakit

kepala, batuk berdahak, perut nyeri, masuk angin, sembelit, cacingan, rematik, mengecilkan perut pasca melahirkan dan kegemukan. Rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) menghasilkan 0,95% minyak atsiri dengan komponen utamanya 4-terpineol, zerumbon, kariofilena dan  $\alpha$ -kariofilena yang mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan mikroba (Sayuti *et al.* 2014). Minyak atsiri rimpang bangle menunjukkan aktivitas sebagai antimikroba dengan jangkauan luas baik terhadap bakteri Gram-positif maupun Gram-negatif (Hartanti *et al.* 2013). Nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) minyak atsiri rimpang bangle untuk bakteri *Staphylococcus aureus* dan *E.coli* adalah 3,125 % (Marliani 2012) dan diameter zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 9,07 mm (Indah *et al.* 2013).

Kemangi tumbuh di beberapa daerah di dunia yang merupakan tanaman yang mempunyai kandungan utama minyak atsiri (Sajjadi 2006). Penelitian Maylia (2014) menyatakan kandungan minyak atsiri dalam daun kemangi mengandung zat antibakteri yang efektif untuk membunuh bakteri seperti *Staphylococcus aureus*. Minyak atsiri daun kemangi mengandung senyawa hidrokarbon, alkohol, ester, phenol (eugenol 1-19 %, iso-eugenol), eter phenolat (metil clavicool 3-31%, metil eugenol 1-9%), oksida dan keton. Minyak atsiri daun kemangi mengandung eugenol yang merupakan turunan senyawa fenol yang memiliki efek antiseptik dan bekerja dengan merusak membran sel bakteri (Maryati *et al.*, 2007).

Penelitian Hussain *et al* (2008) membuktikan bahwa minyak atsiri daun kemangi mempunyai komponen utama linalool (56,7-60,6%) dimana mampu melawan 9 mikroorganisme patogen diantaranya pada bakteri *Staphylococcus aureus* dengan diameter zona hambat sebesar 22,2-24,4 mm. Minyak atsiri dari daun kemangi memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dengan nilai KBM 0,4% sebanding dengan ampicillin trihidrat 150 mg/ml (Marianne 2006) dan nilai KHM sebesar 3,12-25,0% (Adeola *et al.* 2012).

Minyak atsiri merupakan salah satu metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tanaman tingkat tinggi dan mempunyai peranan penting bagi tanaman itu sendiri maupun bagi kehidupan manusia. Minyak atsiri mempunyai aktivitas

farmakologis yang beragam antara lain analgesik, antipiretik, antiseptik, dan banyak juga yang memiliki aktivitas antibakteri (Mukhtar *et al.* 2007).

Penelitian Sayuti *et al.* (2014) juga membuktikan kombinasi minyak atsiri lempuyangan wangi dan rimpang bangle memiliki diameter daya hambat sebesar 19,67 mm terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Penelitian Pratiwi (2016) membuktikan bahwa kombinasi dari minyak atsiri daun kemangi dan kulit kayu manis memiliki diameter daya hambat sebesar 17,6 mm dan nilai KBM sebesar 1,56% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

Berdasarkan uraian tersebut, penulis tertarik melanjutkan penelitian dengan melakukan kombinasi minyak atsiri rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) dan minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) untuk mengetahui aktivitas dari minyak atsiri tanaman tersebut yang berkhasiat sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan menggunakan metode dilusi.

## **B. Perumusan Masalah**

Permasalahan dalam penelitian ini adalah :

1. Apakah minyak atsiri rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.), daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dan kombinasinya memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?
2. Manakah dari minyak atsiri rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.), daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dan kombinasi dari keduanya yang memiliki aktivitas yang efektif terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?
3. Bagaimana efek kombinasi minyak atsiri rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) dan daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

## **C. Tujuan Penelitian**

1. Mengetahui minyak atsiri rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.), daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dan kombinasi dari keduanya memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

2. Mengetahui minyak atsiri rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.), daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dan kombinasi dari keduanya yang memiliki aktivitas yang efektif terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
3. Mengetahui efek kombinasi minyak atsiri rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) dan daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

#### **D. Kegunaan Penelitian**

Penelitian diharapkan dapat menjadi bukti ilmiah tentang manfaat kombinasi minyak atsiri rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) dan daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) 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* Roxb.) dan daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Bangle**

##### **1. Klasifikasi Tanaman Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.)**

Sistematika tanaman bangle, adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Class	: Monocotyledons
Subclass	: Zingiberidae
Ordo	: Zingiberales
Family	: Zingiberaceae
Genus	: Zingiber Mill.
Spesies	: <i>Zingiber cassumunar</i> Roxb. (Raharjojo 2009)



**Gambar 1. Rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.)**  
Sumber : Thomas 2012

##### **2. Nama lain**

Setiap daerah di Indonesia mempunyai bermacam-macam nama untuk tanaman bangle, diantaranya: Bangle (Indonesia dan Jawa), Panglai (Sunda), Pandhiyang (Madura), Banggele (Bali), Mogle (Aceh), Bale (Ujung pandang), Paini (Bugis), Bangelei, Kekuniran, Manglai (Minahasa), Banggulai (Bima) dan Unin makei, Unin pakei (Ambon) (Thomas 2012).

##### **3. Morfologi Tanaman Bangle**

Tanaman bangle merupakan tanaman herba semusim. Batangnya tegak dengan tinggi 1-1,5 m, berwarna hijau, dengan rimpang kuat, menjalar berdaging,

tangkai daun pendek, daun tunggal, persilangan menyirip, pangkal tumpul, ujung sangat lancip, kedua permukaan berbulu halus, panjang helai daun 23-25 cm, lebar 20-25 cm. 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, panjang lebih kurang 1,5 cm, warna merah menyala. Akar serabut, berwarna putih kotor (Syukur *et al.* 2001).

Bangle mempunyai rimpang yang menjalar dan berdaging, berbentuk hampir bundar, jorong, atau tidak beraturan. Tebal rimpang 2-5 mm dengan permukaan luar tidak rata atau berkerut, warna permukaan coklat muda kekuningan, dan warna bagian dalam kuning muda sampai kuning kecoklatan. Rasanya pedas dan agak pahit (Utami 2008).

#### **4. Manfaat dan Khasiat**

Rimpang bangle memiliki aktivitas antioksidan dan antiinflamasi (Rahardjo *et al.* 2004) dan sebagai penurun panas (antipiretik), peluruh kentut (karminatif), peluruh dahak, pembersih darah, pencahar, dan obat caceng. Rimpang bangle digunakan untuk mengobati sakit kepala, batuk berdahak, perut nyeri, masuk angin, sembelit, ramuan jamu pada wanita setelah melahirkan (untuk mengecilkan perut) dan mengatasi kegemukan. Daunnya berkhasiat untuk menambah nafsu makan dan mengatasi perut kembung (Utami 2008).

#### **5. Kandungan Kimia**

Rimpang bangle mengandung bahan-bahan berupa minyak atsiri 1,8% atas dasar bahan kering, mengandung komponen antara lain sabinen, seskuifeladren, terpinen-4-ol, sineol, asam dan gom, asam-asam organik dan albuminoid serta kurkuminoid, pinen, sesquiterpen (Rahardjo *et al.* 2004). Penelitian Sayuti *et al.* (2014) mengemukakan minyak atsiri rimpang bangle komponen utamanya adalah 4-terpineol, zerumbon, kariofilena dan  $\alpha$ -kariofilena. Zerumbon merupakan salah satu senyawa sesquiterpen yang digunakan sebagai agen antimikroba yang mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan mikroba.

## B. Tanaman Kemangi

### 1. Sistematika Tanaman Kemangi (*Ocimum basilicum* L.)

Kingdom	: Plantae
Super Divisi	: Angiospermae
Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Dicotyledone
Ordo	: Euphorbiales
Famili	: Euphorbiaceae
Genus	: Acalypha
Spesies	: <i>Ocimum sanctum</i> L. (Depkes 2001).



Gambar 2. Tanaman Kemangi (*Ocimum basilicum* L.)  
Sumber : Depkes RI 2001

### 2. Nama Lain

Setiap daerah mempunyai bermacam-macam nama untuk tanaman kemangi. Berikut ini adalah nama-nama tanaman kemangi diberbagai daerah di Indonesia : lampes (Sunda), lampes (Jawa), kemangi, roko-roko (Madura). Bali: uku-uku, Maluku: Lufe-lufe (Ternate), Sumatera : balakama, kemangi utan, ruku-ruku (Utami 2008).

### 3. Morfologi Tanaman Kemangi

Kemangi adalah tumbuhan dengan habitus: semak, semusim, dengan tinggi 30-150 cm; Batang: berkayu, segi empat, beralur, bercabang, berbulu, hijau; Daun: tunggal, bulat telur, ujung runcing, pangkal tumpul, tepi bergerigi, pertulangan menyirip, panjang 14-16 mm, lebar 3-6 mm, tangkai panjang  $\pm$  1 cm, pendek, hijau; Bunga: majemuk, bentuk tandan, berbulu, daun pelindung bentuk elips, bertangkai pendek, hijau, mahkota bulat telur, putih keunguan; Buah: kotak,

coklat tua; Biji: kecil, tiap buah terdiri empat biji, hitam; Akar: tunggal putih kotor (Depkes 2001).

#### **4. Manfaat dan Khasiat**

Kemangi dapat digunakan untuk menghambat atau membunuh bakteri patogen yang ada di kulit yaitu *Staphylococcus aureus*. Eugenol yang terkandung dalam minyak atsiri daun kemangi merupakan turunan senyawa fenol yang memiliki efek antiseptik dan bekerja dengan merusak membran sel bakteri. Mekanisme antibakteri karena adanya pengikatan senyawa fenol dengan sel bakteri, kemudian akan mengganggu permeabilitas membran dan proses transportasi (Maryati *et al*, 2007). Tanaman kemangi berkhasiat untuk kesehatan antara lain mengobati demam, pilek, dan memperbanyak produksi ASI. Getah daunnya berkhasiat mengobati radang telinga tengah. Daunnya berkhasiat penenang saraf dan obat rematik (Utami 2008). Penelitian yang dilakukan Hussain *et al* (2008) membuktikan bahwa minyak atsiri daun kemangi mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan diameter sebesar 22,2-24,4 mm.

#### **5. Kandungan Kimia**

Kandungan kimia hasil destilasi dari tanaman kemangi adalah minyak atsiri. Minyak atsiri dalam daun kemangi memiliki aktivitas antibakteri, baik bakteri Gram-positif maupun Gram-negatif, jamur dan kapang (Yosephine *et al*. 2013). Minyak atsiri yang terdapat dalam daun kemangi antara lain: 30%-40% eugenol, terpeen alipatis ocimeen (Claus dan Tyler 1965). Penelitian Maryati *et al*. (2007) mengemukakan minyak atsiri dari daun kemangi tersusun atas senyawa hidrokarbon, alkohol, ester, phenol (eugenol 1-19%, iso-eugenol), eter phenolat (metil clavicol 3-31%, metil eugenol 1-9%), oksida dan keton.

### **C. Minyak Atsiri**

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

Minyak atsiri merupakan cairan yang bersifat aromatik, dan mudah menguap pada suhu kamar. Minyak atsiri diperoleh dari ekstrak bunga, biji, daun, kulit batang, kayu, dan akar tumbuh-tumbuhan tertentu (Dian 2008).



Minyak atsiri sering juga disebut sebagai minyak menguap, minyak eteris atau minyak essensial karena jika pada suhu biasa (suhu kamar) akan mudah menguap di udara terbuka. Penyimpanan minyak atsiri dalam jangka waktu yang lama akan menyebabkan minyak atsiri teroksidasi dan membentuk resin (damar) serta perubahan warna menjadi lebih tua (gelap) mencegah terjadinya hal tersebut yaitu menghindari minyak atsiri dari pengaruh cahaya, misalnya disimpan dalam bejana gelas yang berwarna gelap (Gunawan dan Mulyani 2004). Botol penyimpan minyak atsiri harus terisi penuh agar oksigen udara yang ada dalam ruang udara tempat penyimpanan tersebut kecil (Koensoemardiyah 2010).

## **2. Sifat minyak atsiri**

Sifat-sifat minyak atsiri menurut Harbone (1996) adalah sebagai berikut: berbau harum atau wangi sesuai dengan aroma tanaman yang menghasilkannya, mempunyai rasa getir, pahit, atau pedas, berupa cairan yang berwarna kuning, kemerahan dan ada yang tidak berwarna, tidak dapat larut dalam air dan dapat disuling uap, minyak atsiri tersusun dari monoterpenoid yang mempunyai titik didih sama dengan 140-180°C dan seskuiterpenoid yang mempunyai titik didih > 200°C, larut dalam pelarut organik, beberapa mempunyai struktur siklik serta mempunyai satu gugus fungsi atau lebih (hidroksil, karbonil dan lain-lain).

Minyak atsiri memiliki beberapa aroma yang mirip dengan minyak atsiri lainnya, tetapi tidak persis sama dan sangat bergantung pada komponen kimia penyusun minyak tersebut. Tidak semua tumbuhan menghasilkan minyak atsiri, hanya tumbuhan yang memiliki sel glandula yang biasa menghasilkan minyak atsiri (Agusta 2000).

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

Metode isolasi yang lebih sering digunakan adalah dengan menggunakan metode destilasi. Ada dua metode destilasi yang digunakan yaitu yang pertama, metode destilasi kering. Metode destilasi kering paling sesuai untuk bahan kering dan untuk minyak-minyak yang tahan pemanasan. Kedua, adalah metode destilasi air. Metode destilasi air, meliputi destilasi air, destilasi uap air dan destilasi uap langsung. Metode ini dapat digunakan untuk bahan kering maupun bahan segar dan terutama digunakan untuk minyak-minyak yang kebanyakan dapat rusak

akibat panas kering. Seluruh bahan dihaluskan kemudian dimasukkan ke dalam bejana yang bentuknya mirip dandang (Gunawan dan Mulyani 2004).

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

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

### **D. Sterilisasi**

Bahan atau peralatan yang digunakan dalam bidang mikrobiologi harus dalam keadaan steril. Steril artinya tidak didapatkan mikroba yang tidak diharapkan kehadirannya, baik mengganggu, merusak media atau mengganggu kehidupan dan proses yang sedang dikerjakan (Waluyo 2004). Sterilisasi merupakan suatu tindakan untuk membebaskan alat dan media dari mikroba. Cara sterilisasi yang umum dilakukan meliputi sterilisasi secara fisik yaitu pemanasan basah atau kering, penggunaan sinar bergelombang pendek seperti sinar x, sinar  $\alpha$ , dan sinar UV untuk bahan yang tidak akan berubah akibat temperatur tinggi atau tekanan tinggi; sterilisasi secara kimia yaitu penggunaan desinfektan, larutan alkohol, larutan formalin, dan sterilisasi secara mekanik yaitu penggunaan saringan atau filter untuk bahan akibat pemanasan tinggi atau tekanan tinggi mengalami perubahan atau penguraian (Darmandi 2008).

### **E. 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 (Depkes 2000). Simplisia merupakan sebutan untuk bahan alam yang dikeringkan dan digunakan untuk pengobatan. Suhu pengeringan simplisia maksimal 60°C untuk mencegah kerusakan kandungan senyawa dalam simplisia. Ada tiga jenis simplisia yaitu simplisia segar, simplisia nabati dan simplisia

hewani. Simplisia segar yaitu tanaman segar yang belum dilakukan pengeringan. Simplisia nabati yaitu tumbuhan utuh, bagian tumbuhan atau eksudat tumbuhan. Eksudat tumbuhan adalah isi sel yang secara spontan keluar dari dalam tumbuhan atau dengan cara tertentu dipisahkan dari tumbuhannya. Simplisia hewani merupakan berupa hewan utuh atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa bahan kimia murni (KEMENKES RI 2010).

## **2. Pengumpulan simplisia**

Simplisia berdasarkan bahan bakunya bisa diperoleh dari tanaman liar atau dari tanaman yang dibudidayakan. Simplisia yang diambil dari tanaman budidaya maka keseragaman umur, masa panen dan galur (asal usul, garis keturunan) tanaman dapat dipantau. Simplisia yang diambil dari tanaman liar akan banyak kendala dan variabilitas yang tidak dapat dikendalikan seperti misalnya asal tanaman, umur tanaman dan tempat tumbuhnya (KEMENKES RI 2010).

## **3. Cara pembuatan simplisia**

Simplisia dapat dilakukan dengan beberapa tahapan berikut. Tahap yang pertama dimulai dengan pengumpulan bahan baku dan kemudian menentukan kualitas bahan baku tersebut. Bahan yang sudah terkumpul disortasi basah atau dipilah terlebih dahulu ketika tanaman masih segar, kemudian dilakukan pencucian untuk membersihkan kotoran yang menempel di bahan tanaman. Pengeringan bertujuan menurunkan kadar air sehingga bahan tidak mudah ditumbuhi bakteri, kemudian sortasi kering yaitu pemilihan bahan setelah mengalami proses pengeringan. Bahan baku ditimbang dan kemudian dilakukan penetapan kadar zat pada bahan yang ditimbang. Langkah terakhir adalah pengepakan dan penyimpanan, disimpan dalam rak pada gunang penyimpanan (KEMENKES RI 2010).

## **4. Pengemasan dan penyimpanan**

Simplisia dikemas dalam wadah yang inert, melindungi simplisia dari cemaran serta mencegah adanya kerusakan. Penyimpanan simplisia sebaiknya disimpan dalam ruangan yang memiliki kelembaban rendah, terhindar dari sinar matahari, serta terlindung dari gangguan serangga-serangga ataupun tikus (Amalina 2008).

## **F. Penyulingan**

Bahan yang mengandung minyak atsiri dapat diperoleh dengan metode penyulingan atau destilasi. Menurut Sastrohamidjojo (2004), ada tiga metode destilasi yang digunakan dalam industri minyak atsiri, yaitu destilasi air, destilasi dengan uap-air dan destilasi uap langsung.

Destilasi air bahan yang akan disuling dihubungkan langsung dengan air mendidih atau dengan kata lain merebus tanaman secara langsung. Kelebihannya adalah alatnya sederhana dan waktu yang dibutuhkan untuk mendapatkan minyak atsiri sebentar. Kekurangan destilasi air adalah tidak cocok untuk bahan baku yang tidak tahan uap panas dan kualitas hasil penyulingan tidak sebaik destilasi uap-air.

Destilasi dengan uap-air bahan yang digunakan tidak kontak langsung dengan air namun diberi sekat antara air dan simplisia yang biasa disebut angsang. Prinsipnya air mendidih dan uap air akan membawa partikel minyak atsiri untuk dialirkan ke kondensor kemudian ke alat pemisah secara otomatis air dan minyak akan terpisah karena ada perbedaan berat jenis. Berat jenis minyak lebih kecil dibandingkan berat jenis air sehingga minyak berada di atas dan air di bawah.

Destilasi uap langsung di dalam bejana hanya terdapat simplisia. Prinsipnya uap air yang dihasilkan oleh steam generator akan mengalir ke wadah simplisia dan membawa minyak atsiri bersama dengan uap air tersebut. Destilasi uap ini merupakan destilasi yang paling baik karena dapat menghasilkan minyak atsiri dengan kualitas yang tinggi karena tidak bercampur dengan air. Kekurangan destilasi uap adalah membutuhkan peralatan yang lebih kompleks dan mahal.

## **G. Media**

Media adalah bahan untuk menumbuhkan mikroorganisme, tempat bagi jaringan untuk tumbuh dan mengambil nutrisi yang mendukung kehidupan jaringan. Media tumbuh menyediakan berbagai bahan yang diperlukan jaringan untuk hidup dan memperbanyak diri. Mikroba dapat tumbuh dan berkembang biak dengan baik di dalam media, media diperlukan persyaratan tertentu, yaitu media harus mengandung semua unsur hara yang diperlukan untuk pertumbuhan

dan perkembangan mikroba. Media harus mempunyai tekanan osmosa, tegangan permukaan dan pH yang sesuai dengan kebutuhan mikroba. Media harus dalam keadaan steril artinya sebelum ditanami mikroba yang dimaksud, tidak ditumbuhi mikroba lain. Terdapat tiga bentuk media yaitu media cair, padat, dan setengah padat. Media cair (*liquid media*) dapat digunakan pembiakan organisme dalam jumlah besar, fermentasi dan berbagai uji. Media padat (*solid media*) digunakan untuk mengamati bentuk dan morfologi koloni serta mengisolasi biakan murni. Media setengah padat (*semisolid media*) digunakan untuk menguji ada atau tidaknya motilitas dan kemampuan fermentasi (Sriyanti dan Wijayani 2008).

## H. *Staphylococcus aureus*

### 1. Klasifikasi *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* adalah bakteri Gram positif dan jika diamati di bawah mikroskop akan tampak dalam bentuk bulat tunggal atau berpasangan, atau berkelompok seperti buah anggur (Radji 2011).

Menurut Garrity *et al.* 2007 klasifikasi *Staphylococcus aureus*, sebagai berikut :

Kingdom	: Bacteria
Divisio	: Protophyta
Subdivisio	: Schizomycetea
Kelas	: Eubacteriales
Famili	: Micrococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>

### 2. Morfologi dan identifikasi

*Staphylococcus aureus* berasal dari perkataan staphyle yang berarti kelompok buah anggur dan kokus yang berarti berbentuk bulat. *Staphylococcus aureus* adalah sel berbentuk bola dengan garis tengah kira-kira 1  $\mu\text{m}$  tersusun dalam kelompok-kelompok tidak teratur. Biakan cair juga terlihat kokus yang tunggal, berpasangan, tetrad, dan berbentuk rantai. Kokus muda bersifat Gram-

positif kuat; pada biakan tua, banyak sel menjadi Gram-negatif. *Staphylococcus aureus* tidak bergerak dan tidak membentuk spora (Jawetz *et al.* 2012).

*Staphylococcus aureus* mengandung polisakarida dan protein yang mempunyai fungsi sebagai antigen dan merupakan substansi penting dalam struktur dinding sel, tidak membentuk spora dan tidak membentuk flagel. *Staphylococcus aureus* mudah tumbuh pada kebanyakan perbenihan bakteriologik dalam keadaan aerobik atau mikro-aerobik. *Staphylococcus aureus* paling cepat pada 37<sup>0</sup>C tetapi paling baik membentuk pigmen pada suhu kamar (20<sup>0</sup>C). Koloni pada perbenihan padat berbentuk bulat, halus, menonjol dan berkilau-kilauan, membentuk berbagai pigmen. *Staphylococcus aureus* berwarna kuning emas (Jawetz *et al.* 2012).

### **3. Patogenesis**

*Staphylococcus aureus* merupakan flora normal pada kulit, saluran pernafasan, dan saluran pencernaan makanan pada manusia. Bakteri ini juga ditemukan di udara dan lingkungan sekitar. *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan sakit pada kulit dan jaringan superfisial, seperti luka bakar, koreng, abses, dan infeksi karena kecelakaan dan infeksi sesudah operasi. *Staphylococcus aureus* juga dapat menyebabkan intoksikasi dan bermacam-macam infeksi seperti jerawat, bisul, meningitis, osteomielitis, pneumonia dan matitis pada manusia dan hewan (Jawetz *et al.* 2012).

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

### **I. Antibakteri**

Antibakteri adalah sifat suatu senyawa kimia yang menunjukkan efek untuk menghambat atau membunuh bakteri yang sangat merugikan bagi manusia.

Definisi ini kemudian berkembang menjadi senyawa yang dalam konsentrasi tertentu mampu menghambat bahkan membunuh proses kehidupan suatu mikroorganisme (Jawetz *et al.* 2001).

Antibakteri dapat diduga dengan mengenali struktur serta komposisi sel bakteri. Kerusakan pada salah satu situs dapat mengawali terjadinya perubahan sel-sel yang mati. Perubahan-perubahan yang dimaksud adalah yang pertama, kerusakan pada dinding sel. Struktur dinding sel dapat rusak dengan cara menghambat pembentukannya atau setelah selesai terbentuk (Jawetz *et al.* 2001).

Kedua, terjadi perubahan permeabilitas pada sel. Membran sitoplasma mempertahankan bagian tertentu dalam sel serta mengatur aliran keluar masuknya bahan-bahan lain, kemudian memelihara integritas komponen-komponen seluler. Kerusakan pada membran ini akan mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel (Jawetz *et al.* 2001).

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

Keempat, penghambatan kerja enzim. Sulfonamid merupakan zat kemoterapi sintesis yang bekerja dengan cara bersaing dengan PABA, sehingga dapat menghalangi sintesis asam folat yang merupakan asam esensial yang berfungsi dalam sintesis purin dan pirimidin. Aktivitas seluler yang normal akan terganggu karena tidak adanya enzim (Jawetz *et al.* 2001).

Kelima, penghambatan sintesis asam nukleat dan protein. DNA, RNA, dan protein memegang perubahan amat penting di dalam proses kehidupan normal sel. Gangguan apapun yang terjadi pada pembentukan sel atau pada fungsi sel zat-zat tersebut mengakibatkan kerusakan total pada sel (Jawetz *et al.* 2001).

## **J. Kombinasi Obat**

Kombinasi obat kemungkinan melibatkan campuran dua atau lebih obat dalam satu formulasi, penggunaan dua obat dalam formulasi yang berbeda dan

diminum bersama-sama, atau penggunaan dua obat yang diminum dalam waktu yang berbeda tetapi kemudian berada bersama-sama dalam darah. Hal-hal di atas dapat menimbulkan masalah interaksi obat, sehingga kemungkinan terjadi peningkatan atau penurunan efek obat (Siswondono & Soekardjo 2000).

Efek kombinasi dari beberapa agen kimia yang berbeda dapat dilihat dengan cara melihat hubungan dosis yang linier dan terdapat interaksi antara dua agent kimia yaitu aditif, sinergis, dan antagonis. Efek aditif dapat terjadi jika interaksi antara dua obat dengan kerja yang serupa diberikan jumlah dari efek kedua obat dapat menjadi diinginkan atau tidak diinginkan. Efek sinergis adalah dua obat atau lebih diberikan bersama-sama, obat yang satu dapat memperkuat terhadap obat yang lain. Efek antagonis merupakan interaksi dua obat apabila dikombinasikan mempunyai kerja yang berlawanan, maka efek obat itu akan saling meniadakan atau kerja obat dari kedua obat itu akan hilang (Joyce dan Evelyn 2006).

#### **K. Metode Dilusi**

Prinsip dari metode ini adalah menghambat pertumbuhan bakteri dalam pembenihan cair oleh suatu obat yang dicampurkan ke dalam pembenihan. Pembenihan yang digunakan harus merupakan pembenihan yang dapat menumbuhkan bakteri secara optimum dan tidak menetralkan obat yang dipergunakan (Bonang dan Koeswardono 2004).

Metode ini menggunakan antibakteri dengan konsentrasi yang menurun secara bertahap, baik dengan media cair atau padat, kemudian sampel uji diinokulasi pada media serta ditambah bakteri uji dan diinokulasi selama 24-48 jam. Keuntungan metode ini adalah memberikan hasil kuantitatif dengan memberikan hasil jumlah antimikroba yang dibutuhkan untuk mematikan bakteri (Jawetz *et al.* 2001).

#### **L. Sistem *Checkerboard***

Sistem *checkerboard* adalah metode yang paling sering digunakan untuk menguji interaksi kombinasi antara dua senyawa obat atau antimikroba. Metode



ini digunakan karena mudah dipahami, perhitungan dan interpretasi hasilnya sederhana dan dapat dilakukan di laboratorium mikrobiologi dengan menggunakan peralatan yang sudah tersedia (Pillai *et al.* 2005).

Istilah *checkerboard* mengacu pada pola (tabung atau *mikroplate*) yang disusun dan diatur dalam beberapa konsentrasi dilusi yang telah ditentukan antara dua antimikroba yang akan diuji, sehingga akan mendapatkan hasil konsentrasi hambat minimal (KHM) dan konsentasi bunuh minimum (KBM) terhadap organisme yang diuji (Pillai *et al.* 2005).

Nilai KHM atau KBM yang didapatkan kemudian dinilai berdasarkan indeks *Fractional Inhibitory Concentration* (FIC) untuk mengetahui interaksi yang terjadi antara keduanya sinergis, aditif atau antagonis. Perhitungan nilai *Fractional Inhibitory Concentration* (FIC) dengan rumus :  $FIC_A = KHM_{A+B}/KHM_A$ ,  $FIC_B = KHM_{B+A}/KHM_B$ ,  $FIC\ Index = FIC_A + FIC_B$ . Nilai  $MIC_{A+B}$  adalah KHM dari senyawa A dengan adanya senyawa B, dan sebaliknya untuk  $KHM_{B+A}$ . Nilai Indeks FIC dikatakan sinergis bila indeks  $FIC \leq 0,5$ , aditif bila indeks FIC 0,5 sampai 4, dan antagonis bila indeks  $FIC > 4$  (Pillai *et al.* 2005).

### M. Landasan Teori

Indonesia merupakan negara tropis memiliki ribuan jenis tumbuhan, yang harus dilestarikan dan dimanfaatkan dengan baik. Sebagian besar tumbuhan tersebut dapat digunakan sebagai tanaman obat (Poeloengan *et al.* 2006). Masyarakat di Indonesia saat ini masih menggunakan bahan alami sebagai keperluan sehari-hari dan juga untuk bahan obat.

Tanaman bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) secara tradisional banyak digunakan sebagai obat demam, sakit kepala, batuk berdahak, perut nyeri, masuk angin, sembelit, cacangan, rematik, mengecilkan perut pasca melahirkan dan kegemukan. Minyak atsiri rimpang bangle mengandung 4-terpineol, zerumbon, kariofilena dan  $\alpha$ -kariofilena. Zerumbon adalah salah satu senyawa seskuiterpen yang digunakan sebagai agen antimikroba yang mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan mikroba. Penelitian Hartanti *et al.* (2013) mengatakan minyak atsiri rimpang bangle menunjukkan aktivitas sebagai antimikroba dengan jangkauan luas baik terhadap bakteri Gram-positif maupun

Gram-negatif. Hasil penelitian Marliani (2012) diperoleh nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) minyak atsiri rimpang bangle sebesar 3,125 % terhadap bakteri *S.aureus* dan *E.coli* dengan efektivitas diameter hambatan bakteri *S.aureus* sebesar 9,07 mm (Indah *et al.* 2013).

Tanaman lainnya yang memiliki aktivitas antibakteri adalah kemangi. Daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) mempunyai kandungan utama minyak atsiri (Sajjadi 2006). Maryati *et al.* (2007) mengemukakan minyak atsiri dari daun kemangi tersusun atas senyawa hidrokarbon, alkohol, ester, phenol (eugenol 1-19%, iso-eugenol), eter phenolat (metil clavicol 3-31%, metil eugenol 1-9%), oksida dan keton. Eugenol dalam minyak atsiri daun kemangi merupakan turunan senyawa fenol yang memiliki efek antiseptik dan bekerja dengan merusak membran sel bakteri. Daun kemangi mempunyai kandungan minyak atsiri dengan komponen utama linalool (56,7-60,6%) dan mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* sebesar 22,2-24,4 mm (Hussain *et al.* 2008).

Penelitian uji kombinasi dari minyak atsiri rimpang bangle dan daun kemangi dan belum dilakukan penelitian sebelumnya, dari kombinasi keduanya diharapkan dapat meningkatkan efektivitas antibakteri. Kombinasi yang pernah dilakukan pada penelitian Sayuti *et al.* (2014) membuktikan kombinasi minyak atsiri lempuyangan wangi dan rimpang bangle memiliki diameter daya hambat sebesar 19,67 mm terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Penelitian Pratiwi (2016) membuktikan bahwa kombinasi dari minyak atsiri daun kemangi dan kulit kayu manis memiliki diameter daya hambat sebesar 17,6 mm dan nilai KBM sebesar 1,56% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.

*Staphylococcus aureus* adalah bakteri Gram positif dan di bawah mikroskop akan tampak dalam bentuk bulat tunggal atau berpasangan, atau berkelompok seperti buah anggur, tidak membentuk spora, dan tidak membentuk flagel (Radji 2011). *Staphylococcus aureus* merupakan patogen piogenik yang secara umum menyebabkan infeksi pada luka bedah, infeksi kulit dan jaringan lunak, infeksi saluran pernafasan, serta akne vulgaris (Sutrisno 2014). Beberapa diantaranya tergolong flora normal pada kulit dan selaput mukosa manusia, menyebabkan penanahan, abses, berbagai infeksi pirogen (Jawetz *et al.* 2012).

Metode pengujian pada penelitian ini menggunakan metode dilusi dengan sistem *checkerboard*. Metode dilusi dengan sistem *checkerboard* merupakan penghambatan pertumbuhan bakteri dalam pembenihan cair oleh suatu obat yang dicampurkan ke dalam pembenihan. Pembenihan yang digunakan harus merupakan pembenihan yang dapat menumbuhkan bakteri secara optimum dan tidak menetralkan obat yang dipergunakan. Metode dilusi dengan sistem *checkerboard* bertujuan mencari Konsentrasi Hambat Minimum (KHM), Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dan mengetahui interaksi yang terjadi antara kombinasi minyak atsiri rimpang bangle dan daun kemangi.

Kombinasi obat merupakan campuran beberapa obat dalam satu formulasi atau dua obat yang berbeda diminum dalam waktu yang bersamaan. Kombinasi obat menyebabkan terjadi suatu peningkatan atau penurunan efek dari obat tersebut karena adanya interaksi dari masing-masing obat (Siswondono dan Soekardjo 2000). Penelitian ini menggunakan kombinasi karena kombinasi dapat dilakukan untuk mengatasi toleransi bakteri, mencegah resistensi, mengurangi toksisitas, dan dapat mencegah inaktivasi oleh enzim (Mulyono dan Isman 2011).

## N. Hipotesis

Berdasarkan dari uraian di atas, maka dapat disusun hipotesis sebagai berikut:

Pertama, minyak atsiri rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) dan daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) maupun kombinasi dari keduanya memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kedua, kombinasi dari minyak atsiri rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) dan daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) memiliki aktivitas yang efektif terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 daripada tunggalnya.

Ketiga, dapat ditentukan efek kombinasi minyak atsiri rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) dan daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

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

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

Populasi adalah semua obyek yang menjadi sasaran penelitian. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) yang diperoleh dari Ngargosari, Samigaluh, Kulon Progo Jogja, Jawa Tengah dan daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) yang diperoleh dari Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah.

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

Sampel adalah sebagian kecil dari populasi yang digunakan dalam melakukan penelitian. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman bangle yaitu bagian rimpang yang berwarna kuning, segar dan bersih diambil secara acak. Kemangi diambil bagian daun berwarna hijau, dipilih yang segar, bebas dari penyakit, serta bersih yang diambil secara acak.

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

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

Variabel utama pertama dalam penelitian ini adalah minyak atsiri dari rimpang bangle dan daun kemangi.

Variabel utama kedua penelitian ini adalah kombinasi minyak atsiri dari rimpang bangle dan daun kemangi.

Variabel utama ketiga penelitian ini adalah aktivitas antibakteri minyak atsiri dari rimpang bangle dan daun kemangi beserta kombinasinya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

##### **2. Klasifikasi variabel utama**

Variabel utama yang telah diidentifikasi dapat diklasifikasikan dalam berbagai macam variabel yaitu variabel bebas, variabel terkontrol dan variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian adalah variabel yang direncanakan untuk diteliti pengaruhnya terhadap variabel tergantung sedang pengertian

variabel tergantung dalam penelitian ini adalah pusat persoalan yang merupakan pengaruh selain variabel bebas.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi dari minyak atsiri rimpang bangle, daun kemangi, dan kombinasi keduanya dengan berbagai konsentrasi kombinasi.

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

Variabel tergantung dari penelitian ini adalah aktivitas antibakteri minyak atsiri rimpang bangle, daun kemangi dan kombinasi keduanya dengan dilihat pertumbuhannya pada media uji.

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

Pertama, rimpang bangle adalah rimpang yang diperoleh dari Ngargosari, Samigaluh, Kulon Progo Jogja, Jawa Tengah. Rimpang bangle diambil yang berwarna kuning, segar, bebas dari penyakit, dan bersih.

Kedua, daun kemangi adalah daun yang diperoleh dari Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah. Daun kemangi diambil yang berwarna hijau segar, bebas dari penyakit, dan bersih.

Ketiga, minyak atsiri rimpang bangle dan daun kemangi adalah minyak atsiri hasil destilasi dengan menggunakan metode destilasi uap air.

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

Kelima, kombinasi minyak atsiri dengan perbandingan adalah kombinasi dari minyak atsiri rimpang bangle dan daun kemangi dengan konsentrasi 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,56%, 0,78%.

Keenam, uji aktivitas antibakteri dengan minyak atsiri rimpang bangle dan daun kemangi beserta kombinasinya adalah pengujian aktivitas dengan menggunakan metode dilusi dengan sistem *checkerboard* untuk mengetahui konsentrasi terendah sediaan yang dapat membunuh bakteri uji dan interaksi antara sediaan.

## C. Alat Dan Bahan

### 1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi alat untuk pembuatan minyak atsiri yaitu kondensor dan dandang besar, refraktometer, GC-MS Shimadzu GCMS-QP2010S. Peralatan untuk uji mikrobiologi yaitu lampu spiritus, jarum ose tangkai panjang, tabung reaksi steril, rak tabung reaksi, cawan petri steril, kertas saring, kapas lidi steril, inkubator, mikropipet, autovortex mixer, gelas ukur, pipet volume steril, botol vial steril, inkas, autoklaf, oven, pinset, neraca analitik dan penggaris.

### 2. Bahan

Bahan sampel yang digunakan dalam uji mikrobiologi antibakteri adalah minyak atsiri dari rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) dan daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dengan berbagai konsentrasi 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,56%, 0,78% untuk uji dilusi dengan sistem *checkboard*.

Bahan kimia yang digunakan adalah Na sulfat eksikatus, tween 80, alkohol, NaCl fisiologi. Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Vogel Johnson Agar* (VJA), *Brain Heart Infusion* (BHI) dan plasma darah.

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 pertama penelitian ini adalah menetapkan kebenaran sampel bangle dan kemangi yang berkaitan dengan ciri-ciri mikroskopis dan makroskopis, serta mencocokkan ciri-ciri morfologis yang ada pada tanaman rimpang bangle dan kemangi terhadap kepustakaan yang dilakukan di Laboratorium Morfologi dan Sistematik Tumbuhan, Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi, Surakarta.

### 2. Pengambilan Bahan

Rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) yang diperoleh dari Ngargosari, Samigaluh, Kulon Progo Jogja, Jawa Tengah dan daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) yang diperoleh dari Tawangmangu, Karanganyar, Jawa

Tengah. Bangle yang diambil yaitu bagian rimpang yang berwarna kuning, kemudian kulitnya dibersihkan. Kemangi yang diambil adalah bagian daunnya, lalu dibersihkan dari kotoran yang menempel. Sebelum diproses, dirajang dahulu menjadi potongan-potongan kecil.

### **3. Isolasi minyak atsiri**

Isolasi minyak atsiri menggunakan destilasi uap air. Rimpang bangle dan daun kemangi 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 dilakukan dengan api sampai penyulingan dihentikan setelah tidak ada penambahan minyak, kemudian tampung destilat dan ukur volume yang dihasilkan.

Minyak yang diperoleh kemudian dilakukan pemisahan fase air dan minyak menggunakan corong pisah dengan penambahan  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  eksikatus seberat 1% dari volume minyak atsiri sehingga didapat hasil sulingan minyak bangle dan kemangi 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 daun kemangi memiliki bau aromatik, rasa membakar, manis, dan seperti rempah (Stahl 2008).

**4.2. Identifikasi minyak atsiri.** Identifikasi minyak atsiri dilakukan seperti identifikasi minyak atsiri pada umumnya yaitu minyak atsiri rimpang bangle dan daun kemangi 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 biasanya (Irawan 2009).

**4.4. Penetapan bobot jenis minyak atsiri.** Penetapan bobot jenis ditetapkan dengan cara botol kosong dikeringkan dengan cara di oven, kemudian ditimbang botol kosong dan dicatat hasilnya. Minyak atsiri rimpang bangle dan daun kemangi ditimbang dalam botol timbang dan dicatat hasilnya, penimbangan diulang sebanyak tiga kali. Data hasil penimbangan botol ditimbang dan minyak atsiri rimpang bangle dan kemangi 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 berisi minyak atsiri – bobot botol 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 kemangi 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  $\mu\text{m}$ , panjang 30 m, dan ketebalan film 0.25  $\mu\text{m}$ ) dan detektor yang digunakan FID. Kondisi GC: suhu awal 60  $^{\circ}\text{C}$  dinaikkan sampai 250  $^{\circ}\text{C}$  (4  $^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ ) kemudian pada suhu 250  $^{\circ}\text{C}$  dipertahankan selama 20 menit, gas pembawa Helium dengan kecepatan aliran 20 ml/min. Senyawa diidentifikasi dengan membandingkan retention index dan membandingkan mass spectra dengan yang ada di database *wiley library* dan *NIST library* (Adams 2004).

## 5. Sterilisasi

Media yang digunakan dalam penelitian ini disterilkan terlebih dahulu dengan autoklaf pada suhu 121 $^{\circ}\text{C}$  selama 20 menit. Gelas ukur dan beker glass disterilkan dengan oven pada suhu 170-180 $^{\circ}\text{C}$  selama 2 jam, sedangkan alat seperti jarum ose disterilkan dengan pemanas api langsung dan inkas disterilkan dengan menggunakan formalin (Suriawiria 2005).

## 6. Pembuatan suspensi bakteri uji *Staphylococcus aureus*

Pembuatan suspensi dengan mengambil biakan murni kurang lebih 1 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 kepadatan bakteri sebesar  $1,5 \times 10^8$  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 $^{\circ}\text{C}$ . Hasil pengujian yaitu beberapa koloni dengan warna hitam, karena *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat mereduksi telurit menjadi metalik warna medium di sekitar koloni berwarna kuning karena fermentasi manitol.

**7.2. Identifikasi mikroskopis secara morfologi.** Identifikasi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menggunakan Gram A, B, C, dan D. Gram A berisi kristal violet sebagai cat utama, Gram B berisi lugol iodine sebagai mordan, Gram C berisi etanol : aseton sebagai peluntur, dan Gram D berisi sarfianian sebagai cat lawan atau penutup. Pewarnaan Gram dilakukan dengan membuat preparat ulas yang telah difiksasi, ditetesi dengan Gram A sampai semua ulasan terwarnai, diamkan selama kurang lebih 1 menit. Cuci dengan aquadestilata mengalir dan dianginkan untuk mengeringkan preparat, ditetesi Gram B sampai ulasan terwarnai, diamkan kurang lebih 1 menit. Cuci dengan aquadestilata mengalir dan dianginkan, kemudian 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 fisiologi ada dua yaitu uji katalase dan koagulase, uji katalase menggunakan suspensi bakteri uji yang ditanam pada medium nutrient cair dengan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3%. Hasil positif ditandai adanya gelembung udara sebab *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 mempunyai enzim katalase. Penambahan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> akan terurai menjadi H<sub>2</sub>O dan O<sub>2</sub>, ditandai 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 konsentrasi bahan uji**

Minyak atsiri rimpang bangle dan daun kemangi masing-masing diencerkan dengan metode pengenceran kelipatan dua, hingga diperoleh konsentrasi minyak atsiri 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,56%, dan 0,78%. Minyak atsiri dilarutkan dengan tween 80 sehingga minyak dapat larut dalam

medium cair. Tween 80 dilakukan pengenceran 10%, diambil sebanyak 10 ml tween ditambahkan air sampai 100 ml. Minyak atsiri untuk konsentrasi 25% di ambil sebanyak 2,5 ml di tambah tween 80 10% sampai 10ml, minyak atsiri konsentrasi 12,5% di ambil sebanyak 1,25 ml di tambah tween 80 10% sampai 10ml, minyak atsiri konsentrasi 6,25% di ambil 0,625 ml di tambah tween 80 10% sampai 10ml, minyak atsiri konsentrasi 3,125 % di ambil sebanyak 0,3125 ml di tambah tween 80 10% sampai 10ml, minyak atsiri konsentrasi 1,56% di ambil sebanyak 0,156 ml di tambah tween 80 10% sampai 10ml, minyak atsiri konsentrasi 0,78% di ambil sebanyak 0,078 ml di tambah tween 80 10% sampai 10ml. Perhitungan konsentrasi dapat dilihat pada Lampiran 13.

## **9. Pengujian aktivitas antibakteri**

Metode yang digunakan untuk uji daya hambat antibakteri adalah metode dilusi. Metode dilusi digunakan untuk mengetahui konsentrasi terendah sediaan yang dapat menghambat dan membunuh bakteri uji.

Uji dilusi dilakukan untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) minyak atsiri terhadap bakteri dengan konsentrasi pengenceran 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,56%, 0,78%. Metode ini dilakukan kombinasi dari kedua minyak atsiri tersebut dengan sistem *checkerboard* menggunakan 48 tabung reaksi. Sistem *checkerboard* menggunakan 48 tabung reaksi, dimana 36 tabung reaksi merupakan kombinasi dari masing-masing konsentrasi kedua minyak atsiri tersebut, sedangkan 6 tabung reaksi berisi tunggal minyak atsiri rimpang bangle dan 6 tabung reaksi lainnya berisi minyak atsiri tunggal daun kemangi.

Metode ini dilakukan dengan memasukkan 0,5 ml minyak atsiri rimpang bangle ke dalam tabung reaksi dengan berbagai konsentrasi pada 7 deret tabung reaksi vertikal, memasukkan 0,5 ml minyak atsiri daun kemangi ke dalam tabung reaksi dengan berbagai konsentrasi pada 7 deret tabung reaksi horizontal, kemudian memasukkan kombinasi dari minyak atsiri rimpang bangle dan daun kemangi masing – masing 0,5 ml ke dalam tabung reaksi dengan berbagai konsentrasi sesuai tabung yang tercantum pada skema 6, kemudian menambahkan 1 ml media BHI dan menambahkan 0,5 ml suspensi bakteri yang setara dengan

standard Mc Farland 0,5 ke dalam masing-masing tabung reaksi. Tabung reaksi diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, lalu diamati kekeruhannya untuk menentukan KHM dari minyak atsiri tersebut.

Sampel yang berada dalam tabung reaksi dilakukan pengujian kembali untuk membuktikan apakah bakteri tersebut memang tidak dapat tumbuh dalam konsentrasi tersebut dengan menggunakan media VJA untuk melihat pertumbuhan bakterinya dan untuk menentukan KBM dari minyak atsiri tersebut.

### E. Analisis Hasil

Data hasil penelitian diperoleh dengan cara mengamati KHM dan KBM minyak atsiri tunggal dan kombinasi pada berbagai konsentrasi. Konsentrasi minyak atsiri yang mulai jernih pada konsentrasi terkecil sebagai KHM sedangkan konsentrasi minyak atsiri yang sudah mampu membunuh bakteri atau tidak menunjukkan adanya pertumbuhan koloni ditandai sebagai KBM. Data KHM yang diperoleh dianalisa dengan menggunakan perhitungan *Fractional Inhibitory Concentration Index* (FIC Index) untuk mengetahui efek kombinasi sinergis, aditif atau antagonis.

Rumus perhitungan *Fractional Inhibitory Concentration* (FIC index) :

$$\sum \text{FIC Indeks} = \text{FIC (A)} + \text{FIC (B)}$$

Dimana :

$$\text{FIC (A)} = \frac{\text{KHM (A) Kombinasi}}{\text{KHM (A) Tunggal}}$$

dan

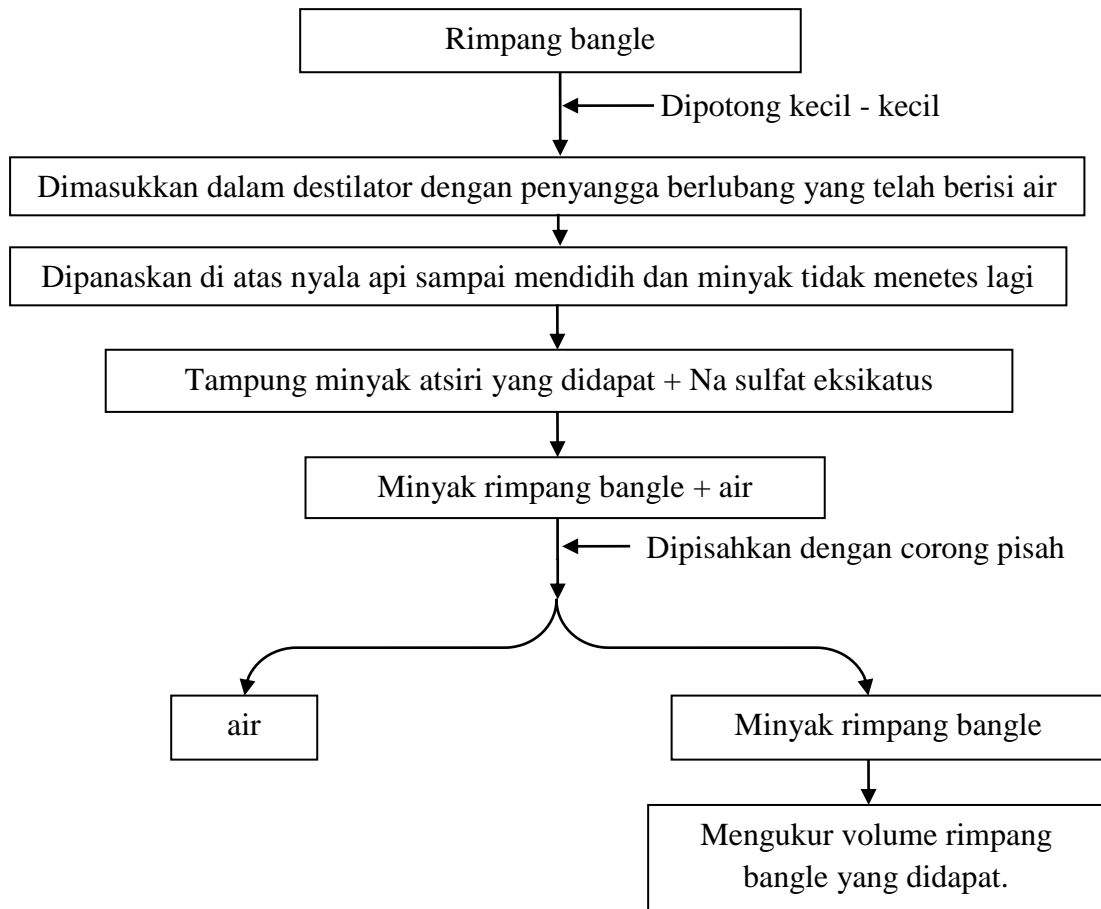
$$\text{FIC (B)} = \frac{\text{KHM (B) Kombinasi}}{\text{KHM (B) Tunggal}}$$

Nilai  $\sum$  FIC Indeks diinterpretasikan sebagai berikut :

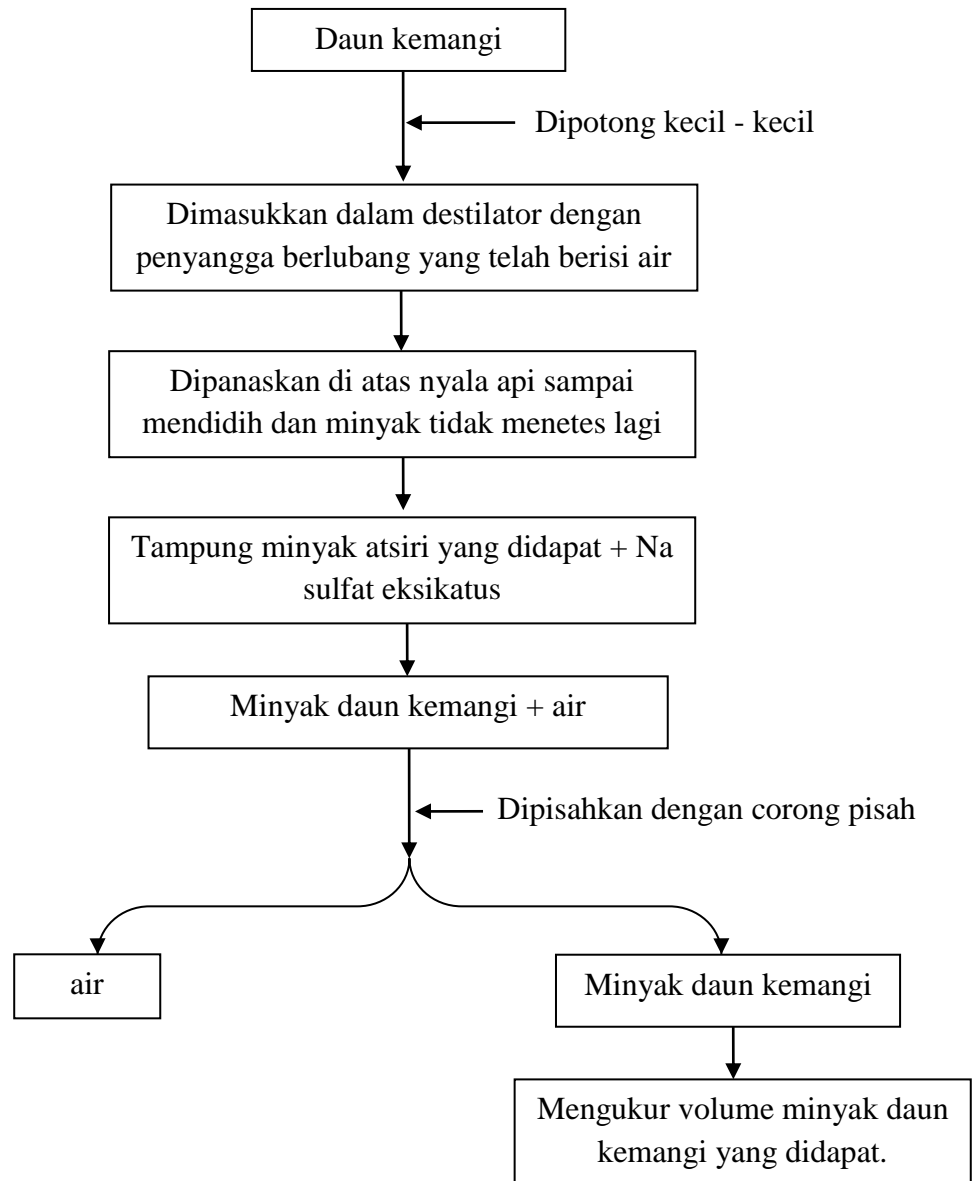
< 0,5	= Sinergis;
0,5 - 4,0	= Aditif;
> 4,0	= Antagonis.

**Keterangan :**

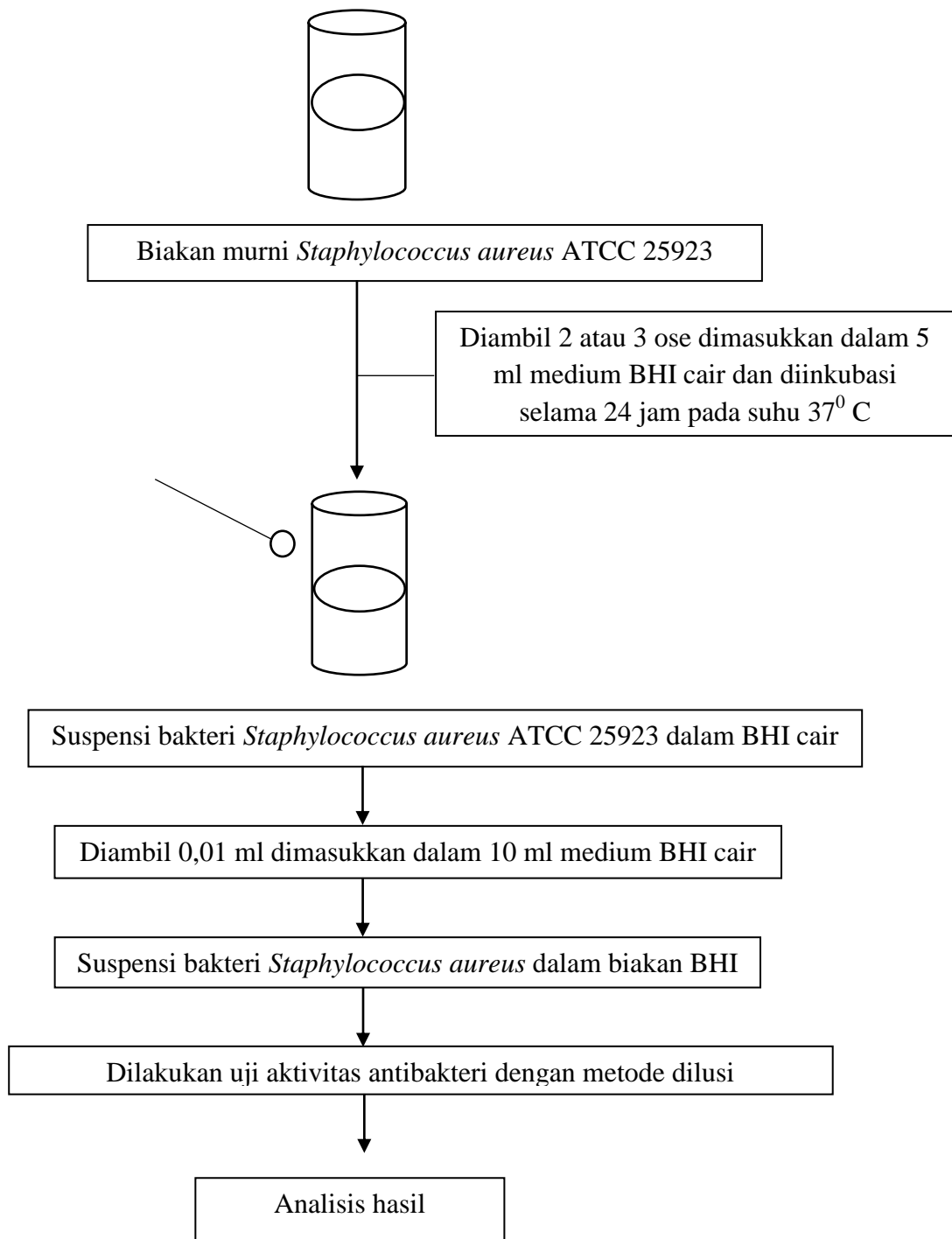
FIC Index	= <i>Fractional Inhibitory Concentration Index</i>
KHM	= Konsentrasi Hambat Minimum
KBM	= Konsentrasi Bunuh Minimum
FIC A	= <i>Fractional Inhibitory Concentration</i> minyak atsiri rimpang bangle;
KHM A Kombinasi	= Konsentrasi Hambat Minimal minyak atsiri rimpang bangle pada kombinasi;
KHM A Tunggal	= Konsentrasi Hambat Minimal minyak atsiri rimpang bangle tunggal;
FIC B	= <i>Fractional Inhibitory Concentration</i> minyak atsiri daun kemangi;
KHM B Kombinasi	= Konsentrasi Hambat Minimal minyak atsiri daun kemangi pada kombinasi;
KHM B Tunggal	= Konsentrasi Hambat Minimal minyak atsiri daun kemangi tunggal;



**Gambar 3. Skema isolasi minyak atsiri rimpang bangle dengan metode destilasi uap air**

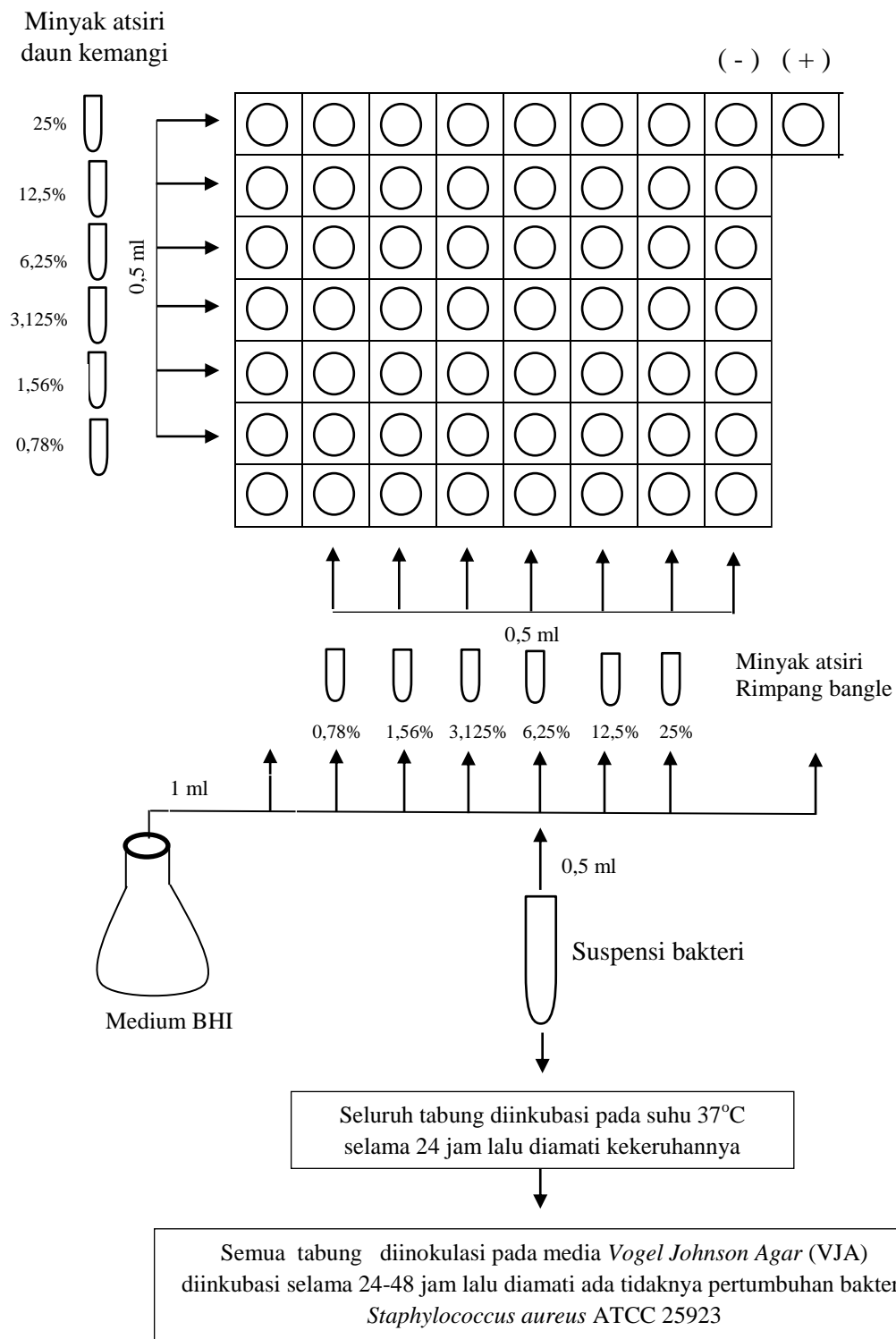


**Gambar 4. Skema isolasi minyak atsiri daun kemangi dengan metode destilasi uap air**



Gambar 5. Skema pembuatan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 29523





Gambar 6. Skema pengujian aktivitas antibakteri secara dilusi dengan sistem *checkerboard*

## 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 dengan bahan tanaman lain serta mencocokkan ciri morfologi yang ada pada tanaman yang diteliti dengan kunci identifikasi. Berdasarkan hasil determinasi dapat dipastikan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) dan kemangi (*Ocimum basilicum* L.). Hasil identifikasi dapat dilihat pada Lampiran 1.

#### 2. Pengambilan Bahan

Tanaman yang digunakan adalah rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) dalam penelitian ini diperoleh dari Ngargosari, Samigaluh, Kulon Progo Jogja, Jawa Tengah, pada bulan Januari tahun 2017 dan daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dalam penelitian ini diperoleh dari Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah, pada bulan Januari tahun 2017. Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta.

#### 3. Isolasi minyak atsiri

Isolasi minyak atsiri rimpang bangle dan daun kemangi menggunakan metode destilasi uap dan air. Hasil destilasi dari percobaan didapat rendemen minyak atsiri, rendemen yang dimaksudkan dalam penelitian ini adalah jumlah minyak atsiri yang didapatkan dalam dua kali destilasi. Hasil kadar minyak atsiri rimpang bangle dan daun kemangi dapat dilihat pada Tabel 1 dan 2.

**Tabel 1. Kadar minyak atsiri rimpang bangle**

Proses destilasi	Bobot sampel (gram)	Volume minyak (ml)	Rendemen (%)
Destilasi 1	4000	16	0,4
Destilasi 2	3000	13	0,43
<b>Total</b>	7000	29	0,41

**Tabel 2. Kadar minyak atsiri daun kemangi**

Proses destilasi	Bobot sampel (gram)	Volume minyak (ml)	Rendemen (%)
Destilasi 1	5000	8,2	0,164
Destilasi 2	5000	8,4	0,168
<b>Total</b>	10000	16,6	0,166

Rimpang bangle menghasilkan 0,95% minyak atsiri dengan salah satu komponen utamanya 4-terpineol (Bhuiyan *et al*, 2008). Kadar minyak atsiri rimpang bangle yang diperoleh dalam praktek dengan hasil rendemen adalah 0,41%. Minyak atsiri kemangi mempunyai kandungan senyawa dominan seperti linalool, methylclavicol (estragol), 1-8 sineol, eugenol, terpineol, geraniol (Dewi 2008). Kadar minyak atsiri daun kemangi dalam praktek yang didapat dengan hasil rendemen adalah 0,166 %. Data perhitungan lengkap dapat dilihat pada Lampiran 10 dan 11.

#### 4. Analisa minyak atsiri

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

**Tabel 3. Hasil pemeriksaan organoleptik minyak atsiri rimpang bangle**

No.	Jenis pemeriksaan	Hasil	Pustaka
1.	Warna	Kuning muda	Kuning muda-kuning tua (Depkes 2001)
2.	Bau	Aroma khas bangle	Aroma khas bangle (Depkes 2001)
3.	Bentuk	Cair	Cairan (Depkes 2001)
4.	Rasa	Pedas dan pahit	Pedas dan pahit (Anggraini 2015)

**Tabel 4. Hasil pemeriksaan organoleptik minyak atsiri kemangi**

No.	Jenis pemeriksaan	Hasil	Pustaka
1.	Warna	Kuning kecoklatan	Kuning muda-coklat muda (Depkes 2001)
2.	Bau	Aroma khas kemangi	Aroma khas kemangi (Alfrida 2013)
3.	Bentuk	Cair	Cairan (Depkes 2001)
4.	Rasa	Agak pahit, seperti rempah	Kelat,agak sedikit pahit Getir (Alfrida 2013)

Pemeriksaan organoleptik minyak atsiri rimpang bangle pada penelitian menghasilkan warna kuning muda, berbau aroma khas bangle, berbentuk cair, memiliki rasa yang pedas dan pahit. Minyak atsiri daun kemangi pada penelitian menghasilkan warna kuning kecoklatan, berbau aroma khas kemangi, berbentuk cair dan memiliki rasa yang agak pahit, seperti rempah. Warna, bau, bentuk dan

rasa minyak atsiri pada masing-masing sampel memiliki warna, bau, bentuk dan rasa yang khas sesuai dari tanaman asalnya dan sesuai dengan pustaka yang ada.

**4.2. Identifikasi minyak atsiri.** Hasil identifikasi rimpang bangle dan daun kemangi seperti 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 diteteskan pada kertas saring	Minyak atsiri menguap tanpa meninggalkan noda	Minyak atsiri tidak meninggalkan noda bila diteteskan pada kertas saring (Gunawan dan Mulyani 2004)

**Tabel 6. Identifikasi minyak atsiri daun kemangi**

Zat aktif	Pemeriksaan	Hasil	Pustaka
Minyak atsiri daun kemangi	1 tetes minyak atsiri diteteskan pada kertas saring	Minyak atsiri menguap tanpa meninggalkan noda	Minyak atsiri tidak meninggalkan noda bila diteteskan pada kertas saring (Gunawan dan Mulyani 2004)

Hasil identifikasi minyak atsiri rimpang bangle dan daun kemangi menunjukkan bahwa hasil penelitian sesuai pustaka, bila diteteskan pada kertas saring, minyak tidak meninggalkan noda. Hasil gambar dapat dilihat pada Lampiran 6.

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

**Tabel 7. Indeks bias minyak atsiri**

Minyak atsiri	Hasil indeks bias (27°C)	% Kemurnian	Pustaka
Rimpang bangle	1,495	99,19% - 99,36%	Indeks bias (27°C) 1,483-1,505 (Anggraini 2015)
Daun kemangi	1,489	98,87% - 99,53%	Indeks bias (20°C) 1,482 - 1,506 (Alfrida 2013)

Pemeriksaan indeks bias minyak atsiri rimpang bangle yaitu sebesar 1,495 menunjukkan hasil indeks bias yang diteliti sesuai dengan pustaka. Minyak atsiri daun kemangi yaitu 1,489 menunjukkan bahwa hasil indeks bias yang diteliti sesuai dengan pustaka. Indeks bias pada minyak atsiri rimpang bangle adalah 1,483-1,505 dan pada minyak atsiri daun kemangi yaitu 1,482-1,506. Bilangan angka tersebut menunjukkan perbandingan antara sinus sudut datang dengan sinus sudut bias cahaya yang diukur dengan alat refraktometer, putaran optik

menunjukkan besar sudut pemutaran bidang polarisasi yang terjadi jika sinar terpolarisasi dilewatkan melalui cairan pada suhu ( $-5^{\circ}\text{C}$ ) sampai dengan  $0^{\circ}\text{C}$ . Indeks bias minyak atsiri berhubungan erat dengan komponen-komponen yang tersusun dalam minyak atsiri yang dihasilkan. Komponen penyusun minyak atsiri dapat mempengaruhi nilai indeks biasnya. Semakin banyak komponen berantai panjang seperti sesquiterpen atau komponen bergugus oksigen tersuling, maka kerapatan medium minyak atsiri akan bertambah sehingga cahaya yang datang akan lebih sukar untuk dibiaskan. Hal ini yang menyebabkan indeks bias minyak lebih besar (Wiyono *et al* 2000). Hasil gambar indeks bias dapat dilihat pada Lampiran 7.

**4.4. Penetapan bobot jenis minyak atsiri.** Hasil pemeriksaan bobot jenis minyak atsiri rimpang bangle dan daun kemangi pada penelitian dapat dilihat pada Tabel 8 dan 9.

**Tabel 8. Hasil penetapan bobot jenis minyak atsiri rimpang bangle**

Percobaan	Bobot jenis minyak	Pustaka
I	0,9705	Bobot jenis minyak atsiri
II	0,9603	0,9369 – 0,9743
III	0,9898	(Sukatta <i>et al.</i> 2009)
Rata-rata	0,9735	

**Tabel 9. Hasil penetapan bobot jenis minyak atsiri daun kemangi**

Percobaan	Bobot jenis minyak	Pustaka
I	0,9411	Bobot jenis minyak atsiri
II	0,9702	0,952 - 0,973
III	0,9797	(Rakhim 2016)
Rata-rata	0,9637	

Hasil bobot jenis minyak atsiri rimpang bangle menurut hasil penelitian adalah 0,9735 dan bobot jenis minyak atsiri pada daun kemangi adalah 0,9637. Berdasarkan pustaka bobot jenis minyak atsiri rimpang bangle adalah 0,930-0,9743 dan pada daun kemangi adalah 0,952-0,973. Bobot jenis ialah salah satu kriteria yang penting dalam menentukan mutu dan kemurnian minyak atsiri. Semakin rendah nilai bobot jenis suatu minyak atsiri maka tingkat kemurniannya juga semakin rendah. Besarnya bobot jenis suatu minyak bisa dipengaruhi oleh jenis dan jumlah komponen kimia dalam minyak atsiri, maka semakin banyak komponen kimia dalam minyak atsiri dengan begitu semakin tinggi pula bobot

jenisnya (Wiyono *et al* 2000). Perhitungan lebih lengkap dapat dilihat pada Lampiran 12.

**4.5. Penetapan kelarutan dalam alkohol.** Hasil kelarutan minyak atsiri rimpang bangle dan daun kemangi dalam etanol 70% dengan perbandingan 1:1 (artinya 1 ml minyak atsiri larut dalam 1 ml etanol 70%) berdasarkan hasil penelitian adalah larut dan jernih. Kelarutan dalam alkohol merupakan nilai perbandingan banyaknya minyak atsiri yang larut sempurna dengan pelarut alkohol. Setiap minyak atsiri mempunyai kelarutan dalam alkohol yang spesifik, sehingga sifat ini digunakan untuk menentukan suatu kemurnian minyak atsiri. 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 daun kemangi dilakukan dengan menggunakan *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS). Hasil analisis masing-masing komponen senyawa utama rimpang bangle dan daun kemangi dapat dilihat pada Tabel 10 dan 11.

**Tabel 10. 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	Alpha-Terpinene	6.100	136	1.04
5	Eucalyptol	6.253	154	0.86
6	Gamma-Terpinene	7.299	136	2.37
7	Terpineol-4	10.973	154	70.96

**Tabel 11. Hasil analisis komponen utama minyak atsiri daun kemangi dengan GC-MS**

Peak	Senyawa	RT (min)	BM	Kadar (%)
1	6-Methyl-5heptin-2-one	11.399	126	2,04
2	Linalool	15.829	136	3.54
3	Beta-Citral	20.387	137	32,79
4	Z-Citral	21.418	152	43,43
5	Eugenol	23.466	164	1,29
6	Kariofilene	25.768	204	2,39
7	Germacrene-D	27.317	204	1,51
8	Alpha-Charyophyllene	28.829	204	2,63

Hasil analisis minyak atsiri rimpang bangle terdapat 7 senyawa, sedangkan pada minyak atsiri daun kemangi terdapat 23 senyawa. Analisis komponen kimia minyak atsiri rimpang bangle dengan GCMS menunjukkan komponen senyawa kimia dari minyak atsiri rimpang bangle mengandung senyawa seperti Alpha-Pinene, Camphene, Sabinene, Alpha-Terpinene, Eucalyptol, Gamma-Terpinene, dan Terpeneol-4. Senyawa kimia yang paling dominan di antaranya yaitu Terpeneol-4 (70,96%) dan Sabinene (22,70%). Hasil analisis komponen kimia minyak atsiri kemangi dengan GCMS menunjukkan komponen senyawa kimia dari minyak atsiri kemangi yaitu 6-Methyl-5heptin, Linalool, Beta-Citral, Z-Citral, Eugenol, Kariofilene, Germacrene-D, Alpha-Charyophyllene dan masih banyak lagi. Senyawa kimia yang paling dominan di antaranya yaitu Z-Citral (43,43%) dan Beta-Citral (32,79%).

Minyak atsiri rimpang bangle pada pustaka mengandung senyawa yaitu  $\beta$ -Pinene, 4-Terpeneol,  $\gamma$ -Terpinen,  $\beta$ -Sesquifellandrene,  $\alpha$ -Terpinene, Sabinen, Linalool. Senyawa 4-terpeneol (42,5%),  $\beta$ -pinene (23,41%),  $\gamma$ -terpinene (6,28%) dan  $\beta$ -sesquiphellandrene (5,92%) merupakan komponen utama dalam minyak atsiri rimpang bangle. Senyawa 4-terpeneol yang terkandung dalam dalam minyak atsiri rimpang bangle diduga merupakan senyawa aktif antibakteri karena kandungan senyawa 4-terpeneol yang dominan pada minyak atsiri rimpang bangle.

Minyak atsiri kemangi pada pustaka mengandung senyawa yaitu  $\alpha$ -pinene, beta-Myrcene, dl-Limonene, beta-ocimene, Linalool, Citronella, alpha-terpeneol,  $\beta$ -citronellol, Nerol, Z-Citral, dan Geraneol. Kadar paling besar pada pustaka yaitu senyawa Z-Citral dengan kadar 32,08% dan yang tertinggi kedua yaitu senyawa Nerol dengan kadar sebesar 5,62% (Alfrida 2013). Minyak atsiri kemangi mengandung komponen utama yaitu senyawa sitral yang merupakan golongan senyawa aldehyd. Citral, atau 3,7-dimetil-2,6-octadienal atau lemonal merupakan senyawa monoterpen dengan rumus molekul  $C_{10}H_{16}O$  (Ganjewala *et al.*, 2012). Komponen senyawa minyak atsiri rimpang bangle dan daun kemangi dapat dilihat pada Lampiran 17.

## 5. Pembuatan suspensi bakteri uji

Hasil pembuatan suspensi bakteri sudah sesuai dengan kekeruhan standar Mc Farland 0,5 yang setara dengan kepadatan bakteri sebesar  $1,5 \times 10^8$  cfu/mL.. Hasil gambar pembuatan suspensi dapat dilihat pada Lampiran 5.

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

**7.1. Identifikasi berdasarkan koloni.** Identifikasi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 berdasarkan koloni menunjukkan adanya koloni berwarna hitam pada media VJA, hal tersebut karena *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat mereduksi tellurit menjadi metalik warna medium dan disekitar koloni berwarna kuning karena fermentasi manitol yang dideteksi oleh perubahan warna indikator phenol red dari merah menjadi kuning (asam), dimana dalam kondisi asam menghasilkan pigmen yang bervariasi dari putih sampai kuning tua (Jawetz *et al* 2012). Hasil identifikasi koloni dapat dilihat pada Lampiran 8.

**7.2. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 berdasarkan mikroskopis.** Hasil identifikasi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara morfologi pada penelitian dengan melakukan pewarnaan Gram pada mikroskop perbesaran kuat (100x) bakteri tampak berwarna ungu, berbentuk bulat dan bergerombol seperti buah anggur. Bakteri Gram positif (*Staphylococcus aureus*) memiliki peptidoglikan yang lebih tebal dari pada Gram negatif, sehingga pada pengecatan Gram *Staphylococcus aureus* dapat mempertahankan warna violet dari Gram A (kristal violet). Tujuan pewarnaan Gram ialah untuk melihat morfologi bakteri dan bentuk sel. Perbedaan respon terhadap mekanisme pewarnaan Gram didasarkan pada struktur dan komposisi dinding sel bakteri. Bakteri Gram positif mengandung protein dalam prevalensi lebih rendah dan dinding selnya tebal. Pemberian kristal violet dan iodine, pemberian alkohol (etanol) pada pewarnaan Gram menyebabkan tidak terestrasinya lipid sehingga memperkecil permeabilitas dinding sel Gram positif. Dinding selnya terdehidrasi dengan perlakuan alkohol, pori-pori mengkerut, daya rembes dinding sel dan membran menurun sehingga pewarnaan safranin tidak dapat masuk sehingga sel berwarna ungu (Pelezar dan chan 2000). Hasil gambar identifikasi secara mikroskopis dapat dilihat pada Lampiran 8.



**7.3. Hasil Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 berdasarkan fisiologi-katalase.** Hasil identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 berdasarkan fisiologi-katalase pada penelitian adalah positif, ditandai dengan adanya gelembung udara sebab *Staphylococcus aureus* mempunyai enzim katalase. Penambahan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> akan terurai mejadi H<sub>2</sub>O (air) dan O<sub>2</sub> (oksigen), hal ini ditandai dengan timbulnya gelembung udara. Uji ini dilakukan untuk membedakan antara *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus*. Hasil gambar identifikasi fisiologi berdasarkan katalase dapat dilihat pada Lampiran 8.

**7.4. Hasil Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 berdasarkan fisiologi-koagulasi.** Hasil identifikasi pada penelitian ini menunjukkan positif terjadi perubahan plasma darah kelinci yang terdenaturasi oleh *Staphylococcus aureus* sehingga terjadi penggumpalan 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.

## **7. Hasil pengujian aktivitas antibakteri minyak atsiri rimpang bangle dan daun kemangi dengan metode dilusi secara *checkerboard***

Uji aktivitas antibakteri minyak atsiri rimpang bangle dan daun kemangi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dalam penelitian ini menggunakan metode dilusi secara *checkerboard*. Uji dilusi dilakukan untuk mengetahui KHM dan KBM minyak atsiri terhadap bakteri dengan konsentrasi pengenceran 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,56%, 0,78%. Metode ini dilakukan kombinasi dari kedua minyak atsiri tersebut dengan sistem *checkerboard* menggunakan 48 tabung reaksi. Sistem *checkerboard* menggunakan 48 tabung reaksi, dimana 36 tabung reaksi merupakan kombinasi dari masing-masing konsentrasi kedua minyak atsiri tersebut, sedangkan 6 tabung reaksi berisi tunggal minyak atsiri rimpang bangle dan 6 tabung reaksi lainnya berisi minyak atsiri tunggal daun kemangi. Hasil uji dilusi secara *checkerboard* dari kombinasi

minyak atsiri rimpang bangle dan daun kemangi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat dilihat pada Tabel 12.

**Tabel 12. Hasil uji dilusi secara *checkerboard* kombinasi minyak atsiri rimpang bangle & daun kemangi pada bakteri *Staphylococcus aureus*.**

Konsentrasi minyak atsiri daun kemangi % (v/v)	25	-	-	-	-	-	-	-	+
	12,5	-	-	-	-	-	-	-	
	6,25	+	-	-	-	-	-	-	
	3,125	+	-	-	-	-	-	-	
	1,56	+	+	-	-	-	-	-	
	0,78	+	+	+	-	-	-	-	
			+	+	+	-	-		
		0,78	1,56	3,125	6,25	12,5	25	Kontrol (-)	Kontrol (+)

**Konsentrasi Minyak atsiri rimpang bangle % (v/v)**

Keterangan :

(-) : Tidak ada pertumbuhan bakteri

(+) : Ada pertumbuhan bakteri

Kontrol (-) : Berisi kombinasi minyak atsiri rimpang bangle dan daun kemangi tanpa suspensi bakteri

Kontrol (+) : Berisi suspensi bakteri

: Berisi minyak atsiri tunggal rimpang bangle

: Berisi minyak atsiri tunggal daun kemangi

: Berisi minyak atsiri kombinasi rimpang bangle dan daun kemangi

Uji dilusi yaitu menggunakan deret konsentrasi minyak atsiri. KHM dilihat dari kejernihan tabung yang menunjukkan bahwa pada tabung konsentrasi tertentu dapat menghambat pertumbuhan bakteri, selanjutnya dilakukan inokulasi bakteri pada media selektif VJA (*Vogel Jhonson Agar*) dari semua tabung dilusi. Hal ini dilakukan karena dalam penelitian tidak dapat dilihat kejernihan tabung dilusi disebabkan tertutupi oleh kekeruhan dari bahan kombinasi minyak atsiri yang digunakan. KBM dapat diketahui dengan menginokulasi sediaan yang ada pada tabung uji ke medium VJA dalam cawan petri. KBM ditentukan pada media VJA dengan konsentrasi minimum yang tidak menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri, dari hasil uji yang dilakukan dapat ditentukan bahwa KBM minyak atsiri rimpang bangle tunggal terdapat pada konsentrasi 6,25% dan minyak atsiri daun kemangi tunggal terdapat pada konsentrasi 12,5%, sedangkan KBM kombinasi minyak atsiri rimpang bangle dan daun kemangi terdapat pada konsentrasi minyak atsiri rimpang bangle 0,78% dengan minyak atsiri daun kemangi 3,125%, konsentrasi minyak atsiri rimpang bangle 1,56% dengan minyak atsiri daun

kemangi 1,56% dan konsentrasi minyak atsiri rimpang bangle 3,125% dengan minyak atsiri daun kemangi 0,78%.

Pertumbuhan bakteri dapat dilihat pada medium VJA, koloni bakteri berwarna hitam dan disekitar koloninya berwarna kuning, hal ini disebabkan bakteri mereduksi tellurit menjadi metalik tellurit yang dapat menyebabkan pertumbuhan bakteri pada koloni berwarna hitam. KBM berfungsi untuk menegaskan dari hasil kejernihan pada tabung suspensi yang berisi bakteri, media BHI dan minyak atsiri untuk membuktikan bahwa bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 memang tidak tumbuh pada konsentrasi tersebut, dengan melakukan penggoresan pada setiap tabung-tabung jernih ke media VJA dan jika tidak ada pertumbuhan bakteri yang terlihat sampai pada goresan terakhir, maka konsentrasi pada goresan terakhir yang dianggap sebagai konsentrasi bunuh minimum. Hasil replikasi 2 dan 3 dapat dilihat di Lampiran 14.

Kandungan minyak atsiri pada rimpang bangle yaitu terpineol-4 dan sabinene mempunyai aktivitas antibakteri, dengan mekanisme menekan jumlah mikroorganisme dengan cara merusak membran sel dari mikroorganisme tersebut, kerusakan struktur dinding sel bakteri dan kegagalan sintesis protein menyebabkan sel bakteri kehilangan viabilitasnya dan bahkan lisis. Dengan demikian bakteri akan lebih mudah mati (Christine *et al.*, 2002). Kandungan minyak atsiri daun kemangi dengan komponen utama Beta-Citral dan Z-Citral yang mempunyai sifat antibakteri, mekanisme pada bakteri dengan menyebabkan kehilangan komponen penyusun sel dan kerusakan fungsi material genetik menurut Corner (2003). Hasil gambar dapat dilihat di Lampiran 9.

#### **8. Hasil *Fractional Inhibitory Concentration* (FIC) dan *Fractional Inhibitory Concentration Index* (FICI) minyak atsiri rimpang bangle dan daun kemangi**

Nilai KHM pada penelitian yang telah dilakukan tidak terlihat karena tertutupi oleh kekeruhan dari bahan kombinasi minyak atsiri yang digunakan, jadi nilai yang digunakan adalah nilai KBM yang kemudian untuk menghitung indeks *Fractional Inhibitory Concentration* (FIC) agar mengetahui interaksi yang terjadi antara keduanya sinergis, aditif atau antagonis. Perhitungan nilai *Fractional*

*Inhibitory Concentration* (FIC) dengan rumus :  $FIC_A = KHM_{A+B}/KHM_A$ ,  $FIC_B = KHM_{B+A}/KHM_B$ ,  $FIC\ Index = FIC_A + FIC_B$ . Nilai Indeks FIC dikatakan sinergis bila indeks  $FIC \leq 0,5$ , aditif bila indeks  $FIC$  0,5 sampai 4, dan antagonis bila indeks  $FIC > 4$  (Pillai *et al.* 2005). Hasil perhitungan FIC dan FIC Index kombinasi minyak atsiri rimpang bangle dan daun kemangi dapat dilihat pada Tabel 13.

**Tabel 13. Hasil perhitungan FIC dan FIC Index kombinasi minyak atsiri rimpang bangle & daun kemangi pada bakteri *Staphylococcus aureus*.**

Minyak Atsiri	KBM Tunggal % (v/v)		Kombinasi % (v/v)	FIC		FIC Indeks	Keterangan
	Bangle	kemangi	Bangle + Kemangi	Bangle	Kemangi		
I	6,25	12,5	0,78 + 3,125	0,1248	0,25	0,3748	Sinergis
II	6,25	12,5	0,78 + 3,125	0,1248	0,25	0,3748	Sinergis
III	6,25	12,5	0,78 + 3,125	0,1248	0,25	0,3748	Sinergis
I	6,25	12,5	1,56 + 1,56	0,2496	0,1248	0,3744	Sinergis
II	6,25	12,5	1,56 + 1,56	0,2496	0,1248	0,3744	Sinergis
III	6,25	12,5	1,56 + 1,56	0,2496	0,1248	0,3744	Sinergis
I	6,25	12,5	3,125 + 0,78	0,5	0,0624	0,5624	Aditif
II	6,25	12,5	3,125 + 0,78	0,5	0,0624	0,5624	Aditif
III	6,25	12,5	3,125 + 0,78	0,5	0,0624	0,5624	Aditif

Hasil dari perhitungan FIC dan FIC index berdasarkan nilai KBM tunggal dan kombinasi minyak atsiri rimpang bangle 0,78% dengan minyak atsiri daun kemangi 3,125% memiliki efek sinergis dengan nilai FIC indeks sebesar 0,3748 ( $<0,5$ ), pada kombinasi dengan konsentrasi minyak atsiri rimpang bangle 1,56% dengan minyak atsiri daun kemangi 1,56% juga memiliki efek sinergis dengan nilai FIC indeks sebesar 0,3744 ( $<0,5$ ) dan pada konsentrasi minyak atsiri rimpang bangle 3,125% dengan minyak atsiri daun kemangi 0,78% memiliki efek aditif dengan nilai FIC indeks sebesar 0,5624 ( $>0,5$ ) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Hasil perhitungan FIC dan FIC Index dapat dilihat pada lampiran 15.

Minyak atsiri rimpang bangle dan daun kemangi memiliki efek sinergis pada konsentrasi 0,78 : 3,125 dan 1,56 : 1,56 dilihat dari nilai FIC index sebesar 0,3748 dan 0,3744. Hal tersebut di duga karena komponen senyawa yang terdapat

dalam masing-masing minyak atsiri saling memperkuat mekanisme kerja minyak atsiri. Aktivitas kerja minyak atsiri dapat menghambat pertumbuhan atau mematikan bakteri yaitu dengan cara mengganggu proses terbentuknya membran atau dinding sel, sehingga membran sel tidak terbentuk secara sempurna. Supaya dapat membunuh mikroorganisme, bahan uji harus masuk ke dalam sel melalui dinding sel. Bakteri ditutupi oleh membran sel yang semipermeabel. Bakteri memiliki DNA, protein, enzim, garam, nutrisi dan ion dalam larutan dalam sitoplasma yang diadakan oleh sifat semipermeabel membran. Hal ini penting bagi kelangsungan hidup bakteri yang molekul-molekul ini tinggal pada sitoplasma. Di dalam sel, larutan sitoplasma adalah hipertonik dibandingkan dengan lingkungan. Apabila terjadi hipertonik menyebabkan tekanan yang signifikan dan berusaha untuk menjaga keseimbangan dan harus berdifusi ke dalam sel, sehingga keadaan hipertonik dapat menyebabkan penghambatan pembentukan dinding sel sehingga sel hanya dibatasi oleh membran sel yang tipis (Jawetz *et al.* 2012). Selain itu minyak atsiri dapat melarutkan fosfolipid yang merupakan penyusun dinding sel bakteri, hal ini dikarenakan komponen minyak atsiri mempunyai gugus fenol dan alkohol (Dorman dan Deans, 2000). Adanya gugus fenol maupun alkohol berfungsi sebagai racun terhadap mikroba. Fosfolipid yang rusak atau larut menyebabkan kerusakan pada membran sel, kerusakan ini menyebabkan kebocoran sel sehingga komponen-komponen penting seperti protein, asam nukleat dan nukleotida akan keluar dari sel bakteri yang menyebabkan bakteri tidak dapat melakukan aktivitas kehidupannya dan pertumbuhan bakteri tersebut terhambat atau mati (Rupilu dan Lamapaha 2008).

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Kesimpulan**

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

Pertama, minyak atsiri rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.), minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum basillicum* L.) dan kombinasi mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kedua, dari uji dilusi secara *checkerboard* yang efektif pada minyak atsiri tunggal adalah Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM) rimpang bangle sebesar 6,25% dan daun kemangi sebesar 12,5%. Sedangkan pada kombinasi yang efektif adalah pada konsentrasi minyak atsiri rimpang bangle 0,78% dengan minyak atsiri daun kemangi 3,125% dan konsentrasi minyak atsiri rimpang bangle 1,56% dengan minyak atsiri daun kemangi 1,56% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Ketiga, kombinasi minyak atsiri rimpang bangle dan daun kemangi memiliki efek sinergis dengan nilai FIC indeks sebesar 0,3748 dan 0,3744 (<0,5) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

#### **B. Saran**

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

1. Perlu dilanjutkan uji antibakteri dengan metode difusi.
2. Perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri minyak atsiri rimpang bangle dan daun kemangi dengan kombinasi tanaman lain dan menggunakan spesies bakteri patogen yang berbeda.
3. Perlu dikembangkan formula sediaan topikal terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dari minyak atsiri rimpang bangle dan daun kemangi secara kombinasi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adams, R.P. 2004. *Identifi cation of Essential Oil Components by Gas Chromatography/ Quadrupole Mass Spectrometry*. Carol stream,Allured.
- Adeola, S. A., Folorunso, O.S., dan Amisu, K.O., 2012, *Antimicrobial Activity of Ocimum basilicum and its Inhibition on the Characterized and Partially Purified Extracelluler Protease of Salmonella typhimurium*, In *Scientific Journal*, 138-144.
- Affandi A, Andrini F, Lesmana SD. 2009. *Penentuan Konsentrasi Hambat Minimal dan Konsentrasi Bunuh Minimal Larutan Povidon Iodium 10% Terhadap Staphylococcus Aureus Resisten Metisilin (MRSA) dan Staphylococcus Aureus Sensitif Metisilin (MSSA)*. Pekanbaru: Fakultas Kedokteran. Universitas Riau.
- Agusta A. 2000. *Minyak Atsiri Tumbuhan Tropika Indonesia*. Bandung: ITB.
- Alfrida T. 2013. *Formulasi Tablet Hisap Minyak Atsiri Kemangi (Ocimum americanum L.) Sebagai Antiplak Gigi* [Skripsi]. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Amalina N. 2008. *Uji sitotoksin ekstrak etanol 70% buah merica hitam (Piper nigrum L.) terhadap sel Hela* [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Anggraini 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.
- Ayumi. 2011. *The effect of handwashing with water or soap on bacterial contamination of hands*. USA: Mc Graw Hill Companies.p. 49-53.
- Badan Standar Nasional Indonesia. 2001. *Standar Mutu Minyak Kayu Putih SNI 06-3954-2001*. Jakarta.
- Bonang G, Koeswardono ES. 2004. *Mikrobiologi Kedokteran untuk Laboratorium dan Klinik*. Jakarta: Bagaian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- 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*. *Journal American Society for Microbiology*. (46) : 1914 –20.

- Claus, E & Tyler, V. 1965. *Pharmacognosy*. Fifth Edition. Philadelphia. Lea and Febiger. Hlm 186.
- Corner DE. 2003. *Naturally Occuring Compounds in Antimicrobial in Food* Eds., by Davidson PM and Branen AL. Eds. New York: Marcel Dekker.
- Darmadi. 2008. *Infeksi Nosokomial: Problematika dan Pengendaliannya*. Jakarta: Salemba Medika. Hlm. 80-81.
- Depkes RI, 2000. *Parameter Standart Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Hal 3-6.
- Depkes. 2001. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*. Jilid II. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Depkes. 2001. *Materia Medika Indonesia*. Jilid 1. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Depkes. 2003. *Pedoman Teknologi Pengolahan Cassiavera*. Jakarta: Departemen Pertanian.
- Dewi DP, 2008. *Pemisahan Minyak Atsiri Daun Kemangi (*Ocimum basilicum*) secara Kromatografi Lapis Tipis dan Aktivitasnya Terhadap *Malassezia furfur* IN VITRO*. Semarang. Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro.
- Dian, Monica. 2008. *Pemisahan minyak atsiri kayu manis (*Cinnamomum zeylanicum*) secara kromatografi lapis tipis dan aktifitas antijamur terhadap *Malassezia furfur* in vitro*. Semarang: Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro.
- 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
- Entjang I. 2003. *Mikrobiologi dan Parasitologi Untuk Akademi Keperawatan Dan Sekolah Tenaga Kesehatan Sederajat*. Bandung: PT. Citra Aditya Bakti.
- Ganjewala, Ashish K, Gupta. 2012. *Lemongrass (*Cymbopogon flexuosus* Steud.) Wats Essential Oils Essential Oil*. Recent Progress in Medicinal and Aromatic Plants, Vol. 35, Studium Press LLC, USA. pp. 233-274.
- Garrity, G.M., Lilburn, J.R. Cole, S.H. Harrison, J. Euzaby, and BJ. Tindal. 2007. *Taxonomic Outline Of the Bacteria and Archaea*, Release 7.7. Michigan: Michigan State University Board of Trustees. P. 364-464.



- Gunawan D, Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi)*. Jilid 1. Jakarta : Penebar Swadaya. Hlm 106-107.
- Harbone, J. B., 1996, *Metode Fitokimia Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, ITB, Bandung.
- Harminta. 2004. *Mikrobiologi Kedokteran Untuk Laboratorium*. Jakarta: Fakultas Kedokteran UI. PT Gramedia.
- Hartanti, Sri., Megawati., Artanti,N., Meiltawati, M.Hanafi. 2013. *Identifikasi Senyawa dari Ekstrak Air Rimpang Bangle (Zingiber cassumunar Roxb.)*. Serpong: Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIDI).
- Hussain, Al., Anwar, F., Sherazi, S. T. H., Przybylski, R., 2008, *Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (Ocimum basilicum) essential oils depends on seasonal variations*, *Food Chem*, 108, 986-995.
- Indah P S,Kartika., Periadnadi, Nasir, Nasril 2013. *Uji Antimikroba Ekstrak Segar Jahe-Jahean (Zingiberaceae) Terhadap Staphylococcus aureus, Escherichia coli dan Candida albicans*. Padang: Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi. Universitas Andalas.
- Irawan. 2009. *Farmakonogsi dan Fitoterapi*. Jakarta: Penerbit EGC. Hal.49-50, 235-238.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Penerbit Salemba Medika.
- Jawetz, E, Melnick.,J.L., E.A., 2007. *Medical Mikrobiologi*. 24<sup>th</sup>. Ed. Elferia Nr. Penerjemah: Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Jawetz, E, Melnick.,J.L., E.A., 2012. *Medical Mikrobiologi*. 25<sup>th</sup>. Ed. Elferia Nr. Penerjemah: Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Joyce dan Evelyn. 2006. *Farmakologi Pendekatan Proses Keperawatan*. EGC. Buku Kedokteran. Jakarta. Hlm 142.
- KEMENKES RI. 2010. *Suplemen I Farmakope Herbal Indonesia*. Jakarta: Kementrian Kesehatan RI.
- Koensomardiyah S. 2010. *A to Z Minyak Atsiri Untuk Industri Makanan, Kosmetik dan Aromateapi*. Yogyakarta: Penerbit ANDI.
- Marianne, Sinaga, KR. 2006. *Uji Antibakteri Minyak Atsiri Daun Ruku-Ruku (Ocimum sanctum L.) terhadap bakteri Staphylococcus aureus*. *Jurnal Komunikasi Penelitian*, vol.18 (2).

- Marliani, L. 2012. *Aktivitas Antibakteri dan Telaah Senyawa Komponen Minyak Atsiri Rimpang Bangle (Zingiber cassumunar Roxb.)*. Prosiding Seminar Nasional Penelitian dan PKM. Bandung. Hal. 1-6.
- Maryati, Fauzia, R.T., Rahayu, T., 2007, *Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Kemangi (Ocimum Basilicum L.) terhadap Staphylococcus Aureus dan Escherichia Coli*, Jurnal Penelitian Sains & Teknologi, Vol. 8, No. 1, 2007: 30 – 38.
- Maylia E. C, Novita. 2014. *Daun kemangi (Ocimum cannum) sebagai alternatif pembuatan handsanitizier*. Jember: Fakultas Kesehatan Masyarakat. Universitas Jember.
- Mukhtar, M.H., Adnan, A.Z., Pitra M.W., 2007, *Uji Sitotoksitas Minyak Atsiri Daun Kemangi (Ocimum Basilicum L.) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Bioassay*, J Sains Tek Far., Vol. 12 (1): 1-4.
- Mulyono dan Isman. 2011. *Bertahan Di Tengah Krisis*. Jakarta: PT. Agromedia Pustaka. Hlm 195.
- Pillai, S. K., Moellering, R. C., and Eliopoulos, G. M. 2005. "Antimicrobial combinations," in *Antibiotics in Laboratory Medicine*, ed. V. Lorian (Philadelphia:Lippincott, Williams and Wilkins), 365–440.
- Poeloengan, M. 2006. *Aktivitas Antimikroba dan Fitokimia Dari Beberapa Tanaman Obat*. Seminar Nasional Pelestarian Pemanfaatan Tumbuhan Obat, Bogor.
- Pratiwi I, 2016. *Uji aktivitas antibakteri kombinasi minyak atsiri kemangi (Ocimum basilicum L.) dan kulit kayu manis (Cinnamomum burmannii Ness ex BL.) terhadap Staphylococcus aureus ATCC 25923* [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Setia budi.
- Radji, Maksum. 2011, *Buku Ajar Mikrobiologi: Panduan Mahasiswa Farmasi & Kedokteran*. Jakarta: EGC.
- Rahardjo, M., SMD,S., Sudiarto., Kosasih. 2004. *Peranan populasi tanaman terhadap produktivitas bangle (Zingiber purpureum Roxb.)*. Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat.
- Raharjojo L, Gunardi. 2009. *Profil Kromatogram dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Rimpang Bangle (Zingiber cussumunar Roxb.) terhadap Bakteri Escherichia coli In Vitro*. Semarang: Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro.
- Rakhim M, 2016. *Formulasi Sediaan Salep Minyak Atsiri Kemangi (Ocimum basilicum L.) dan Uji Aktivitas Antibakteri terhadap Staphylococcus aureus*. Surakarta. Universitas Muhammadiyah Surakarta.

- Rupilu, N.S, Lamapaha, Y. F. 2008. *Potensi Lengkuas sebagai Antimikroba (Studi in vitro pada Bakteri Gram Negatif)*. Malang: Universitas Negeri Malang.
- Sajjadi, S. E., 2006, Analysis of the essential oils of two cultivated basil (*Ocimum basilicum* L.) from Iran, *Daru*, 14 (3), 128-130.
- Sastrohamidjojo, H. 2004. *Kimia Minyak Atsiri*. Yogyakarta: Penerbit Gadjah Mada University Press.
- Sayuti A I, Ulfa E U, Puspitasari E. 2014. *Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Minyak Atsiri Lempuyang Wangi (Zingiber aromaticum Val.) dan Bangle (Zingiber cassumunar Roxb.) terhadap Bakteri Staphylococcus aureus dan Escherichia coli*. Jember: Fakultas Farmasi. Universitas Jember
- Setiadi, Budiyo. 2011. *Anatomi Tubuh Manusia*. Laskar Aksara. Bekasi.
- Siswandono, Soekardjo B. 2000. *Kimia Medisinal*. Jilid 1. Edisi 2. Surabaya: Airlangga University Press. 216-218.
- Sriyanti dan Wijayani. 2008. *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek*. Jakarta: Gramedia.
- Stahl. E. 2008. *Analisa Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopis*. Padmawinanto K, Sudiro L., Penerjemah: Bandung: Penerbit ITB.
- Sukatta U, Rugthaworn P, Punjee P. 2009. *Chemical Composition and Physical Properties of Oil from Plai (Zingiber cassumunar Roxb.) Obtained by Hydro Distillation and Hexane Extraction*. Bangkok: Kasetsart University.
- Suriawiria, U., 2005. *Pengantar Mikrobiologi Umum*, Penerbit Angkasa, Bandung, 60-61, 57-58.
- Sutrisno, Jenri .2014. *Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol biji pinang (Areca catechu L.) terhadap staphylococcus aureus secara in vitro*. Pontianak: Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura.
- Syukur, Cheppy. Hernani. 2001. *Budi Daya Tanaman Obat Komersial*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Thomas, A.N.S. 2012. *Tanaman Obat Tradisional*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Utami P. 2008. *Buku pintar tanaman obat*. Jakarta Selatan: PT Agromedia Pustaka.
- Waluyo L. 2004. *Mikrobiologi Umum*. Edisi Pertama. Malang. UMM Press. Hal 197-198

Wiyono B, Hartoyo dan Poedji Hastoeti. 2000. *Sifat-sifat dasar minyak atsiridan kemungkinan penerapan baku mutunya. Buletin Penelitian Hasil Hutan* (2). Pusat penelitian Hasil Hutan. Bogor: hal 130-135.

Yosephine,A D., Wulanjati,M P., Saifullah, T N., Astuti ,Puji. 2013. *Formulasi mouthwash minyak atsiri daun kemangi (ocimum basilicum l.) Serta uji antibakteri dan antibiofilm terhadap bakteri streptococcus mutans secara in vitro.* Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.

*L*  
*A*  
*M*  
*P*  
*I*  
*R*  
*A*  
*N*

**Lampiran 1. Hasil determinasi tanaman bangle dan kemangi**



**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/ /M/03/02**  
2022

Kepada Yth. :  
**Sdri/Sdr. Yanti Anggrenie**  
**NIM.19133907**  
**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
114	<i>Zingiber cassumunar</i> Roxb.	Zingiberaceae
	<i>Ocimum basilicum</i> L. forma <i>citratum</i> Back.	Lamiaceae

Demikian, semoga dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Mengetahui,  
Dekan

  
Prof. Dr. Agung Endro Nugroho, M.Si., Apt.

Yogyakarta, 22 Mei 2017  
Ketua Departemen Biologi Farmasi

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

**Lampiran 2. Rimpang bangle, daun kemangi dan destilasi**

Rimpang bangle



Daun kemangi

Rangkaian alat destilasi  
uap dan air

Pemisahan minyak dan air



Pemisahan minyak dan air

**Lampiran 3. Minyak atsiri rimpang bangle, daun kemangi dan alat**

Minyak atsiri rimpang bangle



Minyak atsiri daun kemangi



Refraktometer



Gas Chromatography



Vortex mixer



Neraca analitik



**Lampiran 4. Alat sterilisasi**

Autoklaf



Oven



Inkubator



Inkas

### Lampiran 5. Bahan uji antibakteri



Minyak atsiri rimpang bangle



Minyak atsiri daun kemangi



Bakteri murni



Suspensi bakteri



Suspensi bakteri



NaCl fisiologi

**Lampiran 6. Identifikasi minyak atsiri dan kelarutan dalam alkohol**

Minyak atsiri rimpang bangle



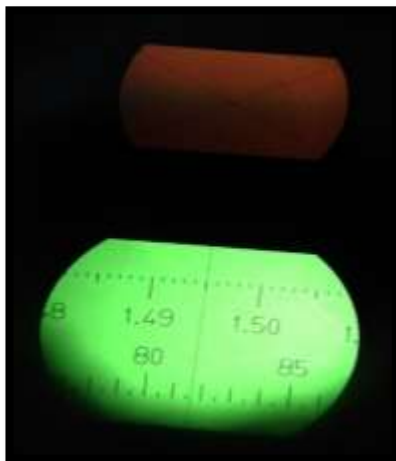
Minyak atsiri daun kemangi



Minyak atsiri rimpang bangle



Minyak atsiri daun kemangi

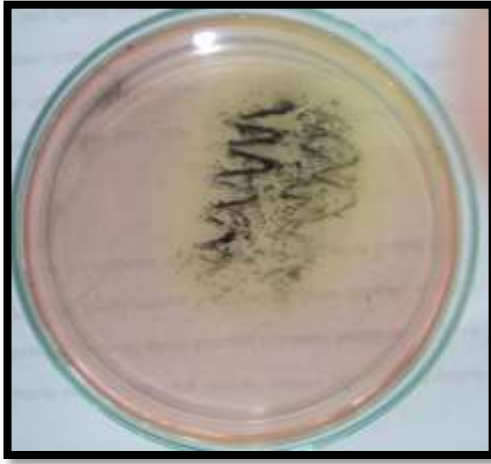
**Lampiran 7. Identifikasi minyak atsiri indeks bias**

Indeks bias rimpang bangle

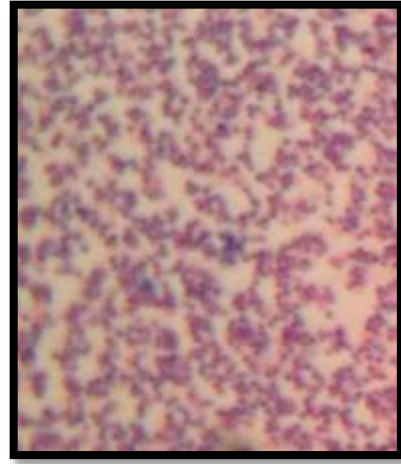


Indeks bias daun kemangi

**Lampiran 8. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**



Uji berdasarkan koloni



Uji berdasarkan mikroskopis










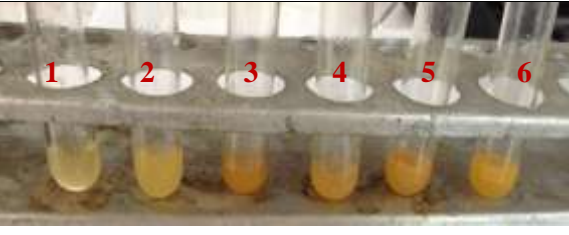

Uji berdasarkan katalase






Uji berdasarkan fisiologi-koagulase

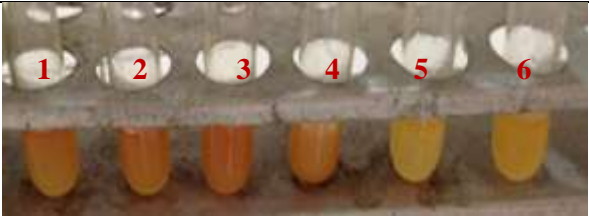

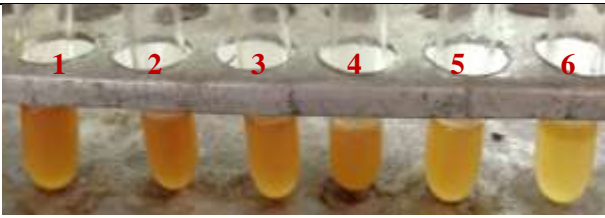
### Lampiran 9. Hasil uji aktivitas antibakteri dengan dilusi

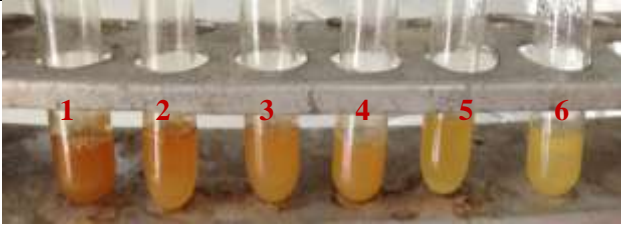


Replikasi	Uji dilusi tunggal bangle	Uji dilusi tunggal kemangi
1	 <p>0,78% 1,56% 3,125% 6,25% 12,5% 25%</p>	 <p>0,78% 1,56% 3,125% 6,25% 12,5% 25%</p>
2	 <p>0,78% 1,56% 3,125% 6,25% 12,5% 25%</p>	 <p>0,78% 1,56% 3,125% 6,25% 12,5% 25%</p>
3	 <p>0,78% 1,56% 3,125% 6,25% 12,5% 25%</p>	 <p>0,78% 1,56% 3,125% 6,25% 12,5% 25%</p>



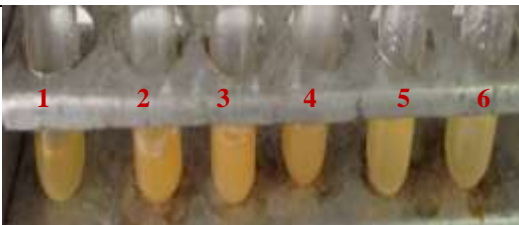
Replikasi	Uji dilusi kombinasi	Keterangan
1	 <p>1 2 3 4 5 6</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Bangle 0,78% : Kemangi 0,78%</li> <li>2. Bangle 1,56% : Kemangi 1,56%</li> <li>3. Bangle 3,125% : Kemangi 3,125%</li> <li>4. Bangle 6,25% : Kemangi 6,25%</li> <li>5. Bangle 12,5% : Kemangi 12,5%</li> <li>6. Bangle 25% : Kemangi 25%</li> </ol>
2	 <p>1 2 3 4 5 6</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Bangle 0,78% : Kemangi 0,78%</li> <li>2. Bangle 1,56% : Kemangi 1,56%</li> <li>3. Bangle 3,125% : Kemangi 3,125%</li> <li>4. Bangle 6,25% : Kemangi 6,25%</li> <li>5. Bangle 12,5% : Kemangi 12,5%</li> <li>6. Bangle 25% : Kemangi 25%</li> </ol>
3	 <p>1 2 3 4 5 6</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Bangle 0,78% : Kemangi 0,78%</li> <li>2. Bangle 1,56% : Kemangi 1,56%</li> <li>3. Bangle 3,125% : Kemangi 3,125%</li> <li>4. Bangle 6,25% : Kemangi 6,25%</li> <li>5. Bangle 12,5% : Kemangi 12,5%</li> <li>6. Bangle 25% : Kemangi 25%</li> </ol>


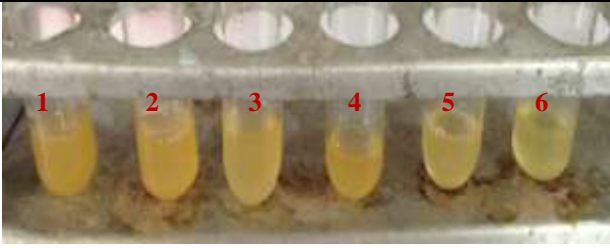




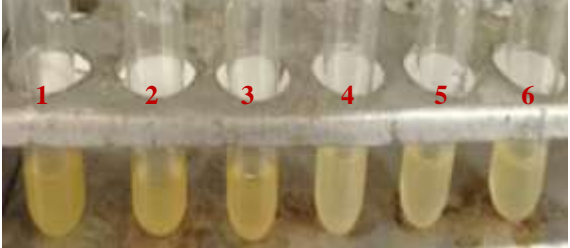
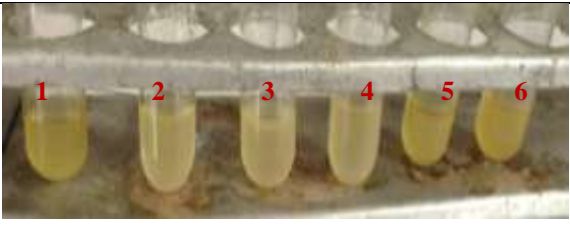
Replikasi	Uji dilusi kombinasi	Keterangan
1		<p>1. Bangle 25% : Kemangi 0,78%</p> <p>2. Bangle 25% : Kemangi 1,56%</p> <p>3. Bangle 25% : Kemangi 3,125%</p> <p>4. Bangle 25% : Kemangi 6,25%</p> <p>5. Bangle 25% : Kemangi 12,5%</p> <p>6. Bangle 25% : Kemangi 25%</p>
2		<p>1. Bangle 25% : Kemangi 0,78%</p> <p>2. Bangle 25% : Kemangi 1,56%</p> <p>3. Bangle 25% : Kemangi 3,125%</p> <p>4. Bangle 25% : Kemangi 6,25%</p> <p>5. Bangle 25% : Kemangi 12,5%</p> <p>6. Bangle 25% : Kemangi 25%</p>
3		<p>1. Bangle 25% : Kemangi 0,78%</p> <p>2. Bangle 25% : Kemangi 1,56%</p> <p>3. Bangle 25% : Kemangi 3,125%</p> <p>4. Bangle 25% : Kemangi 6,25%</p> <p>5. Bangle 25% : Kemangi 12,5%</p> <p>6. Bangle 25% : Kemangi 25%</p>

Replikasi	Uji dilusi kombinasi	Keterangan
1		<p>1. Bangle 12,5% : Kemangi 0,78%</p> <p>2. Bangle 12,5% : Kemangi 1,56%</p> <p>3. Bangle 12,5% : Kemangi 3,125%</p> <p>4. Bangle 12,5% : Kemangi 6,25%</p> <p>5. Bangle 12,5% : Kemangi 12,5%</p> <p>6. Bangle 12,5% : Kemangi 25%</p>
2		<p>1. Bangle 12,5% : Kemangi 0,78%</p> <p>2. Bangle 12,5% : Kemangi 1,56%</p> <p>3. Bangle 12,5% : Kemangi 3,125%</p> <p>4. Bangle 12,5% : Kemangi 6,25%</p> <p>5. Bangle 12,5% : Kemangi 12,5%</p> <p>6. Bangle 12,5% : Kemangi 25%</p>
3		<p>1. Bangle 12,5% : Kemangi 0,78%</p> <p>2. Bangle 12,5% : Kemangi 1,56%</p> <p>3. Bangle 12,5% : Kemangi 3,125%</p> <p>4. Bangle 12,5% : Kemangi 6,25%</p> <p>5. Bangle 12,5% : Kemangi 12,5%</p> <p>6. Bangle 12,5% : Kemangi 25%</p>



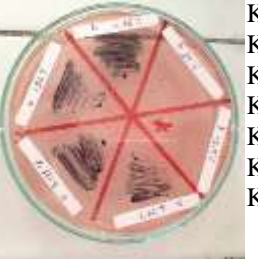



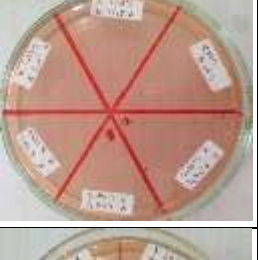
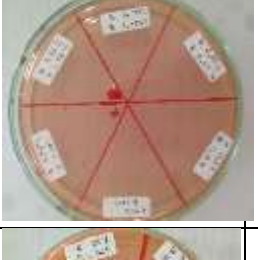
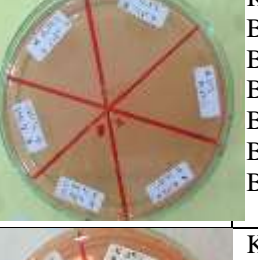

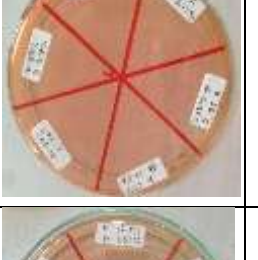
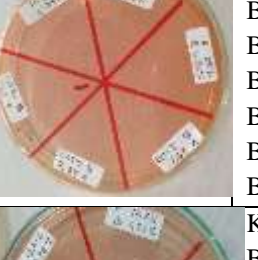
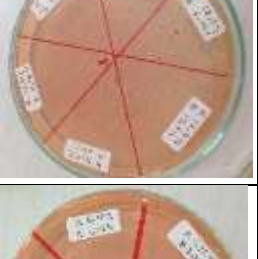

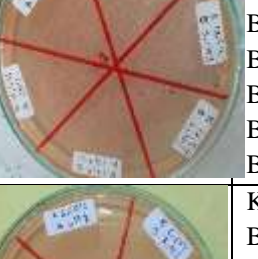



Replikasi	Uji dilusi kombinasi	Keterangan
1		1. Bangle 6,25% : Kemangi 0,78% 2. Bangle 6,25% : Kemangi 1,56% 3. Bangle 6,25% : Kemangi 3,125% 4. Bangle 6,25% : Kemangi 6,25% 5. Bangle 6,25% : Kemangi 12,5% 6. Bangle 6,25% : Kemangi 25%
2		1. Bangle 6,25% : Kemangi 0,78% 2. Bangle 6,25% : Kemangi 1,56% 3. Bangle 6,25% : Kemangi 3,125% 4. Bangle 6,25% : Kemangi 6,25% 5. Bangle 6,25% : Kemangi 12,5% 6. Bangle 6,25% : Kemangi 25%
3		1. Bangle 6,25% : Kemangi 0,78% 2. Bangle 6,25% : Kemangi 1,56% 3. Bangle 6,25% : Kemangi 3,125% 4. Bangle 6,25% : Kemangi 6,25% 5. Bangle 6,25% : Kemangi 12,5% 6. Bangle 6,25% : Kemangi 25%










Replikasi	Uji dilusi kombinasi	Keterangan
1		1. Bangle 3,125% : Kemangi 0,78% 2. Bangle 3,125% : Kemangi 1,56% 3. Bangle 3,125% : Kemangi 3,125% 4. Bangle 3,125% : Kemangi 6,25% 5. Bangle 3,125% : Kemangi 12,5% 6. Bangle 3,125% : Kemangi 25%
2		1. Bangle 3,125% : Kemangi 0,78% 2. Bangle 3,125% : Kemangi 1,56% 3. Bangle 3,125% : Kemangi 3,125% 4. Bangle 3,125% : Kemangi 6,25% 5. Bangle 3,125% : Kemangi 12,5% 6. Bangle 3,125% : Kemangi 25%
3		1. Bangle 3,125% : Kemangi 0,78% 2. Bangle 3,125% : Kemangi 1,56% 3. Bangle 3,125% : Kemangi 3,125% 4. Bangle 3,125% : Kemangi 6,25% 5. Bangle 3,125% : Kemangi 12,5% 6. Bangle 3,125% : Kemangi 25%

Replikasi	Uji dilusi kombinasi	Keterangan
1		1. Bangle 1,56% : Kemangi 0,78% 2. Bangle 1,56% : Kemangi 1,56% 3. Bangle 1,56% : Kemangi 3,125% 4. Bangle 1,56% : Kemangi 6,25% 5. Bangle 1,56% : Kemangi 12,5% 6. Bangle 1,56% : Kemangi 25%
2		1. Bangle 1,56% : Kemangi 0,78% 2. Bangle 1,56% : Kemangi 1,56% 3. Bangle 1,56% : Kemangi 3,125% 4. Bangle 1,56% : Kemangi 6,25% 5. Bangle 1,56% : Kemangi 12,5% 6. Bangle 1,56% : Kemangi 25%
3		1. Bangle 1,56% : Kemangi 0,78% 2. Bangle 1,56% : Kemangi 1,56% 3. Bangle 1,56% : Kemangi 3,125% 4. Bangle 1,56% : Kemangi 6,25% 5. Bangle 1,56% : Kemangi 12,5% 6. Bangle 1,56% : Kemangi 25%

Replikasi	Uji dilusi kombinasi	Keterangan
1		1. Bangle 0,78% : Kemangi 0,78% 2. Bangle 0,78% : Kemangi 1,56% 3. Bangle 0,78% : Kemangi 3,125% 4. Bangle 0,78% : Kemangi 6,25% 5. Bangle 0,78% : Kemangi 12,5% 6. Bangle 0,78% : Kemangi 25%
2		1. Bangle 0,78% : Kemangi 0,78% 2. Bangle 0,78% : Kemangi 1,56% 3. Bangle 0,78% : Kemangi 3,125% 4. Bangle 0,78% : Kemangi 6,25% 5. Bangle 0,78% : Kemangi 12,5% 6. Bangle 0,78% : Kemangi 25%
3		1. Bangle 0,78% : Kemangi 0,78% 2. Bangle 0,78% : Kemangi 1,56% 3. Bangle 0,78% : Kemangi 3,125% 4. Bangle 0,78% : Kemangi 6,25% 5. Bangle 0,78% : Kemangi 12,5% 6. Bangle 0,78% : Kemangi 25%



No	Penggoresan pada media VJA			Keterangan
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	
1				<p>Kemangi (K) tunggal</p> <p>K 0,78 % = tumbuh</p> <p>K 1,56 % = tumbuh</p> <p>K 3,125% = tumbuh</p> <p>K 6,25% = tumbuh</p> <p>K 12,5% = tidak tumbuh</p> <p>K 25% = tidak tumbuh</p>
2				<p>Bangle (B) tunggal</p> <p>B 0,78 % = tumbuh</p> <p>B 1,56 % = tumbuh</p> <p>B 3,125% = tumbuh</p> <p>B 6,25% = tidak tumbuh</p> <p>B 12,5% = tidak tumbuh</p> <p>B 25% = tidak tumbuh</p>
3				<p>Kombinasi bangle kemangi</p> <p>B 0,78 % / K 0,78 % = tidak tumbuh</p> <p>B 1,56 % / K 1,56 % = tidak tumbuh</p> <p>B 3,125% / K 3,125% = tidak tumbuh</p> <p>B 6,25% / K 6,25% = tidak tumbuh</p> <p>B 12,5% / K 12,5% = tidak tumbuh</p> <p>B 25% / K 25% = tidak tumbuh</p>
4				<p>Kombinasi bangle kemangi</p> <p>B 25% / K 0,78% = tidak tumbuh</p> <p>B 25% / K 1,56 % = tidak tumbuh</p> <p>B 25% / K 3,125% = tidak tumbuh</p> <p>B 25% / K 6,25% = tidak tumbuh</p> <p>B 25% / K 12,5% = tidak tumbuh</p> <p>B 25% / K 25% = tidak tumbuh</p>
5				<p>Kombinasi bangle kemangi</p> <p>B 12,5% / K 0,78% = tidak tumbuh</p> <p>B 12,5% / K 1,56 % = tidak tumbuh</p> <p>B 12,5% / K 3,125% = tidak tumbuh</p> <p>B 12,5% / K 6,25% = tidak tumbuh</p> <p>B 12,5% / K 12,5% = tidak tumbuh</p> <p>B 12,5% / K 25% = tidak tumbuh</p>
6				<p>Kombinasi bangle kemangi</p> <p>B 6,25% / K 0,78% = tidak tumbuh</p> <p>B 6,25% / K 1,56 % = tidak tumbuh</p> <p>B 6,25% / K 3,125% = tidak tumbuh</p> <p>B 6,25% / K 6,25% = tidak tumbuh</p> <p>B 6,25% / K 12,5% = tidak tumbuh</p> <p>B 6,25% / K 25% = tidak tumbuh</p>

No	Penggoresan pada media VJA			Keterangan
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	
7				Kombinasi bangle kemangi B 3,125% / K0,78% = tidak tumbuh B 3,125% / K1,56% = tidak tumbuh B 3,125% / K3,125% = tidak tumbuh B 3,125% / K6,25% = tidak tumbuh B 3,125% / K12,5% = tidak tumbuh B 3,125% / K25% = tidak tumbuh
8				Kombinasi bangle kemangi B 1,56% / K0,78% = tumbuh B 1,56% / K1,56% = tidak tumbuh B 1,56% / K3,125% = tidak tumbuh B 1,56% / K6,25% = tidak tumbuh B 1,56% / K12,5% = tidak tumbuh B 1,56% / K25% = tidak tumbuh
9				Kombinasi bangle kemangi B 0,78% / K0,78% = tumbuh B 0,78% / K1,56% = tumbuh B 0,78% / K3,125% = tidak tumbuh B 0,78% / K6,25% = tidak tumbuh B 0,78% / K12,5% = tidak tumbuh B 0,78% / K25% = tidak tumbuh

### Lampiran 10. Perhitungan kadar minyak atsiri rimpang bangle

Proses destilasi	Bobot sampel (gram)	Volume minyak atsiri (ml)	Rendemen (% v/b)
Destilasi 1	4000	16	0,4 %
Destilasi 2	3000	13	0,43 %
<b>Total</b>	<b>7000</b>	<b>29</b>	<b>0,41 %</b>

Perhitungan % Rendemen :

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

$$\text{Destilasi I} = \frac{16 \text{ ml}}{4000 \text{ gram}} \times 100 \% = 0,4 \%$$

$$\text{Destilasi II} = \frac{13 \text{ ml}}{3000 \text{ gram}} \times 100 \% = 0,43 \%$$

$$\text{Total Rendemen} = \frac{29 \text{ ml}}{7000 \text{ gram}} \times 100 \% = 0,41 \%$$

Jadi, kadar minyak rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) adalah 0,41 %.

### Lampiran 11. Perhitungan kadar minyak atsiri daun kemangi

Proses destilasi	Bobot sampel (gram)	Volume minyak atsiri (ml)	Rendemen (% v/b)
Destilasi 1	5000	8,2	0,164 %
Destilasi 2	5000	8,4	0,168 %
Total	10000	16,6	0,166 %

Perhitungan % Rendemen :

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

$$\text{Destilasi I} = \frac{8,2 \text{ ml}}{5000 \text{ gram}} \times 100 \% = 0,164 \%$$

$$\text{Destilasi II} = \frac{8,4 \text{ ml}}{5000 \text{ gram}} \times 100 \% = 0,168 \%$$

$$\text{Total Rendemen III} = \frac{16,6 \text{ ml}}{10000 \text{ gram}} \times 100 \% = 0,166 \%$$

Jadi, kadar minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) adalah 0,166 %.

### Lampiran 12. Perhitungan bobot jenis minyak atsiri

Bobot botol kosong (g)	Bobot botol + air (g)	Bobot botol + minyak (g)		Bobot minyak (g)	
		Bangle	Kemangi	Bangle	Kemangi
28,87	29,89	29,86	29,83	0,99	0,96
28,87	29,88	29,84	29,85	0,97	0,98
28,87	29,86	29,85	29,84	0,98	0,97
<b>Rata-rata</b>				<b>0,98</b>	<b>0,97</b>

#### Perhitungan bobot jenis :

##### I. Bobot jenis rimpang bangle :

$$\begin{aligned}
 \text{Bobot botol + air} &= 29,89 \text{ gram} \\
 \text{Bobot botol kosong} &= \underline{28,87 \text{ gram}} - \\
 \text{Bobot air} &= 1,02 \text{ gram} \\
 \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{berat minyak}}{\text{bobot air}} \\
 &= \frac{0,99 \text{ gram}}{1,02 \text{ gram}} = 0,9705
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Bobot botol + air} &= 29,88 \text{ gram} \\
 \text{Bobot botol kosong} &= \underline{28,87 \text{ gram}} - \\
 \text{Bobot air} &= 1,01 \text{ gram} \\
 \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{berat minyak}}{\text{bobot air}} \\
 &= \frac{0,97 \text{ gram}}{1,01 \text{ gram}} = 0,9603
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Bobot botol + air} &= 29,86 \text{ gram} \\
 \text{Bobot botol kosong} &= \underline{28,87 \text{ gram}} - \\
 \text{Bobot air} &= 0,99 \text{ gram} \\
 \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{berat minyak}}{\text{bobot air}} \\
 &= \frac{0,98 \text{ gram}}{0,99 \text{ gram}} = 0,9898
 \end{aligned}$$

$$\text{Rata-rata bobot jenis minyak atsiri bangle} = \frac{0,9705 + 0,9603 + 0,9898}{3}$$

$$= 0,9735$$

**II. Bobot jenis daun kemangi :**

$$\text{Bobot botol + air} = 29,89 \text{ gram}$$

$$\text{Bobot botol kosong} = \underline{28,87 \text{ gram} -}$$

$$\text{Bobot air} = 1,02 \text{ gram}$$

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

$$= \frac{0,96 \text{ gram}}{1,02 \text{ gram}} = 0,9411$$

$$\text{Bobot botol + air} = 29,88 \text{ gram}$$

$$\text{Bobot botol kosong} = \underline{28,87 \text{ gram} -}$$

$$\text{Bobot air} = 1,01 \text{ gram}$$

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

$$= \frac{0,98 \text{ gram}}{1,01 \text{ gram}} = 0,9702$$

$$\text{Bobot botol + air} = 29,86 \text{ gram}$$

$$\text{Bobot botol kosong} = \underline{28,87 \text{ gram} -}$$

$$\text{Bobot air} = 0,99 \text{ gram}$$

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

$$= \frac{0,97 \text{ gram}}{0,99 \text{ gram}} = 0,9797$$

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata bobot jenis minyak atsiri daun kemangi} &= \frac{0,9411+0,9702+ 0,9797}{3} \\ &= 0,9637 \end{aligned}$$

**Lampiran 13. Perhitungan pengenceran konsentrasi minyak atsiri**

Perhitungan konsentrasi minyak atsiri bangle :

Stok minyak atsiri rimpang bangle = 100%

Konsentrasi 25%	$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$ $V_1 \times 100\% = 10 \text{ ml} \times 25\%$ $V_1 = 2,5 \text{ ml}$
Konsentrasi 12,5%	$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$ $V_1 \times 100\% = 6 \text{ ml} \times 12,5\%$ $V_1 = 1,25 \text{ ml}$
Konsentrasi 6,25%	$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$ $V_1 \times 100\% = 6 \text{ ml} \times 6,25\%$ $V_1 = 0,625 \text{ ml}$
Konsentrasi 3,125%	$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$ $V_1 \times 100\% = 6 \text{ ml} \times 3,125\%$ $V_1 = 0,3125 \text{ ml}$
Konsentrasi 1,56%	$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$ $V_1 \times 100\% = 6 \text{ ml} \times 1,56\%$ $V_1 = 0,156 \text{ ml}$
Konsentrasi 0,78%	$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$ $V_1 \times 100\% = 6 \text{ ml} \times 0,78\%$ $V_1 = 0,078 \text{ ml}$

Perhitungan konsentrasi minyak atsiri kemangi :

Stok minyak atsiri daun kemangi = 100%

Konsentrasi 25%	$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$ $V_1 \times 100\% = 10 \text{ ml} \times 25\%$ $V_1 = 2,5 \text{ ml}$
Konsentrasi 12,5%	$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$ $V_1 \times 100\% = 6 \text{ ml} \times 12,5\%$ $V_1 = 1,25 \text{ ml}$
Konsentrasi 6,25%	$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$ $V_1 \times 100\% = 6 \text{ ml} \times 6,25\%$ $V_1 = 0,625 \text{ ml}$
Konsentrasi 3,125%	$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$ $V_1 \times 100\% = 6 \text{ ml} \times 3,125\%$ $V_1 = 0,3125 \text{ ml}$
Konsentrasi 1,56%	$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$ $V_1 \times 100\% = 6 \text{ ml} \times 1,56\%$ $V_1 = 0,156 \text{ ml}$
Konsentrasi 0,78%	$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$ $V_1 \times 100\% = 6 \text{ ml} \times 0,78\%$ $V_1 = 0,078 \text{ ml}$

### Lampiran 14. Hasil replikasi dilusi secara *checkerboard*

#### Replikasi ke-2

Konsentrasi minyak atsiri daun kemangi % (v/v)	25	-	-	-	-	-	-	-	+	
	12,5	-	-	-	-	-	-	-		
	6,25	+	-	-	-	-	-	-		
	3,125	+	-	-	-	-	-	-		
	1,56	+	+	-	-	-	-	-		
	0,78	+	+	+	-	-	-	-		
			+	+	+	-	-	-		
			0,78	1,56	3,125	6,25	12,5	25		Kontrol (-)

#### Konsentrasi Minyak atsiri rimpang bangle % (v/v)

Keterangan :

(-) : Tidak ada pertumbuhan bakteri

(+) : Ada pertumbuhan bakteri

Kontrol (-) : Berisi kombinasi minyak atsiri rimpang bangle dan daun kemangi tanpa suspensi bakteri

Kontrol (+) : Berisi suspensi bakteri

: Berisi minyak atsiri tunggal rimpang bangle

: Berisi minyak atsiri tunggal daun kemangi

: Berisi minyak atsiri kombinasi rimpang bangle dan daun kemangi

#### Replikasi ke-3

Konsentrasi minyak atsiri daun kemangi % (v/v)	25	-	-	-	-	-	-	-	+	
	12,5	-	-	-	-	-	-	-		
	6,25	+	-	-	-	-	-	-		
	3,125	+	-	-	-	-	-	-		
	1,56	+	+	-	-	-	-	-		
	0,78	+	+	+	-	-	-	-		
			+	+	+	-	-	-		
			0,78	1,56	3,125	6,25	12,5	25		Kontrol (-)

#### Konsentrasi Minyak atsiri rimpang bangle % (v/v)

Keterangan :

(-) : Tidak ada pertumbuhan bakteri

(+) : Ada pertumbuhan bakteri

Kontrol (-) : Berisi kombinasi minyak atsiri rimpang bangle dan daun kemangi tanpa suspensi bakteri

Kontrol (+) : Berisi suspensi bakteri

: Berisi minyak atsiri tunggal rimpang bangle

: Berisi minyak atsiri tunggal daun kemangi

: Berisi minyak atsiri kombinasi rimpang bangle dan daun kemangi



### Lampiran 15. Perhitungan FIC dan FIC Index

Rumus perhitungan *Fractional Inhibitory Concentration* (FIC index) :

$$\sum \text{FIC Indeks} = \text{FIC (A)} + \text{FIC (B)}$$

Dimana :

$$\text{FIC (A)} = \frac{\text{KHM (A) Kombinasi}}{\text{KHM (A) Tunggal}}$$

dan

$$\text{FIC (B)} = \frac{\text{KHM (B) Kombinasi}}{\text{KHM (B) Tunggal}}$$

Nilai  $\sum$  FIC Indeks diinterpretasikan sebagai berikut :

< 0,5 = Sinergis;

0,5 - 4,0 = Aditif;

> 4,0 = Antagonis.

#### Perhitungan FIC dan FIC Index

##### Replikasi 1

Tunggal (%)		Kombinasi (%)	
Bangle	Kemangi	Bangle + Kemangi	
6,25	12,5	1	0,78 + 3,125
		2	1,56 + 1,56
		3	3,125 + 0,78

$$\text{FIC (Bangle)} = \frac{\text{KBM (A) Kombinasi bangle}}{\text{KBM (A) Tunggal bangle}}$$

$$\text{FIC (Kemangi)} = \frac{\text{KBM (B) Kombinasi kemangi}}{\text{KBM (B) Tunggal kemangi}}$$

$$\sum \text{FIC Index} = \text{FIC (Bangle)} + \text{FIC (Kemangi)}$$

$$1. \text{ FIC (Bangle)} = \frac{0,78}{6,25} = 0,1248$$

$$\text{FIC (Kemangi)} = \frac{3,125}{12,5} = 0,25$$

$$\sum \text{FIC Index} = 0,1248 + 0,25 = 0,3748 \text{ (FIC Index} < 0,5 = \text{Sinergis)}$$

$$2. \text{ FIC (Bangle)} = \frac{1,56}{6,25} = 0,2496$$

$$\text{FIC (Kemangi)} = \frac{1,56}{12,5} = 0,1248$$

$$\sum \text{FIC Index} = 0,2496 + 0,1248 = 0,3744 \text{ (FIC Index} < 0,5 = \text{Sinergis)}$$

$$3. \text{ FIC (Bangle)} = \frac{3,125}{6,25} = 0,5$$

$$\text{FIC (Kemangi)} = \frac{0,78}{12,5} = 0,0624$$

$$\sum \text{ FIC Index} = 0,5 + 0,0624 = 0,5624 \text{ (FIC Index} > 0,5 = \text{Aditif)}$$

### Replikasi 2

Tunggal (%)		Kombinasi (%)	
Bangle	Kemangi	Bangle + Kemangi	
6,25	12,5	1	0,78 + 3,125
		2	1,56 + 1,56
		3	3,125 + 0,78

$$\text{FIC (Bangle)} = \frac{\text{KBM (A) Kombinasi bangle}}{\text{KBM (A) Tunggal bangle}}$$

$$\text{FIC (Kemangi)} = \frac{\text{KBM (B) Kombinasi kemangi}}{\text{KBM (B) Tunggal kemangi}}$$

$$\sum \text{ FIC Index} = \text{FIC (Bangle)} + \text{FIC (Kemangi)}$$

$$1. \text{ FIC (Bangle)} = \frac{0,78}{6,25} = 0,1248$$

$$\text{FIC (Kemangi)} = \frac{3,125}{12,5} = 0,25$$

$$\sum \text{ FIC Index} = 0,1248 + 0,25 = 0,3748 \text{ (FIC Index} < 0,5 = \text{Sinergis)}$$

$$2. \text{ FIC (Bangle)} = \frac{1,56}{6,25} = 0,2496$$

$$\text{FIC (Kemangi)} = \frac{1,56}{12,5} = 0,1248$$

$$\sum \text{ FIC Index} = 0,2496 + 0,1248 = 0,3744 \text{ (FIC Index} < 0,5 = \text{Sinergis)}$$

$$3. \text{ FIC (Bangle)} = \frac{3,125}{6,25} = 0,5$$

$$\text{FIC (Kemangi)} = \frac{0,78}{12,5} = 0,0624$$

$$\sum \text{ FIC Index} = 0,5 + 0,0624 = 0,5624 \text{ (FIC Index} > 0,5 = \text{Aditif)}$$

**Replikasi 3**

Tunggal (%)		Kombinasi (%)	
Bangle	Kemangi	Bangle + Kemangi	
6,25	12,5	1	0,78 + 3,125
		2	1,56 + 1,56
		3	3,125 + 0,78

$$\text{FIC (Bangle)} = \frac{\text{KBM (A) Kombinasi bangle}}{\text{KBM (A) Tunggal bangle}}$$

$$\text{FIC (Kemangi)} = \frac{\text{KBM (B) Kombinasi kemangi}}{\text{KBM (B) Tunggal kemangi}}$$

$$\sum \text{FIC Index} = \text{FIC (Bangle)} + \text{FIC (Kemangi)}$$

$$1. \text{ FIC (Bangle)} = \frac{0,78}{6,25} = 0,1248$$

$$\text{FIC (Kemangi)} = \frac{3,125}{12,5} = 0,25$$

$$\sum \text{FIC Index} = 0,1248 + 0,25 = 0,3748 \text{ (FIC Index} < 0,5 = \text{Sinergis)}$$

$$2. \text{ FIC (Bangle)} = \frac{1,56}{6,25} = 0,2496$$

$$\text{FIC (Kemangi)} = \frac{1,56}{12,5} = 0,1248$$

$$\sum \text{FIC Index} = 0,2496 + 0,1248 = 0,3744 \text{ (FIC Index} < 0,5 = \text{Sinergis)}$$

$$3. \text{ FIC (Bangle)} = \frac{3,125}{6,25} = 0,5$$

$$\text{FIC (Kemangi)} = \frac{0,78}{12,5} = 0,0624$$

$$\sum \text{FIC Index} = 0,5 + 0,0624 = 0,5624 \text{ (FIC Index} > 0,5 = \text{Aditif)}$$

### Lampiran 16. Perhitungan persen (%) kemurnian berdasarkan indeks bias

#### Rumus :

$$\text{Persen (\%) Kemurnian} = 1 - \left[ \frac{\text{Indeks bias teori} - \text{indeks bias praktek}}{\text{Indeks bias teori}} \right] \times 100\%$$

#### I. Untuk rimpang bangle

Indeks bias praktek : 1,495

Indeks bias teori : 1,483 – 1,505

a. % Kemurnian =  $1 - \left[ \frac{1,483 - 1,495}{1,483} \right] \times 100\% = 99,19\%$

b. % Kemurnian =  $1 - \left[ \frac{1,505 - 1,495}{1,505} \right] \times 100\% = 99,36\%$

Jadi % kemurnian minyak atsiri rimpang bangle adalah sebesar 99,19% - 99,36%.

#### II. Untuk daun kemangi

Indeks bias praktek : 1,489

Indeks bias teori : 1,482 – 1,506

a. % Kemurnian =  $1 - \left[ \frac{1,482 - 1,489}{1,482} \right] \times 100\% = 99,53\%$

b. % Kemurnian =  $1 - \left[ \frac{1,506 - 1,489}{1,506} \right] \times 100\% = 98,87\%$

Jadi % kemurnian minyak atsiri daun kemangi adalah sebesar 98,87% - 99,53%.

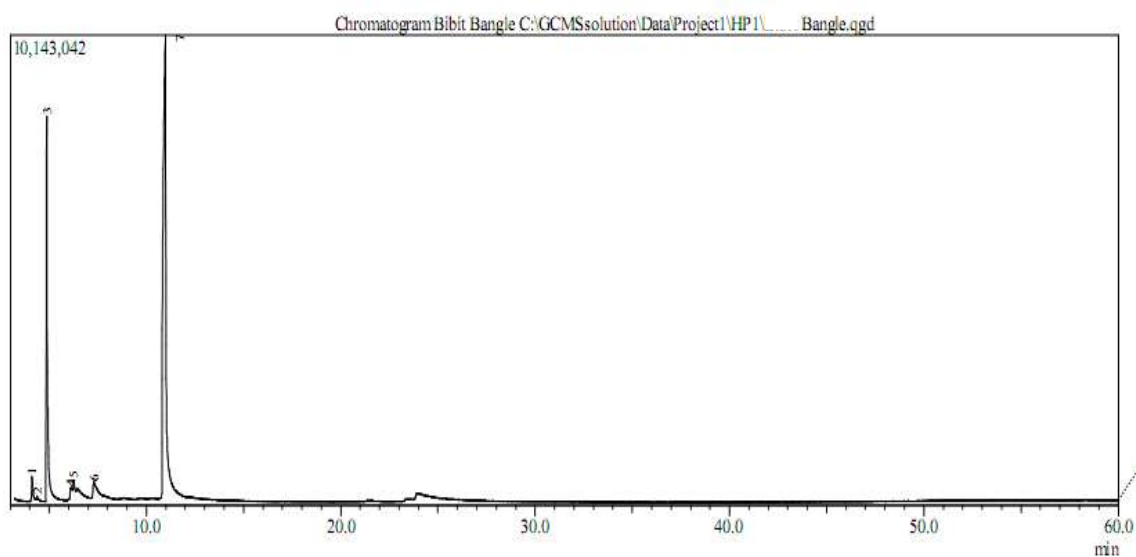
## Lampiran 17. Hasil analisis GCMS minyak atsiri

### Kromatogram minyak atsiri rimpang bangle



Lab. Kimia Organik FMIPA - UGM

Analyzed by : Admin  
 Sample Name : Bangle  
 Sample ID :  
 Data File : C:\GCMSsolution\Data\Project1\HP1\Bibit Bangle.qgd  
 Method File : C:\GCMSsolution\Data\Project1\HP1\atsiri hp1.qgm  
 Tuning File : C:\GCMSsolution\System1\Tune1



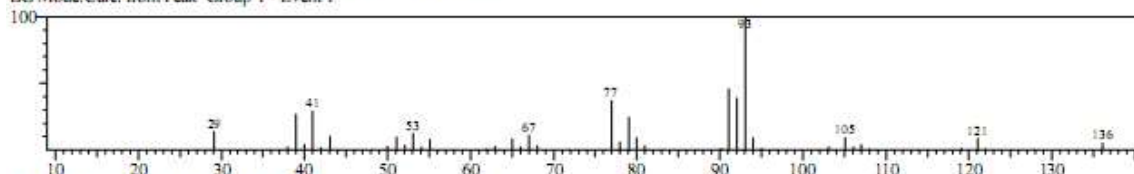
**Tabel Hasil analisis komponen minyak atsiri rimpang bangle dengan GC-MS**

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	Alpha-Terpinene	6.100	136	1,04
5	Eucalyptol	6.253	154	0,86
6	Gamma-Terpinene	7.299	136	2,37
7	Terpineol-4	10.973	154	70,96

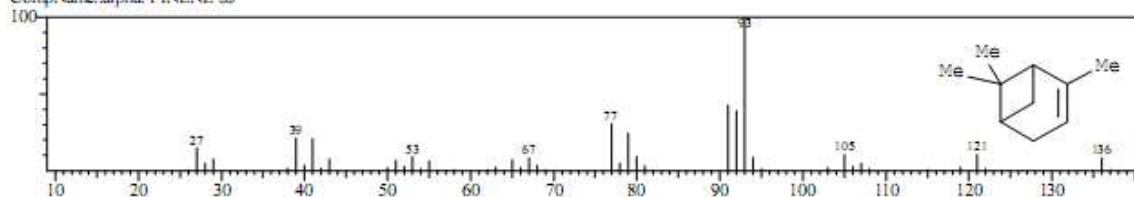
### Komponen utama senyawa minyak atsiri rimpang bangle :

#### Senyawa Alpha-Pinene

Line#1 R. Time:4.117(Scan#:111) MassPeaks:39  
RawMode:Averaged 4.108-4.125(110-112) BasePeak:93.05(104747)  
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1

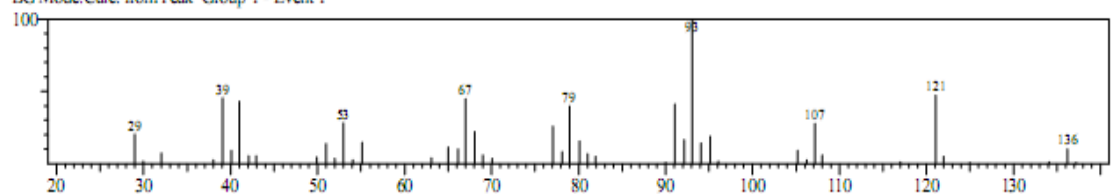


Hit#:1 Entry:19707 Library:WILEY229.LIB  
SE96 Formula:C10 H16 CAS:80-56-8 MolWeight:136 RetIndex:0  
CompName:alpha-PINENE SS

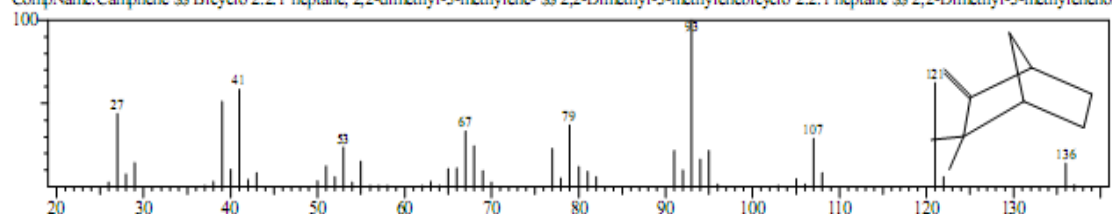


#### Senyawa Camphene

Line#2 R. Time:4.375(Scan#:142) MassPeaks:46  
RawMode:Averaged 4.367-4.383(141-143) BasePeak:93.05(10612)  
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1

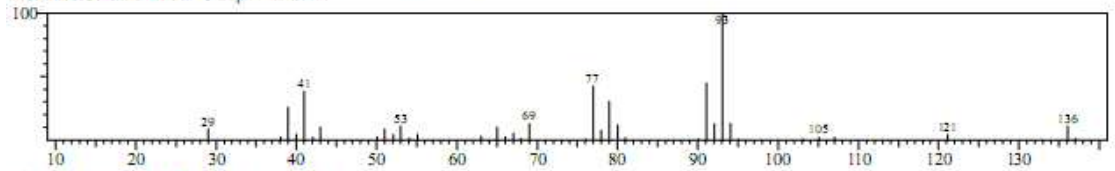


Hit#:1 Entry:6630 Library:NIST62.LIB  
SE94 Formula:C10H16 CAS:79-92-5 MolWeight:136 RetIndex:0  
CompName:Camphene SS Bicyclo 2.2.1 heptane, 2,2-dimethyl-3-methylene- SS 2,2-Dimethyl-3-methylenebicyclo 2.2.1 heptane SS 2,2-Dimethyl-3-methylenenorbornane SS

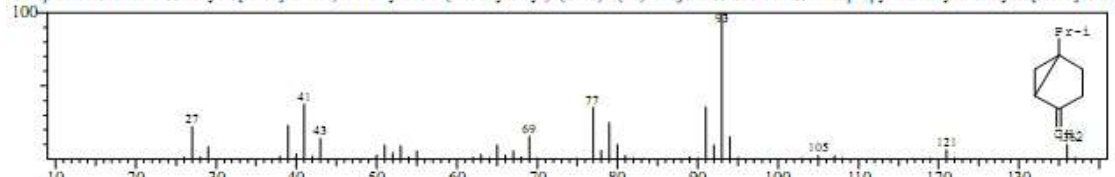


#### Senyawa Sabinene

Line#3 R. Time:4.867(Scan#:201) MassPeaks:37  
RawMode:Averaged 4.858-4.875(200-202) BasePeak:93.05(1653088)  
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



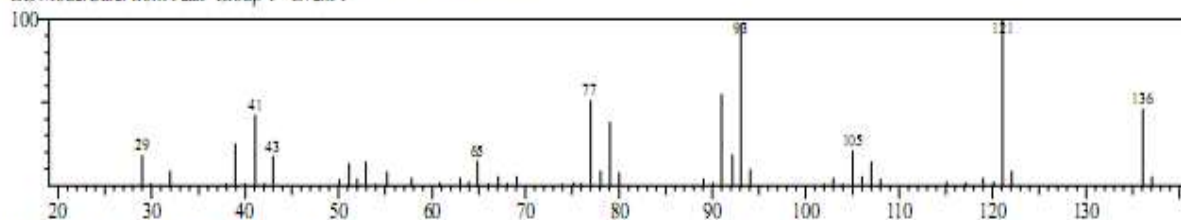
Hit#:1 Entry:19529 Library:WILEY229.LIB  
SE97 Formula:C10 H16 CAS:3387-41-5 MolWeight:136 RetIndex:0  
CompName:Sabinene SS Bicyclo[3.1.0]hexane, 4-methylene-1-(1-methylethyl)- (CAS) 4(10)-Thujene SS Sabinen SS 1-Isopropyl-4-methylenebicyclo[3.1.0]hexane SS



### Senyawa Alpha-Terpinene

<< Target >>

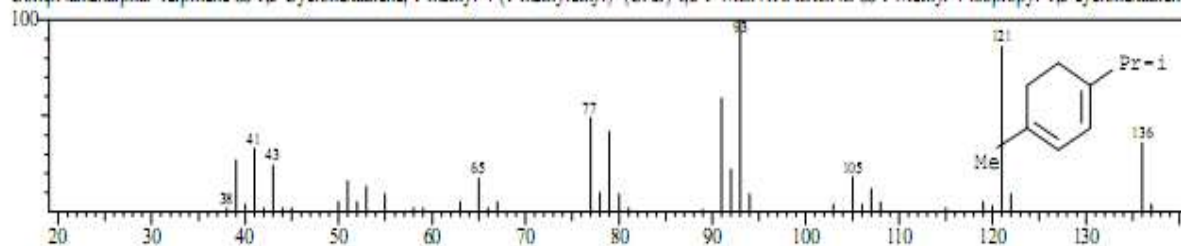
Line#:4 R. Time:6.100(Scan#:349) MassPeaks:52  
 RawMode:Averaged 6.092-6.108(348-350) BasePeak:121.05(20849)  
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:19358 Library:WILEY229.LIB

SE93 Formula:C10H16 CAS:99-86-5 MolWeight:136 RetIndex:0

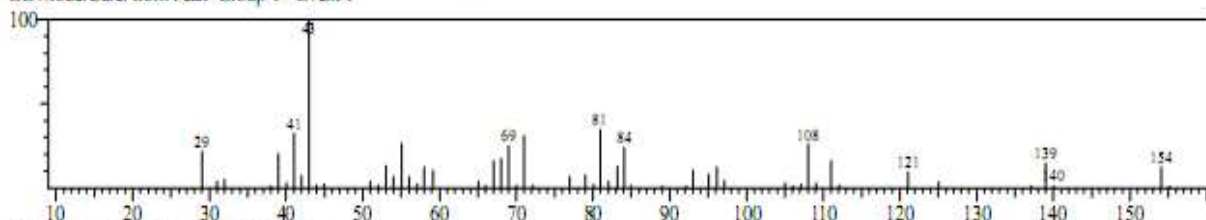
CompName:alpha-Terpinene SS 1,3-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)- (CAS) 1,3-P-MENTHADIENE SS 1-Methyl-4-isopropyl-1,3-cyclohexadiene SS



### Senyawa Eucalyptol

<< Target >>

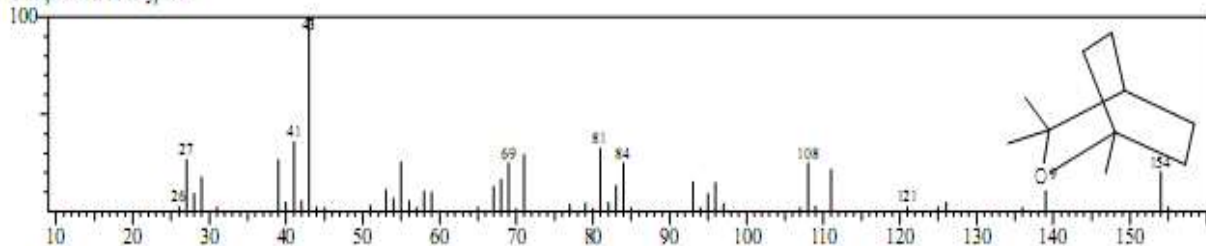
Line#:5 R. Time:6.250(Scan#:367) MassPeaks:56  
 RawMode:Averaged 6.242-6.258(366-368) BasePeak:43.00(33612)  
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:4852 Library:NIST12.LIB

SE94 Formula:C10H18O CAS:470-82-6 MolWeight:154 RetIndex:0

CompName:Eucalyptol



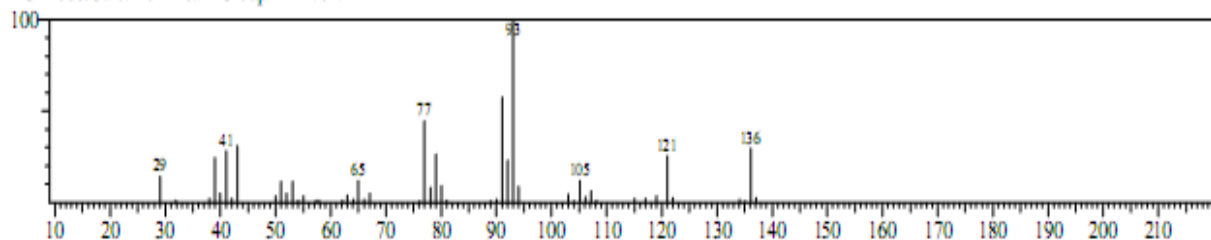
### Senyawa Gamma-Terpinene

<< Target >>

Line#6 R.Time:7.300(Scan#:493) MassPeaks:49

RawMode:Averaged 7.292-7.308(492-494) BasePeak:93.05(53924)

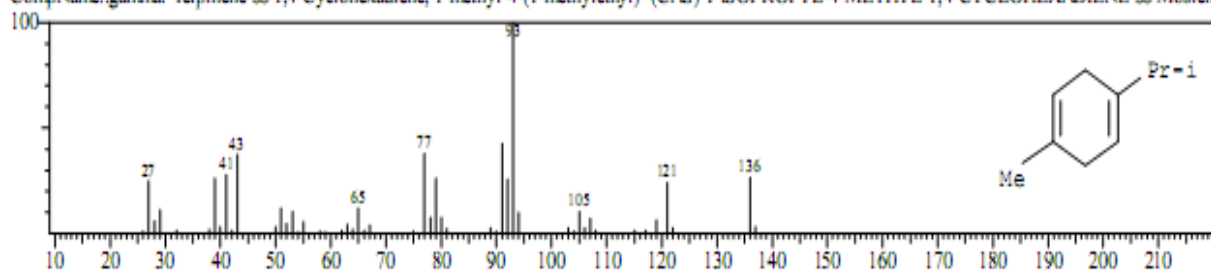
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#1 Entry:19396 Library:WILEY229.LIB

SI:96 Formula:C10 H16 CAS:99-85-4 MolWeight:136 RetIndex:0

CompName: gamma-Terpinene SS 1,4-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)- (CAS) 1-ISOPROPYL-4-METHYL-1,4-CYCLOHEXADIENE SS Moslene SS



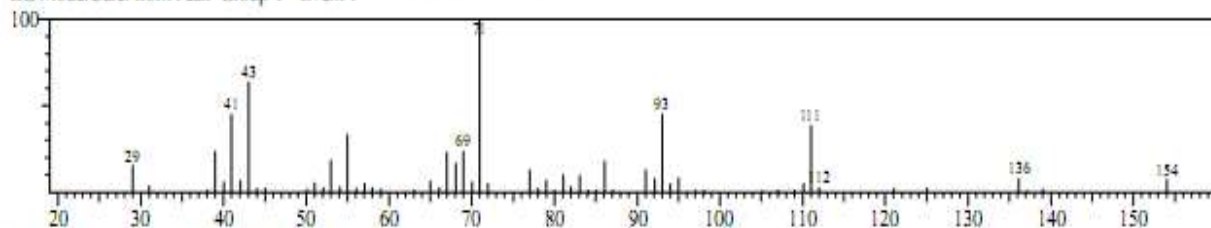
### Senyawa Terpineol-4

<< Target >>

Line#7 R.Time:10.975(Scan#:934) MassPeaks:59

RawMode:Averaged 10.967-10.983(933-935) BasePeak:71.00(1468461)

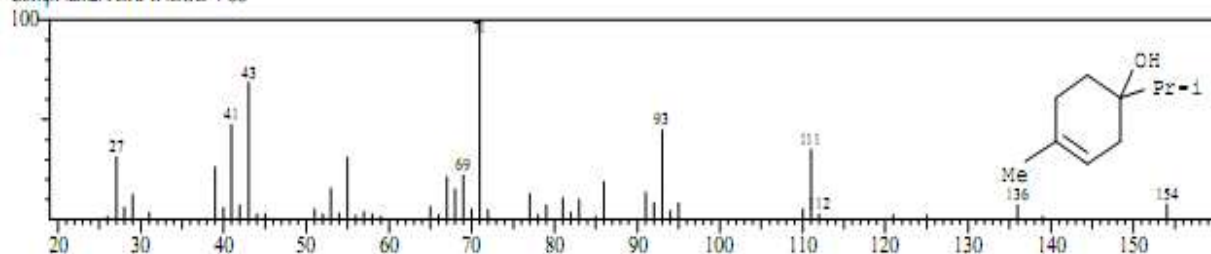
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#1 Entry:31715 Library:WILEY229.LIB

SI:98 Formula:C10 H18 O CAS:562-74-3 MolWeight:154 RetIndex:0

CompName: TERPINEOL-4 SS



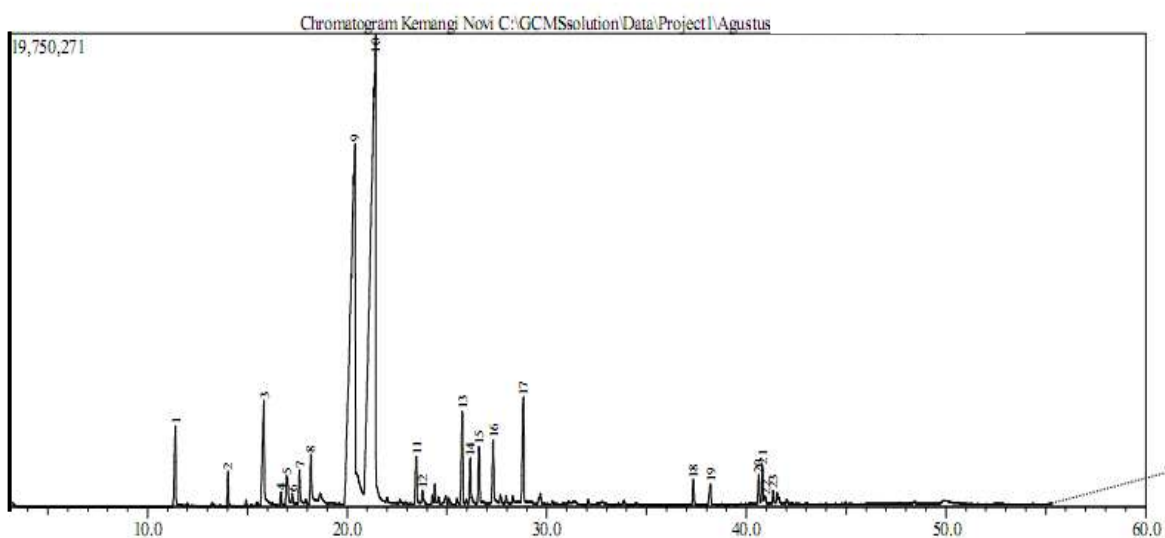


### Kromatogram minyak atsiri daun kemangi



Lab. Kimia Organik FMIPA - UGM

Analyzed by : Admin  
 Sample Name : Kemangi1  
 Sample ID :  
 Data File : C:\GCMSsolution\Data\Project1\  
 Method File : C:\GCMSsolution\Data\Project1\  
 Tuning File : C:\GCMSsolution\System1\Tune1\



**Tabel Hasil analisis komponen minyak atsiri daun kemangi dengan GC-MS**

Peak	Senyawa	RT (min)	BM	Kadar (%)
1	6-Methyl-5heptin-2-one	11.399	126	2,04
2	1,3,7-Octatriene,3,7-Dimethyl	14.028	136	0,60
3	Linalool	15.829	154	3,54
4	1-Undecyne	16.682	152	0,28
5	Trans-geraniol	16.977	154	1,04
6	Citronella	17.258	154	0,25
7	Limonene oxide	17.613	152	0,78
8	Limonene oxide	18.187	152	1,25
9	Beta-Citral	20.387	152	32,79
10	Z-Citral	21.418	152	43,43
11	Eugenol	23.466	164	1,29
12	Geranylacetate	23.775	196	0,39
13	Kariofilene	25.768	204	2,39
14	Bergamotene	26.170	204	1,20
15	Alpha-Humulene	26.604	204	1,48
16	Germacrene-D	27.317	204	1,51
17	Alpha-Charyophyllene	28.829	204	2,63
18	Hexadecanoic acid	37.347	270	0,58
19	Palmitinic acid	38.201	256	0,61

20	9,12-Octadecadienoic acid	40.624	294	0,62
21	9-Octadecenoid acid	40.805	296	0,83
22	Beta-himachalene	40.958	204	0,20
23	Octadecanoic acid	41.347	298	0,26

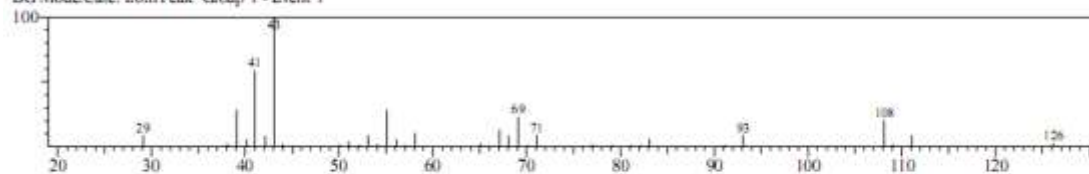
### Komponen utama senyawa minyak atsiri daun kemangi

#### Senyawa 6-Methyl-5heptin-2-one

Library

<< Target >>

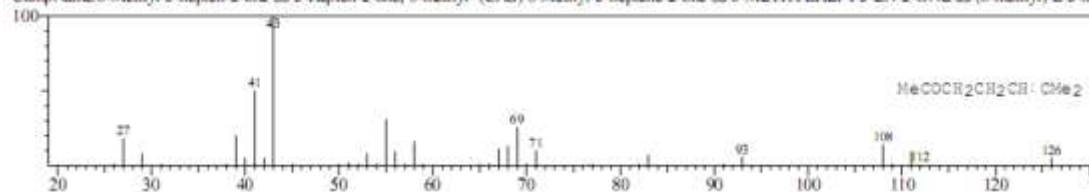
Line#:1 R. Time:11.400(Scan#:985) MassPeaks:36  
 RawMode:Averaged 11.392-11.408(984-986) BasePeak:43.05(783866)  
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:13990 Library:WILEY229.LIB

SI:94 Formula:C8 H14 O CAS:110-93-0 MolWeight:126 RetIndex:0

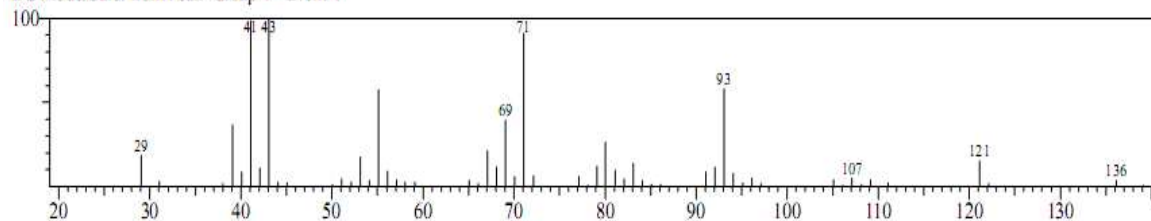
CompName:6-Methyl-5-hepten-2-one SS 5-Hepten-2-one, 6-methyl- (CAS) 6-Methyl-5-heptene-2-one SS 6-METHYLHEPT-5-EN-2-ONE SS (6-methyl)-E-5-hepten-



#### Senyawa Linalool

<< Target >>

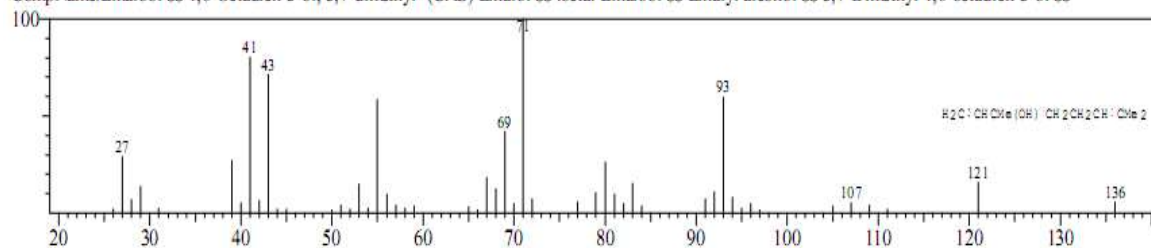
Line#:3 R. Time:15.825(Scan#:1516) MassPeaks:55  
 RawMode:Averaged 15.817-15.833(1515-1517) BasePeak:43.05(526327)  
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:31232 Library:WILEY229.LIB

SI:96 Formula:C10 H18 O CAS:78-70-6 MolWeight:154 RetIndex:0

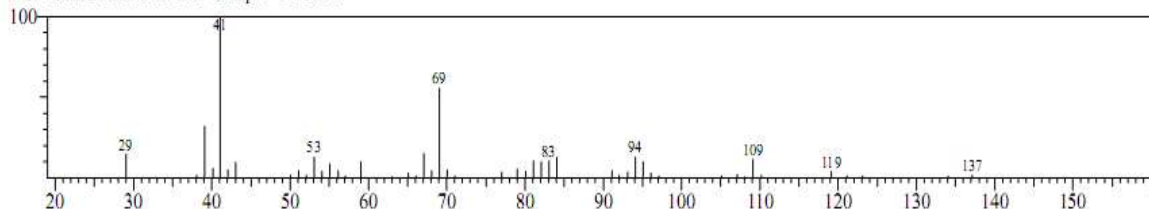
CompName:Linalool SS 1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl- (CAS) Linalool SS .beta.-Linalool SS Linalyl alcohol SS 3,7-Dimethyl-1,6-octadien-3-ol SS



### Senyawa Beta-Citral

<< Target >>

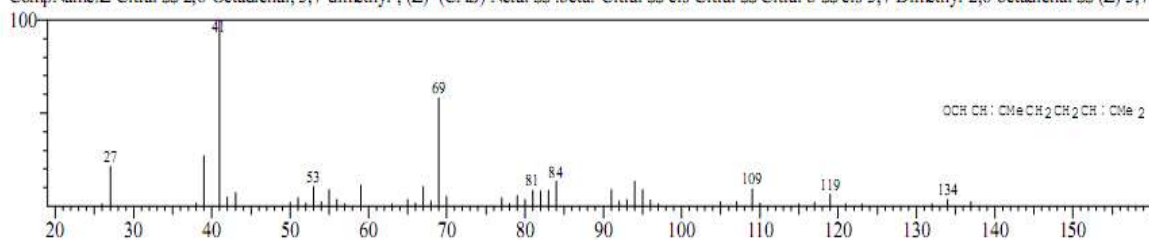
Line#:9 R.Time:20.383(Scan#:2063) MassPeaks:48  
RawMode:Averaged 20.375-20.392(2062-2064) BasePeak:41.05(3282279)  
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:29301 Library:WILEY229.LIB

SI:94 Formula:C10 H16 O CAS:106-26-3 MolWeight:152 RetIndex:0

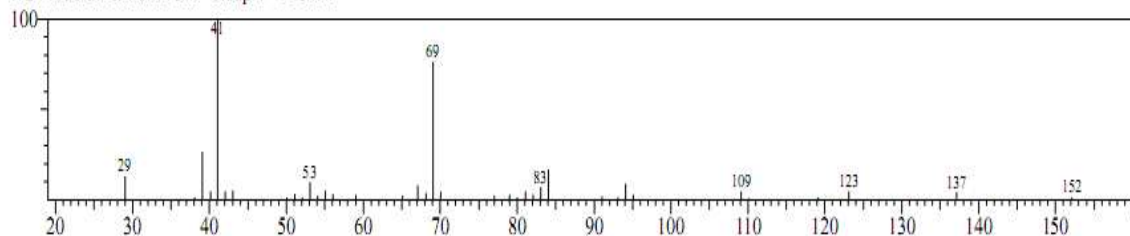
CompName:Z-Citral SS 2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl-, (Z)- (CAS) Neral SS .beta.-Citral SS cis-Citral SS Citral b SS cis-3,7-Dimethyl-2,6-octadienal SS (Z)-3,7-Dimethyl-2,



### Senyawa Z-Citral

<< Target >>

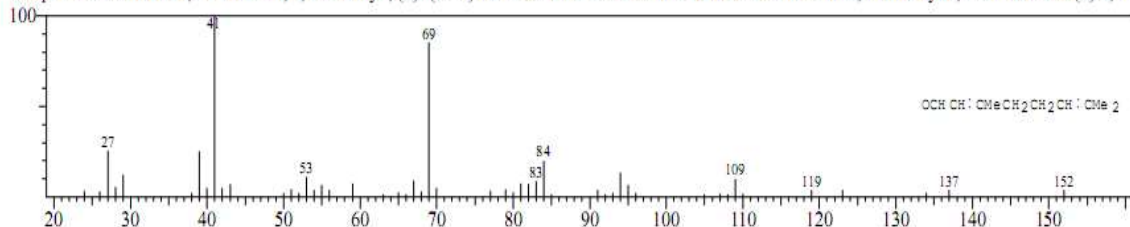
Line#:10 R.Time:21.417(Scan#:2187) MassPeaks:37  
RawMode:Averaged 21.408-21.425(2186-2188) BasePeak:41.05(5148680)  
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



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

SI:94 Formula:C10 H16 O CAS:106-26-3 MolWeight:152 RetIndex:0

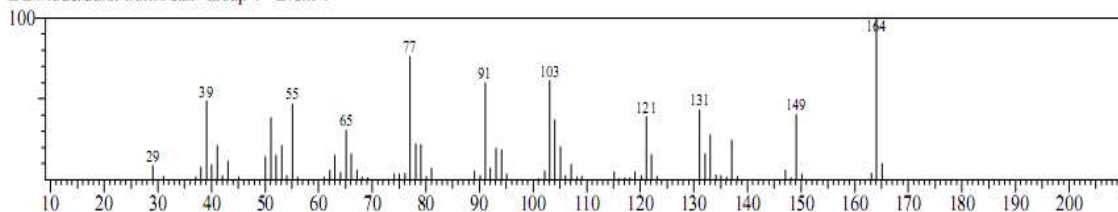
CompName:Z-Citral SS 2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl-, (Z)- (CAS) Neral SS .beta.-Citral SS cis-Citral SS Citral b SS cis-3,7-Dimethyl-2,6-octadienal SS (Z)-3,7-Dimethyl



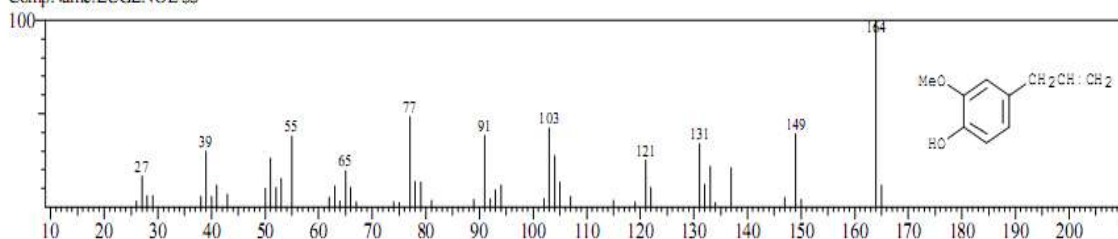
### Senyawa Eugenol

<< Target >>

Line#:11 R.Time:23.467(Scan#:2433) MassPeaks:74  
RawMode:Averaged 23.458-23.475(2432-2434) BasePeak:164.10(171188)  
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



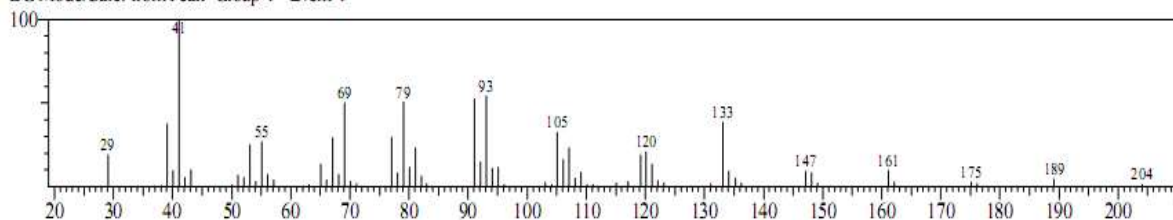
Hit#:1 Entry:38291 Library:WILEY229.LIB  
SI:91 Formula:C10 H12 O2 CAS:97-53-0 MolWeight:164 RetIndex:0  
CompName:EUGENOL SS



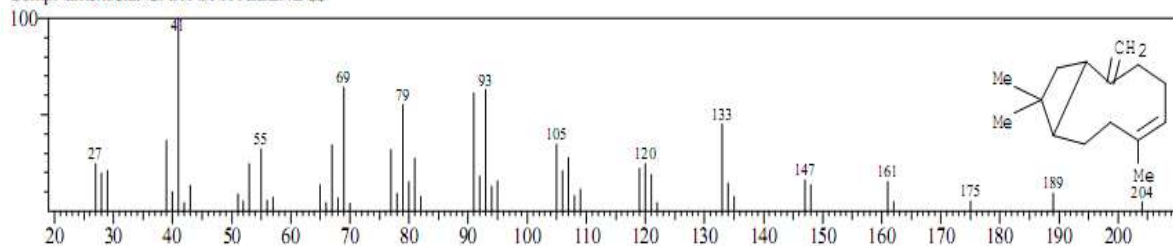
### Senyawa Kariofilene

<< Target >>

Line#:13 R.Time:25.767(Scan#:2709) MassPeaks:66  
RawMode:Averaged 25.758-25.775(2708-2710) BasePeak:41.05(409388)  
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:71237 Library:WILEY229.LIB  
SI:95 Formula:C15 H24 CAS:87-44-5 MolWeight:204 RetIndex:0  
CompName:.beta.-CARYOPHYLLENE SS



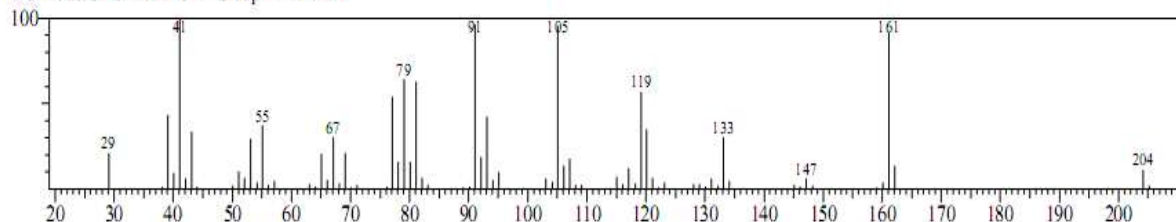
### Senyawa Germacrene-D

<< Target >>

Line#:16 R.Time:27.317(Scan#:2895) MassPeaks:73

RawMode:Averaged 27.308-27.325(2894-2896) BasePeak:41.05(197170)

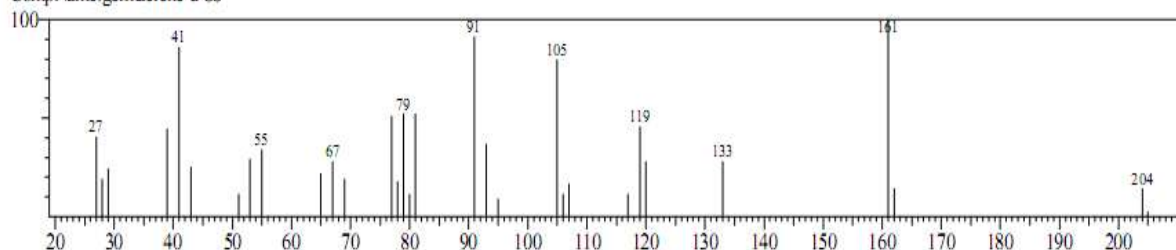
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:71110 Library:WILEY229.LIB

SI:91 Formula:C15H24 CAS:23986-74-5 MolWeight:204 RetIndex:0

CompName:germacrene d SS



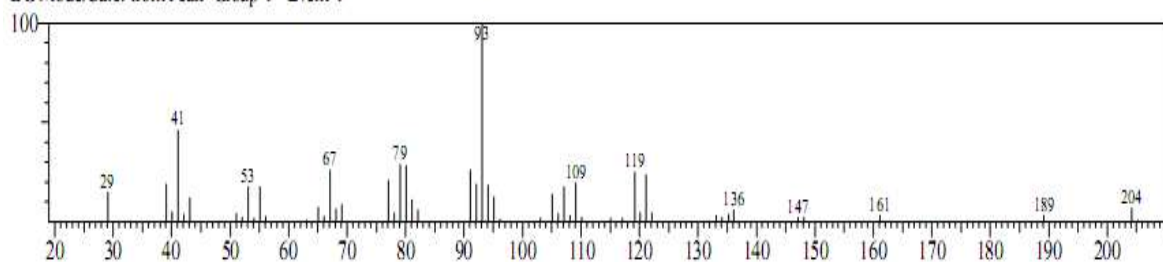
### Senyawa Alpha-Charyophyllene

<< Target >>

Line#:17 R.Time:28.825(Scan#:3076) MassPeaks:53

RawMode:Averaged 28.817-28.833(3075-3077) BasePeak:93.05(643289)

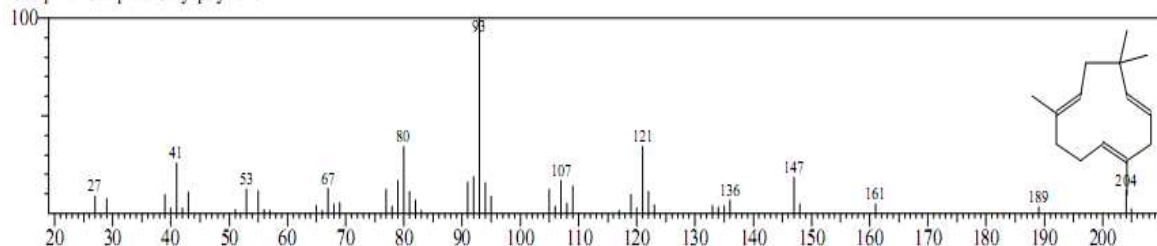
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:4 Entry:7721 Library:NIST12.LIB

SI:90 Formula:C15H24 CAS:6753-98-6 MolWeight:204 RetIndex:0

CompName:alpha.-Caryophyllene



### Lampiran 18. Komposisi media

#### a. 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.

#### b. 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.