

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI MINYAK ATSIRI BATANG SEREH
WANGI (*Cymbopogon nardus* L. Rendle) DAN DAUN NILAM (*Pogostemon
cablin* Benth) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**



Oleh:

**Adinda Carolina Novi Puteri Balelay
20144259 A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI MINYAK ATSIRI BATANG SEREH
WANGI (*Cymbopogon nardus* L. Rendle) DAN DAUN NILAM (*Pogostemon
cablin* Benth) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

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

Oleh:

Adinda Carolina Novi Puteri Balelay

20144259 A

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul
**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI MINYAK ATSIRI BATANG SEREH
WANGI (*Cymbopogon nardus* L. Rendle) DAN DAUN NILAM (*Pogostemon cablin*
Benth) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

Oleh:

Adinda Carolina Novi Puteri Balelay
20144259 A

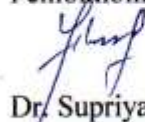
Dipertahankan dihadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 02 Juli 2018

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



Prof. Dr. R. A. Detari, Sp., MM., M.sc., Apt.

Pembimbing Utama



Dr. Supriyadi, M.Si.

Pembimbing Pendamping,



Dra. Kartinah W., SU.

Penguji :

1. Dra. Nony Puspawati, M.Si.
2. Reslely Harjanti, M.Sc., Apt.
3. D. Andang Arif Wibawa, SP., M.Si.
4. Dr. Supriyadi, M.Si.

1.
2.
3.
4.



PERSEMBAHAN

“Sebab TUHAN, Dia sendiri akan berjalan di depanmu, Dia sendiri akan menyertai engkau, Dia tidak akan membiarkan engkau dan tidak akan meninggalkan engkau; janganlah takut dan janganlah patah hati”

(Ulangan 31:8)

Ingat, jatuh tujuh kali lalu bangkitlah untuk yang ke-delapan.

Jangan menggrah, pasti bisa!!

Skripsi ini kupersembahkan kepada:

Tuhan Yesus Kristus yang selalu menjaga dan menyertai hingga saat ini

- *Pria hebat dan wanita luar biasa yang selalu menyebut namaku dalam setiap doa mereka, tanpa kalian aku hanya seperti rumput di padang pasir, terimakasih papa yang telah mengenalkan aku kepada dunia, terimakasih mama yang sudah mengenalkan dunia kepadaku.*
- *Opa dan Oma. Waktu berlalu, manusia menua, semua akan menghilang, tapi orang lain tidak akan melupakan bagaimana perasaan mereka terhadap apa yang kita lakukan.*
- *Kaka Oy, Kaka Ale, Adi Ogi yang selalu terlihat tidak peduli tetapi selalu mengasihi, menjaga dan menyayangi*
- *Ka Naldy. Tentang sebuah perjalanan ada satu pelajaran yang aku dapatkan darimu, perihal berpijak pada keyakinan. Terimakasih untuk dirimu yang sudah bergabung dengan semua pikiranku, dan tetaplah denganku sampai engkau terbiasa bersama semua hal yang berkaitan denganku.*
- *Keluarga besar Balelay dan Fangidae*
- *Meymey, Irsha Icha, Oncu. Terimakasih atas kesetiaan kalian menemani menghias mimpi, perihal ketidak mungkinan “tenang saja, mereka bukan Tuhan yang bisa menghentikan langkah kita menuju kesuksesan”*
- *Adikku Olivia. Kamu adalah kamu, tetaplah menjadi dirimu sendiri. Jangan takut, yakin dan percaya diri, jatuh berdiri lagi, kalah berusaha lagi, teruslah berjalan hingga angan berhasil kau wujudkan dan berada dalam genggam tanganmu*
- *Alamamater, Bangsa dan Negaraku tercinta*

PERNYATAAN

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

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

Surakarta, Juni 2018



Adinda Carolina Novi Puteri Balelay

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI MINYAK ATSIRI BATANG SEREH WANGI (*Cymbopogon nardus* L. Rendle) DAN DAUN NILAM (*Pogostemon cablin* Benth) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923”**. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk mencapai derajat Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi, Surakarta.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, untuk itu penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih kepada :

1. Bapak Dr. Djoni Taringan. MBA selaku Rektor Universitas Setia Budi, Surakarta
2. Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta.
3. Dr. Supriyadi, M.Si, selaku Pembimbing Utama yang telah memberikan bimbingan, nasehat, dan semangat sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
4. Dra. Kartinah W, SU, selaku dosen Pembimbing Pendamping yang telah memberikan bimbingan, semangat, dan koreksi pada penulis.
5. Dosen penguji yang telah meluangkan waktu untuk menguji dan memberikan masukan dan saran yang membangun untuk memperbaiki skripsi ini.
6. Bapak Hendrikus dan segenap asisten Laboratorium Mikrobiologi dan Fitokimia Universitas Setia Budi, Surakarta yang telah banyak membantu.
7. Bapak Thobias Balelay, SH, dan Mama Henny Fangidae, yang telah memberikan motivasi, semangat, nasehat, dan doa sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan lancar.
8. Berbagai pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam menyusun skripsi ini. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran dari siapapun yang bersifat membangun. Akhirnya, penulis berharap semoga karya tulis ini dapat bermanfaat bagi siapapun yang mempelajarinya.

Surakarta, Juli 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
INTISARI.....	xv
ABSTRACT	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Kegunaan Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
A. Tanaman Sereh.....	6
1. Sitematika tanaman sereh wangi	6
2. Nama daerah.....	6
3. Morfologi tanaman	6
4. Kandungan kimia.....	7
5. Kegunaan tanaman.....	7
6. Minyak sereh	8
B. Tanaman Nilam.....	8
1. Sitematika tanaman nilam	8
2. Nama daerah.....	8
3. Morfologi tanaman	8

4. Kandungan kimia.....	9
5. Kegunaan tanaman	9
6. Minyak nilam	9
C. Minyak Atsiri	10
1. Pengertian minyak atsiri	10
2. Sifat minyak atsiri.....	10
3. Metode isolasi minyak atsiri	11
4. Identifikasi minyak atsiri	12
5. Penetapan bobot jenis minyak atsiri	12
6. Uji kelarutan dalam etanol	13
7. Destilasi.....	13
D. Kombinasi Obat	14
E. Kromatografi Gas	14
F. <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923.....	15
1. Sistematika <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	15
2. Patogenesis.....	15
3. Morfologi dan identifikasi	15
G. Antibakteri	17
1. Definisi antibakteri	17
2. Mekanisme kerja antibakteri	17
2.1. Inhibisi sintesis dinding sel	17
2.2. Inhibisi fungsi membran sel	17
2.3. Inhibisi sintesis protein	18
2.4. Inhibisi sintesis asam nukleat	18
3. Amoksisilin sebagai antibakteri	18
H. Uji Aktivitas Antibakteri	19
1. Metode	19
2. Media	19
3. Sterilisasi	20
I. Landasan Teori.....	21
J. Hipotesis	24

BAB III METODE PENELITIAN	25
A. Populasi dan Sampel.....	25
1. Populasi.....	25
2. Sampel	25
B. Variabel Penelitian	25
1. Identifikasi variabel utama.....	25
2. Klasifikasi variabel utama.....	26
3. Definisi operasional variabel utama	26
C. Alat dan Bahan.....	27
1. Alat	27
2. Bahan	28
D. Jalannya Penelitian.....	28
1. Determinasi tanaman	28
2. Pengambilan bahan.....	28
3. Isolasi minyak atsiri batang sereh wangi	28
4. Isolasi minyak atsiri daun nilam.....	29
5. Analisa minyak atsiri	29
5.1. Pengamatan organoleptik	29
5.2. Identifikasi minyak atsiri.....	30
5.3. Penetapan indeks bias minyak atsiri	30
5.4. Penetapan bobot jenis minyak atsiri	30
5.5. Penetapan kelarutan dalam alkohol	31
6. Sterilisasi.....	31
7. Pembuatan suspensi bakteri uji <i>Staphylococcus aureus</i>	31
8. Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	32
8.1. Identifikasi <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	
Berdasarkan koloni	32
8.2. Identifikasi mikroskopis <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC	
25923 secara morfologi.....	32
8.3. Identifikasi fisiologi <i>Staphylococcus aureus</i>	32
8.3.1. Tes koagulase.....	32

8.3.2. Tes katalase	33
9. Pembuatan kombinasi bahan uji	33
10. Pengujian aktivitas antibakteri	33
E. Analisis Hasil	35

BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian	40
1. Determinasi tanaman	40
2. Pengambilan bahan.....	40
3. Isolasi minyak atsiri.....	40
4. Pengamatan organoleptik minyak atsiri.....	41
5. Identifikasi minyak atsiri	42
6. Penetapan indeks bias minyak atsiri.....	43
7. Penetapan bobot jenis minyak atsiri	43
8. Penetapan kelarutan dalam etanol	44
9. Identifikasi komponen senyawa penyusun minyak atsiri menggunakan Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)	44
10. Sterilisasi	47
11. Pembuatan suspensi bakteri uji <i>Staphylococcus aureus</i>	47
12. Identifikasi <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 berdasarkan koloni	47
13. Identifikasi mikroskopis <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 secara morfologi.....	47
14. Identifikasi fisiologi-koagulase <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	48
15. Identifikasi fisiologi-katalase <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	48
16. Pembuatan kombinasi bahan uji	48
17. Hasil pengujian aktivitas antibakteri kombinasi minyak atsiri batang sereh dan daun nilam secara difusi.....	50

18. Hasil pengujian aktivitas antibakteri kombinasi minyak atsiri batang sereh dan daun niam secara dilusi	50
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	
A. Kesimpulan	54
B. Saran	54
DAFTAR PUSTAKA	55
LAMPIRAN	58

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Skema isolasi minyak atsiri sereh wangi (<i>Cymbopogon nardus</i> L.).....	36
2. Skema isolasi minyak atsiri daun nilam (<i>Pogostemon calbin</i> Benth).....	37
3. Skema pengujian aktivitas antibakteri kombinasi minyak atsiri sereh Wangi dan daun nilam terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 dengan metode difusi	38
4. Skema pengujian aktivitas antibakteri kombinasi minyak atsiri sereh Wangi dan daun nilam terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 dengan metode dilusi.....	39

DAFTAR TABEL

Halaman

1. Kadar minyak atsiri batang sereh wangi dan daun nilam	41
2. Organoleptik minyak atsiri batang sereh wangi	41
3. Organoleptik minyak atsiri daun nilam	42
4. Identifikasi minyak atsiri sereh wangi	42
5. Identifikasi minyak atsiri daun nilam	43
6. Indeks bias minyak atsiri	43
7. Bobot jenis minyak atsiri	44
8. Hasil analisis komponen minyak atsiri batang sereh wangi	44
9. Hasil analisis komponen utama minyak atsiri daun nilam	45
10. Diameter hambatan minyak atsiri tunggal	49
11. Diameter hambatan kombinasi minyak atsiri	49
12. Hasil uji dilusi kombinasi minyak atsiri batang sereh dan daun nilam (3:1)	51

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Surat keterangan identifikasi tanaman sereh wangi (<i>Cymbopogon nardus</i> L. Rendle)	56
2. Surat keterangan identifikasi tanaman nilam (<i>Pogostemon cablin</i> Benth.)	57
3. Gambar batang sereh wangi, daun nilam dan minyak atsiri.....	58
4. Alat.....	59
5. Identifikasi minyak atsiri dan kelarutan dalam alkohol	61
6. Indeks bias minyak atsiri.....	62
7. Biakan murni dan suspensi <i>staphylococcus aureus</i>	63
8. Identifikasi <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	64
9. Pembuatan kombinasi bahan uji	65
10. Pengujian aktivitas antibakteri secara difusi	66
11. Pengujian aktivitas antibakteri secara dilusi.....	67
12. Perhitungan kadar minyak atsiri	68
13. Perhitungan bobot jenis minyak atsiri.....	69
14. Diameter daya hambat dari uji difusi minyak atsiri.....	70
15. Hasil analisa GC-MS.....	73
16. Hasil analisis dengan SPSS	89
17. Komposisi media	94

INTISARI

BALELAY, ACNP., 2018, UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI MINYAK ATSIRI BATANG SEREH WANGI (*Cymbopogon nardus* L. Rendle) DAN DAUN NILAM (*Pogostemon cablin* Benth) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI SURAKARTA.

Minyak atsiri batang serih wangi mengandung komponen senyawa dengan kadar terbesar yaitu *Z-Citral* (49,41%), *E-Citral* (22,87%), *Beta-Myrcene* (4,67%), *Nerol* (3,32%), *6-methyl-5-heptana-2-one* (2,44%). Minyak atsiri daun nilam mengandung komponen senyawa dengan kadar terbesar yaitu *Aromadendrene* (28,20%), *delta-Guaiene* (18,00%), *alpha-Guaiene* (14,87%), *Seychellene* (8,16%), *alpha-Patchoulene* (6,29%). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas dari kombinasi minyak atsiri batang serih wangi (*Cymbopogon nardus* L. Rendle) daun nilam (*Pogostemon cablin* Benth) sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Minyak atsiri batang serih wangi dan daun nilam diperoleh dari hasil destilasi uap air. Kombinasi minyak atsiri diuji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi dengan perbandingan minyak atsiri batang serih : minyak atsiri daun nilam (1:1), (1:2), (1:3), (2:1), (3:1) konsentrasi 50% dan metode dilusi dengan konsentrasi bertingkat yaitu 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,19%; 0,098%.

Hasil penelitian menunjukkan kombinasi minyak atsiri batang serih wangi (*Cymbopogon nardus* L.) dan daun nilam (*Pogostemon cablin* Benth) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Daya hambat yang paling aktif pada kombinasi minyak atsiri batang serih wangi (*Cymbopogon nardus* L.) dan daun nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) adalah perbandingan 3:1 dengan diameter daya hambat 20,33 mm dan Konsentrasi Bunuh Minimum adalah sebesar 6,25%.

Kata kunci: *Cymbopogon nardus* L. Rendle, *Pogostemon cablin* Benth, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, difusi, dilusi

ABSTRACT

BALELAY, ACNP., 2018, THE ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST TO COMBINATION OF THE ESSENTIAL OIL OF THE CITRONELA STALK (*Cymbopogonnardus* L. Rendle) AND THE PATCHOULI LEAVE (*Pogostemon cablin* Benth) AGAINST THE *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, THESIS, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.

The essential oil of citronela stalk contains a large amount of compound components, which are *Z-Citral* (49.41%), *E-Citral* (22.87), *Beta-Myrcene* (4.67), *Nerol* (3.32), *6-methyl-5-heptana-2-one* (2.44%). Patchouli leaf contains a large amount of compound components, which are *Aromadendrene* (28.20%), *delta-Guaiene* (18.00%), *alpha-Guaiene* (14.87%), *Seychellene* (8.16%), *alpha-Patchoulene* (6.29%). This study aimed to determine the activity of essential oil of citronela stalk (*Cymbopogonnardus* L. Rendle) and patchouli leaf (*Pogostemon cablin* Benth) combinations as an antibacterial against the *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

The essential oil of citronela stalk and patchouli leaf made from the steam and water distillation. The antibacterial activity tested by combining the essential oil of citronela stalk and patchouli leaf using diffusion method with ratio (1:1), (1:2), (1:3), (2:1), (3:1) in 50% concentration and dilution method with multilevel concentration: 50%; 25%; 12.5%; 6.25%; 3.125%; 1.56%; 0.78%; 0.39%; 0.19%; 0.098%.

The result of this study showed that the combination of the essential oil of citronela stalk and patchouli leaf had antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. The most active growth inhibition zone by the essential combinations of the citronela stalk and the patchouli leaf by the ratio 3:1 with the growth inhibition diameter of 20.33 mm and Minimum Bactericidal Concentration was 6.25%.

Keywords: *Cymbopogonnardus* L. Rendle, *Pogostemon cablin* Benth, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, diffusion, dilution.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Insidensi infeksi merupakan pola yang selalu berubah sehingga menjadi salah satu alasan mengapa studi tentang penyakit infeksi sangat menarik. Penyakit yang disebabkan oleh mikroorganisme dapat dikendalikan dengan sanitasi yang lebih baik, vaksin, dan obat-obatan; namun beberapa penyakit baru mulai muncul dan penyakit-penyakit lain baru diketahui memiliki dasar infeksi. Di negara berkembang yang miskin sumber daya, penyakit infeksi terus menyebabkan morbiditas dan mortalitas yang signifikan (Mandal *et al.* 2008).

Penyakit infeksi dapat disebabkan oleh berbagai mikroorganisme seperti bakteri, virus, parasit, dan jamur. Salah satu bakteri yang dapat menyebabkan infeksi adalah *Staphylococcus aureus*. Infeksi *Staphylococcus aureus*, anggota Micrococcaceae, merupakan penyebab utama penyakit pada kulit, jaringan lunak, saluran pernafasan, tulang, persendian, dan endovaskuler. Sebagian besar infeksi tersebut terjadi pada orang dengan faktor resiko multiple (Yuliani *et al.* 2011).

Staphylococcus aureus dapat ditularkan dari satu orang ke orang lain melalui lesi yang terbuka, benda-benda yang terkontaminasi lesi tersebut, saluran nafas, dan luka yang terbuka. Penyebaran *Staphylococcus aureus* di rumah sakit sangat mudah karena sebagian besar tenaga medis maupun pasien membawa bakteri ini di dalam hidung maupun kulitnya. *Staphylococcus aureus* yang menyebar dapat menimbulkan gejala klinis berupa jerawat, infeksi folikel rambut, abses, diare, endokarditis, osteomielitis hematogen akut, meningitis, atau infeksi paru (Waluyo 2004).

Salah satu cara yang dilakukan oleh manusia untuk mengobati penyakit akibat infeksi bakteri dengan menggunakan antibiotik. Penggunaan antibiotik yang berlebihan dan pemberian antibiotika dalam jangka waktu yang lama dapat menyebabkan terjadinya resistensi pada bakteri. Hal tersebut dapat menyebabkan bahan antibiotik sintesis menjadi tidak efektif lagi dan memberikan efek samping dalam penggunaannya (Bota *et al.* 2015).

Pemanfaatan bahan herbal untuk pengobatan berbagai penyakit banyak dilakukan oleh masyarakat Indonesia sejak zaman dahulu kala. Peningkatan penggunaan bahan herbal ini disebabkan kesadaran masyarakat yang menilai bahwa penggunaan bahan herbal sebagai obat lebih aman dibandingkan menggunakan sediaan obat-obatan dari bahan kimia. Hal ini disebabkan karena masyarakat menilai bahwa obat herbal memiliki efek samping lebih sedikit dibandingkan obat-obatan dari zat kimia. Tanaman yang dapat digunakan sebagai antibakteri dari alam adalah sereh wangi (*Cymbopogon nardus* L.) dan daun nilam (*Pogostemon cablin* Benth).

Tanaman sereh wangi (*Cymbopogon nardus* L.) merupakan tanaman herba annual yang biasa digunakan sebagai rempah-rempah dan dimanfaatkan sebagai bahan obat tradisional untuk melancarkan kencing, haid, obat kumur untuk sakit gigi, dan gusi bengkak. Pemanfaatannya sebagai obat pada umumnya dalam bentuk minyak atsiri. Rendeman minyak atsiri sereh wangi berkisar antara 0,2-0,4 % berat segar. Bagian tanaman yang mengandung lebih banyak minyak atsiri adalah bagian batang. Penggunaan tanaman sereh wangi sebagai obat berkaitan dengan kandungan senyawa yang ada pada sereh yaitu minyak atsiri, saponin, tannin, alkaloid, dan flavonoid (Poeloengan 2009).

Hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan Poeloengan (2009) memperlihatkan bahwa minyak atsiri sereh dengan konsentrasi 12,5%, 25%, dan 50% memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus agalactiae*, dan *E. Coli* dengan terbentuknya zona hambat yaitu 10,5 mm; 13,0 mm; 15,5 mm untuk *Staphylococcus aureus*. Zona hambat untuk bakteri *Staphylococcus epidermidis* yaitu 12,0 mm; 15,0 mm; 18,5 mm. Zona hambat untuk bakteri *Streptococcus agalactiae* yaitu 8,5 mm; 10,0 mm; 12,5 mm. Zona hambat untuk *E. Coli* yaitu 0,0 mm; 8,0 mm; 10,0 mm. Konsentrasi minyak atsiri sereh mempengaruhi besar zona hambat pertumbuhan bakteri. Sereh mengandung minyak atsiri yang tersusun dari beberapa senyawa utama, yaitu sitral, sitronelol, dan geraniol bersifat antibakteri dan memiliki kemampuan menghambat bakteri uji tetapi lebih efektif terhadap bakteri Gram positif dibandingkan bakteri Gram negatif.

Daun nilam (*Pogostemon cablin* Benth) adalah salah satu tumbuhan berkhasiat obat yang masih banyak digunakan oleh masyarakat. Daun nilam segar dapat digunakan sebagai bahan pencuci rambut, sedangkan daun yang sudah kering dapat digunakan untuk menghilangkan bau badan. Pucuk daun nilam digunakan untuk insektisida, mengusir kecoa, ngengat, dan semut. Air perasan daun nilam digunakan untuk menolak lintah (Kemenkes 2011). Tanaman nilam juga memiliki khasiat sebagai antiinflamasi, antiseptik, fungisida, insektisida, regenerasi sel, antidepresan, sedatif, tonik, dekonjestan (Agusta 2000).

Nilam mengandung beberapa senyawa antara lain benzaldehid, kariofilen, α -patkhoulien, buenesen, patchouli alkohol, *patchouli camphor*, eugenol, *cinnamic*, cadinene, minyak atsiri (Kemenkes RI 2011), Minyak atsiri dari komponen terpenoid yang terkandung dalam suatu tanaman dapat merusak membran sel bakteri dengan cara berikatan dengan protein enzim dan merusak membran sel sehingga dapat menghambat pertumbuhan sel bakteri (Dzakwan 2008).

Hasil penelitian yang dilakukan Dzakwan (2008) tentang uji aktivitas antibakteri minyak atsiri daun nilam (*Pogostemon cablin*, Benth) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli* didapatkan bahwa minyak atsiri daun nilam konsentrasi 10%, 20% dan 30% memiliki daya antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli* dengan terbentuknya zona hambat yaitu 12,10 mm; 16,60 mm; 18,30 mm untuk *Staphylococcus aureus*. Zona hambat untuk bakteri *Eschericia coli* lebih kecil dari *Staphylococcus aureus* yaitu 10,50 mm; 12,20 mm; 15,30 mm. Hal ini menunjukkan bahwa minyak atsiri daun nilam lebih efektif atau poten terhadap bakteri Gram positif *Staphylococcus aureus*, tetapi tidak cukup poten terhadap bakteri Gram negatif *Eschericia coli*.

Penggunaan kombinasi obat herbal adalah campuran dua atau lebih obat dalam satu formulasi, penggunaan dua obat yang berbeda secara bersama-sama dapat memberikan interaksi kerja yang berlawanan (antagonis) sehingga efeknya lemah atau memberikan efek yang saling mendukung (sinergisme). Efek antagonis dapat terjadi apabila obat yang pertama melemahkan obat yang kedua sedangkan efek sinergisme terjadi apabila kedua obat yang dikombinasikan

memberikan efek yang lebih baik daripada dosis tunggal dari masing-masing obat (Tjay & Kirana 2007).

Berdasarkan uraian di atas, maka dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui aktivitas antibakteri kombinasi minyak atsiri sereh wangi (*Cymbopogon nardus* L.) dan daun nilam (*Pogostemon cablin*, Benth) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan metode difusi dan diusi.

B. Rumusan Masalah

Perumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Apakah kombinasi minyak atsiri batang sereh wangi dan daun nilam memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?
2. Manakah di antara minyak atsiri batang sereh wangi dan minyak atsiri daun nilam tunggal serta kombinasi minyak atsiri batang sereh dan daun nilam yang memiliki aktivitas antibakteri paling aktif terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?
3. Berapakah konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) dari perbandingan konsentrasi kombinasi minyak atsiri batang sereh wangi dan daun nilam yang paling aktif sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengetahui aktivitas antibakteri kombinasi minyak atsiri batang sereh wangi dan daun nilam terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
2. Menentukan perbandingan kombinasi paling aktif sebagai antibakteri dari kombinasi minyak atsiri batang sereh wangi dan daun nilam terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
3. Menentukan KHM dan KBM kombinasi minyak atsiri batang sereh wangi dan daun nilam yang paling aktif sebagai antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

D. Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dan wawasan kepada masyarakat luas tentang aktivitas kombinasi minyak atsiri sereh wangi (*Cymbopogon nardus* L.) dan daun nilam (*Pogostemon cablin*, Benth) sebagai antibakteri dan dapat dikembangkan sebagai obat fitofarmaka, serta dapat memberikan landasan ilmiah bagi peneliti selanjutnya.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Sereh Wangi

1. Sistematika tanaman sereh wangi

Sistematika tanaman sereh wangi (*Cymbopogon nardus* L.) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Tracheophyta
Classis	: Liliopsida
Ordo	: Poales
Familia	: Poaceae
Genus	: Cymbopogon
Spesies	: <i>Cymbopogon nardus</i> L.Rendle (Depkes RI 2000)

2. Nama daerah

Tanaman sereh dikenal dengan beberapa nama berbeda yaitu: *sereue* (Aceh), *sere* (Gayo), *sangge-sangge* (Batak), *sarae arun* (Minangkabau), *sorae* (Lampung), *sere* (Melayu), *sereh* (Sunda), *sere* (Jawa Tengah), *see* (Bali), *pataha* (Bima), *kedaungwitu* (Sumba), *sere* (Makasar), *garamakusu* (Manado), *serai* (Ambon), *bubu* (Halmahera) (Depkes RI 2000).

3. Morfologi tanaman

Sekilas agak mirip alang-alang, tetapi rumpun sereh lebih besar dan menggerombol, tinggi 50-100 cm. Daun berbentuk lurus, pipih, panjang sekitar 1 m, lebar ½ - 1 ½ cm; berpelelah; pangkal pelelelah memeluk batang; tulang daunnya sejajar; berwarna hijau muda; tepi daun tajam dan permukaannya kasar sehingga dapat melukai tangan (Muhlisah 2002).

Bunga majemuk, bentuk malai, karangan bunga berseludang, terletak dalam satu tangkai, benang sari dua, berlepasan, kepala putik muncul dari samping, kuning keputih-putihan. Buah padi, bulat panjang, pipih, putih kekuningan. Batang tidak berkayu, beras-ruas pendek, putih kotor (Depkes RI 2000).

4. Kandungan kimia

Kandungan kimia sereh wangi, antara lain alkaloid, flavonoid, minyak atsiri dengan komponen-komponen *citronelal*, *citral*, *geraniol*, *metil-heptenone*, *eugenol-metil eter*, *dipenten*, *eugenol*, *kadinen*, *kadinol*, dan *limonene* (Hariana 2013).

5. Kegunaan tanaman

Sereh wangi dapat digunakan untuk menghambat atau membunuh bakteri-bakteri patogen yang ada di kulit yaitu *Staphylococcus aureus*. Geraniol dan sitral merupakan komponen terbesar pada minyak atsiri, dan sekaligus merupakan antibakteri pada minyak atsiri sereh (Agusta 2000).

Tanaman ini juga berpotensi sebagai zat antioksidan, analgesik, dan aflatoksigenik. Tanaman ini dapat mengobati gangguan pencernaan, radang, diabetes, gangguan saraf, demam, mencegah kanker, menurunkan tekanan darah, sakit gigi, gusi bengkak, digunakan sebagai detoksifikasi dan merawat kulit agar tetap indah (Hariana 2013).

Hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan Poeloengan (2009) memperlihatkan bahwa minyak atsiri sereh dengan konsentrasi 12,5%, 25%, dan 50% memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus agalactiae*, dan *E. Coli* dengan terbentuknya zona hambat yaitu 10,5 mm; 13,0 mm; 15,5 mm untuk *Staphylococcus aureus*. Zona hambat untuk bakteri *Staphylococcus epidermidis* yaitu 12,0 mm; 15,0 mm; 18,5 mm. Zona hambat untuk bakteri *Streptococcus agalactiae* yaitu 8,5 mm; 10,0 mm; 12,5 mm. Zona hambat untuk *E. Coli* yaitu 0,0 mm; 8,0 mm; 10,0 mm. Konsentrasi minyak atsiri sereh mempengaruhi besar zona hambat pertumbuhan bakteri. Sereh mengandung minyak atsiri yang tersusun dari beberapa senyawa utama, yaitu sitral, sitronelol, dan geraniol bersifat antibakteri dan memiliki kemampuan menghambat bakteri uji tetapi lebih efektif terhadap bakteri Gram positif dibandingkan bakteri Gram negatif.

6. Minyak sereh wangi

Minyak sereh adalah minyak yang diperoleh dengan cara penyulingan daun tanaman *Andropogon nardus de jong*. Minyak sereh digolongkan dalam satu jenis mutu dengan nama “*Java Citronella Oil*” (BSNI 1995).

Minyak sereh memiliki warna kuning pucat sampai kuning kecoklat-coklatan, bobot jenis pada suhu 25°C adalah 0,880 – 0,922, indeks bias 1,466 – 1,475. Kelarutan dalam etanol 80% 1:2 jernih seterusnya jernih sampai opalesensi (BSNI 1995).

Kandungan kimia minyak atsiri sereh menurut Hariana (2013), antara lain *citronelal*, *citral*, *geraniol*, *metil-heptenone*, *eugenol-metil eter*, *dipenten*, *eugenol*, *kadinen*, *kadinol*, dan *limonene*. Komponen senyawa utama minyak sereh wangi ini terdiri dari *sitronelal*, *sitronellool*, dan *geraniol*.

B. Tanaman Nilam

1. Sistematika tanaman nilam

Sistematika tanaman nilam (*Pogostemon cablin* Benth) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Tracheophyta
Classis	: Magnoliopsida
Ordo	: Lamiales
Familia	: Lamiaceae
Genus	: Pogostemon
Spesies	: <i>Pogostemon cablin</i> Benth (Rukmana 2004)

2. Nama daerah

Tanaman nilam dikenal dengan beberapa nama daerah yaitu: *nilam* (Sumatera), *dilem*, *dhilep* (Jawa), *nilam* (Melayu) (Hariana 2013).

3. Morfologi tanaman

Nilam merupakan tanaman berbentuk semak, tahunan, tinggi 1-2 m, batang berkayu, beralur, berambut, beruas-ruas, masih muda hijau setelah tua putih kotor. Daun tunggal, bulat telur, ujung runcing, pangkal tumpul, tepi

berberigi, pertulangan menyirip, permukaan berbulu, panjang 6-7 cm, lebar 5-6 cm, permukaan atas hijau, permukaan bawah hijau keunguan. Bunga majemuk, putih. Biji kecil, cokelat. Akar tunggang, putih kecokelatan (Kemenkes RI 2011).

Tanaman nilam dapat tumbuh di dataran rendah maupun tinggi dengan ketinggian optimal 10-400 m dpl, curah hujan antara 2500-3500 mm/th dan merata sepanjang tahun, suhu 24-28°C, kelembaban lebih dari 75%, intensitas penyinaran matahari cukup, tanah subur dan gembur kaya akan humus. Tanaman nilam dapat diperbanyak menggunakan stek (Kemenkes RI 2011).

4. Kandungan kimia

Nilam memiliki kandungan minyak atsiri, flavonoida, saponin, tanin, glikosida, terpenoid dan steroid. Kandungan kimia dari minyak nilam antara lain benzaldehid, kariofilen, *α-patchoulien*, buenesen, *patchouli* alkohol, *patchouli camphor*, eugenol, *cinnamic*, *cadinene* (Kemenkes RI 2011).

5. Kegunaan tanaman

Tanaman nilam telah digunakan sebagai obat tradisional diantaranya sebagai obat pencuci luka, obat disentri, obat diare, obat pencuci rambut, obat wasir dan menghilangkan bau keringat. Tanaman nilam juga memiliki khasiat sebagai antiinflamasi, antiseptik, fungisida, regenerasi sel, antidepresan, sedatif, tonik, dekonjestan (Agusta 2000). Pucuk daun nilam digunakan untuk insektisida, mengusir kecoa, ngengat dan semut. Air perasan daun nilam digunakan untuk menolak lintah (Kemenkes 2011).

6. Minyak nilam

Minyak nilam adalah minyak atsiri yang diperoleh dengan cara penyulingan daun tanaman nilam (*Pogostemon cablin* Benth) yang memiliki warna kuning muda sampai coklat kemerahan, bobot jenis pada suhu 25°C adalah 0,950 – 0,975, indeks bias 1,507 – 1,515. Kelarutan dalam etanol 90% pada suhu 20°C ± 3°C yaitu larutan jernih atau opalesensi ringan dalam perbandingan volume 1:10 (BSNI 2006).

Hasil penelitian Aisyah *et al.* (2008) minyak nilam memiliki 15 komponen kimia penyusun yaitu *β-patchoulene*, *β-elemene*, *2-(1.4.4-trimethyl-cyclohex-2-enyl)-ethanol*, *trans-caryophyllene*, *α-guaiene*, *seychellene*, *α-humulene*, *α-*

patchoulene, α -gurjunene, trans-caryophyllene, α -guaiene, alloaromadendrene, α -guaiene, Δ -guaiene, patchouli alcohol.

C. Minyak Atsiri

1. Pengertian minyak atsiri

Minyak atsiri adalah zat berbau yang terkandung dalam tanaman. Minyak ini disebut juga minyak menguap, minyak eteris, atau minyak esensial karena pada suhu biasa (suhu kamar) mudah menguap di udara terbuka. Istilah esensial dipakai karena minyak atsiri mewakili bau dari tanaman asalnya (Gunawan & Sri 2004).

Secara kimia, minyak atsiri tersusun dari berbagai komponen yang terdiri dari kelompok terpenoid dan fenilpropana. Terpenoid berasal dari suatu unit sederhana yang disebut isoprena. Fenilpropana terdiri dari gabungan fenil dan propana. Penyusun minyak atsiri dari kelompok terpenoid dapat berupa terpena-terpena yang tidak membentuk cincin (asiklik), bercincin satu (monosiklik), bercincin dua (bisiklik). Masing-masing dapat memiliki percabangan gugus ester, fenol, oksida, alkohol, aldehida, dan keton. Kelompok fenil propana memiliki percabangan rantai berupa gugus-gugus fenol dan eter fenol (Gunawan & Sri 2004).

Hasil penelitian Aisyah *et al.* (2008) minyak nilam memiliki 15 komponen kimia penyusun yaitu *β -patchoulene, β -elemene, 2-(1.4.4-trimethyl-cyclohex-2-enyl)-ethanol, trans-caryophyllene, α -guaiene, seychellene, α -humulene, α -patchoulene, α -gurjunene, trans-caryophyllene, α -guaiene, alloaromadendrene, α -guaiene, Δ -guaiene, patchouli alcohol.*

Kandungan kimia minyak atsiri sereh menurut Hariana (2013), antara lain *citronelal, citral, geraniol, metil-heptenone, eugenol-metil eter, dipenten, eugenol, kadinen, kadinol, dan limonene.* Komponen senyawa utama minyak sereh ini terdiri dari *sitronelal, sitronellol, dan geraniol.*

2. Sifat minyak atsiri

Sifat-sifat minyak atsiri antara lain tersusun oleh bermacam-macam komponen senyawa, memiliki bau khas (umumnya bau ini mewakili bau tanaman

asalnya), memiliki rasa getir (kadang-kadang terasa tajam, menggigit, memberi kesan hangat sampai panas, atau justru dingin ketika terasa di kulit, tergantung dari jenis komponen penyusunnya), dalam keadaan murni (belum tercemar oleh senyawa lain) mudah menguap pada suhu kamar, bersifat tidak bisa disabunkan dengan alkali dan tidak bisa berubah menjadi tengik, tidak stabil terhadap pengaruh lingkungan (pengaruh oksigen udara, sinar matahari dan panas), indeks bias umumnya tinggi, pada umumnya tidak dapat bercampur dengan air, tetapi cukup dapat larut hingga dapat memberikan baunya kepada air walaupun kelarutannya sangat kecil, sangat mudah larut dalam pelarut organik (Gunawan & Sri 2004).

Minyak atsiri ini berupa cairan jernih, tidak berwarna, selama penyimpanan akan mengental dan berwarna kekuningan atau kecoklatan. Hal tersebut terjadi karena adanya pengaruh oksidasi dan resinifikasi (berubah menjadi damar atau resin). Untuk mencegah atau memperlambat proses oksidasi dan resinifikasi tersebut, minyak atsiri harus dilindungi dari pengaruh sinar matahari yang dapat merangsang terjadinya oksidasi dan oksigen udara yang akan mengoksidasi minyak atsiri. Minyak atsiri tersebut sebaiknya disimpan dalam wadah berbahan dasar kaca yang berwarna gelap (misalnya botol berwarna coklat atau biru gelap) untuk mengurangi sinar yang masuk. Selain itu botol penyimpanan minyak atsiri harus terisi penuh agar oksigen udara yang ada dalam ruang udara tempat penyimpanan tersebut kecil (Gunawan & Sri 2004).

3. Metode isolasi minyak atsiri

Minyak atsiri pada umumnya diisolasi dengan empat metode yang lazim digunakan. Pertama metode destilasi penyulingan terhadap bagian tanaman yang mengandung minyak. Dasar dari metode ini adalah memanfaatkan perbedaan titik didih. Kedua, metode penyarian dengan menggunakan pelarut penyari yang cocok. Dasar dari metode ini adalah adanya perbedaan kelarutan. Minyak atsiri sangat mudah larut dalam pelarut organik dan tidak larut dalam air. Ketiga, metode pengepresan dan pemerasan. Metode ini hanya bisa dilakukan terhadap simplisia yang mengandung minyak atsiri dalam kadar yang cukup besar. Keempat, metode perlekatan bau dengan menggunakan media lilin (*enfleurage*).

Cara ini memanfaatkan aktivitas enzim yang diyakini masih terus aktif selama sekitar 15 hari sejak bahan minyak atsiri dipanen (Gunawan & Sri 2004).

Metode-metode isolasi yang paling lazim digunakan adalah metode destilasi. Beberapa metode destilasi yang populer dilakukan diberbagai perusahaan industri penyulingan minyak atsiri, antara lain metode destilasi kering (langsung dari bahannya tanpa menggunakan air) dan metode destilasi air. Metode destilasi kering paling sesuai untuk bahan kering dan untuk minyak-minyak yang tahan pemanasan (tidak mengalami perubahan bau dan warna saat dipanaskan). Metode destilasi air, meliputi metode destilasi air dan uap air dan destilasi uap air langsung. Metode destilasi air dapat digunakan untuk bahan kering maupun bahan segar dan terutama digunakan untuk minyak-minyak yang kebanyakan dapat rusak akibat pemanasan kering (Gunawan & Sri 2004).

4. Identifikasi minyak atsiri

Minyak atsiri diteteskan pada permukaan air, minyak atsiri akan menyebar dan permukaan air tidak keruh. Minyak atsiri diteteskan pada kertas saring dan dibiarkan menguap, tidak meninggalkan noda transparan. Dikocok sejumlah larutan minyak dengan larutan *natrium klorida P* jenuh volume sama, biarkan memisah, volume air tidak boleh bertambah (Depkes RI 1979).

5. Penetapan bobot jenis minyak atsiri

Membersihkan piknometer menggunakan etanol dan dietil eter kemudian mengeringkan bagian dalam piknometer dan ditutup, menimbang piknometer kosong (m). Memasukkan air suling dalam piknometer sambil menghindari adanya gelembung udara, dicelupkan ke dalam penangas air pada suhu $25^{\circ}\text{C} \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ selama 30 menit kemudian ditutup dan dikeringkan bagian luar piknometer lalu ditimbang (m_1). Mengosongkan piknometer kemudian dibersihkan menggunakan etanol dan dietil eter lalu dikeringkan, memasukan sampel minyak sambil menghindari adanya gelembung udara, dicelupkan ke dalam penangas air pada suhu $25^{\circ}\text{C} \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ selama 30 menit kemudian ditutup dan dikeringkan bagian luar piknometer lalu ditimbang (m_2). Bobot jenis minyak atsiri adalah perbandingan antara bobot jenis minyak atsiri dan bobot jenis air pada suhu dan volume yang sama (BSNI 2006).

6. Uji kelarutan dalam etanol

Menurut Badan Standardisasi Nasional Indonesia (2006), uji kelarutan minyak atsiri dalam alkohol dilakukan dengan cara memipet minyak atsiri sebanyak 1 mL ke dalam gelas ukur 10 mL, ditambahkan etanol 90% secara bertahap. Pada setiap penambahan etanol, kocok dan amati kejernihannya.

7. Destilasi

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

Dalam industri minyak atsiri dikenal tiga macam metode penyulingan. Penyulingan dengan air, memiliki ciri khas yaitu bahan yang akan disuling kontak langsung dengan air mendidih. Beberapa jenis bahan misalnya bubuk buah badam, bunga mawar, orange blossoms harus disuling dengan metode ini. Jika digunakan metode uap langsung, bahan ini akan merekat dan membentuk gumpalan besar yang kompak, sehingga uap tidak dapat berpenetrasi ke dalam bahan. Penyulingan dengan air dan uap, bahan olah diletakkan di atas rak-rak atau saringan berlubang. Ketel suling diisi dengan air sampai permukaan air tidak jauh dibawah saringan. Air dapat dipanaskan dengan berbagai cara yaitu dengan uap jenuh yang basah dan bertekanan rendah. Ciri khas dari penyulingan ini adalah uap selalu dalam keadaan jenuh, dan tidak terlalu panas, bahan yang disuling hanya berhubungan dengan uap dan tidak dengan air panas. Penyulingan dengan uap sering disebut penyulingan uap langsung, memiliki kesamaan prinsip dengan metode yang lain hanya dari penyulingan ini air tidak diisikan dalam ketel (Agusta 2000).

D. Kombinasi Obat

Kombinasi obat adalah campuran dua obat atau lebih dalam suatu formulasi yang bertujuan untuk memberikan peningkatan efek farmakologis, penurunan toksisitas, atau pemeliharaan stabilitas. Efek sinergistik dan efek-efek interaktif lain yang dihasilkan oleh campuran obat serta penggunaan dosis yang rendah dianggap sebagai suatu keuntungan dari kombinasi obat (Heinrich *et al.* 2010).

Dua obat yang digunakan pada waktu bersamaan dapat saling mempengaruhi khasiatnya masing-masing dengan memperlihatkan kerja berlawanan (antagonisme) atau kerja sama (sinergisme). Antagonisme terjadi jika aktivitas obat pertama dikurangi atau ditiadakan oleh obat kedua yang memiliki khasiat farmakologi yang berlawanan. Sinergisme adalah kerja sama antara dua obat yang terdiri dari dua jenis yaitu adisi dan potensiasi (Tjay & Kirana 2007).

E. Kromatografi Gas

Analisis dan karakterisasi komponen minyak atsiri merupakan masalah yang cukup rumit, ditambah dengan sifatnya yang mudah menguap pada suhu kamar sehingga untuk menganalisis minyak atsiri perlu diseleksi metode yang akan diterapkan. Kendala yang lazim dihadapi pada saat menganalisis komponen penyusun minyak atsiri adalah hilangnya sebagian komponen selama proses preparatif dan selama berlangsungnya proses analisis (Agusta 2000).

Kromatografi gas memberikan data kuantitatif maupun kualitatif senyawa tumbuhan karena luas daerah dibawah puncak pada kromatogram berbanding lurus dengan konsentrasi masing-masing komponen yang berbeda yang terdapat dalam campuran asal. Alat kromatografi gas dapat disusun sedemikian rupa sehingga komponen yang dipisahkan dapat dianalisis dengan cara spektrometri atau cara lain (Harborne 2006).

Pada alat GC-MS digabungkan antara kromatografi gas dan spektrometer massa. Kromatografi gas berfungsi sebagai alat pemisah berbagai komponen campuran dalam sampel, spektrometer massa berfungsi untuk mendeteksi masing-masing molekul komponen yang telah dipisahkan pada sistem kromatografi gas.

Analisis dengan GC-MS merupakan metode yang cepat dan akurat untuk memisahkan campuran yang rumit, mampu menganalisis cuplikan dalam jumlah yang sangat kecil, dan menghasilkan data yang berguna mengenai struktur serta identitas senyawa organik (Agusta 2000).

F. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

1. Sistematika *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Menurut Bergey *et al.* (1957) sistematika ilmiah dari bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Firmicutes
Divisio	: Protopyta
Classis	: Schizomycetes
Ordo	: Eubacteriales
Familia	: Micrococcaceae
Genus	: Stahpylococcus
Species	: <i>Staphylococcus aureus</i>

2. Patogenesis

Staphylococcus aureus adalah anggota flora normal kulit, saluran napas, dan saluran cerna manusia. *Staphylococcus aureus* juga sering ditemukan pada pakaian, seprai tempat tidur dan barang lain yang terkontaminasi pada lingkungan manusia. *Staphylococcus aureus* terdapat di hidung pada 20-50% manusia (Brooks *et al.* 2012).

Staphylococcus aureus yang invatif dan patogenik menghasilkan koagulase dan cenderung menghasilkan pigmen kuning serta bersifat hemolitik. Sekitar 50% galur *Staphylococcus aureus* dapat menghasilkan satu atau lebih jenis enterotoksin, seperti TSST-1, enterotoksin merupakan antigen super. Enterotoksin bersifat stabil panas dan resisten terhadap keja enzim usus (Brooks *et al.* 2012).

3. Morfologi dan identifikasi

Staphylococcus aureus adalah bakteri berbentuk bulat dengan diameter sekitar 1 μm , dan biasanya hidup bergerombol seperti buah anggur.

Staphylococcus aureus tidak bergerak karena tidak mempunyai flagella dan tidak membentuk spora. *Staphylococcus aureus* mudah tumbuh dalam keadaan aerobik maupun mikro-aerobik pada suhu optimum 37°C. Koloni pada medium padat berbentuk bulat, halus, menonjol, dan berkilauan. *Staphylococcus aureus* membentuk pigmen berwarna kuning emas (Brooks *et al.* 2012).

Staphylococcus aureus adalah bakteri bersifat Gram positif, biasanya tersusun dalam rangkaian tidak beraturan seperti buah anggur. Tergolong flora normal pada kulit dan selaput mukosa manusia, tetapi dapat menyebabkan impetigo, ruam, infeksi kulit, folikulitis, infeksi pada folikel rambut. *Staphylococcus aureus* mengandung polisakarida dan protein yang berfungsi sebagai antigen dan merupakan substansi penting didalam struktur dinding sel, tidak membentuk spora, dan tidak membentuk flagel (Radji 2013).

Staphylococcus aureus relatif resisten terhadap pengeringan dan terhadap panas (tahan pada suhu 50°C selama 30 menit). Banyak strain resisten terhadap penisilin karena membentuk penisilinase (beta-laktamase) suatu enzim yang merusak penisilin dengan memecahkan cincin beta-laktam. Pembentukannya diatur oleh plasmid yang dapat dipindahkan oleh bakteriofage (transduksi). Plasmid juga membawa kontrol genetik resisten terhadap antibiotika lainnya, misalnya tetrasiklin dan eritromisin (Brooks *et al.* 2012).

Staphylococcus aureus bersifat koagulase positif, yang membedakannya dari spesies yang lain. Protein yang menyerupai enzim yang membekukan plasma beroksalat atau bersitrat. *Staphylococcus aureus* biasanya membentuk koloni berwarna abu-abu hingga kuning emas pekat. *Staphylococcus aureus* tumbuh dengan mudah pada sebagian besar media bakteriologis dengan kondisi aerob atau mikroaerofilik, tumbuh paling cepat pada 37°C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada temperatur ruang (20-25°C). Koloni pada media solid berbentuk bulat, halus, timbul, dan mengkilat (Brooks *et al.* 2012).

G. Antibakteri

1. Definisi antibakteri

Antibakteri adalah suatu zat atau senyawa yang dapat menekan atau membunuh pertumbuhan atau reproduksi bakteri. Senyawa atau zat yang digunakan untuk membasmi bakteri penyebab infeksi pada manusia, harus memiliki sifat toksisitas selektif setinggi mungkin, artinya senyawa tersebut harus bersifat sangat toksik terhadap bakteri tetapi relatif tidak toksik hospes. Berdasarkan sifat toksisitas selektif ada antibakteri yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri yang dikenal sebagai zat bakteriostatik dan ada yang bersifat membunuh bakteri yang dikenal sebagai zat bakterisid. Konsentrasi zat minimum yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan mikroba atau membunuhnya masing-masing dikenal sebagai KHM dan KBM (Wilson dan Gisvold's 1982).

2. Mekanisme kerja antibakteri

Mekanisme antibakteri merupakan peristiwa penghambatan bakteri oleh antibakteri. Aktivitas antibakteri diukur secara *in vitro* untuk menentukan potensi agen antibakteri dalam larutan, konsentrasinya dalam cairan tubuh atau jaringan dan kepekaan mikroorganisme penyebab terhadap obat yang diketahui (Brooks *et al.* 2012).

Berdasarkan mekanisme kerjanya antibakteri dibagi dalam 4 kategori utama yaitu:

2.1. Inhibisi sintesis dinding sel. Bakteri memiliki lapisan luar yang kaku, yaitu dinding sel yang terdiri atas polipeptidoglikan yaitu suatu kelompok polimer mukopeptida yang khas secara kimiawi dan tersusun atas polisakarida-polisakarida dan suatu polipeptida yang kaya ikatan silang. Kerusakan pada dinding sel (misalnya oleh lisozim) atau inhibisi pembentukan dinding sel dapat menyebabkan lisis sel (Brooks *et al.* 2012).

2.2. Inhibisi fungsi membran sel. Plasma pada semua sel hidup dibungkus oleh membran plasma yang berperan sebagai sawar berpermeabilitas aktif, melakukan fungsi transportasi aktif dan mengatur posisi internal sel. Jika integritas fungsional membran plasma terganggu, makromolekul dan ion-ion akan keluar dari sel, dan kemudian terjadi kerusakan atau kematian sel. Membran

sitoplasma bakteri dan fungsi memiliki struktur yang berbeda dari membran pada sel hewan dan lebih mudah rusak oleh agen-agen tertentu (Brooks *et al.* 2012).

2.3. Inhibisi sintesis protein. Bakteri memiliki ribosom 70S, sedangkan sel mamalia memiliki ribosom 80S. Subunit masing-masing tipe ribosom, susunan kimia, dan spesifisitas fungsional bakteri cukup berbeda untuk menjelaskan obat antibakteri dapat menghambat sintesis protein pada ribosom bakteri tanpa menyebabkan efek yang signifikan pada ribosom mamalia (Brooks *et al.* 2012).

2.4. Inhibisi sintesis asam nukleat. Mikroba membutuhkan asam folat untuk kelangsungan hidupnya, bakteri patogen harus mensintesis sendiri asam folat dari Para Amino Benzoic Acid (PABA) untuk kebutuhan hidupnya. Antimikroba bila bersaing dengan PABA dalam pembentukan asam folat, maka terbentuk analog asam folat non fungsional sehingga kebutuhan akan asam folat tidak terpenuhi dan menyebabkan pertumbuhan bakteri terhambat (Brooks *et al.* 2012).

3. Amoksisilin sebagai antibakteri

Amoksisilin merupakan penisilin semisintetik yang rentan terhadap penisilinase dan secara kimia serta farmakologis berhubungan dekat dengan ampisilin. Antibiotik golongan penisilin bekerja dengan cara menghambat pembentukan mukopeptida yang diperlukan untuk sintesis dinding sel mikroorganisme (Radji 2013).

Amoksisilin merupakan antibiotik golongan penisilin berspektrum luas. Antibiotik ini stabil dalam suasana asam dan dirancang untuk penggunaan oral. Absorpsi amoksisilin dari gastrointestinal lebih cepat dan lebih sempurna daripada ampisilin karena absorpsi amoksisilin tidak terganggu dengan adanya makanan dalam lambung. Spektrum antimikroba amoksisilin pada dasarnya sama dengan ampisilin, tetapi amoksisilin tampaknya tidak begitu efektif untuk sigelosis dibandingkan ampisilin (Wilson dan Gisvold's 1982).

Menurut CLSI (2016) antibiotik amoksisilin dengan isi disk 20 µg/ 10 µg dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus Sp.* Dengan zona hambat ≤ 19 mm untuk kategori *resistant* dan ≥ 20 mm untuk kategori *susceptible*. Konsentrasi hambat minimum (KHM) untuk antibiotik golongan penisilin terhadap

Staphylococcus Sp. adalah ≤ 0.12 $\mu\text{g/mL}$ untuk kategori *susceptible* dan ≥ 0.25 $\mu\text{g/mL}$ untuk kategori *resistant*.

H. Uji Aktivitas Antibakteri

1. Metode

Uji aktivitas antibakteri suatu zat yang digunakan untuk mengetahui apakah zat tersebut dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri uji. Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan dua metode yaitu:

Pertama, metode difusi. Metode ini dapat dilakukan dengan menggunakan cakram (*diks*) kertas saring, sumuran atau silinder tidak beralas. Metode dengan sumuran atau silinder, dilakukan dengan memasukkan larutan uji dengan konsentrasi tertentu ke dalam sumuran. Metode cakram kertas saring berisi sejumlah obat yang ditempatkan pada permukaan medium padat, medium sebelum digunakan diolesi bakteri uji. Diameter zona hambat sekitar cakram yang digunakan untuk mengukur kekuatan hambat obat. Metode difusi agar dipengaruhi oleh faktor fisik kimia, faktor antara obat dan organisme (Brooks *et al.* 2012).

Kedua, metode dilusi. Metode ini dilakukan dengan mencampur secara homogen suatu obat dalam media dengan jumlah atau konsentrasi yang berbeda-beda, masing-masing media ditambahkan suspensi kuman kemudian diinkubasi dan diamati daerah media yang jernih (Bonang & Enggar 1982). Metode ini menggunakan antimikroba dengan kadar yang menurun secara bertahap pada media cair maupun padat. Media diinokulasikan terhadap bakteri uji, selanjutnya diinkubasi dan diamati konsentrasi antimikroba yang mampu menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri uji. Keuntungan metode ini adalah memberikan hasil kualitatif yang menunjukkan jumlah antimikroba yang dibutuhkan untuk mematikan bakteri (Brooks *et al.* 2012).

2. Media

Media adalah bahan yang terdiri atas zat-zat kimia organik dan atau anorganik yang setelah melalui proses pengolahan tertentu dapat digunakan untuk menumbuhkan dan mengembangbiakkan mikroba. Media yang digunakan dalam

mikrobiologi harus memenuhi syarat-syarat yaitu harus mengandung unsur-unsur hara yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangbiakkan mikroba. Media mempunyai tekanan osmosa, tegangan permukaan dan pH yang sesuai dengan kebutuhan mikroba. Media harus dalam keadaan steril, artinya sebelum ditanam mikroba yang dimaksud, tidak ditumbuhi oleh mikroba lain yang tidak diharapkan (Suriawiria 1985).

Klasifikasi media berdasarkan bentuk, susunan, dan sifat media ditentukan oleh senyawa penyusun media, presentase campuran dan tujuan penggunaan. Klasifikasi berdasarkan bentuk ditentukan oleh ada tidaknya penambahan zat pematik seperti agar, gelatin dan sebagainya dibedakan menjadi media padat, media cair, dan media semi padat atau semi cair. Klasifikasi berdasarkan susunan sesuai dengan fungsi fisiologis dari masing-masing komponen yang terdapat dalam media dibedakan menjadi media alami, media sintesis, dan media semi sintesis (Harti 2015).

Klasifikasi media berdasarkan sifat dengan penggunaan beberapa jenis zat tertentu yang mempunyai pengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangbiakan mikroba sehingga tiap media mempunyai sifat sesuai dengan tujuannya dibedakan menjadi media umum, media pengaya, media selektif, media diferensial, media penguji, dan media perhitungan (Harti 2015).

3. Sterilisasi

Bahan atau peralatan yang digunakan dalam bidang mikrobiologi harus dalam keadaan steril, artinya pada bahan atau peralatan tidak didapatkan mikroba yang tidak diharapkan kehadirannya, baik yang mengganggu atau merusak media ataupun mengganggu kehidupan dan proses yang sedang dikerjakan (Suriawiria 1985).

Sterilisasi merupakan suatu tindakan yang dilakukan untuk menghilangkan mikroba dari bahan dan peralatan yang akan digunakan. Cara sterilisasi yang umum dilakukan adalah sterilisasi secara fisik (misal dengan pemanasan, penggunaan sinar bergelombang pendek seperti sinar-X, sinar gama, sinar UV), sterilisasi secara kimia (misal dengan penggunaan desinfektan, larutan alkohol,

larutan formalin), dan sterilisasi secara mekanik (misal dengan penggunaan saringan atau filter) (Suriawiria 1985).

I. Landasan Teori

Sebagian besar masyarakat Indonesia masih menggunakan bahan-bahan alami untuk keperluan sehari-hari dalam bidang kesehatan. Obat-obat tradisional dipercaya dapat mengobati berbagai penyakit. Pengobatan tradisional tanaman sereh (*Cymbopogon nardus* L.) merupakan tanaman herba annual yang biasa digunakan sebagai rempah-rempah dan dimanfaatkan sebagai bahan obat tradisional untuk melancarkan kencing dan haid, obat kumur untuk sakit gigi dan gusi bengkak. Pemanfaatan sereh sebagai obat pada umumnya dalam bentuk minyak atsiri. Rendeman minyak atsiri sereh berkisar antara 0,2-0,4 % berat segar. Bagian tanaman yang mengandung lebih banyak minyak atsiri adalah bagian batang. Penggunaan tanaman sereh sebagai obat berkaitan dengan kandungan senyawa yang ada pada sereh yaitu minyak atsiri, saponin, tannin, alkaloid, dan flavonoid (Poeloengan 2009).

Hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan Poeloengan (2009) memperlihatkan bahwa minyak atsiri sereh dengan konsentrasi 12,5%, 25%, dan 50% memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus agalactiae*, dan *E. Coli* dengan terbentuknya zona hambat yaitu 10,5 mm; 13,0 mm; 15,5 mm untuk *Staphylococcus aureus*. Zona hambat untuk bakteri *Staphylococcus epidermidis* yaitu 12,0 mm; 15,0 mm; 18,5 mm. Zona hambat untuk bakteri *Streptococcus agalactiae* yaitu 8,5 mm; 10,0 mm; 12,5 mm. Zona hambat untuk *E. Coli* yaitu 0,0 mm; 8,0 mm; 10,0 mm. Konsentrasi minyak atsiri sereh mempengaruhi besar zona hambat pertumbuhan bakteri. Sereh mengandung minyak atsiri yang tersusun dari beberapa senyawa utama, yaitu sitral, sitronelol, dan geraniol bersifat antibakteri dan memiliki kemampuan menghambat bakteri uji tetapi lebih efektif terhadap bakteri Gram positif dibandingkan bakteri Gram negatif.

Daun nilam (*Pogostemon cablin* Benth) adalah salah satu tumbuhan berkhasiat obat yang masih banyak digunakan oleh masyarakat. Daun nilam segar

dapat digunakan sebagai bahan pencuci rambut, sedangkan daun yang sudah kering dapat digunakan untuk menghilangkan bau badan. Pucuk daun nilam digunakan untuk insektisida, mengusir kecoa, ngengat dan semut. Air perasan daun nilam digunakan untuk menolak lintah (Kemenkes 2011). Tanaman nilam juga memiliki khasiat sebagai antiinflamasi, antiseptik, fungisida, insektisida, regenerasi sel, antidepresan, sedatif, tonik, dekonjestan (Agusta 2000).

Nilam mengandung beberapa senyawa antara lain benzaldehid, kariofilen, α -pachoulien, buenesen, patchouli alkohol, *patchouli camphor*, eugenol, *cinnamic*, cadinene (Kemenkes RI 2011). Minyak atsiri dari komponen terpenoid yang terkandung dalam suatu tanaman dapat merusak membran sel bakteri dengan cara berikatan dengan protein enzim dan merusak membran sel sehingga dapat menghambat pertumbuhan sel bakteri (Dzakwan 2008).

Hasil penelitian yang dilakukan Dzakwan (2008) tentang uji aktivitas antibakteri minyak atsiri daun nilam (*Pogostemon cablin*, Benth) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* didapatkan bahwa minyak atsiri daun nilam konsentrasi 10%, 20% dan 30% memiliki daya antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan terbentuknya zona hambat yaitu 12,10 mm; 16,60 mm; 18,30 mm untuk *Staphylococcus aureus*. Zona hambat untuk bakteri *Escherichia coli* lebih kecil dari *Staphylococcus aureus* yaitu 10,50 mm; 12,20 mm; 15,30 mm. Hal ini menunjukkan bahwa minyak atsiri daun nilam lebih efektif atau poten terhadap bakteri Gram positif *Staphylococcus aureus*, tetapi tidak cukup poten terhadap bakteri Gram negatif *Escherichia coli*.

Minyak atsiri adalah zat berbau yang terkandung dalam tanaman. Minyak ini disebut juga minyak menguap, minyak eteris, atau minyak esensial karena pada suhu biasa (suhu kamar) mudah menguap di udara terbuka. Istilah esensial dipakai karena minyak atsiri mewakili bau dari tanaman asalnya (Gunawan & Sri 2004).

Secara kimia, minyak atsiri tersusun dari berbagai komponen yang terdiri dari kelompok terpenoid dan fenil propana. Terpenoid berasal dari suatu unit sederhana yang disebut isoprena. Fenilpropana terdiri dari gabungan fenil dan propana. Penyusun minyak atsiri dari kelompok terpenoid dapat berupa terpena-

terpena yang tidak membentuk cincin (asiklik), bercincin satu (monosiklik), bercincin dua (bisiklik). Masing-masing dapat memiliki percabangan gugus ester, fenol, oksida, alkohol, aldehida, dan keton. Kelompok fenilpropana memiliki percabangan rantai berupa gugus-gugus fenol dan eter fenol (Gunawan & Sri 2004).

Minyak atsiri pada umumnya diisolasi dengan empat metode yang lazim digunakan. Pertama metode destilasi atau penyulingan terhadap bagian tanaman yang mengandung minyak. Kedua, metode penyarian dengan menggunakan pelarut penyari yang cocok. Ketiga, metode pengepresan dan pemerasan. Keempat, metode perlekatan bau dengan menggunakan media lilin. Metode yang paling lazim dilakukan adalah metode destilasi atau penyulingan. Metode ini meliputi destilasi kering dan destilasi air. Metode destilasi kering paling sesuai untuk bahan tanaman yang kering dan untuk minyak-minyak yang tahan pemanasan (tidak mengalami perubahan bau dan warna saat dipanaskan). Metode destilasi air digunakan untuk bahan kering maupun bahan segar dan terutama digunakan untuk minyak-minyak yang kebanyakan dapat rusak akibat pemanasan kering (Gunawan 2004).

Penggunaan kombinasi obat herbal adalah campuran dua atau lebih obat dalam satu formulasi, penggunaan dua obat yang berbeda secara bersama-sama dapat memberikan interaksi kerja yang berlawanan (antagonis) sehingga efeknya lemah atau memberikan efek yang saling mendukung (sinergisme). Efek antagonis dapat terjadi apabila obat yang pertama melemahkan obat yang kedua sedangkan efek sinergisme terjadi apabila kedua obat yang dikombinasikan memberikan efek yang lebih baik daripada dosis tunggal dari masing-masing obat (Tjay 2007).

Metode yang digunakan pada uji aktivitas antibakteri adalah metode difusi dan dilusi. Metode difusi adalah suatu uji aktivitas antibakteri dengan menggunakan cakram (disk) kertas saring, sumuran atau suatu silinder tidak beralas. Dilakukan dengan memasukan larutan uji dengan konsentrasi tertentu kedalam sumuran. Dasar penggunaannya adalah terbentuk atau tidaknya diameter zona hambatan pertumbuhan bakteri di sekeliling cakram atau silinder yang berisi

zat antimikroba. Metode dilusi bertujuan untuk mencari Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Metode dilusi ini menggunakan antimikroba dengan kadar yang menurun secara bertahap menggunakan metode cair (Brooks *et al.* 2012).

Penelitian ini menggunakan kombinasi karena kombinasi dapat dilakukan untuk mengatasi toleransi bakteri, mencegah resistensi, mengurangi toksisitas, dan dapat digunakan untuk mencegah inaktivasi oleh enzim. Penelitian ini akan mengkombinasikan antara minyak atsiri sereh (*Cymbopogon nardus* L.) dan daun nilam (*Pogostemon cablin* Benth) diharapkan kombinasi ini dapat mempunyai efek sebagai antibakteri yang lebih optimal daripada bentuk tunggal minyak atsiri masing-masing tersebut. Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

J. Hipotesis

Berdasarkan landasan teori dalam penelitian ini ditarik hipotesis antara lain:

Pertama, kombinasi minyak atsiri batang sereh dan daun nilam mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kedua, dari perbandingan minyak atsiri batang sereh dan daun nilam tunggal serta kombinasi paling aktif minyak atsiri batang sereh dan daun nilam memiliki aktivitas antibakteri paling aktif terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Ketiga, dapat diketahui konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) dari kombinasi minyak atsiri batang sereh dan daun nilam yang paling aktif sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi adalah semua objek yang menjadi sasaran penelitian. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman sereh wangi (*Cymbopogon nardus* L.) dan tanaman nilam (*Pogostemon calbin* Benth) yang diperoleh dari daerah Baturaden, Banyumas, Jawa Tengah pada bulan Februari 2018.

2. Sampel

Sampel adalah sebagian kecil dari populasi yang digunakan dalam melakukan penelitian. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah batang sereh wangi dan daun nilam yang diambil secara acak dari populasi yang ada di daerah Baturaden, Banyumas, Jawa Tengah. Sereh diambil bagian batang mulai dari 15 cm diatas pangkalnya dan dipilih yang segar, bersih, serta bebas dari penyakit. Daun nilam dipetik setelah tanaman berumur 6 – 8 bulan dan daun berwarna hijau keunguan dan dipilih yang segar, bersih, serta bebas dari penyakit.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama dalam penelitian ini adalah minyak atsiri dari batang sereh wangi (*Cymbopogon nardus* L.) dan daun nilam (*Pogostemon calbin* Benth) beserta kombinasinya.

Variabel utama kedua dalam penelitian ini adalah aktivitas antibakteri kombinasi minyak atsiri dari batang sereh wangi (*Cymbopogon nardus* L.) dan daun nilam (*Pogostemon calbin* Benth) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama yang telah diidentifikasi dapat diklasifikasikan kedalam berbagai macam variabel yaitu variabel bebas, variabel kendali dan variabel tergantung.

Variabel bebas yang dimaksud dalam penelitian adalah variabel yang sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas yang dimaksud dalam penelitian ini adalah konsentrasi dari kombinasi minyak atsiri dari batang sereh wangi (*Cymbopogon nardus* L.) dan daun nilam (*Pogostemon calbin* Benth) dan kombinasi keduanya dengan perbandingan (1:1), (1:2), (1:3), (2:1), (3:1).

Variabel kendali merupakan variabel yang mempengaruhi variabel tergantung sehingga perlu ditetapkan klasifikasinya agar hasil yang diperoleh tidak tersebar dan dapat diulang oleh peneliti lain secara tepat. Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah kemurnian bakteri *Staphylococcus aureus*, kondisi laboratorium meliputi kondisi inkas, alat dan bahan yang digunakan harus steril dan media yang digunakan dalam penelitian harus steril.

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah pusat persoalan yang merupakan kriteria penelitian. Variabel tergantung yang dimaksud dalam penelitian ini adalah pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yang dipengaruhi oleh kombinasi minyak atsiri dari batang sereh (*Cymbopogon nardus* L.) dan daun nilam (*Pogostemon calbin* Benth) yang dilihat dari pertumbuhannya pada media selektif.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, batang sereh (*Cymbopogon nardus* L.) adalah bahan yang diambil secara acak dari daerah Baturraden, Jawa Tengah dengan ciri-ciri sampel yang segar dan tidak terkena hama.

Kedua, daun nilam (*Pogostemon calbin* Benth) adalah bahan yang diambil secara acak dari daerah Baturraden, Jawa Tengah setelah tanaman berumur 6 – 8 bulan dan daun berwarna hijau keunguan dan dipiuh yang segar, bersih, serta bebas dari penyakit.

Ketiga, minyak atsiri dari batang sereh dan daun nilam adalah minyak atsiri hasil destilasi dengan menggunakan metode destilasi air dan uap air.

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

Kelima, kombinasi minyak atsiri batang sereh dan daun nilam adalah perbandingan jumlah minyak atsiri daun nilam dan batang sereh dengan perbandingan (1:1) yaitu satu bagian minyak atsiri batang sereh dan satu bagian minyak atsiri daun nilam; (1:2) yaitu satu bagian minyak atsiri batang sereh dan dua bagian minyak atsiri daun nilam; (1:3) yaitu satu bagian minyak atsiri batang sereh dan tiga bagian minyak atsiri daun nilam; (2:1) yaitu dua bagian minyak atsiri batang sereh dan satu bagian minyak atsiri daun nilam; dan (3:1) yaitu tiga bagian minyak atsiri batang sereh dan satu bagian minyak atsiri daun nilam.

Keenam, metode difusi dengan menentukan diameter zona hambat dari kombinasi minyak atsiri batang sereh dan daun nilam menggunakan cakram (*disk*) dengan menggunakan beberapa perbandingan jumlah minyak atsiri, dengan kontrol positif adalah antibiotik amoksisilin.

Ketujuh, metode dilusi dengan menentukan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) yaitu dengan membuat satu seri pengenceran dalam berbagai konsentrasi yaitu: 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,19%; 0,098%. Kontrol positif adalah suspensi bakteri *Staphylococcus aureus*. Kontrol negatif adalah kombinasi minyak atsiri batang sereh dan daun nilam.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

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

inkas, autoklaf, oven, pinset, piknometer, refraktometer, timbangan elektrik, dan penggaris.

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah batang sereh wangi (*Cymbopogon nardus* L.), daun nilam (*Pogostemon calbin* Benth), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, media Mueller Hinton Agar (MHA), *Vogel Johnson Agar* (VJA), *Brain Heart Infusion* (BHI), tween 80, Amoksisilin, Natrium sulfat anhidrat, kalium telurit, plasma sitrat.

D. Jalannya Penelitian

1. Identifikasi tanaman

Tahap pertama penelitian adalah menetapkan kebenaran sampel batang sereh dan daun nilam dengan melakukan identifikasi. Identifikasi tanaman dilakukan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang berkaitan dengan ciri-ciri morfologi yang ada pada tanaman sereh dan daun nilam sesuai kepustakaan yang dibuktikan di Laboratorium Sistematika Tumbuhan, Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

2. Pengambilan bahan

Sereh dan daun nilam yang diambil secara acak dari daerah Baturaden, Jawa Tengah dengan ciri-ciri sampel yang segar, tidak terkena hama, tidak terlalu muda, dan tidak terlalu tua dibersihkan dari lumut dan kotoran lain yang menempel.

3. Isolasi minyak atsiri batang sereh

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

Minyak yang diperoleh kemudian dilakukan pemisahan fase air dan minyak menggunakan corong pisah dengan penambahan Na_2SO_4 anhidrat untuk memisahkan antara minyak dan air, sehingga didapat hasil penyulingan minyak sereh murni. Minyak yang diperoleh kemudian disimpan dalam botol coklat dan ditempat yang sejuk, hal ini dilakukan untuk menghindari minyak atsiri yang didapat tidak rusak atau teroksidasi.

4. Isolasi minyak atsiri daun nilam

Daun nilam yang telah dibersihkan dimasukkan ke dalam alat penyulingan minyak dan air yang menyerupai dandang dengan penyangga berlubang yang telah terisi air. Penyulingan dilakukan diatas api sampai air mendidih. Uap air yang dihasilkan dialirkan pada pipa kebagian kondensor dan mengalami proses kondensasi, bersama dengan uap air tersebut terbawa dengan minyak atsiri. Pemanasan dilakukan dengan api dan dihentikan setelah tidak ada penambahan volume, kemudian destilat ditampung dan diukur volume yang dihasilkan.

Minyak yang diperoleh kemudian dilakukan pemisahan fase air dan minyak menggunakan corong pisah dengan penambahan Na_2SO_4 anhidrat untuk memisahkan antara minyak dan air, sehingga didapat hasil penyulingan minyak nilam murni. Minyak yang diperoleh kemudian disimpan dalam botol coklat dan ditempat yang sejuk, hal ini dilakukan untuk menghindari minyak atsiri yang didapat tidak rusak atau teroksidasi.

5. Analisa minyak atsiri

5.1. Pengamatan organoleptik. Pengamatan organoleptik terhadap minyak atsiri meliputi warna, aroma, bentuk, dan rasa minyak. Warna minyak atsiri hasil destilasi masing-masing sampel diambil volume sama dan ditempatkan dalam sebuah tempat kaca yang bersih dan jernih. Bau dan rasa minyak atsiri memiliki bau dan rasa yang khas sesuai dari tanaman asalnya. Organoleptik minyak atsiri sereh dan daun nilam memiliki bau aromatik. Minyak sereh memiliki warna kuning pucat sampai kuning kecoklat-coklatan, sedangkan minyak nilam memiliki warna kuning muda sampai coklat kemerahan. (Gunawan & Sri 2004; BSNI 1995; BSNI 2006).

5.2. Identifikasi minyak atsiri. Identifikasi minyak atsiri batang sereh dan daun nilam seperti identifikasi minyak atsiri pada umumnya yaitu minyak atsiri batang sereh dan daun nilam diteteskan pada permukaan air, minyak atsiri akan menyebar dan permukaan air tidak akan keruh. Minyak atsiri diteteskan pada kertas saring, jika dibiarkan minyak akan menguap sempurna tanpa meninggalkan noda lemak (Depkes RI 1979).

5.3. Penetapan indeks bias minyak atsiri. Penetapan indeks bias minyak atsiri menurut BSNI 2006 ditetapkan dengan alat refraktometer. Badan prisma dibuka dan kemudian dibersihkan dengan kapas yang telah dibasahi alkohol. Refraktometer diatur sehingga garis dan skala tampak jelas, mencatat suhu ruangan tempat bekerja kemudian meneteskan cairan yang diukur pada prisma dan menutup kembali. Pemutar sebelah kanan diatur sehingga batas gelap dan terang tepat pada garis dan dibaca skala kemudian dicatat indeks biasnya. Persyaratan indeks bias minyak sereh menurut BSNI (1995) adalah 1,466 – 1,475, sedangkan persyaratan indeks bias untuk minyak nilam berdasarkan BSNI 2006 adalah 1,507 – 1,515.

5.4. Penetapan bobot jenis minyak atsiri. Penetapan bobot jenis dilakukan dengan cara membersihkan piknometer menggunakan etanol dan dietil eter kemudian dikeringkan bagian dalam piknometer dan ditutup, menimbang piknometer kosong (m_1). Memasukan air suling dalam piknometer sambil menghindari adanya gelembung udara, dicelupkan ke dalam penangas air pada suhu $25^{\circ}\text{C} \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ selama 30 menit kemudian ditutup dan dikeringkan bagian luar piknometer lalu ditimbang (m_1). Kosongkan piknometer kemudian dibersihkan menggunakan etanol dan dietil eter lalu dikeringkan, memasukan sampel minyak sambil menghindari adanya gelembung udara, dicelupkan ke dalam penangas air pada suhu $25^{\circ}\text{C} \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ selama 30 menit kemudian ditutup dan dikeringkan bagian luar piknometer lalu ditimbang (m_2). Bobot jenis minyak atsiri adalah perbandingan antara bobot jenis minyak atsiri dan bobot jenis air pada suhu dan volume yang sama (BSNI 2006). Persyaratan bobot jenis untuk minyak sereh berdasarkan BSNI (1995) adalah 0,880 – 0,922, sedangkan persyaratan bobot jenis minyak nilam berdasarkan BSNI (2006) adalah 0,950 – 0,975.

$$\text{Bobot jenis minyak atsiri} = \frac{m_2 - m}{m_1 - m}$$

5.5. Penetapan kelarutan dalam etanol. Uji kelarutan minyak atsiri dalam etanol berdasarkan BSNI (2006) dilakukan dengan cara memipet sebanyak 1 mL minyak atsiri kedalam gelas ukur 10 mL, ditambah alkohol 90% dengan cara bertahap. Pada setiap penambahan alkohol dikocok dan diamati kejernihannya. Persyaratan kelarutan dalam etanol 80% menurut BSNI (1995) untuk minyak sereh adalah 1:2 jernih seterusnya jernih sampai opalesensi, sedangkan persyaratan kelarutan dalam etanol 90% menurut BSNI (2006) untuk minyak nilam yaitu larutan jernih atau opalesensi ringan dalam perbandingan volume 1:10.

5.6. Identifikasi komponen senyawa penyusun minyak atsiri menggunakan Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS). Pengujian komponen senyawa penyusun minyak atsiri sereh dan daun nilam menggunakan kombinasi kromatografi gas dan spektroskopi massa yang dengan kondisi analisis yang telah diprogram. Gas pembawa menggunakan Nitrogen dengan kecepatan alir 20 mL/menit. Suhu awal 60°C dan dinaikkan sampai 250°C. Kromatogram dan spektrum massa yang diperoleh dianalisis dengan cara dibandingkan dengan spektrum massa yang terdapat pada bank data *Wiley Library* (Agusta 2000).

6. Sterilisasi

Media yang digunakan dalam penelitian ini disterilkan terlebih dahulu dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Gelas ukur dan beaker glass disterilkan dengan oven pada suhu 100°C selama 2 jam, sedangkan alat seperti jarum ose disterilkan dengan pemanas api langsung dan inkas disterilkan dengan menggunakan formalin (Suriawiria 1985).

7. Pembuatan suspensi bakteri uji *Staphylococcus aureus*

Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 diambil dari suatu biakan murni pada media Nutrien Agar (NA) diambil kurang lebih 2 ose dan dibuat suspensi dalam tabung yang berisi media *Brain Heart Infusion* (BHI) 10 mL yang kekeruhannya disesuaikan dengan kekeruhan Mc Farland 0,5 yang menunjukkan konsentrasi kekeruhan bakteri sama dengan 10⁸ CFU/mL, kemudian diinkubasi

pada suhu 37°C selama 24 jam. Selanjutnya digunakan untuk identifikasi (Bonang & Enggar 1982).

8. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

8.1. Identifikasi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 berdasarkan koloni. Suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang sudah siap, digoreskan pada media *Vogel Johnson Agar* (VJA) dan penambahan kalium tellurit 1%. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam. Hasil pengujian ditunjukkan dengan warna koloni hitam dan warna medium di sekitar koloni kuning. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat memfermentasi manitol menjadi asam dan mereduksi telurit sehingga membentuk koloni warna hitam. Adanya fenol red maka medium di sekitar koloni berwarna kuning karena *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 fermentasi manitol (Hadioetomo 1985).

8.2. Identifikasi mikroskopis *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara morfologi. Pewarnaan Gram dilakukan dengan cara buat preparat ulas (smear) yang telah difiksasi. Tetes Kristal Violet (Gram A) sebagai pewarna utama pada kedua preparat sampai semua ulasan terwarnai. Didiamkan selama kurang lebih 3 menit. Dicuci dengan aquadest mengalir, kemudian ditetesi mordant (Lugol, s iodine/Gram B). Didiamkan kurang lebih selama 1 menit, kemudian dicuci lagi dengan air mengalir dan dikeringanginkan. Preparat dilunturkan dengan peluntur Gram C (alkohol) dan didiamkan selama kurang lebih 30 detik, dicuci dengan aquadest mengalir. Ditetesi larutan penutup (Gram D) selama 1 menit, dicuci dengan air mengalir dan tiriskan kemudian preparat dikeringkan dengan kertas tissue yang ditempelkan di sisi ulasan lalu didiamkan sampai mengering di udara (Volk dan Wheller 1988).

8.3. Identifikasi fisiologi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

8.3.1. Tes koagulase. Plasma darah kelinci yang diberi sitrat, diencerkan (1:5) dicampur dengan biakan kaldu yang sama banyaknya dan dieramkan pada suhu 37°C. Suatu tabung plasma dicampur dengan kaldu steril dieramkan sebagai kontrol. Tabung-tabung sering diperiksa dengan melihat pembentukan gumpalan-gumpalan putih setelah 1-4 jam. Hasilnya positif kuat jika tabung tes dibalik,

gumpalan plasma tidak terlepas dan tetap melekat pada dinding tabung (Bonang & Enggar 1982).

8.3.2. Tes katalase. Suspensi bakteri uji ditanam pada medium Nutrien cair dengan volume 0,5 mL lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C ditambahkan 2-3 tetes bakteri uji ditanam pada medium Nutrien Cair dengan volume 0,5 mL lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C ditambahkan 2-3 tetes H₂O₂ 3%. Hasil positif ditandai adanya gelembung udara sebab *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 mempunyai enzim katalase. Penambahan H₂O₂ akan terurai menjadi H₂ dan O₂. Hal ini ditandai dengan timbulnya gelembung udara (Bonang & Enggar 1982).

9. Pembuatan kombinasi bahan uji

Kombinasi minyak atsiri sereh dan daun nilam dengan perbandingan (1:1) dibuat dengan mengambil 0,5 mL minyak atsiri sereh dan 0,5 mL minyak atsiri daun nilam, kombinasi minyak atsiri sereh dan daun nilam dengan perbandingan (1:2) dibuat dengan mengambil 0,33 mL minyak atsiri sereh dan 0,67 mL minyak atsiri daun nilam, kombinasi minyak atsiri sereh dan daun nilam dengan perbandingan (2:1) dibuat dengan mengambil 0,67 mL minyak atsiri sereh dan 0,33 mL minyak atsiri daun nilam, kombinasi minyak atsiri sereh dan daun nilam dengan perbandingan (1:3) dibuat dengan mengambil 0,25 mL minyak atsiri sereh dan 0,75 mL minyak atsiri daun nilam, kombinasi minyak atsiri sereh dan daun nilam dengan perbandingan (3:1) dibuat dengan mengambil 0,75 mL minyak atsiri sereh dan 0,25 mL minyak atsiri daun nilam.

10. Pengujian aktivitas antibakteri

Metode yang digunakan untuk uji daya antibakteri adalah metode difusi dan metode dilusi. Metode difusi digunakan untuk mengetahui adanya daya hambat terhadap bakteri uji dan untuk menentukan diameter daerah hambat dari minyak atsiri sereh dan daun nilam. Penelitian ini menggunakan cawan petri yang berisi MHA. Pertama suspensi bakteri yang sudah di standarkan dengan MC Farland 0,5 diambil dengan kapas lidi steril sebanyak satu kali kemudian dioleskan pada cawan petri yang berisi MHA tersebut dan tunggu sampai bakteri berdifusi pada media.

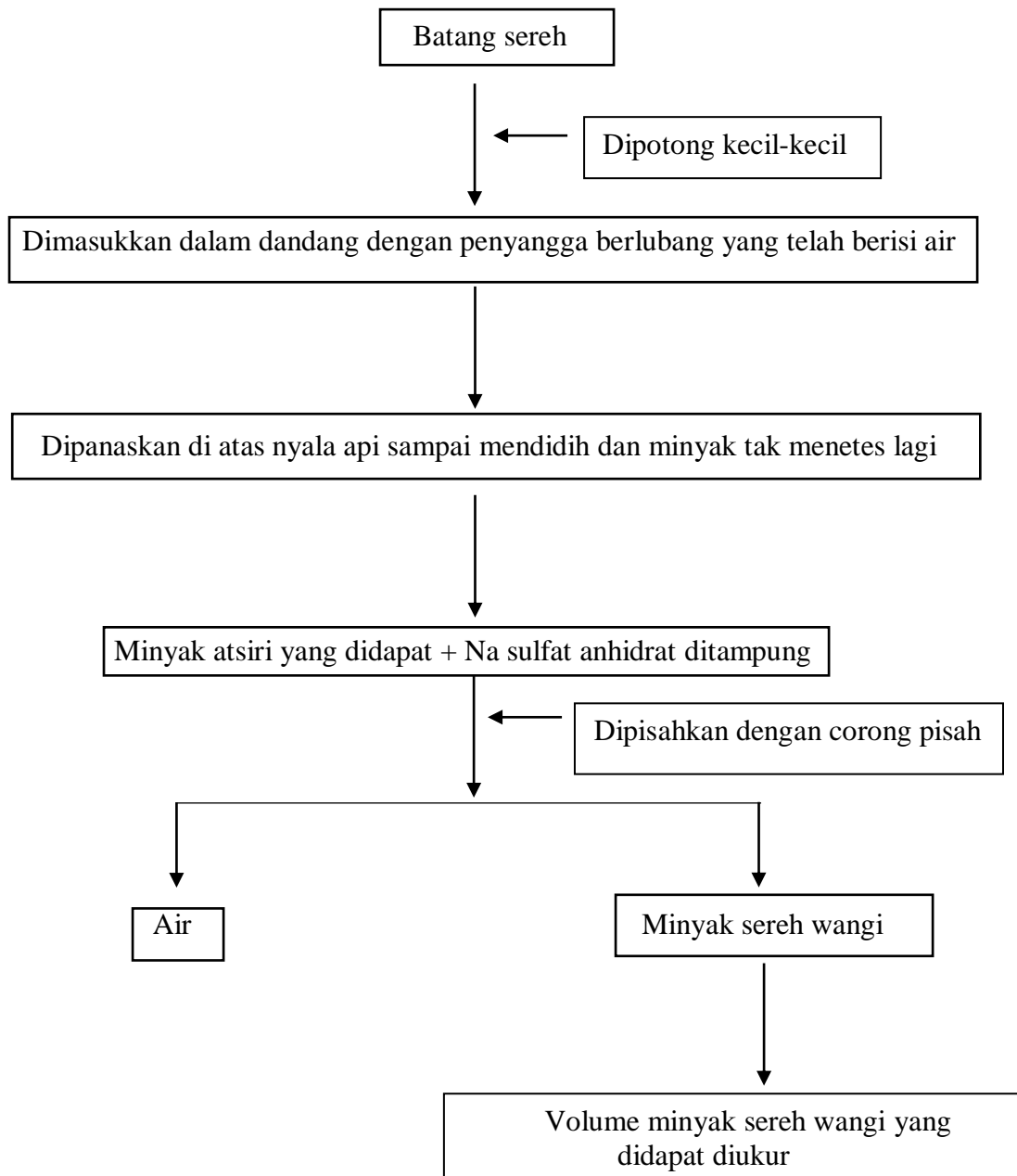
Setelah suspensi bakteri yang setara dengan MC Farland 0,5 dioleskan dengan rata pada cawan petri yang berisi MHA, kemudian pada setiap cakram yang berukuran 6 mm ditetesi menggunakan *mikropipette* sebanyak 10 μ m dengan larutan kombinasi minyak atsiri sereh dan daun nilam. Kombinasi yang pertama berisi kombinasi 1:1, yang kedua berisi kombinasi 1:2, yang ketiga berisi kombinasi 2:1, yang keempat berisi kombinasi 1:3, yang kelima berisi kombinasi 3:1. Kontrol positif menggunakan antibiotik amoksisilin. Setelah itu cakram diletakkan atau ditempelkan pada media MHA dengan menggunakan pinset, cawan petri diinkubasi didalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C. Kemudian setelah 24 jam dilakukan inkubasi, zona hambat yang terbentuk dapat diukur. Pengukuran zona hambat disekitar cakram dilakukan menggunakan penggaris dengan ketelitian 1 mm. hasil dari pengukuran tersebut dijumlahkan dan dibagi dengan banyaknya pengukuran untuk mendapatkan besarnya zona hambat yang terbentuk.

Uji dilusi dilakukan untuk mengetahui konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) minyak atsiri terhadap bakteri dengan konsentrasi pengenceran 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,19%; 0,098%. Metode dilusi adalah pengenceran dengan 12 tabung steril yang dibuat secara aseptis. Metode ini dilakukan dengan memasukkan bahan uji kedalam masing-masing tabung reaksi kecuali tabung nomor 12 sebagai kontrol positif yang berisi suspensi bakteri. Kontrol negatif berisi larutan kombinasi minyak atsiri sereh dan daun nilam, masing-masing tabung tersebut mempunyai beberapa konsentrasi bahan uji yang berbeda dengan menambahkan bahan pengencer atau media BHI. Suspensi bakteri yang setara dengan standar MC Farlan 0,5 dengan pengenceran 1:1000 dimasukkan kedalam masing-masing tabung uji kecuali tabung nomor 1 sebagai kontrol negatif. Seluruh tabung diinkubasi didalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C, lalu diamati kekeruhannya. Semua tabung uji dilakukan pengujian kembali untuk membuktikan apakah bakteri tersebut memang tidak dapat tumbuh dalam konsentrasi tersebut dengan menggunakan media VJA untuk melihat pertumbuhan bakterinya dan untuk menentukan KBM dari minyak atsiri tersebut.

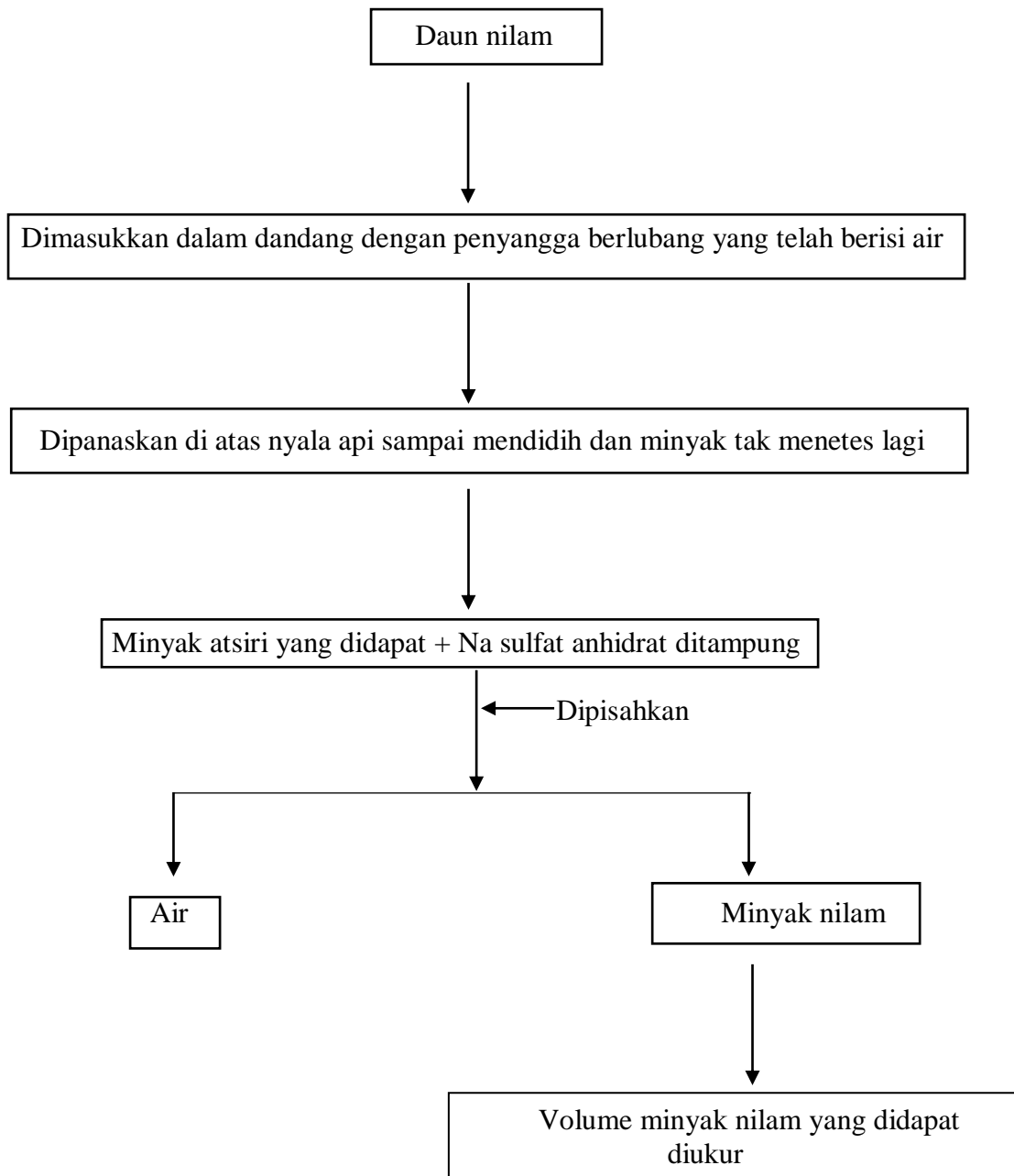
E. Analisis Hasil

Data hasil penelitian diperoleh dengan mengukur diameter daerah hambatan pertumbuhan bakteri uji yang ditunjukkan dengan adanya zona jernih di sekeliling cakram yang tidak ditumbuhi bakteri, kemudian diukur diameter hambatan pertumbuhan bakterinya dari masing-masing lingkaran. Data yang diperoleh dianalisa dengan menggunakan *Kolmogorof-Smirnov*, jika terdistribusi secara normal kemudian dilanjutkan dengan *analysis of varian* (ANOVA) satu jalan. Jika tidak terdistribusi normal maka dilakukan analisis non parametrik menggunakan *Kruskal Wallis*.

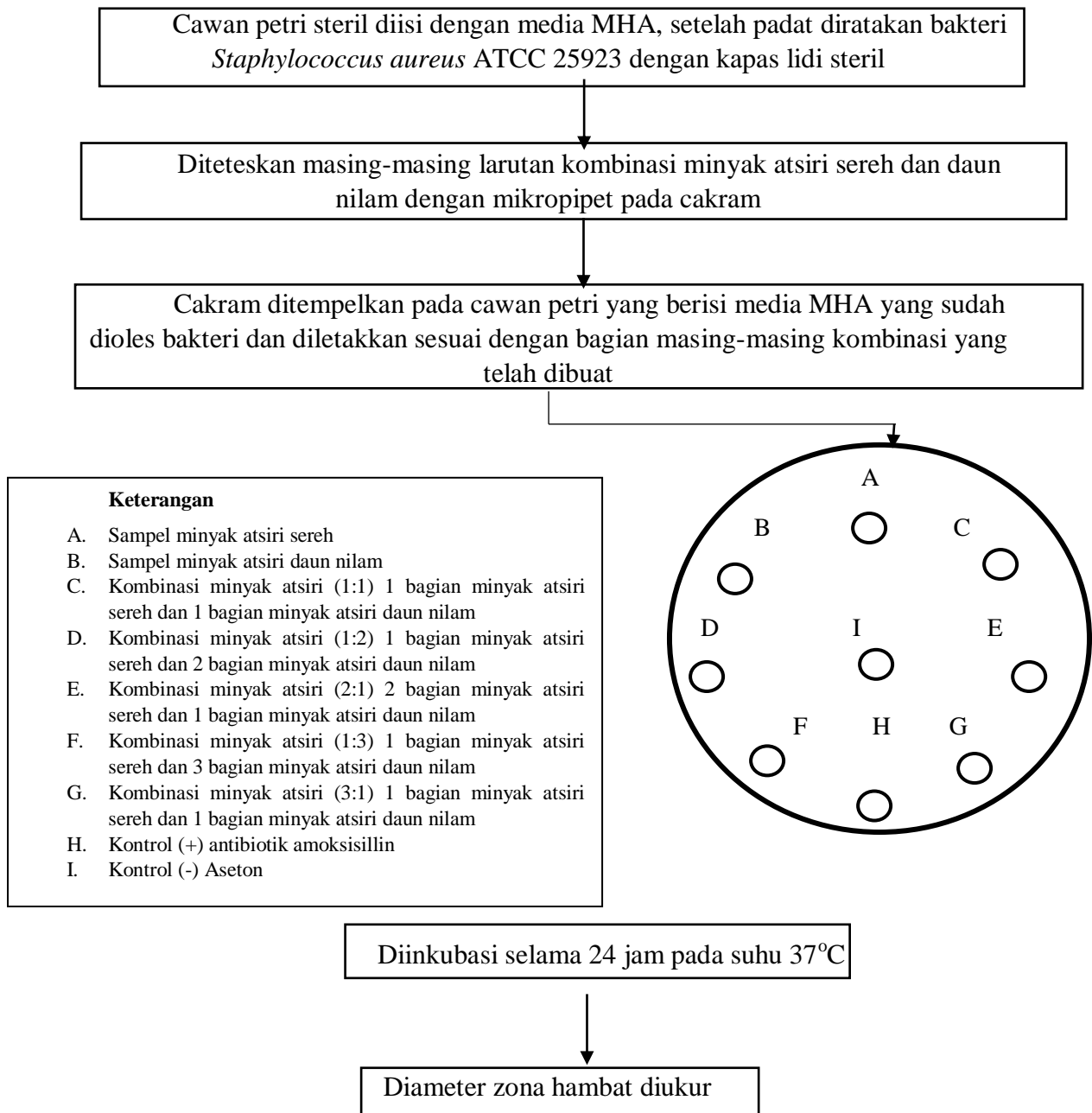
Analisis hasil yang dilakukan secara dilusi adalah dengan membandingkan hasil Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) minyak atsiri dari salah satu kombinasi (1:1; 1:2; 2:1; 1:3; 3:1) dari sereh dan daun nilam, dari hasil tiga kali replikasi dengan pengujian terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.



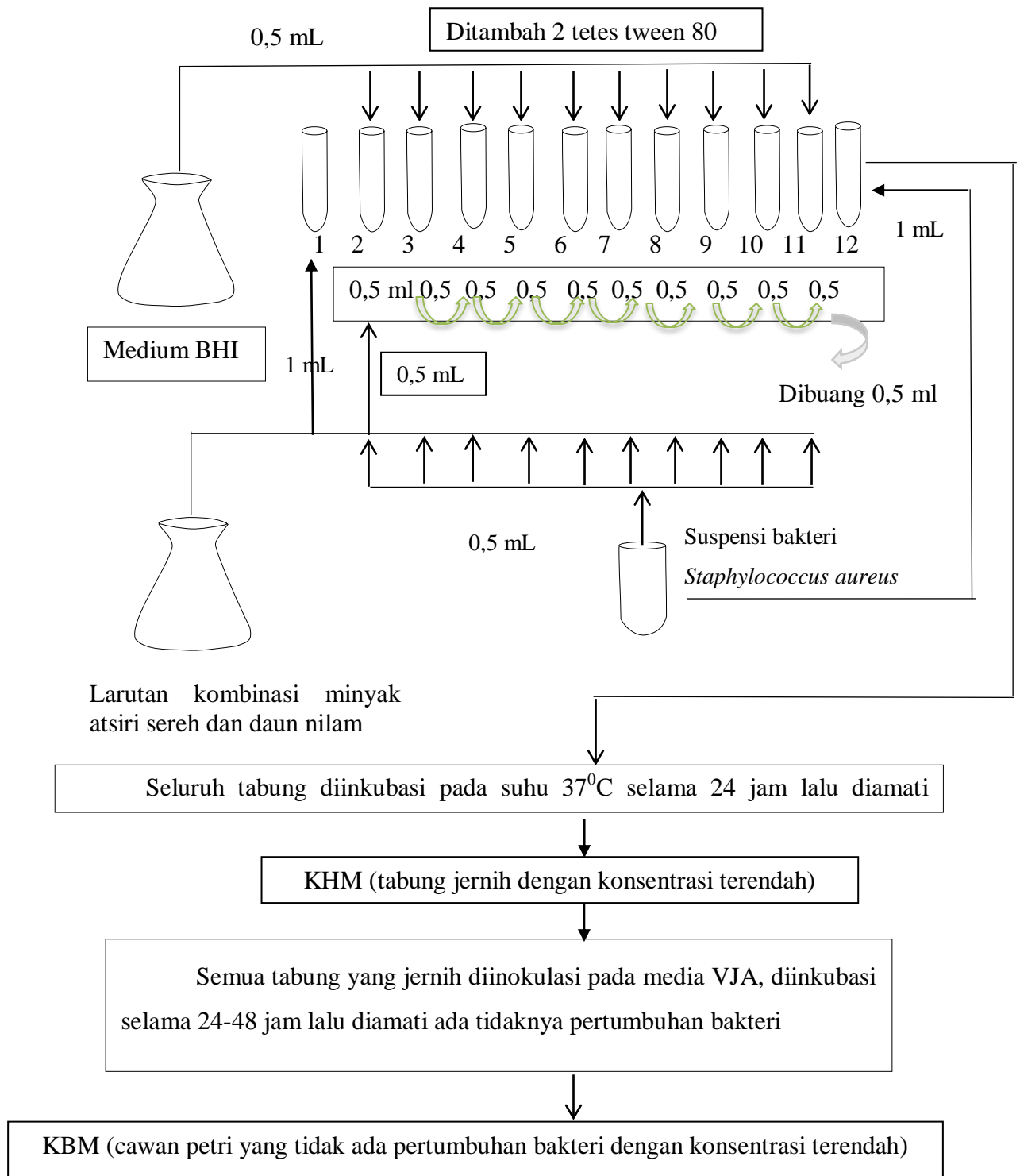
Gambar 1. Skema isolasi minyak atsiri batang serih wangi (*Cymbopogon nardus* L.).



Gambar 2. Skema isolasi minyak atsiri daun nilam (*Pogostemon calbin* Benth).



Gambar 3. Skema pengujian aktivitas antibakteri kombinasi minyak atsiri sereh dan daun nilam terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan metode difusi.



Gambar 4. Skema pengujian aktivitas antibakteri kombinasi minyak atsiri sereh dan daun nilam terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan metode dilusi.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Identifikasi tanaman

Identifikasi tanaman dilakukan di Laboratorium Sistematika Tumbuhan, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Identifikasi tanaman bertujuan untuk menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan, menghindari kemungkinan tercampurnya bahan dengan tanaman lain, mengetahui kebenaran dalam pengumpulan bahan serta mencocokkan ciri morfologis yang ada pada tanaman yang diteliti. Berdasarkan hasil identifikasi dapat dipastikan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman sereh wangi (*Cymbopogon nardus* L. Rendle) dan tanaman nilam (*Pogostemon cablin* Benth). Hasil dapat dilihat pada lampiran 1 dan 2.

2. Pengambilan bahan

Tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah batang sereh wangi (*Cymbopogon nardus* L. Rendle) dan daun nilam (*Pogostemon cablin* Benth) yang diperoleh dari daerah Baturaden, Jawa Tengah. Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi Surakarta.

3. Isolasi minyak atsiri

Isolasi minyak atsiri batang sereh wangi dan daun nilam menggunakan metode destilasi uap dan air. Prinsip dasar dari metode ini adalah memanfaatkan perbedaan titik didih. Keuntungan proses ini adalah sederhana dan ekonomis, uap dapat berpenetrasi secara merata ke dalam jaringan bahan dan suhu dapat dipertahankan sampai 100°C. Lama penyulingan relatif lebih singkat, rendemen minyak lebih besar, dan mutunya lebih baik jika dibandingkan dengan minyak hasil dari sistem penyulingan dengan air (Ariyani *et al.* 2008).

Hasil destilasi dalam penelitian ini didapat minyak atsiri murni, rendemen dalam penelitian ini adalah jumlah minyak atsiri yang didapatkan dalam satu kali

proses destilasi tiap tanaman. Hasil perhitungan kadar minyak atsiri dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Kadar minyak atsiri batang sereh wangi dan daun nilam

Sampel	Bobot sampel (gram)	Volume minyak (mL)	Rendemen (% v/v)
Batang sereh wangi	5000	19	0,38
Daun nilam	5000	27	0,54

Batang sereh wangi mengandung minyak atsiri 0,3-1,2 %. Kandungan kimia minyak atsiri sereh menurut Hariana (2013), antara lain *citronelal*, *citral*, *geraniol*, *metil-heptenone*, *eugenol-metil eter*, *dipenten*, *eugenol*, *kadinen*, *kadinol*, dan *limonene*. Komponen senyawa utama minyak sereh wangi ini terdiri dari *sitronelal*, *sitronellol*, dan *geraniol*. Kadar minyak atsiri batang sereh wangi yang diperoleh dalam praktek dengan hasil rendemen adalah 0,38%. Daun nilam mengandung minyak atsiri 0,5-2,5%. Kandungan kimia dari minyak nilam antara lain benzaldehid, kariofilen, *α -patchoulien*, *buenesen*, *patchouli alkohol*, *patchouli camphor*, *eugenol*, *cinnamic*, *cadinene*. Kadar minyak atsiri daun nilam yang diperoleh dalam praktek dengan hasil rendemen adalah 0,54%. Data perhitungan lengkap dapat dilihat pada lampiran 12.

4. Pengamatan organoleptik minyak atsiri

Hasil pengamatan organoleptik dalam penelitian ini dilakukan dengan cara melihat dari warna, bau, bentuk, dan rasa dari minyak atsiri batang sereh dan daun nilam. Hasil pengamatan organoleptik dapat dilihat pada tabel 2 dan 3.

Tabel 2. Organoleptik minyak atsiri batang sereh wangi

No.	Jenis pemeriksaan	Hasil	Pustaka
1.	Warna	Kuning pucat	Kuning pucat sampai kuning kecoklatan (BSNI 1995)
2.	Bau	Khas sereh	Segar, khas minyak sereh (BSNI 1995)
3.	Bentuk	Cairan	Cairan (Depkes RI 1979)
4.	Rasa	Hangat, menggigit, pedas	Getir (Depkes 1979)

Tabel 3. Organoleptik minyak atsiri daun nilam

No.	Jenis pemeriksaan	Hasil	Pustaka
1.	Warna	Kuning kecoklatan	Kuning muda sampai coklat kemerahan (BSNI 2006)
2.	Bau	Khas nilam	Khas nilam (BSNI 2006)
3.	Bentuk	Cairan	Cairan (Depkes RI 1979)
4.	Rasa	Pahit, menggigit	Getir, khas nilam (Depkes RI 1979)

Warna minyak atsiri hasil destilasi diambil masing-masing dengan volume yang sama dan disimpan dalam botol kaca bersih dan jernih, kemudian dibandingkan dengan pustaka dari masing-masing sampel. Bau dan rasa minyak atsiri dari masing-masing sampel memiliki bau dan rasa yang khas sesuai tanaman asalnya. Hasil pengamatan organoleptik menunjukkan bahwa hasil sesuai dengan pustaka.

5. Identifikasi minyak atsiri

Identifikasi minyak atsiri batang sereh wangi dan daun nilam masing-masing ditetaskan 1 tetes pada kertas saring dan air, kemudian diamati. Hasil identifikasi minyak atsiri dapat dilihat pada tabel 4 dan 5.

Tabel 4. Identifikasi minyak atsiri sereh wangi

Sampel	Pemeriksaan	Hasil	Pustaka
Minyak atsiri sereh wangi	1 tetes minyak atsiri ditetaskan pada kertas saring	Minyak menguap sempurna tanpa meninggalkan noda lemak	minyak akan menguap sempurna tanpa meninggalkan noda lemak (Depkes RI 1979)
	1 tetes minyak atsiri ditetaskan pada permukaan air	Minyak atsiri menyebar dan permukaan air tidak keruh	Minyak atsiri menyebar dan permukaan air tidak keruh (Depkes RI 1979)

Tabel 5. Identifikasi minyak atsiri daun nilam

Sampel	Pemeriksaan	Hasil	Pustaka
Minyak atsiri nilam	1 tetes minyak atsiri ditetaskan pada kertas saring	Minyak menguap sempurna tanpa meninggalkan noda lemak	minyak akan menguap sempurna tanpa meninggalkan noda lemak (Depkes RI 1979)
	1 tetes minyak atsiri ditetaskan pada permukaan air	Minyak atsiri menyebar dan permukaan air tidak keruh	Minyak atsiri menyebar dan permukaan air tidak keruh (Depkes RI 1979)

Hasil identifikasi minyak atsiri batang sereh wangi dan nilam menunjukkan bahwa hasil sesuai dengan pustaka. Hasil gambar dapat dilihat pada lampiran 5.

6. Penetapan indeks bias minyak atsiri

Hasil penetapan indeks bias minyak atsiri batang sereh dan daun nilam dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Indeks bias minyak atsiri

Minyak atsiri	Indeks bias (26°C)	Pustaka
Batang sereh wangi	1,4744	Indeks bias (20°C) 1,466–1,475 (BSNI 1995)
Daun nilam	1,5124	Indeks bias (20°C) 1,507–1,515 (BSNI 2006)

Hasil pemeriksaan indeks bias minyak atsiri sereh yaitu 1,4744 dan hasil pemeriksaan daun nilam yaitu 1,5124 menunjukkan hasil indeks bias yang diteliti sesuai dengan pustaka. Hasil perhitungan indeks bias dapat dilihat pada lampiran 6.

7. Penetapan bobot jenis minyak atsiri

Hasil pemeriksaan bobot jenis minyak atsiri batang sereh wangi dan daun nilam dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 7. Bobot jenis minyak atsiri

Minyak atsiri	Bobot jenis	Pustaka
Batang sereh wangi	0,904	Bobot jenis (25°C) 0,880–0,922 (BSNI 1995)
Daun nilam	0,971	Bobot jenis (25°C) 0,950 – 0,975 (BSNI 2006)

Hasil pemeriksaan bobot jenis minyak atsiri batang sereh wangi yaitu sebesar 0,904 dan daun nilam yaitu sebesar 0,971 menunjukkan hasil bobot jenis yang diteliti sesuai dengan pustaka. Hasil perhitungan bobot jenis dapat dilihat pada lampiran 13.

8. Penetapan kelarutan dalam etanol

Kelarutan minyak atsiri sereh wangi dalam etanol 80% dengan perbandingan 1:2 (artinya 1 mL minyak atsiri larut dalam 2 mL etanol 80%), minyak atsiri nilam larut dalam etanol 90% dengan perbandingan 1:10 (artinya 1 mL minyak atsiri larut dalam 10 mL etanol 90%) menurut hasil penelitian adalah larut dan jernih. Gambar dapat dilihat pada lampiran 5.

9. Identifikasi komponen senyawa penyusun minyak atsiri menggunakan Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)

Identifikasi senyawa menggunakan GC-MS untuk mengetahui komponen senyawa yang terkandung dalam minyak atsiri batang sereh dan daun nilam. Pada alat GC-MS digabungkan antara kromatografi gas dan spektrometer massa. Kromatografi gas berfungsi sebagai alat pemisah berbagai komponen campuran dalam sampel, spektrometer massa berfungsi untuk mendeteksi masing-masing molekul komponen yang telah dipisahkan pada sistem kromatografi gas. Analisis dengan GC-MS merupakan metode yang cepat dan akurat untuk memisahkan campuran yang rumit, mampu menganalisis cuplikan dalam jumlah yang sangat kecil, dan menghasilkan data yang berguna mengenai struktur serta identitas senyawa organik (Agusta 2000).

Hasil analisis masing-masing komponen senyawa utama batang sereh dan daun nilam dapat dilihat pada tabel 8 dan 9.

Tabel 8. Hasil analisis komponen minyak atsiri batang sereh wangi

Peak	Senyawa	RT (menit)	BM	Kadar (%)
1	6-methyl-5-heptana-2- one	4.057	126	2.44
2	Beta-Myrcene	4.127	136	4.76
3	1,3,6-Octatriena	4.723	136	0.57
4	1,3,7-Octatriene	4.875	136	0.16
5	Linalool	5.590	154	1.17
6	Z-Citral	6.236	152	0.16
7	Citronella	6.355	154	0.18
8	Trans-p-Mentha-1 (7)	6.515	152	0.53
9	Trans-Caran	6.775	152	1.36
10	Beta-Citronellol	7.438	156	1.08
11	Z-Citral	7.682	152	49.41
12	Nerol	7.822	154	3.32
13	2-Cyclohexena	7.910	152	0.20
14	E-Citral	8.083	152	22.87
15	4,5,5,-D3-Trans-3	8.255	100	0.18
16	Epoxy-Linalooloxide	8.312	186	1.96
17	Cyclopropanecarboxylic acid	8.515	168	0.72
18	Neric Acid	8.779	168	0.27
19	5- Isopropenyl-2 Methyl-7-Oxa Bicyclo	9.029	168	1.59
20	Neric Acid	9.261	168	1.83
21	2-Cyclohexen-1-one	9.451	168	0.21
22	Isopulegol	9.527	154	2.64
23	Lynalyl acetate	9.611	196	0.29
24	Bicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-one	10.011	150	0.37
25	Cyclopropanecarboxylic acid	10.354	168	0.47
26	Cadinene	12.862	204	0.98
27	beta-Guaiene	13.269	204	0.27

Tabel 9. Hasil analisis komponen utama minyak atsiri daun nilam

Peak	Senyawa	RT (menit)	BM	Kadar (%)
1	Alpha-pinene	3.510	136	0.08
2	2-beta-pinene	4.024	136	0.20
3	beta-Patchoulene	9.782	204	2.99
4	beta-elemene	9.854	204	0.81
5	1H-3a,7-Methanoazulene	10.195	204	0.73
6	trans-Caryophyllene	10.293	204	3.80
7	alpha-Guaiene	10.513	204	14.87
8	Seychellene	10.655	204	8.16
9	alpha-Humulene	10.758	204	0.67
10	alpha-Patchoulene	10.831	204	6.29
11	alpha-Gurjunene	10.874	204	3.10
12	Isocaryophyllen	10.947	204	0.35
13	alpha-Guaiene	11.025	204	0.42
14	Eremophilene	11.199	204	0.74
15	alpha-Guaiene	11.316	204	4.22
16	delta-Guaiene	11.423	204	18.00
17	4,4-Dimethyl-3-(3-methyl-3-buten-1-yliden)- 2-methylidenebicyclo [4.1.0] heptane	11.485	202	0.22
18	Selina-3,7(11)-diene	11.603	204	0.30
19	2-Isopropyl-Tricyclo [4.3.1.1 2,5]	12.158	206	0.62
20	valerenol	12.285	220	0.19
21	valerenol	12.437	220	0.67
22	Pentalene, Octahydro-1,4-Diiodo	12.833	220	0.35
23	alpha-Guaiene	12.932	204	0.63
24	beta-Selinene	13.046	204	0.22
25	delta-Guaiene	13.304	204	2.32
26	Aromadendrene	13.471	204	28.20
27	Pentalene	13.610	220	0.24
28	2H-Pyran-2-One	13.952	168	0.62

Hasil analisis minyak atsiri batang sereh wangi terdapat 27 senyawa, sedangkan minyak atsiri nilam terdapat 28 senyawa. Hasil analisis minyak atsiri sereh dengan GC-MS menunjukkan komponen senyawa kimia dari minyak atsiri sereh yaitu 6-methyl-5-heptana-2-one, Beta-Myrcene, 1,3,6-Octatriena, 1,3,7-Octatriene, Linalool, Z-Citral, Citronella, Trans-p-Mentha-1 (7), Trans-Caran, Beta, Citronellol, Z-Citral, Nerol, 2-Cyclohexena, E-Citral, 4,5,5,-D3-Trans-3, Epoxy-Linalooloxide, Cyclopropanecarboxylic acid, Neric Acid, 5- Isopropenyl-2 Methyl-7-Oxa Bicyclo, Neric Acid, 2-Cyclohexen-1-one, Isopulegol, Lynalyl acetate, Bicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-one, Cyclopropanecarboxylic acid, Cadinene, beta-Guaiene. Senyawa kimia dengan kadar terbesar yaitu Z-Citral (49,41%), E-Citral (22,87), Beta-Myrcene (4,67), Nerol (3,32), 6-methyl-5-heptana-2-one (2,44%).

Minyak atsiri nilam mengandung komponen senyawa kimia yaitu Alpha-pinene, 2-beta-pinene, beta-Patchoulene, beta-elemene, 1H-3a,7-Methanoazulene, trans-Caryophyllene, alpha-Guaiene, Seychellene, alpha-Humulene, alpha-Patchoulene, alpha-Gurjunene, Isocaryophyllen, alpha-Guaiene, Eremophilene, alpha-Guaiene, delta-Guaiene, 4,4-Dimethyl-3-(3-methyl-3-buten-1-yliden)-2-methylidencyclo [4.1.0] heptane, Selina-3,7(11)-diene, 2-Isopropyl-Tricyclo [4.3.1.1 2,5], valerenol, Pentalene, Octahydro-1,4-Diiodo, alpha-Guaiene, beta-Selinene, delta-Guaiene, Aromadendrene, Pentalene, 2H-Pyran-2-One. Senyawa kimia dengan kadar terbesar yaitu Aromadendrene (28,20%), delta-Guaiene (18,00%), alpha-Guaiene(14,87%), Seychellene (8,16%), alpha-Patchoulene (6,29%). Hasil komponen senyawa pada minyak atsiri sereh dan nilam dapat dilihat pada lampiran 15.

10. Sterilisasi

Media yang digunakan dalam penelitian ini disterilkan terlebih dahulu dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Gelas ukur dan beaker glass disterilkan dengan oven pada suhu 100°C selama 2 jam, sedangkan alat seperti jarum ose disterilkan dengan pemanas api langsung.

11. Pembuatan suspensi bakteri uji *Staphylococcus aureus*

Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 diambil dari suatu biakan murni sebanyak 2 ose kemudian dimasukkan secara aseptis dalam tabung yang berisi medium *Brain Heart Infusion* (BHI) 10 mL dan dibuat suspensi kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah diinkubasi, diambil 2 ose bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dimasukkan secara aseptis dalam tabung yang berisi medium *Brain Heart Infusion* (BHI) 10 mL kemudian kekeruhannya disesuaikan dengan kekeruhan Mc Farland 0,5 yang menunjukkan konsentrasi kekeruhan bakteri sama dengan 10^8 CFU/mL, selanjutnya digunakan untuk identifikasi. Hasil pembuatan suspensi dapat dilihat pada lampiran 7.

12. Identifikasi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 berdasarkan koloni

Identifikasi bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diinokulasikan pada medium *Vogel Johnson Agar* (VJA) dalam cawan petri yang berisi 3 tetes kalium telurit 1 % kemudian diinkubasi selama kurang lebih 24 - 48

jam pada suhu 37°C. Hasil goresan yang positif ditunjukkan dengan adanya koloni yang berwarna hitam dan medium disekitar koloni berwarna kuning. Koloni yang berwarna hitam akibat dari kemampuan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 mereduksi kalium telurit sedangkan warna disekitar koloni berwarna kuning akibat dari kemampuan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dalam memfermentasikan manitol menjadi asam yang dideteksi oleh perubahan warna indikator fenol red dari merah menjadi kuning. Hasil identifikasi berdasarkan koloni dapat dilihat pada lampiran 8.

13. Identifikasi mikroskopis *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara morfologi

Hasil pengamatan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara morfologi dilakukan dengan menggunakan pewarnaan Gram kemudian diamati dengan mikroskop, koloni bakteri akan tampak berwarna ungu karena pada bakteri Gram positif, pemberian alkohol (Gram C) menyebabkan protein pada dinding sel mengalami denaturasi sehingga pori-pori mengecil dan kompleks ungu kristal iodium tetap terperangkap pada dinding sel, sehingga penambahan zat warna merah safranin (Gram D) tidak memberikan pengaruh dan bakteri tetap berwarna ungu (Radji 2013), berbentuk bulat dan bergerombol seperti buah anggur. Tujuan pewarnaan Gram untuk melihat morfologi dan bentuk sel. Hasil gambar identifikasi dapat dilihat pada lampiran 8.

14. Identifikasi fisiologi-koagulase *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Uji koagulase menggunakan plasma darah kelinci yang diberi asam sitrat, diencerkan (1:5) dicampur dengan biakan bakteri yang sama banyaknya dan diinkubasi pada suhu 37°C. Tabung diperiksa dengan melihat pembentukan gumpalan-gumpalan putih setelah 1-4 jam dan jika tabung dibalik, gumpalan plasma tidak terlepas. Hasil dari penelitian dinyatakan positif karena terjadi perubahan plasma darah kelinci dan terjadi pembentukan gumpalan putih. Hasil gambar identifikasi fisiologi-koagulase dapat dilihat pada lampiran 8.

15. Identifikasi fisiologi-katalase *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Uji katalase menggunakan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang ditambah 3 tetes H₂O₂ 3%. Hasil pada penelitian dinyatakan positif

kerena terbentuk gelembung udara disekitar koloni. Hal ini disebabkan karena *Staphylococcus aureus* mempunyai enzim katalase. Penambahan H_2O_2 akan terurai menjadi H_2 dan O_2 , hal ini ditandai dengan timbulnya gelembung udara. Gambar hasil identifikasi fisiologi-katalase dapat dilihat pada lampiran 8.

16. Pembuatan kombinasi bahan uji

Kombinasi minyak atsiri sereh wangi dan daun nilam dengan perbandingan (1:1) dibuat dengan mengambil 0,5 mL minyak atsiri sereh wangi dan 0,5 mL minyak atsiri daun nilam, kombinasi minyak atsiri sereh wangi dan daun nilam dengan perbandingan (1:2) dibuat dengan mengambil 0,33 mL minyak atsiri sereh wangi dan 0,67 mL minyak atsiri daun nilam, kombinasi minyak atsiri sereh wangi dan daun nilam dengan perbandingan (2:1) dibuat dengan mengambil 0,67 mL minyak atsiri sereh wangi dan 0,33 mL minyak atsiri daun nilam, kombinasi minyak atsiri sereh wangi dan daun nilam dengan perbandingan (1:3) dibuat dengan mengambil 0,25 mL minyak atsiri sereh wangi dan 0,75 mL minyak atsiri daun nilam, kombinasi minyak atsiri sereh wangi dan daun nilam dengan perbandingan (3:1) dibuat dengan mengambil 0,75 mL minyak atsiri sereh wangi dan 0,25 mL minyak atsiri daun nilam. Gambar pembuatan kombinasi minyak atsiri dapat dilihat pada lampiran 9.

17. Hasil pengujian aktivitas antibakteri kombinasi minyak atsiri batang sereh wangi dan daun nilam secara difusi

Metode difusi dilakukan untuk mengetahui adanya daya hambat dari kombinasi minyak atsiri batang sereh wangi dan daun nilam terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan membuat konsentrasi minyak atsiri murni menjadi 50% dengan menggunakan aseton sebagai pelarut. Aseton dapat melarutkan minyak atsiri batang sereh wangi dan daun nilam tetapi tidak memiliki sifat antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. Kombinasi minyak atsiri batang sereh wangi dan daun nilam dengan konsentrasi 50% pada perbandingan kombinasi 1:1, 1:2, 1:3, 2:1, 3:1, diinkubasi pada suhu $37^\circ C$ selama 24 jam. Hasil diameter hambat dapat dilihat pada tabel 10 dan 11.

Tabel 10. Diameter hambat minyak atsiri tunggal

Bahan uji	Diameter daerah hambatan (mm)			Rata-rata \pm SD
	I	II	III	
Amoksisilin 0,5% (+)	13,5	14,5	15,0	14,33 \pm 0,764
Batang sereh wangi (50%)	20,0	20,0	19,0	19,67 \pm 0,577
Daun nilam (50%)	17,5	18,5	17,5	17,83 \pm 0,577

Tabel 11. Diameter hambat kombinasi minyak atsiri

Perbandingan minyak atsiri Sereh wangi : nilam (50%)	Diameter daerah hambatan (mm)			Rata-rata \pm SD
	I	II	III	
Kombinasi 1:1	20,0	17,5	18,0	18,50 \pm 1,323
Kombinasi 1:2	17,0	18,5	17,0	17,50 \pm 0,866
Kombinasi 1:3	16,5	18,0	17,0	17,17 \pm 0,764
Kombinasi 2:1	19,5	19,0	19,0	19,17 \pm 0,288
Kombinasi 3:1	20,5	20,0	20,5	20,33 \pm 0,289

Uji difusi dilakukan untuk mengetahui apakah kombinasi minyak atsiri sereh wangi dan daun nilam dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Hasil dari uji difusi adalah diperoleh daya hambat yang paling aktif dari minyak atsiri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Daya hambat dari minyak atsiri sereh tunggal yaitu sebesar 19,67 mm \pm 0,577, daya hambat minyak atsiri nilam tunggal sebesar 17,83 mm \pm 0,577. Daya hambat yang paling aktif adalah kombinasi minyak atsiri sereh dan nilam (3:1) konsentrasi 50% dengan diameter daerah hambat 20,33 mm \pm 0,289.

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Poeloengan (2009) memperlihatkan bahwa minyak atsiri sereh dengan konsentrasi 12,5%, 25%, dan 50% memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan terbentuknya zona hambat yaitu 10,5 mm; 13,0 mm; 15,5 mm, pada penelitian ini diperoleh hasil daya hambat yang lebih besar dari penelitian sebelumnya yaitu sebesar 19,67 mm. Hasil penelitian yang dilakukan Dzakwan (2008) tentang uji aktivitas antibakteri minyak atsiri daun nilam (*Pogostemon cablin*, Benth) terhadap *Staphylococcus aureus* didapatkan bahwa minyak atsiri daun nilam konsentrasi 10%, 20% dan 30% memiliki daya antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dengan terbentuknya zona hambat yaitu 12,10 mm; 16,60 mm; 18,30 mm, pada penelitian ini diperoleh hasil daya hambat yang lebih kecil yaitu minyak nilam dengan konsentrasi 50% memiliki daya hambat 17,83 mm.

Hal tersebut mungkin disebabkan karena perbedaan kadar senyawa penyusun minyak atsiri sereh dan daun nilam.

Dilihat dari hasil GC-MS menunjukkan bahwa senyawa yang paling aktif pada minyak atsiri sereh wangi adalah *Z-Citral* dengan kadar 49,41% dan hasil GC-MS minyak atsiri nilam menunjukkan bahwa senyawa yang paling aktif adalah *alloaromadendrene* dengan kadar 28,20%.

Minyak atsiri yang terkandung pada sereh wangi memiliki sifat antibakteri karena merusak dinding sel bakteri dengan meningkatkan aktivitas permeabilitas sel bakteri, mengubah morfologi sel dan mengurangi sintesis ATP karena potensi membran adalah kunci utama untuk mensintesis ATP. Selanjutnya, pengurangan produksi internal ATP terjadi bersamaan dengan hilangnya selaput sel bakteri yang potensial, menyebabkan sintesis enzim dan protein tidak terjadi terus menerus untuk menyebabkan bakteri lisis atau mati (Minasari & Dheina 2018).

Minyak atsiri yang terkandung dalam daun nilam terdiri dari komponen terpenoid memiliki sifat antibakteri dengan mekanisme merusak membran sel bakteri dengan cara berikatan dengan protein enzim dan merusak membran sel sehingga dapat menghambat pertumbuhan sel bakteri (Dzakwan 2008).

Senyawa turunan alkohol yang dapat menyebabkan terjadinya denaturasi dan koagulasi protein sel bakteri ketika berinteraksi dengan membran sitoplasma, enzim, dan lipid bakteri melalui proses absorpsi yang melibatkan ikatan hidrogen. Senyawa alkohol konsentrasi rendah membentuk kompleks protein fenol dengan ikatan lemah sehingga terjadi penguraian diikuti penetrasi senyawa alkohol ke dalam sel bakteri menyebabkan presipitasi dan denaturasi protein bakteri. Senyawa alkohol konsentrasi tinggi menyebabkan koagulasi protein dari membran sel bakteri sehingga lisis dan mengalami kematian. Protein merupakan komponen enzim sehingga ketika terjadi kerusakan mengakibatkan metabolisme menurun yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan menyebabkan kematian sel (Siswandono & Bambang 2000).

Karakteristik terpenting dari minyak atsiri dan komponennya adalah sifatnya yang hidrofobik yang memungkinkan untuk mempartisi lipid dari membran sel bakteri dan mitokondria, mengganggu struktur sel dan membuat menjadi lebih permeabel dan terjadi kebocoran dari sel bakteri yang menyebabkan

keluarnya molekul dan ion penting akan menyebabkan kematian sel (Goyal & Meena 2013)

Berdasarkan data yang diperoleh dilakukan analisis statistik untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan daya hambat yang signifikan dari sampel minyak atsiri tunggal dan kombinasi yang diteliti. Analisis pertama pada tabel *One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test* untuk mengetahui apakah hasil penelitian terdistribusi normal atau tidak. Hasil uji menunjukkan nilai signifikansinya 0,881 nilai tersebut lebih besar dari 0,05 sehingga dapat disimpulkan data daya hambat yang diperoleh terdistribusi secara normal. Perbedaan daya hambat diketahui dengan uji ANOVA satu jalan. Hasil signifikansinya menunjukkan nilai 0,000 dimana nilai ini lebih kecil dari 0,05, dengan demikian dapat disimpulkan bahwa ada perbedaan daya hambat yang nyata dari sampel kombinasi minyak atsiri batang sereh dan daun nilam (3:1) yang lebih aktif dari sampel lainnya. Hasil dapat dilihat pada lampiran 16.

18. Hasil pengujian aktivitas antibakteri kombinasi minyak atsiri batang sereh wangi dan daun niam secara dilusi

Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode dilusi digunakan untuk mengetahui konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM). Hasil dapat dilihat pada tabel 12.

Tabel 12. Hasil uji dilusi kombinasi minyak atsiri batang sereh dan daun nilam (3:1)

Konsentrasi	Pertumbuhan pada media VJA		
	I	II	III
Kontrol (-)	-	-	-
50%	-	-	-
25%	-	-	-
12,5%	-	-	-
6,25%	-	-	-
3,125%	+	+	+
1,56%	+	+	+
0,78%	+	+	+
0,39%	+	+	+
0,19%	+	+	+
0,098%	+	+	+
Kontrol (+)	+	+	+

Keterangan :

(-) : Tidak ada pertumbuhan bakteri

(+) : Ada pertumbuhan bakteri

Kontrol (-) : Berisi kombinasi minyak atsiri batang sereh dan daun nilam perbandingan 3:1

Kontrol (+) : Berisi suspensi bakteri

Uji dilusi menggunakan deret konsentrasi minyak atsiri. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dilihat dari kejernihan tabung dengan konsentrasi terendah yang menunjukkan konsentrasi tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri, selanjutnya dilakukan inokulasi pada media selektif *Vogel Johnson Agar* (VJA) dari dua belas tabung seri dilusi. Hal ini dilakukan karena dalam penelitian tidak dapat dilihat kejernihan tabung karena tertutup oleh kekeruhan dari bahan kombinasi minyak atsiri yang digunakan.

Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dapat diketahui dengan menginokulasi hasil uji dilusi menggunakan seri pengenceran pada media selektif VJA. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditentukan pada media VJA dengan konsentrasi terendah yang tidak menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri. Hasil KBM pada penelitian ini yaitu pada konsentrasi 6,25%. KBM dilakukan untuk menegaskan hasil kejernihan pada tabung yang berisi suspensi bakteri dengan menggunakan media selektif VJA, dan jika tidak ada pertumbuhan bakteri yang terlihat sampai penggoresan terakhir, maka konsentrasi pada goresan terakhir dianggap sebagai konsentrasi bunuh minimum.

Hasil uji aktivitas antibakteri kombinasi minyak atsiri batang sereh dan daun nilam menggunakan metode dilusi yang dilakukan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 memiliki KBM yaitu pada konsentrasi 6,25%. Hasil dapat dilihat pada lampiran 11.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

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

Pertama, kombinasi minyak atsiri batang sereh (*Cymbopogon nardus* L.) dan daun nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kedua, dari uji difusi daya hambat yang paling aktif pada minyak atsiri batang sereh (*Cymbopogon nardus* L.) dan daun nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) adalah perbandingan 3:1 dengan diameter daya hambat 20,33 mm.

Ketiga, Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) kombinasi minyak atsiri batang sereh (*Cymbopogon nardus* L.) dan daun nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) 3:1 terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 adalah sebesar 6,25%.

B. Saran

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang aktivitas antibakteri kombinasi minyak atsiri batang sereh dan daun nilam secara *in vivo*.

Kedua, perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri minyak atsiri batang sereh dan daun nilam dengan kombinasi tanaman lain dan menggunakan bakteri patogen yang berbeda.

Ketiga, perlu dikembangkan formula sediaan topikal terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dari kombinasi minyak atsiri batang sereh dan daun nilam.

DAFTAR PUSTAKA

- Agusta A. 2000. *Minyak Atsiri Tumbuhan Tropika Indonesia*. Bandung: Penerbit ITB
- Aisyah Y, Pudji Hastuti, Hardjono Sastrohamidjojo, dan Chusnul Hidayat. 2008. Komposisi kimia dan sifat antibakteri minyak nilam (*Pogostemon cablin*). *Majalah Farmasi Indonesia* 19: 153-155
- Ariyani F, Laurentia Eka Setiawan, Felycia Edi Soetaredjo. 2008. Ekstraksi minyak atsiri dari tanaman sereh dengan menggunakan pelarut metanol, aseton, dan n-heksana. *Widya Teknik* 7: 126-127
- [BSNI] Badan Standardisasi Nasional Indonesia. 1995. *Minyak Sereh*. Jakarta: Badan Standardisasi Nasional Indonesia; (SNI 06-3953-1995)
- [BSNI] Badan Standardisasi Nasional Indonesia. 2006. *Minyak Nilam*. Jakarta: Badan Standardisasi Nasional Indonesia; (SNI 06-2385-2006)
- Bergey D H, Breed, dan Robert Stanley. 1957. *Determinative Bacteriology*. IX edition. USA: Baltimore Maryland.
- Bonang G dan Enggar S Koeswardono. 1982. *Mikrobiologi Kedokteran Untuk Laboratorium dan klinik*. Jakarta: Penerbit PT Gramedia
- Bota W, Martanto Martosupono, dan Ferdy Rondonuwu. 2015. Potensi Senyawa Minyak Sereh Wangi (*Citronella Oil*) Dari Tumbuhan *Cymbopogon nardus* L. Sebagai Agen Antibakteri. *Seminar Nasional Sains dan Teknologi (SemNasTek) Universitas Muhammadiyah Jakarta*
- Brooks G F, Karen C C, Janet S B, Stephen A M dan Timothy A M. 2012. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi Ke-25*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC
- [CLSI] Clinical and Laboratory Standards Institute. 2016. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. USA: Clinical and Laboratory Standards Institute
- [DepKes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1979. *Farmakope Indonesia Edisi Ketiga*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- [DepKes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (I) Jilid 1*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia

- Dzakwan M. 2008. Uji aktivitas antibakteri minyak atsiri daun nilam (*Pogostemon cablin*, Benth) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Biomedika* 01:1-3.
- Gunawan D dan Sri Mulyani. 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi) Jilid I*. Yogyakarta: Penebar Swadaya
- Goyal R, Ananad M K. 2013. Antibacterial effect of lemongrass oil on oral microorganisms: an in vitro study. *Journal of Pharmaceutical and Scientific Innovation* 2: 41-3.
- Harborne J B. 2006. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Padmawinatan K, Iwang S, penerjemah; Bandung: Penerbit ITB. Terjemahan dari: *Phytochemical Methods*
- Hadioetomo, S.G. 1985. *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek*. Bogor: Institut Pertanian Bogor
- Hariana A. 2013. *262 Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. Jakarta: Penebar Swadaya
- Harti A S. 2015. *Mikrobiologi Kesehatan*. Yogyakarta: Penerbit ANDI
- Heinrich M, Joanne B, Simon G, Elizabeth M W. 2010. *Farmakognosi dan Fitoterapi*. Syarief W R, Cucu A, Ella E, Euis R F, penerjemah; Hadinata A H, editor. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. Terjemahan dari: *Fundamentals of Pharmacognosy and Phytotherapy*
- [KeMenKes RI] Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2011. *100 Top Tanaman Obat Indonesia*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia
- Mandal B K, Wilkins E G L, Dunbar E M, dan Mayon R T. 2008. *Penyakit Infeksi Edisi Keenam*. Jakarta: Penerbit Erlangga
- Minasari, Dheina Lianisa Nasution. 2018. The effectivity of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) extract against *Porphyromonas Gingivalis* ATCC[®] 33277[™] (In-vitro). *Advances in Health Science Research* 8: 169-170
- Muhlisah F. 2002. *Tanaman Obat Keluarga*. Jakarta: Penebar Swadaya
- Poeloengan M. 2009. Pengaruh minyak atsiri serai (*Andropogon citratus* Dc.) terhadap bakteri yang diisolasi dari sapi mastitis subklinis. *Berita Biologi* 9:716-718
- Radji M. 2013. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi & Kedokteran*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC

- Rukmana H R. 2004. *Nilam Prospek Agribisnis dan Teknik Budidaya*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius
- Siswandono dan Bambang Soekardjo. 2000. *Kimia Medisinal*. Surabaya: Airlangga University Press
- Suriawiria U. 1985. *Pengantar Mikrobiologi Umum*. Bandung: Penerbit Angkasa
- Tjay T H dan Kirana Rahardja. 2007. *Obat-Obat Penting Khasiat, Penggunaan, dan Efek-Efek Sampingnya*. Jakarta: Penerbit PT Elex Media Komputindo
- Volk dan Wheeler. 1988. *Mikrobiologi Dasar Edisi Kelima Jilid I*. Jakarta: Penerbit Erlangga
- Waluyo L. 2004. *Mikrobiologi Umum*. Malang: Universitas Muhammadiyah Press
- Wilson Gisvold's. 1982. *Buku Teks Kimia Farmasi dan Medisinal Organik*. Fatah Achmad Mustofa, Penerjemah; Doerge RF, editor. Semarang: IKIP Press. Terjemahan dari: *Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry*
- Yuliani R, Peni Indrayudha, dan Septi Sriandita Rahmi. 2011. Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Pharmacon* 12:50-51

Lampiran 1. Surat keterangan identifikasi tanaman serih (*Cymbopogon nardus* L. Rendle)



**UNIVERSITAS GADJAH MADA
FAKULTAS BIOLOGI
LABORATORIUM SISTEMATIKA TUMBUHAN**

Jalan Teknika Selatan Sekip Utara Yogyakarta 55281 Telpun (0274) 6492262/6492272; Fax: (0274) 6492272

SURAT KETERANGAN

Nomor : 01301/ S.Tb. /IV/ 2018

Yang bertanda tangan dibawah ini, Kepala Laboratorium Sistematika Tumbuhan Fakultas Biologi UGM, menerangkan dengan sesungguhnya bahwa,

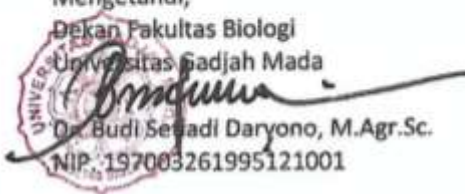
Nama : Adinda Carolina Novi Puteri B
NIM : 20144259A
Asal instansi : Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

telah melakukan identifikasi tumbuhan dengan hasil sebagai berikut,

Kingdom : Plantae
Divisio : Tracheophyta
Class : Liliopsida
Ordo : Poales
Familia : Poaceae
Genus : Cymbopogon
Spesies : Cymbopogon nardus L. Rendle
Sinonim : *Andropogon nardus* L.
Lagurus paniculatus Burm. f.
Sorghum nardus (L.) Kuntze
Nama lokal : Serai wangi, serih wangi


Identifikasi tersebut dibantu oleh Abdul Razaq Chasani, S.Si., M.Si.
Demikian surat keterangan ini diberikan untuk dapat dipergunakan seperlunya.

Mengetahui,
Dekan Fakultas Biologi
Universitas Gadjah Mada
Dr. Budi Setiadi Daryono, M.Agr.Sc.
NIP. 197003261995121001



Yogyakarta, 18 April 2018
Kepala Laboratorium
Sistematika Tumbuhan
Fakultas Biologi UGM
Dr. Purnomo, M.S.
NIP. 195504211982031005

Lampiran 2. Surat keterangan identifikasi tanaman nilam (*Pogostemon cablin* Benth.)



UNIVERSITAS GADJAH MADA
FAKULTAS BIOLOGI
LABORATORIUM SISTEMATIKA TUMBUHAN
Jalan Teknika Selatan Sekip Utara Yogyakarta 55281 Telpun (0274) 6492262/6492272; Fax: (0274) 580899

SURAT KETERANGAN
Nomor : 01302/ S.Tb. /IV/ 2018

Yang bertanda tangan dibawah ini, Kepala Laboratorium Sistematika Tumbuhan Fakultas Biologi UGM, menerangkan dengan sesungguhnya bahwa,

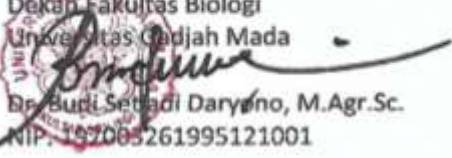
Nama	: Adinda Carolina Novi Puteri B
NIM	: 20144259A
Asal instansi	: Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

telah melakukan identifikasi tumbuhan dengan hasil sebagai berikut,

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Tracheophyta
Class	: Magnoliopsida
Ordo	: Lamiales
Familia	: Lamiaceae
Genus	: Pogostemon
Spesies	: <i>Pogostemon cablin</i> Benth.
Sinonim	: <i>Mentha auricularia</i> Blanco <i>Mentha cablin</i> Blanco <i>Pogostemon patchouly</i> Pellet.
Nama lokal	: Nilam

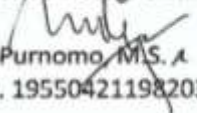
identifikasi tersebut dibantu oleh Abdul Razaq Chasani, S.Si., M.Si.
Demikian surat keterangan ini diberikan untuk dapat dipergunakan seperlunya.

Mengetahui,
Dekan Fakultas Biologi
Universitas Gadjah Mada



Dr. Budi Setiadi Daryono, M.Agr.Sc.
NIP. 197003261995121001

Yogyakarta, 18 April 2018
Kepala Laboratorium
Sistematika Tumbuhan
Fakultas Biologi UGM



Dr. Purnomo M.S.A
NIP. 195504211982031005

Lampiran 3. Gambar batang serih wangi, daun nilam dan minyak atsiri



Batang serih



Daun nilam



Minyak atsiri batang serih



Minyak atsiri daun nilam

Lampiran 4. Alat



Refraktometer



Timbangan elektrik



Auto vortex



Inkubator



Inkas



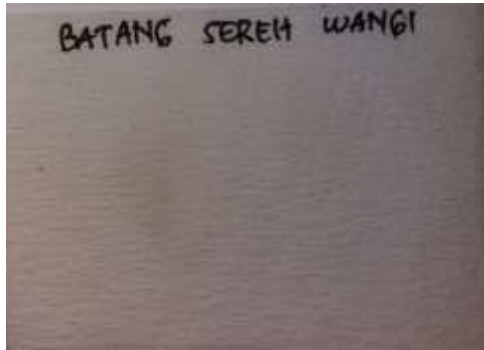
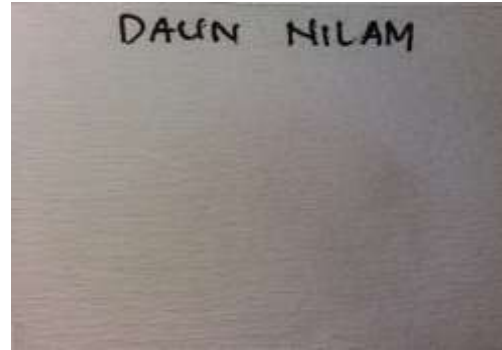
Autoklaf



Oven



Rangkaian alat destilasi

Lampiran 5. Identifikasi minyak atsiri dan kelarutan dalam alkohol**Minyak atsiri sereh wangi****Minyak atsiri nilam****Minyak atsiri sereh wangi****Minyak atsiri nilam**

Lampiran 6. Indeks bias minyak atsiri



Indeks bias sereh wangi



Indeks bias nilam

Perhitungan konversi suhu ruang dalam pemeriksaan indeks bias

Minyak atsiri	Indeks bias (26°C)	Pustaka
Batang sereh wangi	1,4744	Indeks bias (20°C) 1,466–1,475 (BSNI 1995)
Daun nilam	1,5124	Indeks bias (20°C) 1,507–1,515 (BSNI 2006)

$$\text{Indeks bias } n_D^t = n_D^{t_1} + 0,0004 (t_1 - t)$$

Keterangan :

t_1 adalah pembacaan yang dilakukan pada suhu pengerjaan t_1

t adalah pembacaan yang dilakukan pada suhu pengerjaan t

0,0004 adalah faktor koreksi untuk indeks bias minyak atsiri setiap derajat

Suhu ruang saat praktikum : 26°C

Suhu ruang menurut pustaka : 20°C

Indeks bias sereh (26°C) : 1,472

Indeks bias nilam (26°C) : 1,510

$$\begin{aligned} \text{Indeks bias minyak sereh wangi} &= 1,472 + 0,0004 (26^\circ - 20^\circ) \\ &= 1,4744 \end{aligned}$$

Jadi, indeks bias sereh wangi adalah 1,4744

$$\begin{aligned}\text{Indeks bias minyak nilam} &= 1,510 + 0,0004 (26^\circ - 20^\circ) \\ &= 1,5124\end{aligned}$$

Jadi, indeks bias nilam adalah 1,5124

Lampiran 7. Biakan murni dan suspensi *staphylococcus aureus*

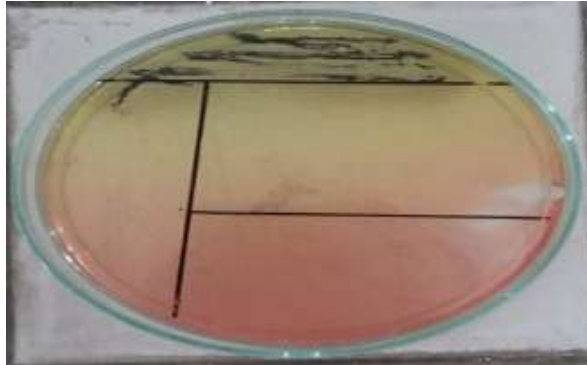


Biakan murni

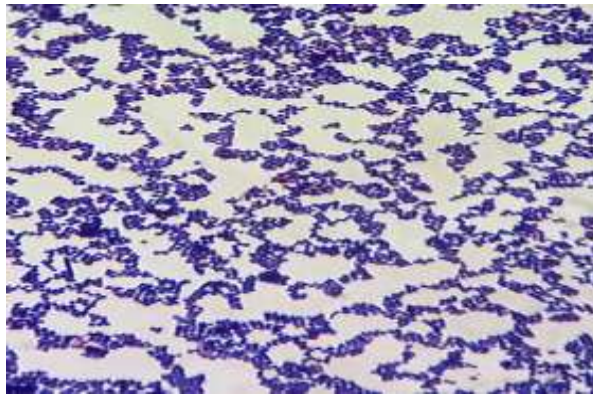


Suspensi bakteri

Lampiran 8. Identifikasi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



Identifikasi berdasarkan koloni *Staphylococcus aureus*



Identifikasi mikroskopis *Staphylococcus aureus*

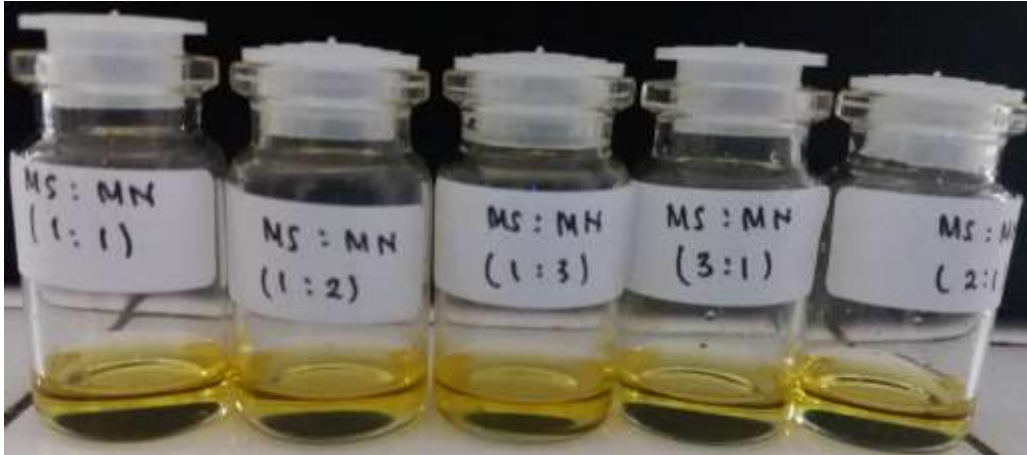


Identifikasi fisiologi-koagulase



Identifikasi fisiologi-katalase

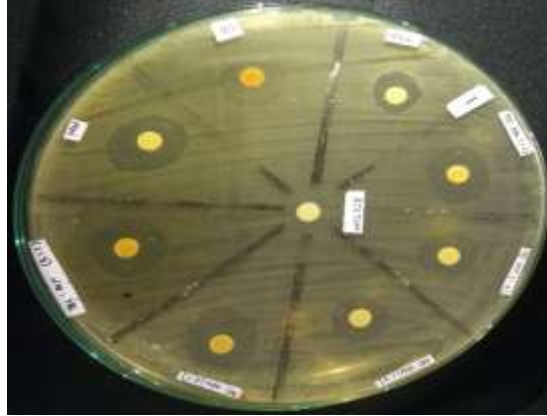
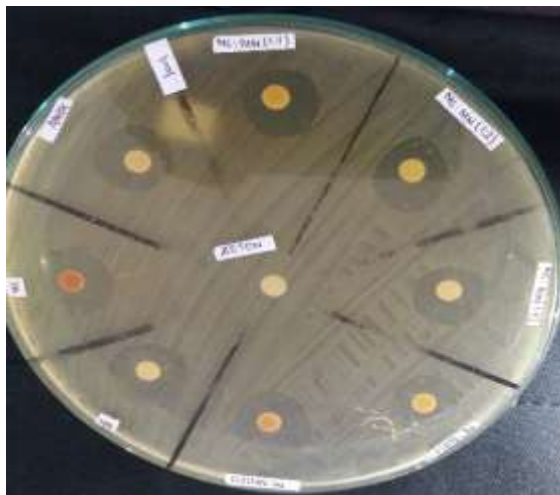
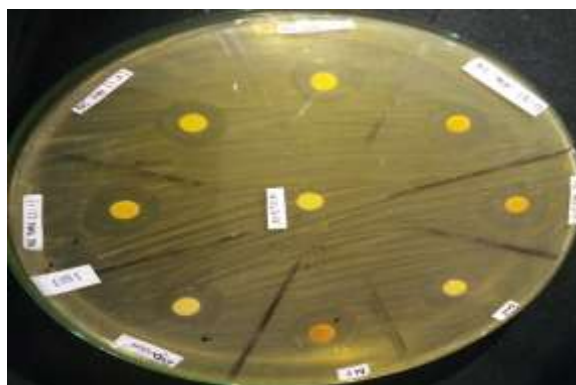
Lampiran 9. Pembuatan kombinasi bahan uji

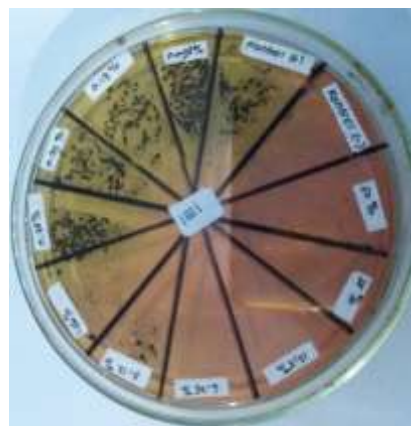


Kombinasi minyak serih (MS) : minyak nilam (MN) 100%



Bahan uji tunggal dan kombinasi konsentrasi 50%

Lampiran 10. Pengujian aktivitas antibakteri secara difusi**Replikasi I****Replikasi II****Replikasi III**

Lampiran 11. Pengujian aktivitas antibakteri secara dilusi**Replikasi I****Replikasi II****Replikasi III**

Lampiran 12. Perhitungan kadar minyak atsiri

Sampel	Bobot basah (gram)	Volume minyak atsiri (mL)	Rendemen (% v/v)
Batang sereh	5000	19	0,38
Daun nilam	5000	27	0,54

Perhitungan % kadar:

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen sereh} &= \frac{\text{volume minyak}}{\text{bobot sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{19 \text{ mL}}{5000 \text{ gram}} \times 100\% = 0,38\% \end{aligned}$$

Jadi, kadar minyak atsiri sereh (*Cymbopogon nardus* L. Rendle) adalah 0,38%

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen nilam} &= \frac{\text{volume minyak}}{\text{bobot sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{27 \text{ mL}}{5000 \text{ gram}} \times 100\% = 0,54\% \end{aligned}$$

Jadi, kadar minyak atsiri nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) adalah 0,54%

Lampiran 13. Perhitungan bobot jenis minyak atsiri

Minyak atsiri	Bobot jenis	Pustaka
Batang sereh wangi	0,904	Bobot jenis (25°C) 0,880–0,922 (BSNI 1995)
Daun nilam	0.971	Bobot jenis (25°C) 0,950 – 0,975 (BSNI 2006)

$$\text{Bobot jenis} = \frac{m_2 - m}{m_1 - m}$$

Keterangan:

m adalah massa piknometer kosong

m₁ adalah massa piknometer + air

m₂ adalah massa piknometer + minyak atsiri

$$\text{Bobot piknometer kosong (m)} = 12,2639 \text{ gram}$$

$$\text{Bobot piknometer + air (m}_1\text{)} = 21,5728 \text{ gram}$$

$$\text{Bobot piknometer + minyak sereh wangi} = 20,6829 \text{ gram}$$

$$\text{Bobot piknometer + minyak nilam} = 21,3035 \text{ gram}$$

$$\text{Bobot jenis minyak sereh wangi} = \frac{20,6829 - 12,2639}{21,5728 - 12,2639} = 0,904$$

$$\text{Bobot jenis minyak nilam} = \frac{21,3035 - 12,2639}{21,5728 - 12,2639} = 0,971$$

Lampiran 14. Diameter daya hambat dari uji difusi minyak atsiri

Bahan uji	Diameter daerah hambatan (mm)			Rata-rata ±SD
	I	II	III	
Amoksisilin 0,5% (+)	13,5	14,5	15,0	14,33 ± 0,764
Batang sereh wangi (50%)	20,0	20,0	19,0	19,67 ± 0,577
Daun nilam (50%)	17,5	18,5	17,5	17,83 ± 0,577

Perbandingan minyak atsiri Sereh wangi : nilam (50%)	Diameter daerah hambatan (mm)			Rata-rata ±SD
	I	II	III	
Kombinasi 1:1	20,0	17,5	18,0	18,50 ± 1,323
Kombinasi 1:2	17,0	18,5	17,0	17,50 ± 0,866
Kombinasi 1:3	16,5	18,0	17,0	17,17 ± 0,764
Kombinasi 2:1	19,5	19,0	19,0	19,17 ± 0,288
Kombinasi 3:1	20,5	20,0	20,5	20,33 ± 0,289

Perhitungan rata-rata dan SD diameter hambatan

$$\text{Rumus SD} = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

➤ Amoksisilin (+) :

x	\bar{x}	d = (x - \bar{x})	d ²	SD
13,5	14,33	0,83	0,6889	0,764
14,5		0,17	0,0289	
15,0		0,67	0,4489	
			Σ=1,1667	

➤ Minyak sereh

x	\bar{x}	d = (x - \bar{x})	d ²	SD
20,0	19,67	0,33	0,1089	0,577
20,0		0,33	0,1089	
19,0		0,67	0,4489	
			Σ=0,6667	

➤ Minyak nilam

x	\bar{x}	$d = (x - \bar{x})$	d^2	SD
17,5		0,33	0,1089	
18,5	17,83	0,33	0,1089	0,577
17,5		0,67	0,4489	
			$\Sigma=0,6667$	

➤ Kombinasi 1:1

x	\bar{x}	$d = (x - \bar{x})$	d^2	SD
20,0		1,50	2,25	
17,5,5	18,50	1,00	1,00	1,323
18,0		0,50	0,25	
			$\Sigma=3,50$	

➤ Kombinasi 1:2

x	\bar{x}	$d = (x - \bar{x})$	d^2	SD
17,0		0,50	0,25	
18,5	17,50	1,00	1,00	0,866
17,0		0,50	0,25	
			$\Sigma=1,50$	

➤ Kombinasi 1:3

x	\bar{x}	$d = (x - \bar{x})$	d^2	SD
16,5		0,667	0,4448	
18,0	17,17	0,833	0,6938	0,764
17,0		0,167	0,0278	
			$\Sigma=1,1664$	

➤ Kombinasi 2:1

x	\bar{x}	$d = (x - \bar{x})$	d^2	SD
19,5		0,333	0,1108	
19,0	19,17	0,167	0,0278	0,288
19,0		0,167	0,0278	
			$\Sigma=0,1664$	

➤ Kombinasi 3:1

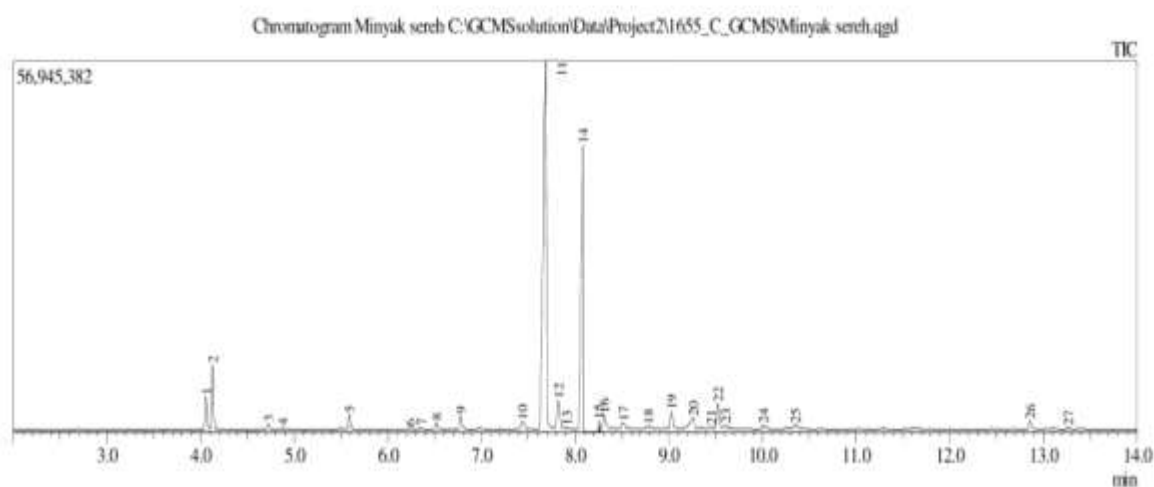
x	\bar{x}	$d = (x - \bar{x})$	d^2	SD
20,5		0,17	0,0289	
20,0	20,33	0,33	0,1089	0,289
20,5		0,17	0,0289	
			$\Sigma=0,1667$	

Lampiran 15. Hasil analisa GC-MS

Kromatogram minyak atsiri sereh wangi

Sample Information

Analyzed by : Admin
 Analyzed : 4/9/2018 11:19:59 AM
 Sample Name : Minyak sereh
 Sample ID : 2
 Injection Volume : 0.10
 Data File : C:\GCMSsolution\Data\Project2\1655_C_GCMS\Minyak sereh.qxd
 Tuning File : C:\GCMSsolution\SystemTune\1\Tuning 01082017.qgt



Peak#	R.Time	I.Time	F.Time	Area	Area%	Height
1	4.057	4.025	4.095	7072151	2.44	5052718
2	4.127	4.095	4.160	13806637	4.76	9885103
3	4.723	4.685	4.760	1642793	0.57	949463
4	4.875	4.845	4.910	452057	0.16	326883
5	5.590	5.555	5.655	3392843	1.17	2244517
6	6.236	6.205	6.275	467826	0.16	263011
7	6.355	6.325	6.390	518327	0.18	339377
8	6.515	6.480	6.550	1540537	0.53	996364
9	6.775	6.735	6.840	3941932	1.36	2169510
10	7.438	7.390	7.500	3141472	1.08	1200429
11	7.682	7.600	7.780	143179317	49.41	56495769
12	7.822	7.780	7.875	9608589	3.32	4480839
13	7.910	7.875	7.945	585056	0.20	252482
14	8.083	8.015	8.095	66261155	22.87	44106430
15	8.255	8.250	8.260	533136	0.18	1773798
16	8.312	8.270	8.370	5686910	1.96	2345935
17	8.515	8.465	8.560	2084684	0.72	840531
18	8.779	8.745	8.840	788780	0.27	327065
19	9.029	8.995	9.095	4613507	1.59	2538919
20	9.261	9.160	9.315	5290700	1.83	1611523
21	9.451	9.415	9.485	620807	0.21	305586
22	9.527	9.485	9.585	7660912	2.64	3851800
23	9.611	9.585	9.640	829233	0.29	494214
24	10.011	9.975	10.050	1079264	0.37	591054
25	10.354	10.315	10.405	1362956	0.47	551438
26	12.862	12.820	12.935	2851612	0.98	1269115
27	13.269	13.235	13.315	770839	0.27	356644
				289784032	100.00	145620517

Komponen senyawa minyak sereh wangi

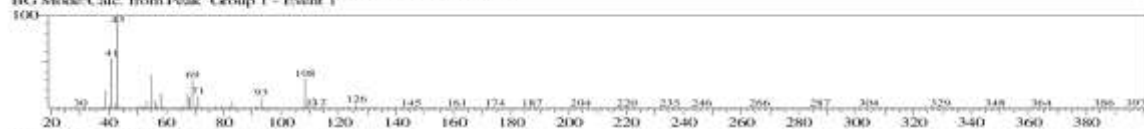
Library

<< Target >>

Line#:1 R.Time:4.055(Scan#:812) MassPeaks:236

RawMode:Averaged 4.050-4.060(811-813) BasePeak:43.05(1048938)

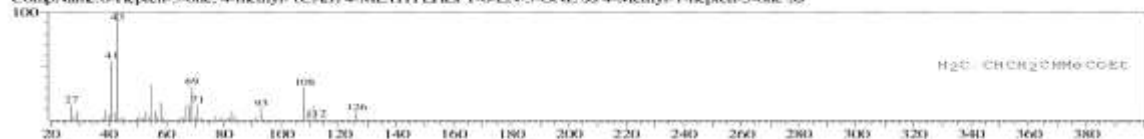
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:18907 Library:WILEY7.LIB

SI:97 Formula:C8 H14 O CAS:26118-97-8 MolWeight:126 RetIndex:0

CompName:6-Hepten-3-one, 4-methyl-, (CAS) 4-METHYLHEPT-6-EN-3-ONE SS 4-Methyl-1-hepten-5-one SS

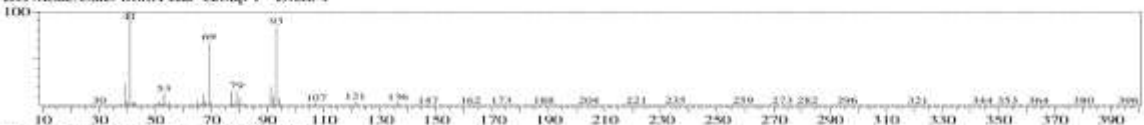


<< Target >>

Line#:2 R.Time:4.125(Scan#:826) MassPeaks:246

RawMode:Averaged 4.120-4.130(825-827) BasePeak:41.10(1973530)

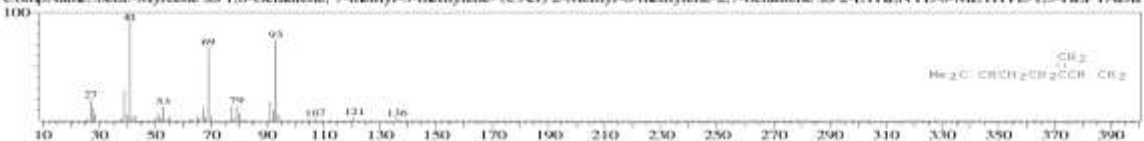
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:26399 Library:WILEY7.LIB

SI:98 Formula:C10 H16 CAS:123-35-3 MolWeight:136 RetIndex:0

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

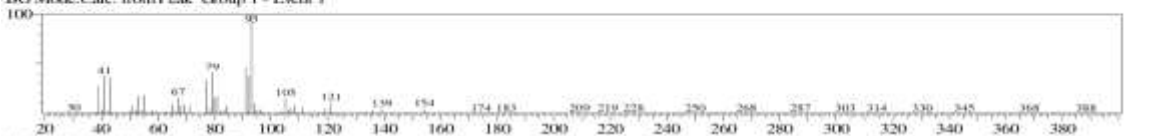


<< Target >>

Line#:3 R.Time:4.725(Scan#:946) MassPeaks:226

RawMode:Averaged 4.720-4.730(945-947) BasePeak:93.10(133904)

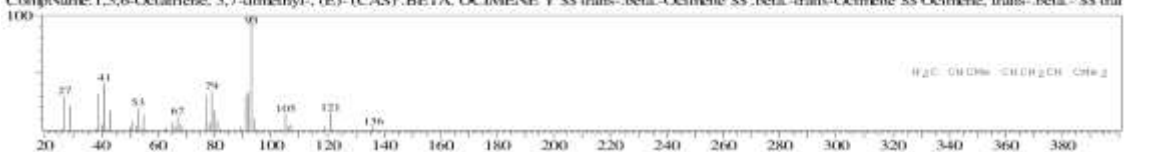
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:26153 Library:WILEY7.LIB

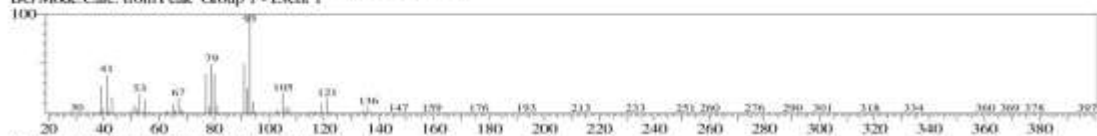
SI:89 Formula:C10 H16 CAS:3779-61-1 MolWeight:136 RetIndex:0

CompName:1,3,6-Octatriene, 3,7-dimethyl-, (E)- (CAS) .BETA. OCIMENE Y SS trans-.beta.-Ocimene SS .beta.-trans-Ocimene SS Ocimene, trans-.beta.- SS tra

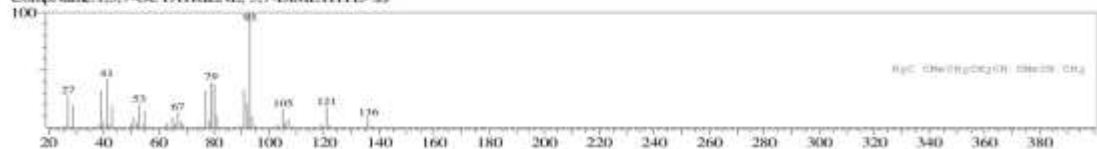


<< Target >>

Line# 4 R-Time: 4.875(Scan#: 976) MassPeaks: 234
 RawMode: Averaged 4.870-4.880(975-977) BasePeak: 93.10(48251)
 BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1

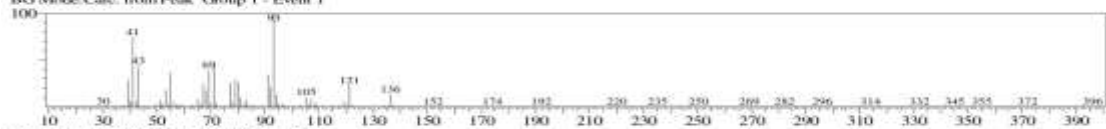


Hit# 1 Entry: 26179 Library: WILEY7.LIB
 SI: 95 Formula: C10 H16 CAS: 502-99-8 MolWeight: 136 RefIndex: 0
 CompName: 1,3,7-OCTATRIENE, 3,7-DIMETHYL- SS

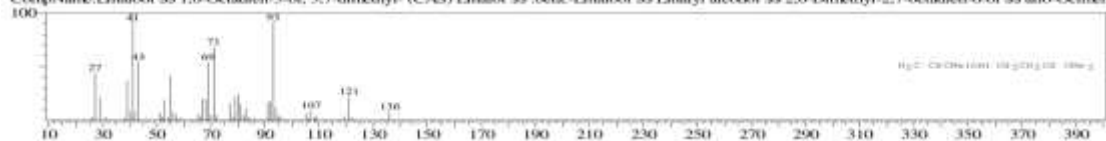


<< Target >>

Line# 5 R-Time: 5.590(Scan#: 1119) MassPeaks: 253
 RawMode: Averaged 5.585-5.595(1118-1120) BasePeak: 93.10(266051)
 BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1

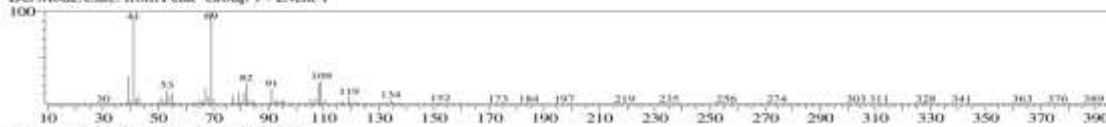


Hit# 1 Entry: 43685 Library: WILEY7.LIB
 SI: 93 Formula: C10 H18 O CAS: 78-70-6 MolWeight: 154 RefIndex: 0
 CompName: Linalool SS 1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl- (CAS) Linalol SS beta-Linalool SS Linalyl alcohol SS 2,6-Dimethyl-2,7-octadien-6-ol SS allo-Ocimen



<< Target >>

Line# 6 R-Time: 6.255(Scan#: 1248) MassPeaks: 223
 RawMode: Averaged 6.230-6.240(1247-1249) BasePeak: 69.10(43130)
 BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1

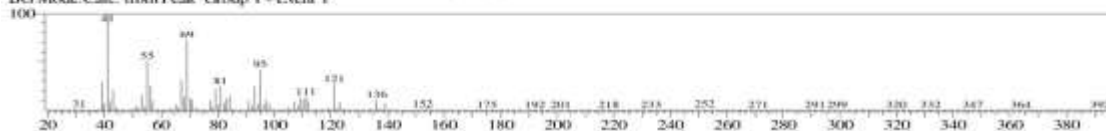


Hit# 1 Entry: 40960 Library: WILEY7.LIB
 SI: 89 Formula: C10 H16 O CAS: 106-26-3 MolWeight: 152 RefIndex: 0
 CompName: Z-Citral SS 2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl-, (Z)- (CAS) Neral SS beta-Citral SS cis-Citral SS Citral b SS cis-3,7-Dimethyl-2,6-octadienal SS (Z)-3,7-

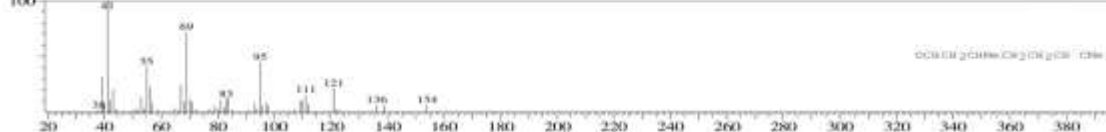


<< Target >>

Line# 7 R-Time: 6.355(Scan#: 1272) MassPeaks: 230
 RawMode: Averaged 6.330-6.360(1271-1273) BasePeak: 41.10(39041)
 BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1

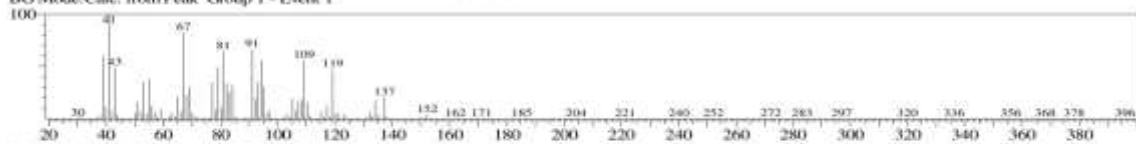


Hit# 1 Entry: 43606 Library: WILEY7.LIB
 SI: 93 Formula: C10 H18 O CAS: 106-23-0 MolWeight: 154 RefIndex: 0
 CompName: CITRONELLA SS 6-Octenal, 3,7-dimethyl- (CAS) Citronellal SS Rhodinol SS beta-Citronellal SS 3,7-Dimethyl-6-octenal SS 2,3-Dihydrocitral SS

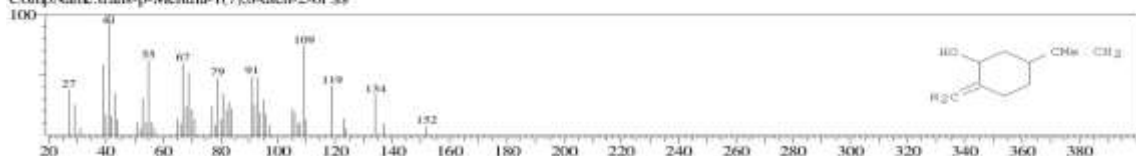


<< Target >>

Line#:8 R-Time:6.515(Scan#:1304) MassPeaks:229
 RawMode:Averaged 6.510-6.520(1303-1305) BasePeak:41.10(68005)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1

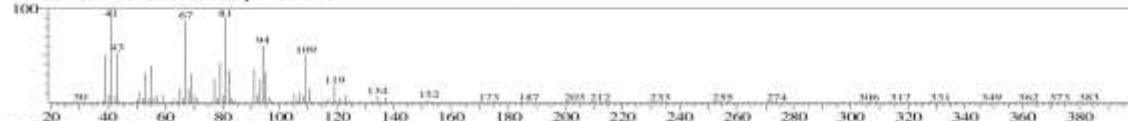


Hit#:1 Entry:41129 Library:WILEY7.LIB
 SI:88 Formula:C10 H16 O CAS:2102-62-7 MolWeight:152 RetIndex:0
 CompName:trans-p-Mentha-1(7),8-dien-2-ol SS

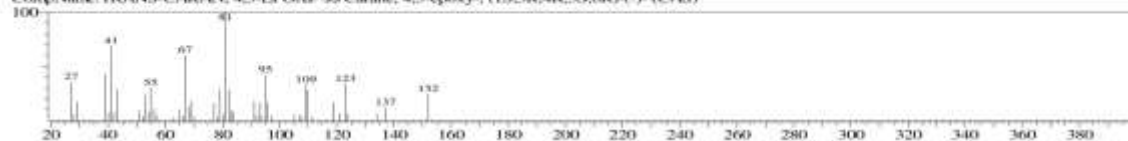


<< Target >>

Line#:9 R-Time:6.775(Scan#:1556) MassPeaks:251
 RawMode:Averaged 6.770-6.780(1555-1557) BasePeak:41.10(185459)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:40345 Library:WILEY7.LIB
 SI:87 Formula:C10 H16 O CAS:6909-20-2 MolWeight:152 RetIndex:0
 CompName:TRANS-CARAN, 4,5-EPOXI-SS Carane, 4,5-epoxy-, (1S,3R,4R,5S,6R)-(-) (CAS)

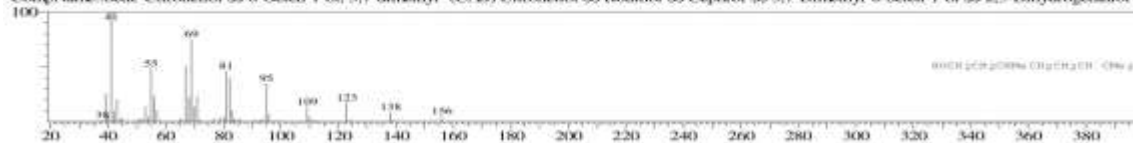


<< Target >>

Line#:10 R-Time:7.440(Scan#:1489) MassPeaks:264
 RawMode:Averaged 7.435-7.445(1488-1490) BasePeak:41.10(141990)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:46127 Library:WILEY7.LIB
 SI:93 Formula:C10 H20 O CAS:106-22-9 MolWeight:156 RetIndex:0
 CompName:.beta.-Citronellol SS 6-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl- (CAS) Citronellol SS Rodinol SS Cephol SS 3,7-Dimethyl-6-octen-1-ol SS 2,3-Dihydrogeraniol SS



<< Target >>

Line#:11 R-Time:7.680(Scan#:1537) MassPeaks:292
 RawMode:Averaged 7.675-7.685(1536-1538) BasePeak:41.10(8243248)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1

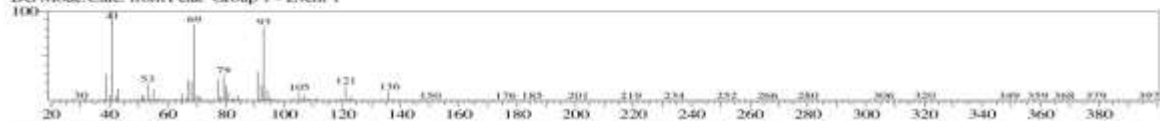


Hit#:1 Entry:40960 Library:WILEY7.LIB
 SI:96 Formula:C10 H16 O CAS:106-26-3 MolWeight:152 RetIndex:0
 CompName:Z-Citral SS 2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl-, (Z)- (CAS) Neral SS .beta.-Citral SS cis-Citral SS Citral b SS cis-3,7-Dimethyl-2,6-octadienal SS (Z)-3,7-



<< Target >>

Line#: 12 R-Time: 7.820(Scan#: 1565) MassPeaks: 280
 RawMode: Averaged 7.815-7.825(1564-1566) BasePeak: 41.10(601105)
 BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#: 1 Entry: 43647 Library: WILEY7.LIB

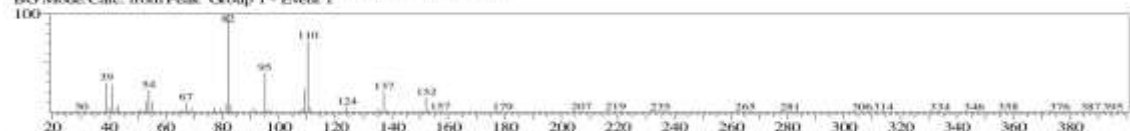
SE: 95 Formula: C10 H18 O CAS: 106-25-2 MolWeight: 154 RetIndex: 0

CompName: Nerol SS 2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, (Z)- (CAS) cis-Geraniol SS Neryl alcohol SS Geranyl Alcohol SS cis-3,7-Dimethyl-2,6-octadien-1-ol SS



<< Target >>

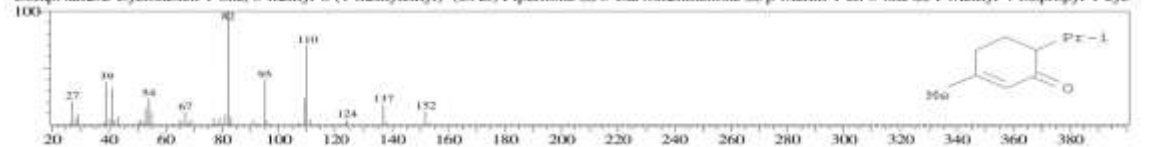
Line#: 13 R-Time: 7.910(Scan#: 1583) MassPeaks: 206
 RawMode: Averaged 7.905-7.915(1582-1584) BasePeak: 82.10(37038)
 BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#: 1 Entry: 41056 Library: WILEY7.LIB

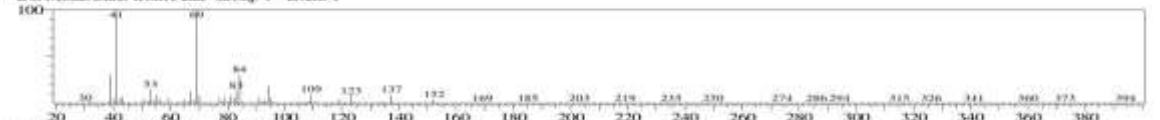
SE: 96 Formula: C10 H16 O CAS: 89-81-6 MolWeight: 152 RetIndex: 0

CompName: 2-Cyclohexen-1-one, 3-methyl-6-(1-methylethyl)- (CAS) Piperitone SS 3-Carvomenthenone SS p-Menth-1-en-3-one SS 1-Methyl-4-isopropyl-1-cyc



<< Target >>

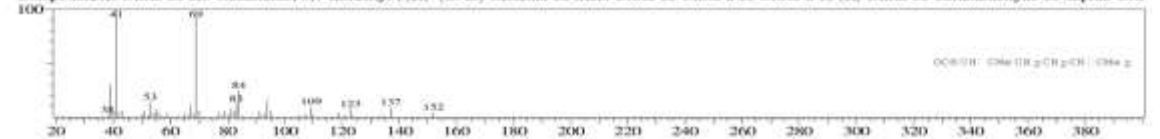
Line#: 14 R-Time: 8.085(Scan#: 1618) MassPeaks: 366
 RawMode: Averaged 8.080-8.090(1617-1619) BasePeak: 41.10(5536195)
 BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#: 1 Entry: 40948 Library: WILEY7.LIB

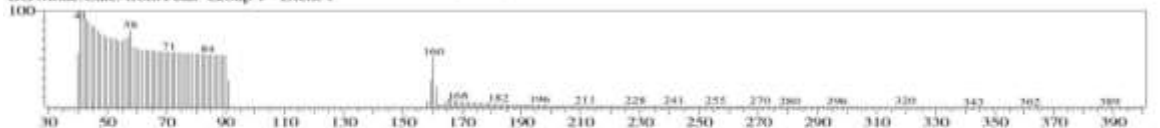
SE: 98 Formula: C10 H16 O CAS: 141-27-5 MolWeight: 152 RetIndex: 0

CompName: E-Citral SS 2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl-, (E)- (CAS) Geraniol SS trans-Citral SS Citral a SS Citral-a SS (E)-Citral SS Geranaldehyde SS alpha-Citr



<< Target >>

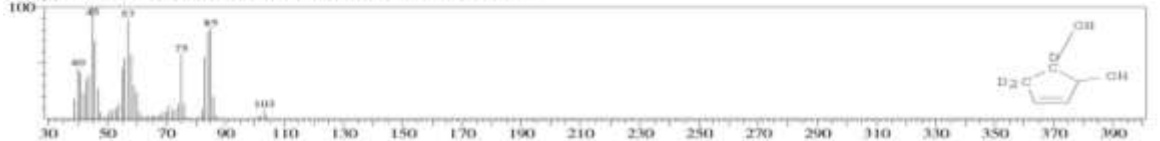
Line#: 15 R-Time: 8.255(Scan#: 1652) MassPeaks: 293
 RawMode: Averaged 8.250-8.260(1651-1653) BasePeak: 40.95(15662)
 BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#: 1 Entry: 6514 Library: WILEY7.LIB

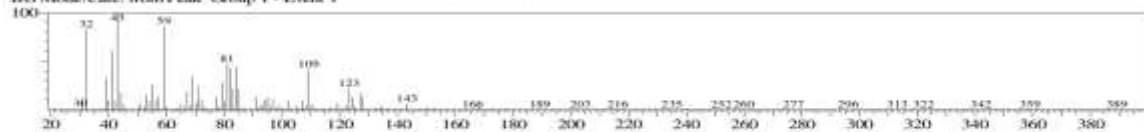
SE: 71 Formula: C5 H8 D3 O2 CAS: 53669-26-4 MolWeight: 100 RetIndex: 0

CompName: 4,5,5-D3-TRANS-3,4-DIHYDROXY-CYCLOPENTENE SS

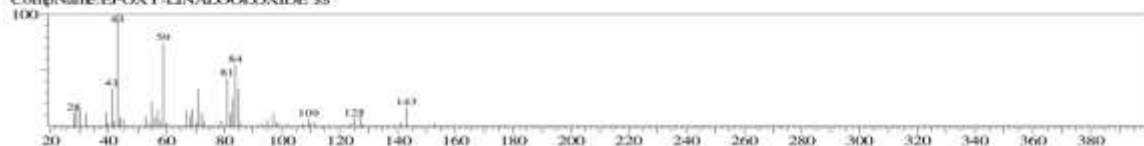


<< Target >>

Line#:16 R-Time:8.310(Scan#:1663) MassPeaks:289
 RawMode:Averaged 8.305-8.315(1662-1664) BasePeak:43.10(199367)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1

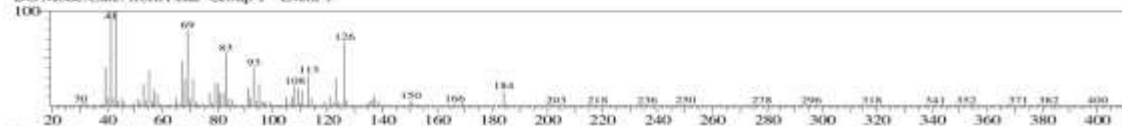


Hit#:1 Entry:78205 Library:WILEY7.LIB
 SE:80 Formula:C10 H18 O3 CAS:0-00-0 MolWeight:186 RetIndex:0
 CompName:EPOXY-LINALOOLOXIDE SS

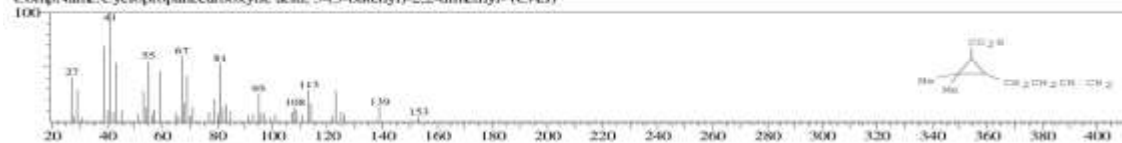


<< Target >>

Line#:17 R-Time:8.515(Scan#:1704) MassPeaks:269
 RawMode:Averaged 8.510-8.520(1703-1705) BasePeak:41.10(67655)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:57523 Library:WILEY7.LIB
 SE:78 Formula:C10 H16 O2 CAS:74779-76-3 MolWeight:168 RetIndex:0
 CompName:Cyclopropanecarboxylic acid, 3-(3-butenyl)-2,2-dimethyl- (CAS)



<< Target >>

Line#:18 R-Time:8.780(Scan#:1757) MassPeaks:245
 RawMode:Averaged 8.775-8.785(1756-1758) BasePeak:69.10(72279)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1

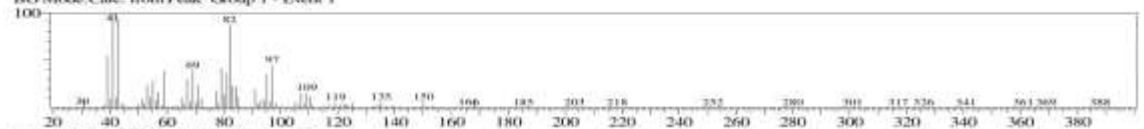


Hit#:1 Entry:57803 Library:WILEY7.LIB
 SE:92 Formula:C10 H16 O2 CAS:0-00-0 MolWeight:168 RetIndex:0
 CompName:NEROLIC ACID SS

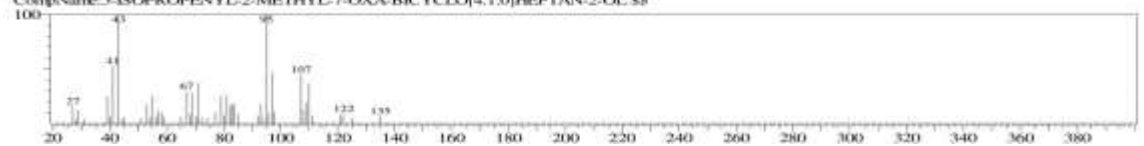


<< Target >>

Line#:19 R-Time:9.030(Scan#:1807) MassPeaks:279
 RawMode:Averaged 9.025-9.035(1806-1808) BasePeak:41.10(215286)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1

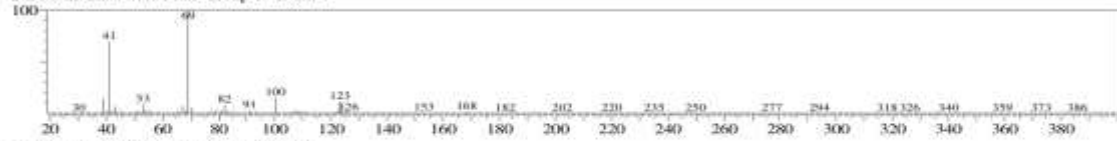


Hit#:1 Entry:57842 Library:WILEY7.LIB
 SE:82 Formula:C10 H16 O2 CAS:0-00-0 MolWeight:168 RetIndex:0
 CompName:5-ISOPROPENYL-2-METHYL-7-OXA-BICYCLO[4.1.0]HEPTAN-2-OL SS

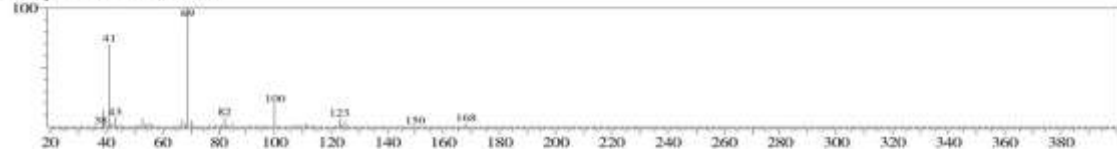


<< Target >>

Line#:20 R.Time:9.260(Scan#:1853) MassPeaks:249
 RawMode:Averaged 9.255-9.265(1852-1854) BasePeak:69.10(461254)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1

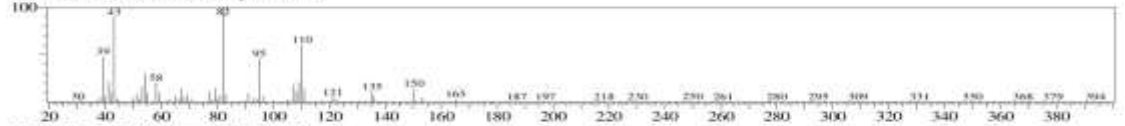


Hit#:1 Entry:57803 Library:WILEY7.LIB
 SI:96 Formula:C10 H16 O2 CAS:0-00-0 MolWeight:168 RetIndex:0
 CompName:NERIC ACID SS

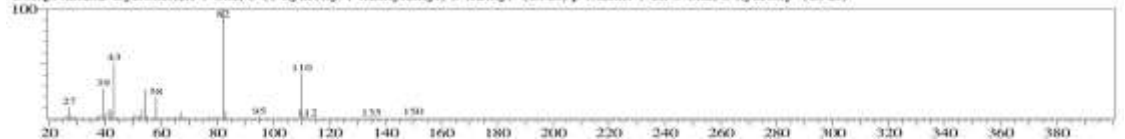


<< Target >>

Line#:21 R.Time:9.450(Scan#:1891) MassPeaks:244
 RawMode:Averaged 9.445-9.455(1890-1892) BasePeak:82.05(37403)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1

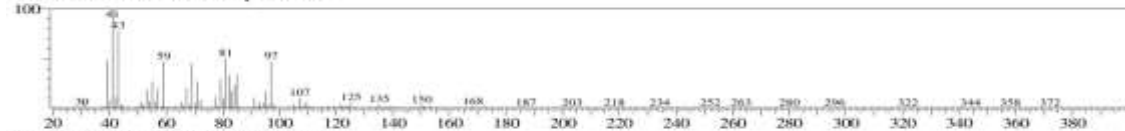


Hit#:1 Entry:57872 Library:WILEY7.LIB
 SI:80 Formula:C10 H16 O2 CAS:87791-00-2 MolWeight:168 RetIndex:0
 CompName:2-Cyclohexen-1-one, 6-(1-hydroxy-1-methylethyl)-3-methyl- (CAS) p-Menth-1-en-3-one, 8-hydroxy- (CAS)

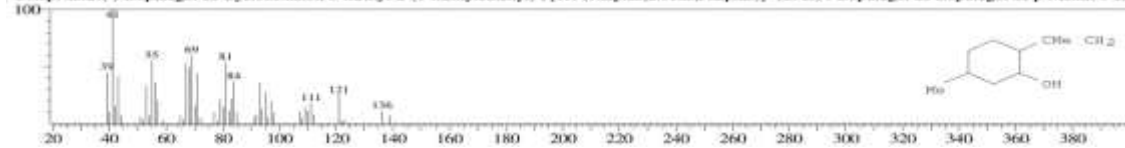


<< Target >>

Line#:22 R.Time:9.525(Scan#:1906) MassPeaks:264
 RawMode:Averaged 9.520-9.530(1905-1907) BasePeak:41.10(392577)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1

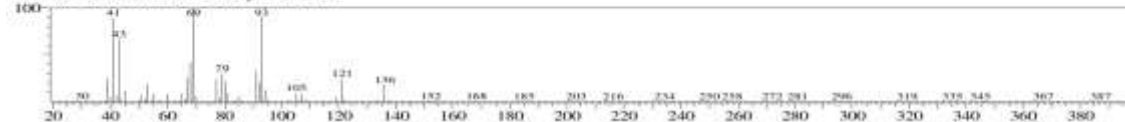


Hit#:1 Entry:43851 Library:WILEY7.LIB
 SI:83 Formula:C10 H18 O CAS:89-79-2 MolWeight:154 RetIndex:0
 CompName:(-)-Isopulegol SS Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-, [1R-(1.alpha.,2.beta.,5.alpha.)]- (CAS) l-Isopulegol SS Isopulegol SS p-Menth-8-en

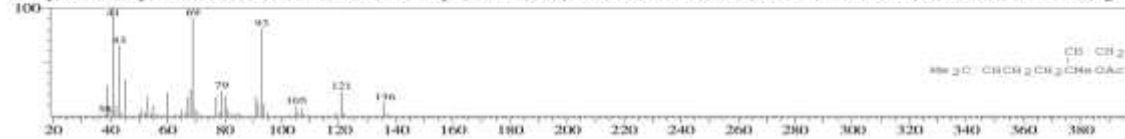


<< Target >>

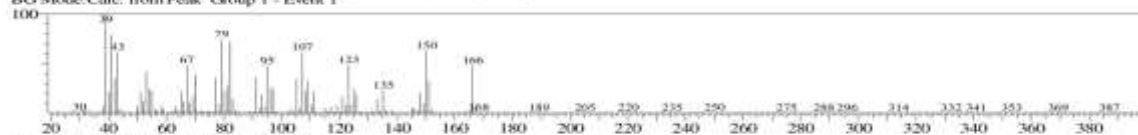
Line#:23 R.Time:9.610(Scan#:1923) MassPeaks:205
 RawMode:Averaged 9.605-9.615(1922-1924) BasePeak:69.10(51401)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:90995 Library:WILEY7.LIB
 SI:94 Formula:C12 H20 O2 CAS:115-95-7 MolWeight:196 RetIndex:0
 CompName:Linalyl acetate SS 1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-, acetate (CAS) ETHANOIC ACID,3,7-DIMETHYL-1,6-OCTADIEN-3-OL ESTER SS Bergamot



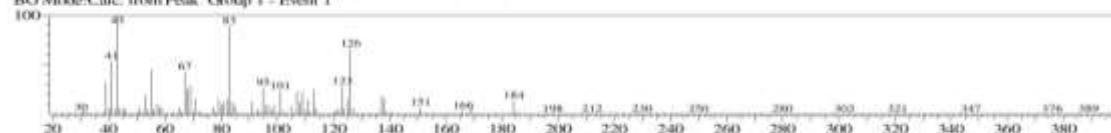
<< Target >>
 Line#:24 R.Time:10.010(Scan#:2003) MassPeaks:248
 RawMode:Averaged 10.005-10.015(2002-2004) BasePeak:39.10(33764)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



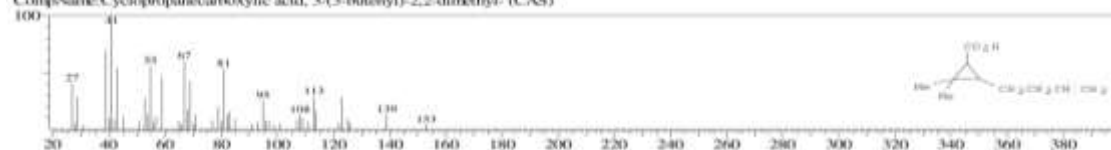
Hlr#:1 Entry:38785 Library:WILEY7.LIB
 SI:77 Formula:C10 H14 O CAS:80-57-9 MolWeight:150 RetIndex:0
 CompName:Bicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-one, 4,6,6-trimethyl- (CAS) Berberone SS 2-Pinen-4-one SS Verbenone SS VERBENON SS



<< Target >>
 Line#:25 R.Time:10.355(Scan#:2072) MassPeaks:249
 RawMode:Averaged 10.350-10.360(2071-2073) BasePeak:43.10(30816)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



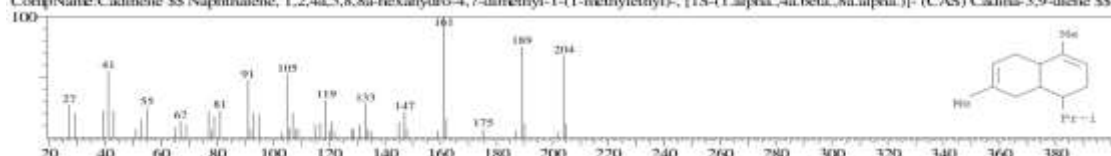
Hlr#:1 Entry:57523 Library:WILEY7.LIB
 SI:78 Formula:C10 H16 O2 CAS:74779-76-3 MolWeight:168 RetIndex:0
 CompName:Cyclopropanecarboxylic acid, 3-(3-butyl)-2,2-dimethyl- (CAS)



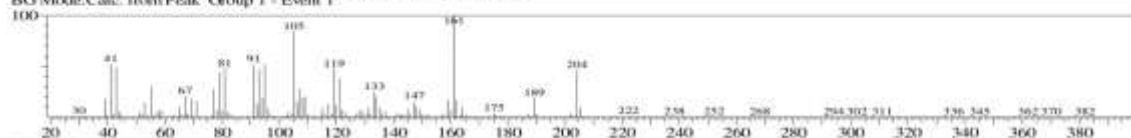
<< Target >>
 Line#:26 R.Time:12.860(Scan#:2573) MassPeaks:252
 RawMode:Averaged 12.855-12.865(2572-2574) BasePeak:161.15(89172)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



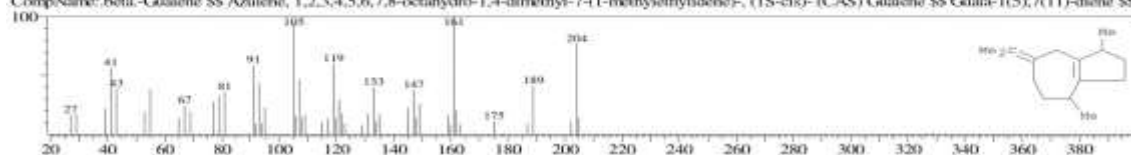
Hlr#:1 Entry:100879 Library:WILEY7.LIB
 SI:92 Formula:C15 H24 CAS:523-47-7 MolWeight:204 RetIndex:0
 CompName:Cadinene SS Naphthalene, 1,2,4a,5,8,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-, [1S-(1.alpha.,4a.beta.,8a.alpha.)]- (CAS) Cadin-3,9-diene SS



<< Target >>
 Line#:27 R.Time:13.270(Scan#:2655) MassPeaks:278
 RawMode:Averaged 13.265-13.275(2654-2656) BasePeak:161.15(24591)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hlr#:1 Entry:100819 Library:WILEY7.LIB
 SI:89 Formula:C15 H24 CAS:88-84-6 MolWeight:204 RetIndex:0
 CompName:beta-Guaiene SS Azulene, 1,2,3,4,5,6,7,8-octahydro-1,4-dimethyl-7-(1-methylethylidene)-, (1S-cis)- (CAS) Guaiene SS Guaiia-1(5),7(11)-diene SS

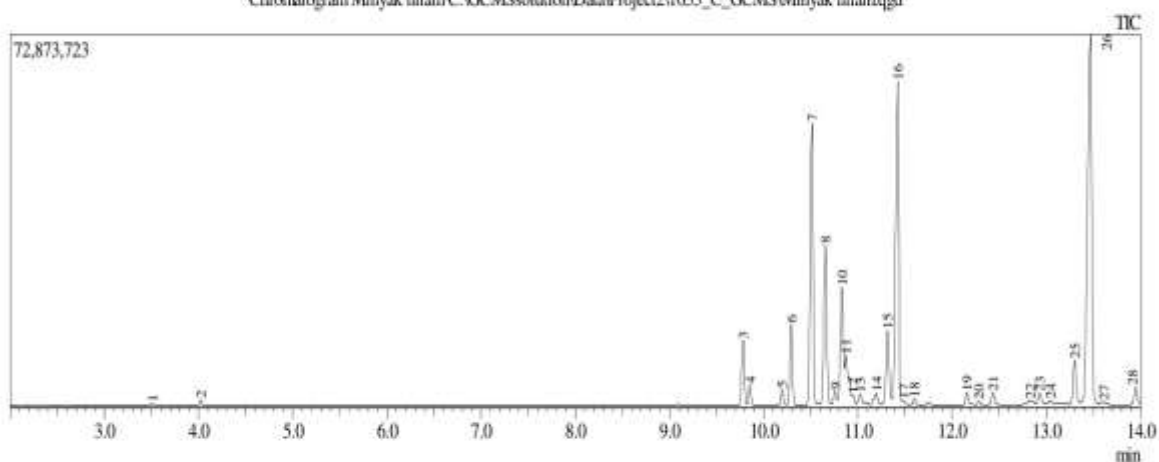


Kromatogram minyak atsiri nilam

Analyzed by : Admin
 Analyzed : 4/9/2018 11:02:27 AM
 Sample Name : Minyak nilam
 Sample ID : 1
 Injection Volume : 0.10
 Data File : C:\GCMSsolution\Data\Project2\1655_C_GCMS\Minyak nilam.qgd
 Tuning File : C:\GCMSsolution\System1\Tuning 01082017.qgt

Sample Information

Chromatogram Minyak nilam C:\GCMSsolution\Data\Project2\1655_C_GCMS\Minyak nilam.qgd

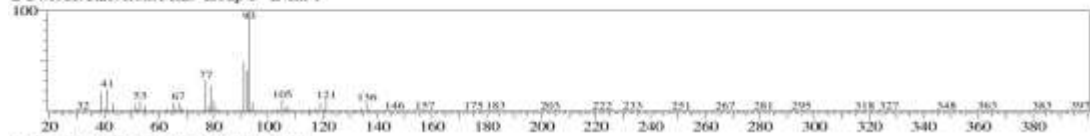


Peak Report TIC						
Peak#	R.Time	LTime	F.Time	Area	Area%	Height
1	3.510	3.485	3.540	646530	0.08	500521
2	4.024	3.990	4.060	1622424	0.20	1157302
3	9.782	9.730	9.820	24309440	2.99	12689550
4	9.854	9.820	9.900	6597425	0.81	3823501
5	10.195	10.150	10.235	5899693	0.73	3081793
6	10.293	10.235	10.360	30918865	3.80	15919626
7	10.513	10.445	10.585	120832008	14.87	55028558
8	10.655	10.585	10.720	66298467	8.16	31279414
9	10.758	10.720	10.785	5446637	0.67	2698755
10	10.831	10.785	10.860	51096205	6.29	22903360
11	10.874	10.860	10.935	25201455	3.10	9481128
12	10.947	10.935	10.985	2852084	0.35	1848442
13	11.025	10.985	11.060	3389107	0.42	1892270
14	11.199	11.130	11.240	5991934	0.74	2196320
15	11.316	11.240	11.360	34285579	4.22	14497404
16	11.423	11.360	11.465	146282328	18.00	63223091
17	11.485	11.465	11.530	1747924	0.22	845885
18	11.603	11.530	11.650	2399450	0.30	1210936
19	12.158	12.115	12.200	5020759	0.62	2381840
20	12.285	12.200	12.330	1545028	0.19	689237
21	12.437	12.385	12.510	5485176	0.67	2340670
22	12.833	12.775	12.890	2838724	0.35	707056
23	12.932	12.890	12.985	5129014	0.63	2140550
24	13.046	12.985	13.085	1802325	0.22	711221
25	13.304	13.255	13.350	18864852	2.32	8664553
26	13.471	13.350	13.570	229171328	28.20	72237065
27	13.610	13.570	13.695	1946567	0.24	552646
28	13.952	13.890	13.975	5063448	0.62	2896910
				812684776	100.00	337599604

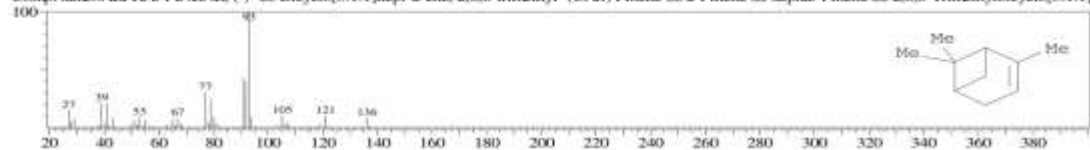
Komponen senyawa minyak atsiri nilam

<< Target >>

Line#1 R.Time:3.510(Scan#:703) MassPeaks:218
RawMode:Averaged 3.505-3.515(702-704) BasePeak:93.10(97845)
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1

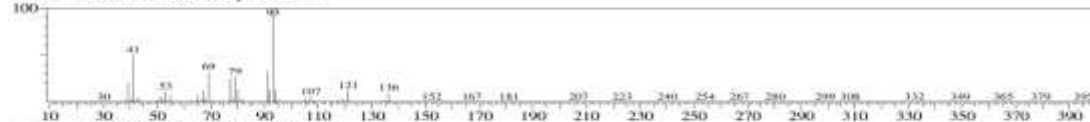


Hit#:1 Entry:26444 Library:WILEY7.LIB
SI:97 Formula:C10 H16 CAS:80-56-8 MolWeight:136 RetIndex:0
CompName:ALPHA-PINENE (-)- SS Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene, 2,6,6-trimethyl- (CAS) Pinene SS 2-Pinene SS alpha.-Pinene SS 2,6,6-Trimethylbicyclo[3.1.1]

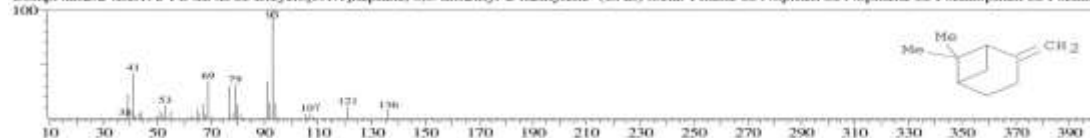


<< Target >>

Line#2 R.Time:4.025(Scan#:806) MassPeaks:251
RawMode:Averaged 4.020-4.030(805-807) BasePeak:93.10(225700)
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1

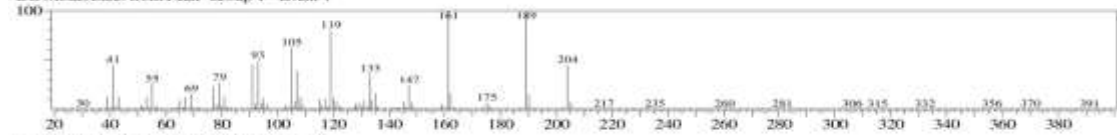


Hit#:1 Entry:26471 Library:WILEY7.LIB
SI:96 Formula:C10 H16 CAS:127-91-3 MolWeight:136 RetIndex:0
CompName:2.-BETA-PINENE SS Bicyclo[3.1.1]heptane, 6,6-dimethyl-2-methylen- (CAS) .beta.-Pinene SS Nopinene SS Nopinene SS Pseudopinene SS Pseudo

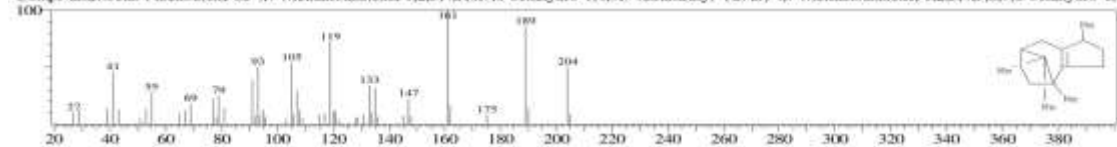


<< Target >>

Line#3 R.Time:9.780(Scan#:1957) MassPeaks:289
RawMode:Averaged 9.775-9.785(1956-1958) BasePeak:161.20(1100745)
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1

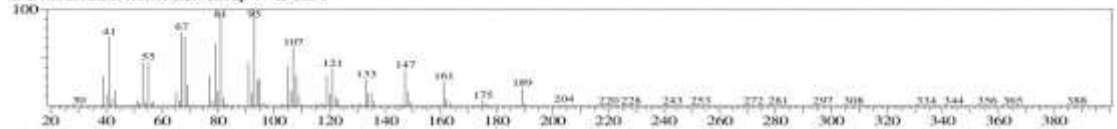


Hit#:1 Entry:100863 Library:WILEY7.LIB
SI:97 Formula:C15 H24 CAS:514-51-2 MolWeight:204 RetIndex:0
CompName:.beta.-Patchouline SS 4,7-Methanoazulene, 1,2,3,4,5,6,7,8-octahydro-1,4,9,9-tetramethyl- (CAS) 4,7-Methanoazulene, 1,2,3,4,5,6,7,8-octahydro-1,

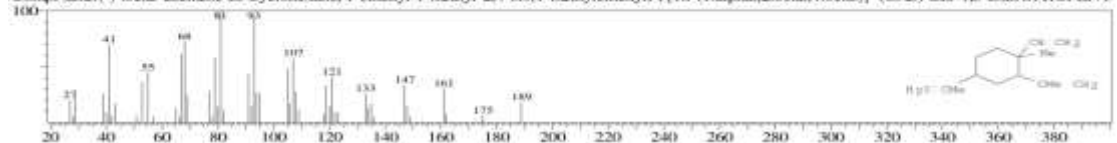


<< Target >>

Line#4 R.Time:9.855(Scan#:1972) MassPeaks:271
RawMode:Averaged 9.850-9.860(1971-1973) BasePeak:93.10(253114)
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:100726 Library:WILEY7.LIB
SI:97 Formula:C15 H24 CAS:515-13-9 MolWeight:204 RetIndex:0
CompName:(-)-.beta.-Elemene SS Cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2,4-bis(1-methylethenyl)-, [1S-(1.alpha.,2.beta.,4.beta.)]- (CAS) CIS-1,3-DIOSPROPENY



<< Target >>

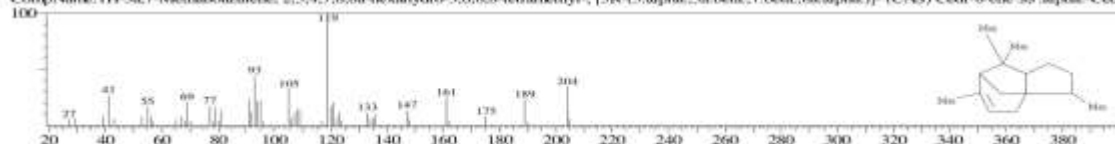
Line#:5 R.Time:10.195(Scan#:2040) MassPeaks:247
 RawMode:Averaged 10.190-10.200(2039-2041) BasePeak:123.15(435154)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:100825 Library:WILEY7.LIB

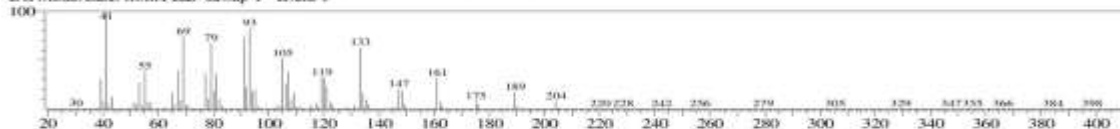
SI:83 Formula:C15 H24 CAS:469-61-4 MolWeight:204 RefIndex:0

CompName:1H-3a,7-Methanonaphthalene, 2,3,4,7,8,8a-hexahydro-3,6,8,8-tetramethyl-, [1R-(1.alpha.,3a.beta.,7.beta.,8a.alpha.)]- (CAS) Cedr-8-one SS .alpha.-Cedr



<< Target >>

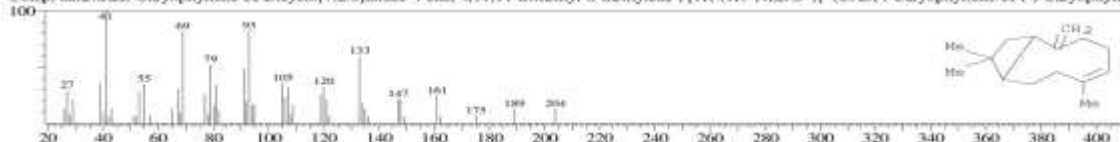
Line#:6 R.Time:10.295(Scan#:2060) MassPeaks:284
 RawMode:Averaged 10.290-10.300(2059-2061) BasePeak:41.10(134854)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:100774 Library:WILEY7.LIB

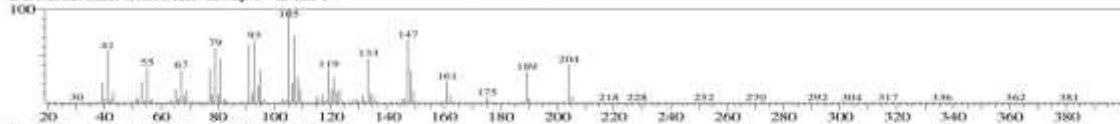
SI:96 Formula:C15 H24 CAS:87-44-5 MolWeight:204 RefIndex:0

CompName:trans-Caryophyllene SS Bicyclo[7.2.0]undec-4-ene, 4,11,11-trimethyl-8-methylene-, [1R-(1R*,4E,9S*)]- (CAS) l-Caryophyllene SS (-)-Caryophyll



<< Target >>

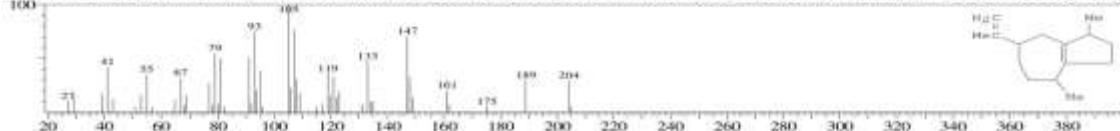
Line#:7 R.Time:10.515(Scan#:2104) MassPeaks:275
 RawMode:Averaged 10.510-10.520(2103-2105) BasePeak:105.10(3922502)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:100814 Library:WILEY7.LIB

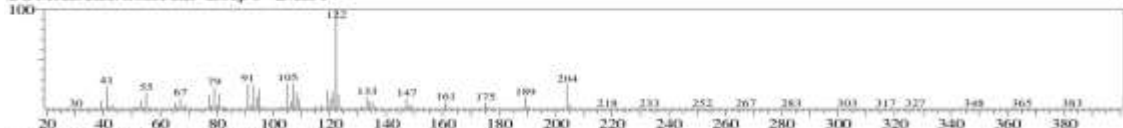
SI:96 Formula:C15 H24 CAS:3691-12-1 MolWeight:204 RefIndex:0

CompName:.alpha.-Guaiane SS Azulene, 1,2,3,4,5,6,7,8-octahydro-1,4-dimethyl-7-(1-methylethyl)-, [1S-(1.alpha.,4.alpha.,7.alpha.)]- (CAS) .ALPHA.-GUAI



<< Target >>

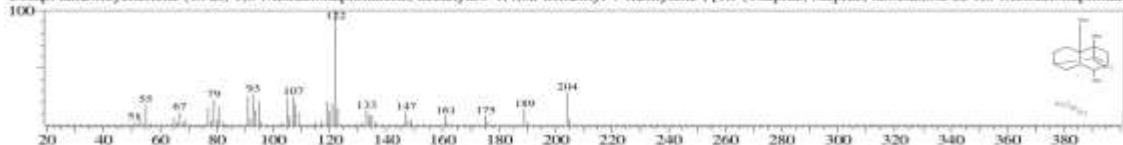
Line#:8 R.Time:10.655(Scan#:2132) MassPeaks:255
 RawMode:Averaged 10.650-10.660(2131-2133) BasePeak:122.15(4608022)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:101091 Library:WILEY7.LIB

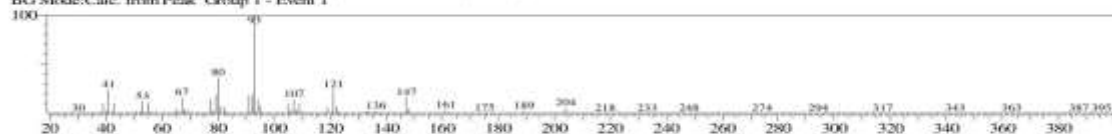
SI:95 Formula:C15 H24 CAS:20085-93-2 MolWeight:204 RefIndex:0

CompName:Seychellene (CAS) 1,6-Methanonaphthalene, decahydro-1,4,8a-trimethyl-9-methylene-, [1S-(1.alpha.,4.alpha.,4a.beta.,6.a) SS 1,6-Methanonaphthal



<< Target >>

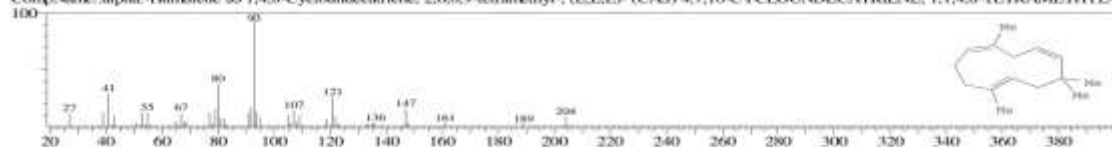
Line#:9 R.Time:10.755(Scan#:2152) MassPeaks:219
 RawMode:Averaged 10.750-10.760(2151-2153) BasePeak:93.10(434357)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:100736 Library:WILEY7.LIB

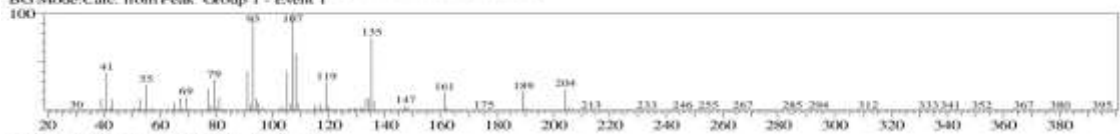
SI:97 Formula:C15 H24 CAS:6753-98-6 MolWeight:204 RetIndex:0

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



<< Target >>

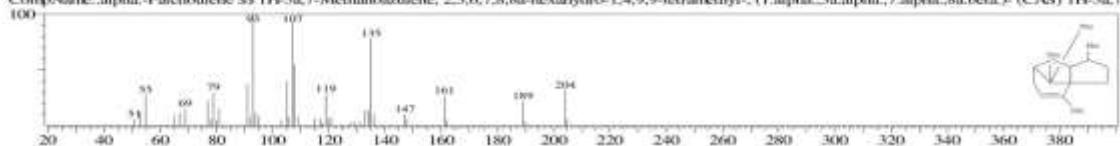
Line#:10 R.Time:10.830(Scan#:2167) MassPeaks:269
 RawMode:Averaged 10.825-10.835(2166-2168) BasePeak:107.15(1936611)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:100861 Library:WILEY7.LIB

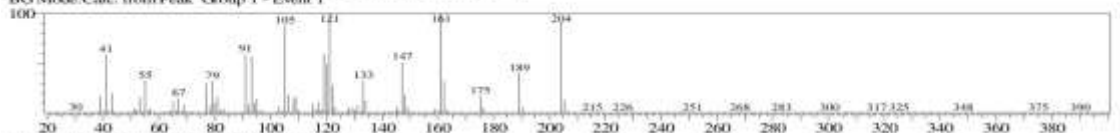
SI:93 Formula:C15 H24 CAS:560-32-7 MolWeight:204 RetIndex:0

CompName:alpha-Patchoulene SS 1H-3a,7-Methanoazulene, 2,3,6,7,8a-hexahydro-1,4,9-tetramethyl-, (1.alpha.,3a.alpha.,7.alpha.,8a.beta.)- (CAS) 1H-3a,7



<< Target >>

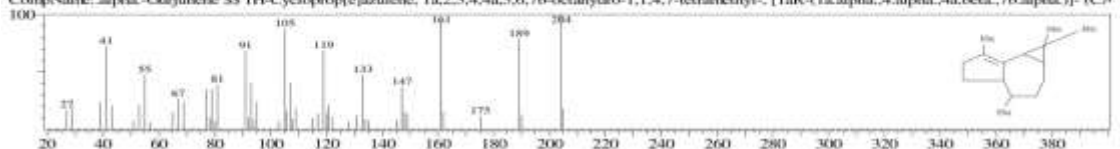
Line#:11 R.Time:10.075(Scan#:2176) MassPeaks:259
 RawMode:Averaged 10.870-10.880(2175-2177) BasePeak:161.15(246532)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:100994 Library:WILEY7.LIB

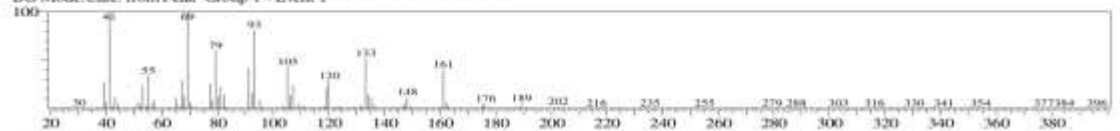
SI:89 Formula:C15 H24 CAS:489-40-7 MolWeight:204 RetIndex:0

CompName:alpha-Gurjunene SS 1H-Cycloprop[er]azulene, 1a,2,3,4,4a,5,6,7b-octahydro-1,1,4,7-tetramethyl-, [1aR-(1a.alpha.,4.alpha.,4a.beta.,7b.alpha.)]- (CA



<< Target >>

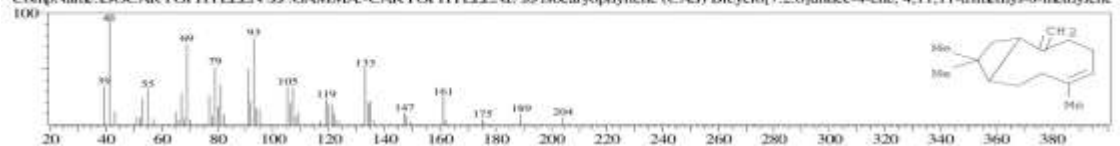
Line#:12 R.Time:10.945(Scan#:2190) MassPeaks:244
 RawMode:Averaged 10.940-10.950(2189-2191) BasePeak:69.10(49757)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:100800 Library:WILEY7.LIB

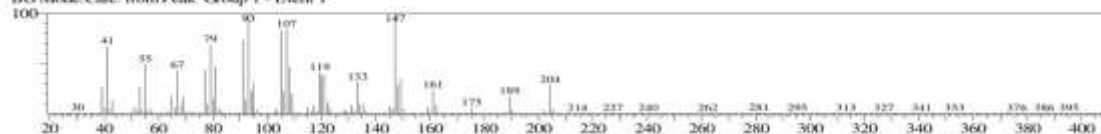
SI:90 Formula:C15 H24 CAS:118-65-0 MolWeight:204 RetIndex:0

CompName:ISOCARYOPHYLLEN SS .GAMMA.-CARYOPHYLLENE SS isocaryophyllene (CAS) Bicyclo[7.2.0]undec-4-ene, 4,11,11-trimethyl-8-methylene



<< Target >>

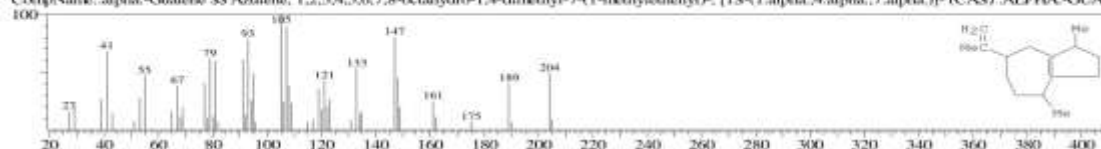
Line#:13 R-Time:11.025(Scan#:2206) MassPeaks:267
 RawMode:Averaged 11.020-11.030(2205-2207) BasePeak:147,151(14947)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:100813 Library:WILEY7.LIB

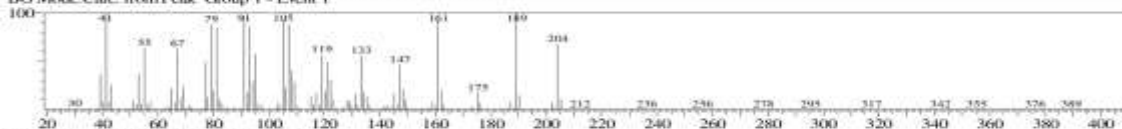
SI:93 Formula:C15 H24 CAS:3691-12-1 MolWeight:204 RefIndex:0

CompName:alpha-Guaiene SS Azulene, 1,2,3,4,5,6,7,8-octahydro-1,4-dimethyl-7-(1-methylethenyl)-, [1S-(1.alpha.,4.alpha.,7.alpha.)]- (CAS) ALPHA-GUAI



<< Target >>

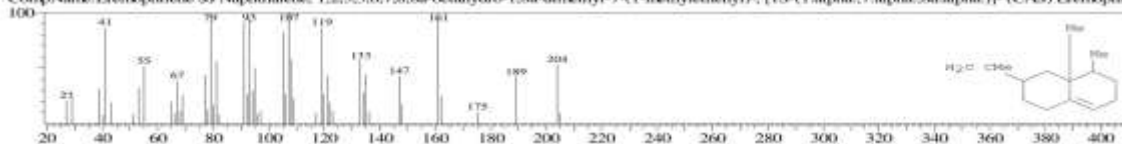
Line#:14 R-Time:11.200(Scan#:2241) MassPeaks:268
 RawMode:Averaged 11.195-11.205(2240-2242) BasePeak:189,200(93810)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:100902 Library:WILEY7.LIB

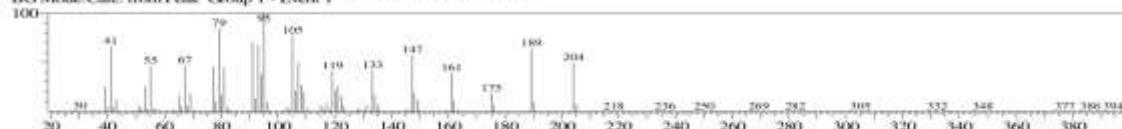
SI:91 Formula:C15 H24 CAS:10219-75-7 MolWeight:204 RefIndex:0

CompName:Eremophilene SS Naphthalene, 1,2,3,5,6,7,8,8a-octahydro-1,8a-dimethyl-7-(1-methylethenyl)-, [1S-(1.alpha.,7.alpha.,8a.alpha.)]- (CAS) Eremophil



<< Target >>

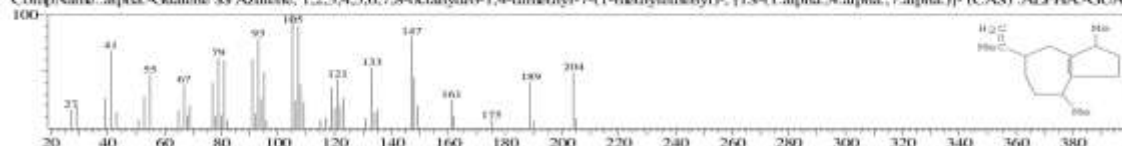
Line#:15 R-Time:11.315(Scan#:2264) MassPeaks:273
 RawMode:Averaged 11.310-11.320(2263-2265) BasePeak:95,15(849213)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:100813 Library:WILEY7.LIB

SI:92 Formula:C15 H24 CAS:3691-12-1 MolWeight:204 RefIndex:0

CompName:alpha-Guaiene SS Azulene, 1,2,3,4,5,6,7,8-octahydro-1,4-dimethyl-7-(1-methylethenyl)-, [1S-(1.alpha.,4.alpha.,7.alpha.)]- (CAS) ALPHA-GUAI



<< Target >>

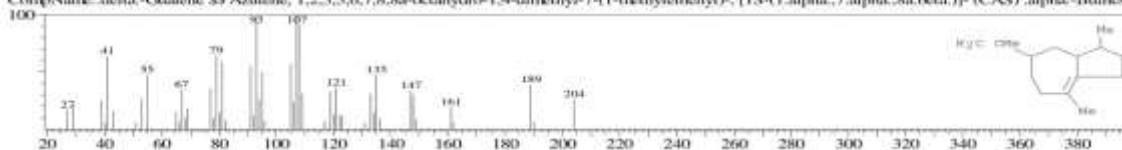
Line#:16 R-Time:11.425(Scan#:2286) MassPeaks:272
 RawMode:Averaged 11.420-11.430(2285-2287) BasePeak:107,15(4228631)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:100821 Library:WILEY7.LIB

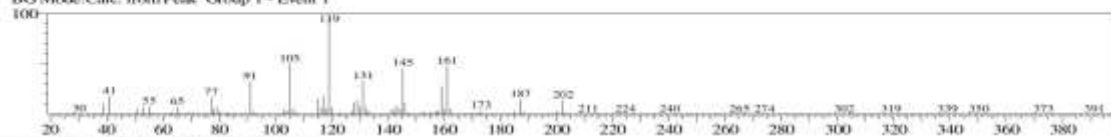
SI:96 Formula:C15 H24 CAS:3691-11-0 MolWeight:204 RefIndex:0

CompName:delta-Guaiene SS Azulene, 1,2,3,5,6,7,8,8a-octahydro-1,4-dimethyl-7-(1-methylethenyl)-, [1S-(1.alpha.,7.alpha.,8a.beta.)]- (CAS) alpha-Bulnesol



<< Target >>

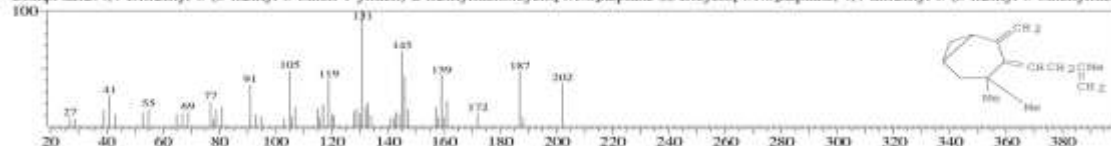
Line#:17 R.Time:11.485(Scan#:2298) MassPeaks:223
 RawMode:Averaged 11.480-11.490(2297-2299) BasePeak:119.10(50228)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:98232 Library:WILEY7.LIB

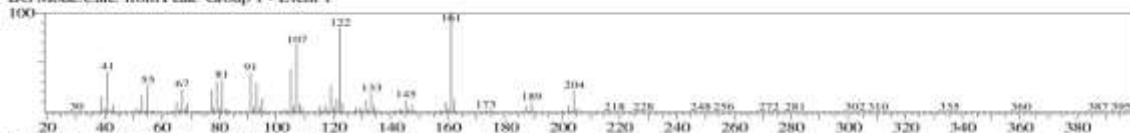
SI:77 Formula:C15 H22 CAS:79718-83-5 MolWeight:202 RetIndex:0

CompName:4,4-Dimethyl-3-(3-methyl-3-buten-1-yliden)-2-methylidenebicyclo[4.1.0]heptane SS Bicyclo[4.1.0]heptane, 4,4-dimethyl-3-(3-methyl-3-butenylidene)



<< Target >>

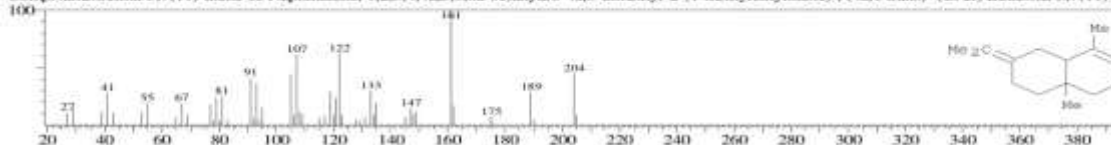
Line#:18 R.Time:11.605(Scan#:2322) MassPeaks:280
 RawMode:Averaged 11.600-11.610(2321-2323) BasePeak:161.15(113443)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:100904 Library:WILEY7.LIB

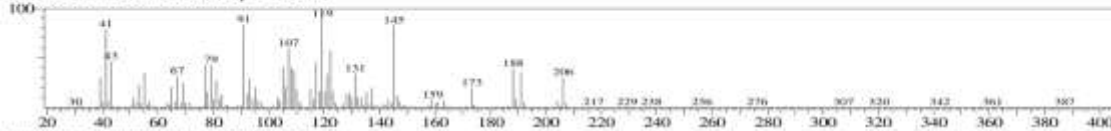
SI:89 Formula:C15 H24 CAS:6813-21-4 MolWeight:204 RetIndex:0

CompName:Selina-3,7(11)-diene SS Naphthalene, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-4a,8-dimethyl-2-(1-methylethylidene)-, (4aR-trans)- (CAS) Eudesma-3,7(11)-diene



<< Target >>

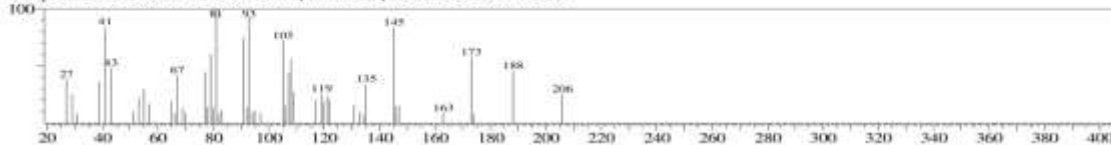
Line#:19 R.Time:12.160(Scan#:2433) MassPeaks:278
 RawMode:Averaged 12.155-12.165(2432-2434) BasePeak:119.15(129057)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:103704 Library:WILEY7.LIB

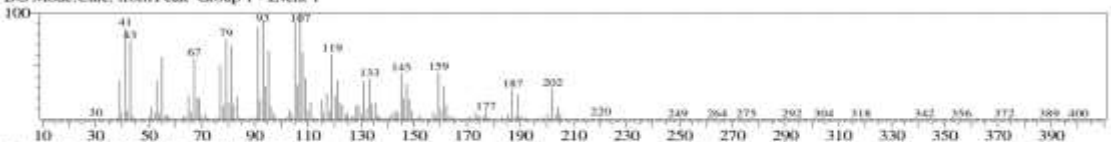
SI:81 Formula:C14 H22 O CAS:0-00-0 MolWeight:206 RetIndex:0

CompName:2-ISOPROPYL-TRICYCLO[4.3.1.1 2.5]UNDEC-3-EN-10-OL SS



<< Target >>

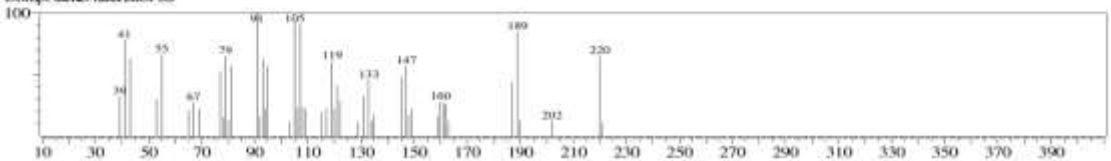
Line#:20 R.Time:12.285(Scan#:2458) MassPeaks:272
 RawMode:Averaged 12.280-12.290(2457-2459) BasePeak:107.15(27571)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:121070 Library:WILEY7.LIB

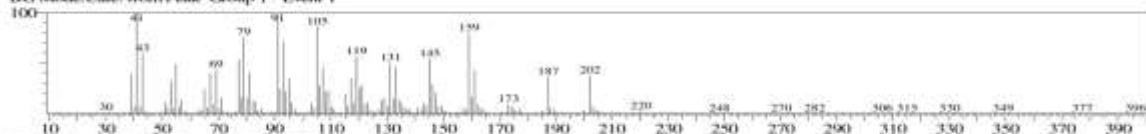
SI:87 Formula:C15 H24 O CAS:84249-42-3 MolWeight:220 RetIndex:0

CompName:valerenol SS

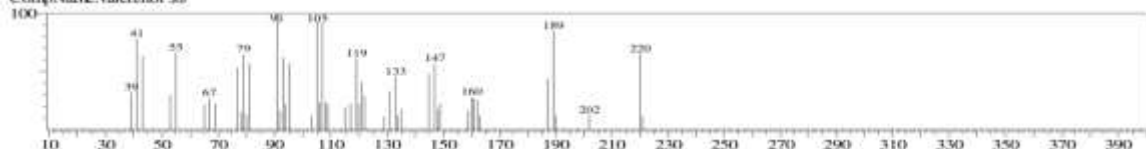


<< Target >>

Line#:21 R.Time:12.435(Scan#:2488) MassPeaks:270
 RawMode:Averaged 12.430-12.440(2487-2489) BasePeak:41.10(106005)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1

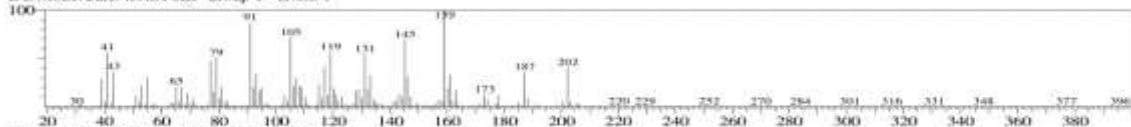


Hit#:1 Entry:121070 Library:WILEY7.LIB
 SI:81 Formula:C15 H24 O CAS:84249-42-3 MolWeight:220 RetIndex:0
 CompName:valerenol SS

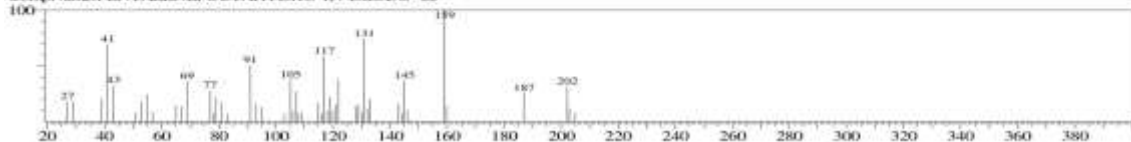


<< Target >>

Line#:22 R.Time:12.835(Scan#:2568) MassPeaks:248
 RawMode:Averaged 12.830-12.840(2567-2569) BasePeak:159.15(37475)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1

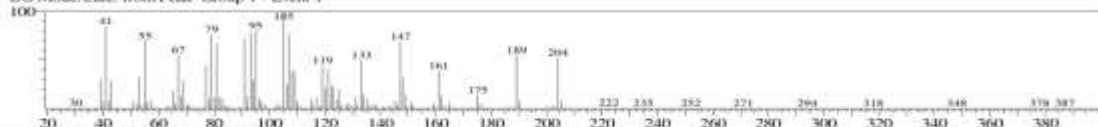


Hit#:1 Entry:121139 Library:WILEY7.LIB
 SI:82 Formula:C15 H24 O CAS:92617-51-1 MolWeight:220 RetIndex:0
 CompName:PENTALENE, OCTAHYDRO-1,4-DIBUDO- SS

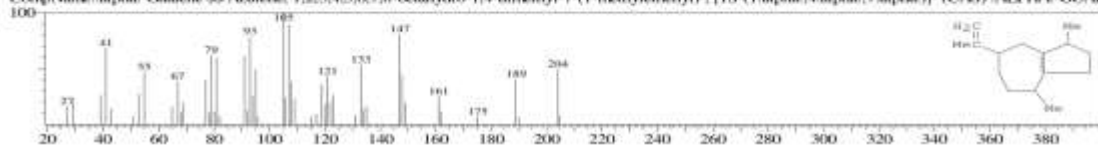


<< Target >>

Line#:23 R.Time:12.930(Scan#:2587) MassPeaks:259
 RawMode:Averaged 12.925-12.935(2586-2588) BasePeak:105.10(100005)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1

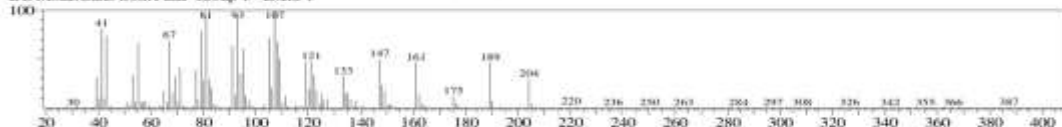


Hit#:1 Entry:100813 Library:WILEY7.LIB
 SI:93 Formula:C15 H24 CAS:3691-12-1 MolWeight:204 RetIndex:0
 CompName:alpha-Guaiene SS Azulene, 1,2,3,4,5,6,7,8-octahydro-1,4-dimethyl-7-(1-methylethenyl)-, [1S-(1.alpha.,4.alpha.,7.alpha.)]- (CAS) -ALPHA-GUAI

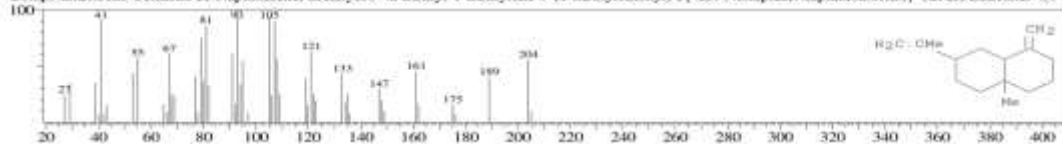


<< Target >>

Line#:24 R.Time:13.045(Scan#:2610) MassPeaks:225
 RawMode:Averaged 13.040-13.050(2609-2611) BasePeak:107.15(32711)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1

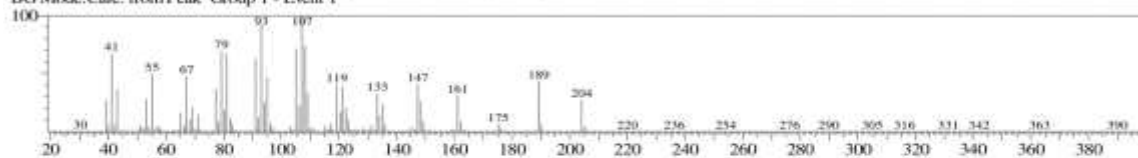


Hit#:1 Entry:100909 Library:WILEY7.LIB
 SI:91 Formula:C15 H24 CAS:17066-67-0 MolWeight:204 RetIndex:0
 CompName:beta-Selinene SS Naphthalene, decahydro-4a-methyl-1-methylene-7-(1-methylethenyl)-, [4aR-(4a.alpha.,7.alpha.,8a.beta.)]- (CAS) Eudesma-4(14)



<< Target >>

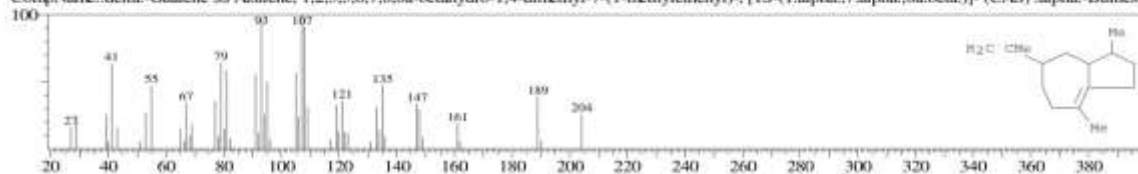
Line#:25 R.Time:13.305(Scan#:2662) MassPeaks:263
 RawMode:Averaged 13.300-13.310(2661-2663) BasePeak:107.15(490577)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:100821 Library:WILEY7.LIB

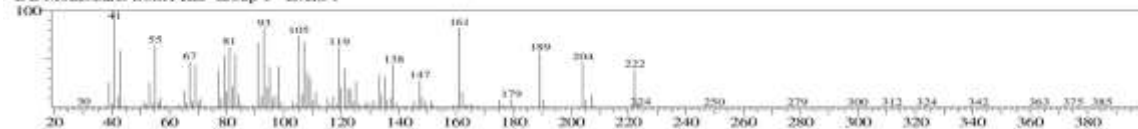
SE:95 Formula:C15 H24 CAS:3691-11-0 MolWeight:204 RetIndex:0

CompName:delta-Guaiene SS Azulene, 1,2,3,5,6,7,8,8a-octahydro-1,4-dimethyl-7-(1-methylethenyl)-, [1S-(1.alpha.,7.alpha.,8a.beta.)]- (CAS) .alpha.-Bulneser



<< Target >>

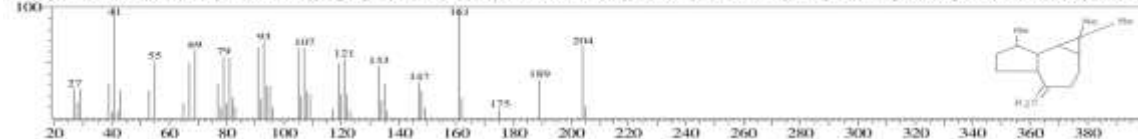
Line#:26 R.Time:13.470(Scan#:2695) MassPeaks:275
 RawMode:Averaged 13.465-13.475(2694-2696) BasePeak:41.10(335276)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:101005 Library:WILEY7.LIB

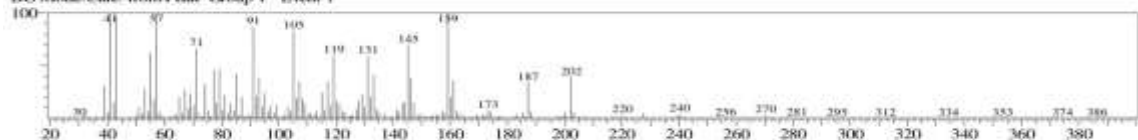
SE:86 Formula:C15 H24 CAS:489-39-4 MolWeight:204 RetIndex:0

CompName:(+)-Aromandulene SS 1H-Cycloprop[elazulene, decahydro-1,1,7-trimethyl-4-methylene-, [1aR-(1a.alpha.,4a.alpha.,7.alpha.,7a.beta.,7b.alpha.)]- (C



<< Target >>

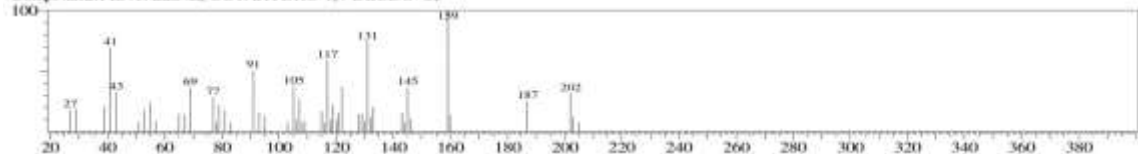
Line#:27 R.Time:13.610(Scan#:2723) MassPeaks:264
 RawMode:Averaged 13.605-13.615(2722-2724) BasePeak:41.10(19395)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:121139 Library:WILEY7.LIB

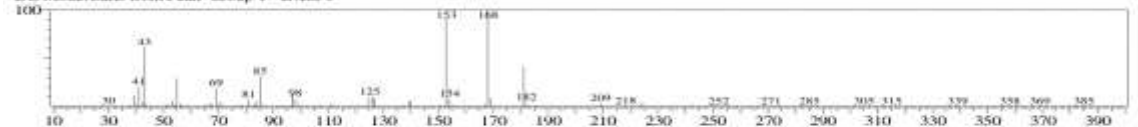
SE:75 Formula:C15 H24 O CAS:92617-51-1 MolWeight:220 RetIndex:0

CompName:PENTALENE, OCTAHYDRO-1,4-DIODO- SS



<< Target >>

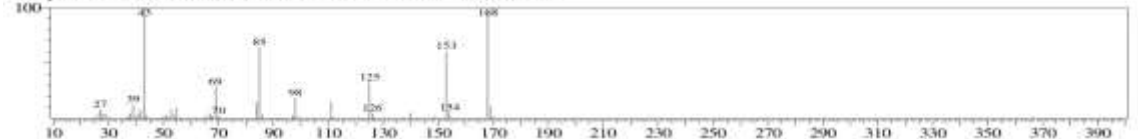
Line#:28 R.Time:13.950(Scan#:2791) MassPeaks:278
 RawMode:Averaged 13.945-13.955(2790-2792) BasePeak:168.10(450023)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:58546 Library:WILEY7.LIB

SE:81 Formula:C8 H8 O4 CAS:771-03-9 MolWeight:168 RetIndex:0

CompName:2H-PYRAN-2-ONE, 3-ACETYL-4-HYDROXY-6-METHYL- SS



Lampiran 16. Hasil analisis dengan SPSS

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Daya Hambat	24	18.063	1.8842	13.5	20.5

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Daya Hambat
N		24
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	18.063
	Std. Deviation	1.8842
Most Extreme Differences	Absolute	.120
	Positive	.098
	Negative	-.120
Kolmogorov-Smirnov Z		.587
Asymp. Sig. (2-tailed)		.881

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Oneway

Descriptives

Daya Hambat

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	Between-Component Variance
					Lower Bound	Upper Bound			
amox	3	14.333	.7638	.4410	12.436	16.231	13.5	15.0	
sereh	3	19.667	.5774	.3333	18.232	21.101	19.0	20.0	
nilam	3	17.833	.5774	.3333	16.399	19.268	17.5	18.5	
kombinasi 1:1	3	18.500	1.3229	.7638	15.214	21.786	17.5	20.0	
kombinasi 1:2	3	17.500	.8660	.5000	15.349	19.651	17.0	18.5	
kombinasi 1:3	3	17.167	.7638	.4410	15.269	19.064	16.5	18.0	
kombinasi 2:1	3	19.167	.2887	.1667	18.450	19.884	19.0	19.5	
kombinasi 3:1	3	20.333	.2887	.1667	19.616	21.050	20.0	20.5	
Total	24	18.063	1.8842	.3846	17.267	18.858	13.5	20.5	
Mode Fixed Effects			.7500	.1531	17.738	18.387			
Random Effects				.6576	16.507	19.618			3.2723

Test of Homogeneity of Variances

Daya Hambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.278	7	16	.082

ANOVA

Daya Hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	72.656	7	10.379	18.452	.000
Within Groups	9.000	16	.563		
Total	81.656	23			

Multiple Comparisons

Daya Hambat

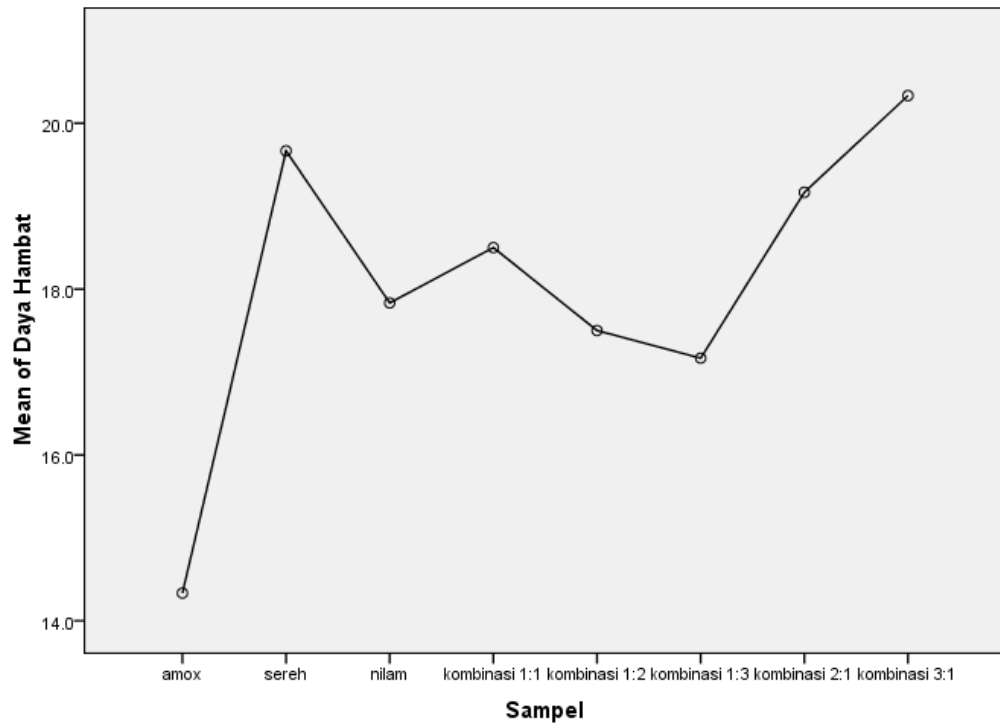
LSD

(I) Sampel	(J) Sampel	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
amox	sereh	-5.3333	.6124	.000	-6.632	-4.035
	nilam	-3.5000	.6124	.000	-4.798	-2.202
	kombinasi 1:1	-4.1667	.6124	.000	-5.465	-2.868
	kombinasi 1:2	-3.1667	.6124	.000	-4.465	-1.868
	kombinasi 1:3	-2.8333	.6124	.000	-4.132	-1.535
	kombinasi 2:1	-4.8333	.6124	.000	-6.132	-3.535
	kombinasi 3:1	-6.0000	.6124	.000	-7.298	-4.702
sereh	amox	5.3333	.6124	.000	4.035	6.632
	nilam	1.8333	.6124	.009	.535	3.132
	kombinasi 1:1	1.1667	.6124	.075	-.132	2.465
	kombinasi 1:2	2.1667	.6124	.003	.868	3.465
	kombinasi 1:3	2.5000	.6124	.001	1.202	3.798
	kombinasi 2:1	.5000	.6124	.426	-.798	1.798
	kombinasi 3:1	-.6667	.6124	.292	-1.965	.632
nilam	amox	3.5000	.6124	.000	2.202	4.798
	sereh	-1.8333	.6124	.009	-3.132	-.535
	kombinasi 1:1	-.6667	.6124	.292	-1.965	.632
	kombinasi 1:2	.3333	.6124	.594	-.965	1.632
	kombinasi 1:3	.6667	.6124	.292	-.632	1.965
	kombinasi 2:1	-1.3333	.6124	.045	-2.632	-.035
	kombinasi 3:1	-2.5000	.6124	.001	-3.798	-1.202
kombinasi 1:1	amox	4.1667	.6124	.000	2.868	5.465
	sereh	-1.1667	.6124	.075	-2.465	.132
	nilam	.6667	.6124	.292	-.632	1.965
	kombinasi 1:2	1.0000	.6124	.122	-.298	2.298

	kombinasi 1:3	1.3333	.6124	.045	.035	2.632
	kombinasi 2:1	-.6667	.6124	.292	-1.965	.632
	kombinasi 3:1	-1.8333	.6124	.009	-3.132	-.535
kombinasi 1:2	amox	3.1667	.6124	.000	1.868	4.465
	sereh	-2.1667	.6124	.003	-3.465	-.868
	nilam	-.3333	.6124	.594	-1.632	.965
	kombinasi 1:1	-1.0000	.6124	.122	-2.298	.298
	kombinasi 1:3	.3333	.6124	.594	-.965	1.632
	kombinasi 2:1	-1.6667	.6124	.015	-2.965	-.368
	kombinasi 3:1	-2.8333	.6124	.000	-4.132	-1.535
kombinasi 1:3	amox	2.8333	.6124	.000	1.535	4.132
	sereh	-2.5000	.6124	.001	-3.798	-1.202
	nilam	-.6667	.6124	.292	-1.965	.632
	kombinasi 1:1	-1.3333	.6124	.045	-2.632	-.035
	kombinasi 1:2	-.3333	.6124	.594	-1.632	.965
	kombinasi 2:1	-2.0000	.6124	.005	-3.298	-.702
	kombinasi 3:1	-3.1667	.6124	.000	-4.465	-1.868
kombinasi 2:1	amox	4.8333	.6124	.000	3.535	6.132
	sereh	-.5000	.6124	.426	-1.798	.798
	nilam	1.3333	.6124	.045	.035	2.632
	kombinasi 1:1	.6667	.6124	.292	-.632	1.965
	kombinasi 1:2	1.6667	.6124	.015	.368	2.965
	kombinasi 1:3	2.0000	.6124	.005	.702	3.298
	kombinasi 3:1	-1.1667	.6124	.075	-2.465	.132
kombinasi 3:1	amox	6.0000	.6124	.000	4.702	7.298
	sereh	.6667	.6124	.292	-.632	1.965
	nilam	2.5000	.6124	.001	1.202	3.798
	kombinasi 1:1	1.8333	.6124	.009	.535	3.132
	kombinasi 1:2	2.8333	.6124	.000	1.535	4.132
	kombinasi 1:3	3.1667	.6124	.000	1.868	4.465
	kombinasi 2:1	1.1667	.6124	.075	-.132	2.465

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Means Plots



Lampiran 17. Komposisi media

1. Brain Heart Infusion (BHI)

Brain infusion	12,5 gram
Heart infusion	5,0 gram
Proteose peptone	10,0 gram
Glucose	2,0 gram
Sodium chloride	5,0 gram
di-sodium hydrogen phosphate	2,5 gram
Aquadest ad	1000 mL
pH	7,4±0,2

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 dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit dan dituangkan dalam cawan petri.

2. Mueller Hinton Agar (MHA)

Meat infusion	1,0 gram
Casein hydrolysate	1,0 gram
Starch	5,0 gram
Agar	12,0 gram
Aquadest ad	1000 mL
pH	7,3±0,1

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 dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit dan dituangkan dalam cawan petri.

3. Vogel Johnson Agar (VJA)

Peptone from casein	10,0 gram
Yeast extract	5,0 gram
di-potassium hydrogen phosphate	10,0 gram

Mannitol	10,0	gram
Lithium chloride	5,0	gram
Glycine	10,0	gram
Phenol red	0,025	gram
Agar	13,0	gram
Potassium telurite	0,2	gram
Aquadest ad	1000	mL
pH	7,2±0,2	

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 dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan dalam cawan petri.