

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

1. Hasil identifikasi tanaman

Determinasi tanaman pada penelitian ini dilakukan di Laboratorium Sistematika Tumbuhan, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Determinasi tanaman bertujuan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang diambil, menghindari terjadinya kesalahan dalam pengambilan bahan sampel dan menghindari tercampurnya bahan sampel dengan bahan tanaman lain serta mencocokkan ciri morfologi yang ada pada tanaman yang diteliti dengan kunci determinasi. Berdasarkan hasil determinasi dapat dipastikan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman kemangi (*Ocimum basilicum L.*) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrix DC.*). Hasil determinasi dapat dilihat pada Lampiran 1 dan 2.

2. Hasil pengambilan bahan

Tanaman yang digunakan adalah kemangi (*Ocimum basilicum L.*) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrix DC.*) dalam penelitian ini diperoleh dari Desa Kebon Alas Kecamatan Manis Renggo Kabupaten Klaten, Jawa Tengah, pada bulan Januari 2019. Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

2.1 Hasil isolasi minyak atsiri. Isolasi minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum basilicum L.*) dan daun jeruk purut (*Citrus hystrix DC.*) menggunakan metode isolasi minyak destilasi uap dan air. Hasil destilasi 0,125% yang didapat untuk minyak atsiri daun kemangi menggunakan daun kemangi segar sebanyak 16 kg melalui 3 kali proses destilasi dan 1 kali proses destilasi menggunakan 5,3 kg daun kemangi segar. (Tabel 1) dan hasil destilasi 0,633% untuk minyak atsiri daun jeruk purut (Tabel 2). Daun jeruk memiliki rendemen minyak atsiri yang lebih besar daripada daun kemangi. Hasil isolasi minyak atsiri dapat dilihat pada Lampiran 3.

Tabel 1. Rendemen minyak atsiri daun kemangi

Proses destilasi	Bobot sampel (gram)	Volume minyak (ml)	Rendemen (%)
Destilasi	16000	20	0,125

Tabel 2. Rendemen minyak atsiri daun jeruk purut

Proses destilasi	Bobot sampel (gram)	Volume minyak (ml)	Rendemen (%)
Destilasi	3160	20	0,633

2.2 Hasil pengamatan organoleptik minyak atsiri. Hasil uji organoleptis dapat dilihat dengan pengamatan secara visual dan panca indra meliputi mata, hidung, dan lidah. Hasil pengamatan organoleptik pada minyak atsiri daun kemangi dan daun jeruk purut dapat dilihat pada Tabel 3 dan 4.

Tabel 3. Hasil pemeriksaan organoleptik minyak atsiri daun kemangi

No.	Jenis pemeriksaan	Hasil	Pustaka
1.	Warna	Kuning kecoklatan	Kuning muda-coklat muda (Depkes 2006)
2.	Bau	Aroma khas kemangi	Khas kemangi (Depkes 2006)
3.	Bentuk	Cair	Cairan (Depkes 1979)
4.	Rasa	Manis, seperti rempah	Alfrida 2013

Tabel 4. Hasil pemeriksaan organoleptik minyak atsiri daun jeruk purut

No.	Jenis pemeriksaan	Hasil	Pustaka
1.	Warna	Kuning muda	Kuning muda (Sait dan Lubis 1991)
2.	Bau	Aroma khas jeruk purut	Khas jeruk purut (Sait dan Lubis 1991)
3.	Bentuk	Cair	Cairan (Sait dan Lubis 1991)
4.	Rasa	Rasa khas jeruk purut	Khas jeruk namun lebih kuat dan segar (Pudil <i>et al</i> 1998)

Berdasarkan tabel di atas bentuk minyak atsiri daun kemangi dan daun jeruk purut berbentuk cair, Warna minyak atsiri hasil destilasi masing-masing sampel diambil pada volume yang sama dan di tempatkan dalam sebuah tempat kaca yang bersih dan jernih, kemudian dibandingkan dengan pustaka. Warna minyak atsiri daun kemangi kuning kecoklatan sedangkan warna minyak atsiri daun jeruk purut kuning muda. Kemudian Bau dan rasa minyak atsiri pada masing-masing sampel memiliki bau dan rasa yang khas sesuai dari tanaman asalnya.

3. Hasil identifikasi minyak atsiri

Hasil identifikasi daun kemangi dan daun jeruk purut seperti yang terlampir dalam penelitian dapat dilihat pada Tabel 5 dan 6.

Tabel 5. Identifikasi minyak atsiri daun kemangi

Zat aktif	Pemeriksaan	Hasil	Pustaka
Minyak atsiri	1 tetes minyak atsiri ditetaskan pada kertas saring	Minyak atsiri menguap tanpa meninggalkan noda	Minyak atsiri tidak meninggalkan noda bila ditetaskan pada kertas saring (Gunawan dan Mulyani 2004)
Daun kemangi	1 tetes minyak atsiri ditetaskan pada permukaan air	Minyak atsiri menyebar dan permukaan air tidak keruh	Minyak atsiri menyebar diatas permukaan air dan tidak keruh (Depkes 1979)

Tabel 6. Identifikasi minyak atsiri daun jeruk purut

Zat aktif	Pemeriksaan	Hasil	Pustaka
Minyak atsiri	1 tetes minyak atsiri ditetaskan pada kertas saring	Minyak atsiri menguap tanpa meninggalkan noda	Minyak atsiri tidak meninggalkan noda bila ditetaskan pada kertas saring (Gunawan dan Mulyani 2004)
Daun jeruk purut	1 tetes minyak atsiri ditetaskan pada permukaan air	Minyak atsiri menyebar dan permukaan air tidak keruh	Minyak atsiri menyebar diatas permukaan air dan tidak keruh (Depkes 1979)

Hasil identifikasi minyak atsiri daun kemangi dan daun jeruk purut menunjukkan bahwa hasil penelitian sesuai pustaka, bila 1 tetes minyak atsiri ditetaskan pada kertas saring, minyak tidak meninggalkan noda. Jika ditetaskan pada permukaan air, maka minyak akan terlihat menyebar dipermukaan air dan air tidak keruh. Hasil gambar dapat dilihat pada Lampiran 4.

4. Hasil penetapan indeks bias minyak atsiri

Hasil pemeriksaan indeks bias dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Indeks bias minyak atsiri

Minyak atsiri	Hasil indeks bias	Pustaka
Daun kemangi	1,484	Indeks bias (20°C) 1,426-1,506 (Depkes, 1979)
Daun jeruk purut	1,455	Indeks bias (20°C) 1,466-1,516 (Widodo, 2005)

Indeks bias minyak atsiri daun kemangi hasil isolasi sebesar 1,484 menunjukkan hasil indeks bias yang diteliti tidak sesuai dengan pustaka pada minyak atsiri kemangi yaitu 1,426-1,506. Indeks bias minyak atsiri daun jeruk purut diperoleh 1,455 yang menunjukkan perbandingan antara sinus sudut datang dengan sinus sudut bias cahaya yang diukur dengan alat refraktometer. Indeks bias minyak atsiri berhubungan erat dengan komponen-komponen yang tersusun dalam minyak atsiri yang dihasilkan. Komponen penyusun minyak atsiri dapat mempengaruhi nilai indeks biasnya. Semakin banyak komponen berantai panjang seperti sesquiterpen atau komponen bergugus oksigen tersuling, maka kerapatan medium minyak atsiri akan bertambah sehingga cahaya yang datang akan lebih sukar untuk dibiaskan. Hal ini yang menyebabkan indeks bias minyak lebih besar (Wiyono *et al.* 2000). Hasil indeks bias minyak atsiri dapat dilihat pada Lampiran 5.

5. Hasil penetapan bobot jenis minyak atsiri

Hasil pemeriksaan bobot jenis minyak atsiri daun kemangi dan daun jeruk purut pada penelitian dapat dilihat pada Tabel 8 dan 9.

Tabel 8. Hasil penetapan bobot jenis minyak atsiri daun kemangi

Percobaan	Bobot jenis minyak	Pustaka
I	0,9195	Bobot jenis minyak atsiri (20°C) 0,9100-0,9500 (Depkes 1979)
II	0,9196	
III	0,9197	
Rata-rata	0,9196	

Tabel 9. Hasil penetapan bobot jenis minyak atsiri daun jeruk purut

Percobaan	Bobot jenis minyak	Pustaka
I	0,8644	Bobot jenis minyak atsiri (20°C) 0,8223-0,8699 (Widodo 2005)
II	0,8645	
III	0,8645	
Rata-rata	0,8645	

Hasil bobot jenis minyak atsiri daun kemangi menurut hasil penelitian adalah 0,9196 dan bobot jenis minyak atsiri daun jeruk purut adalah 0,8645. Berdasarkan pustaka bobot jenis minyak atsiri kemangi pada suhu 20°C adalah 0,9100-0,9500 dan pada daun jeruk purut adalah 0,8223-0,8699. Menurut pustaka berat jenis (densitas) pada penelitian ini sudah memasuki range karakteristik standar mutu minyak atsiri bobot jenis ialah salah satu kriteria yang penting dalam

menentukan mutu dan kemurnian minyak atsiri. Semakin rendah nilai bobot jenis suatu minyak atsiri maka tingkat kemurniannya juga semakin rendah. Besarnya bobot jenis suatu minyak bisa dipengaruhi oleh jenis dan jumlah komponen kimia dalam minyak atsiri, maka semakin banyak komponen kimia dalam minyak atsiri dengan begitu semakin tinggi pula bobot jenisnya (Wiyono *et al.* 2000). Hasil penetapan bobot jenis minyak atsiri dapat dilihat pada lampiran 6.

6. Hasil penetapan kelarutan dalam alkohol

Kelarutan dalam alkohol merupakan nilai perbandingan banyaknya minyak atsiri yang larut sempurna dengan pelarut alkohol, setiap minyak atsiri mempunyai nilai kelarutan dalam alkohol yang spesifik sehingga dapat berfungsi untuk menentukan suatu kemurnian minyak atsiri. Hasil kelarutan minyak atsiri daun kemangi dan daun jeruk purut dalam etanol 70% dengan perbandingan 1:1 (artinya 1 ml minyak atsiri larut dalam 1 ml etanol 70%) menurut hasil penelitian adalah larut dan jernih. Hasil penetapan kelarutan dalam alkohol dapat dilihat pada Lampiran 7.

7. Hasil karakterisasi komponen senyawa penyusun minyak atsiri dengan *Gas Chromatografi-Massa Spectrometry (GC-MS)*

Pada metode analisis GCMS adalah dengan membaca spectra yang terdapat pada kedua metode yang digabung tersebut. Pada spektra GC jika terdapat bahwa dari sampel mengandung banyak senyawa yaitu terlihat dari banyaknya puncak (*peak*) dalam spektra GC tersebut. berdasarkan data waktu retensi yang sudah diketahui dari literatur, bisa diketahui senyawa apa saja yang ada dalam sampel. Selanjutnya adalah dengan memasukkan senyawa yang diduga tersebut kedalam instrumen spektroskopi massa. Hal ini dapat dilakukan karena salah satu kegunaan dari kromatografi gas adalah untuk memisahkan senyawa dari suatu sampel. setelah itu, didapat hasil dari spektra spektroskopi massa pada grafik yang berbeda. Informasi yang diperoleh dari kedua teknik ini yang digabung dalam instrumen GCMS adalah hasil dari masing-masing spektra. Untuk spektra GC, informasi terpenting yang didapat adalah waktu retensi untuk tiap senyawa dalam sampel. Sedangkan untuk spektra MS, informasi terpenting yang didapat mengenai massa molekul relatif dari senyawa sampel tersebut.

Berdasarkan identifikasi minyak atsiri daun jeruk purut dan daun kemangi menggunakan *Gas Chromatografi-Massa Spectrometry* (GC-MS) dilakukan Hasil identifikasi komponen dengan GCMS dapat dilihat pada Tabel 10 dan 11.

Tabel 10. Hasil analisis komponen utama minyak atsiri daun kemangi dengan GCMS

Peak	Senyawa terkonfirmasi <i>library</i> *	RT (min)	BM	% area	% kemiripan dengan <i>library</i>
1	Linalool	7.338	154	35.71	95
2	TRANS-CARAN, 4,5-EPOXI	8.067	152	7.37	88
3	TRANS-CARAN, 4,5-EPOXI	8.284	152	10.63	90
4	CIS 3 HEXENYL LACTATE	10.321	172	1.49	93
5	3,5-Heptadienal, 2-ethylidene-6-methyl-(CAS)	10.545	150	1.59	85
6	trans-Caryophyllene	10.827	204	12.24	96
7	alpha-Bergamotene	10.893	204	5.43	95
8	alpha-Humulene	11.068	204	3.75	98
9	GERMACRENE-D	11.260	204	9.20	95
10	Alpha-Humulene	11.619	204	12.59	91

Hasil analisis minyak atsiri daun kemangi dengan GCMS terdapat 10 senyawa yang dilihat dari jumlah peak. Hasil analisis senyawa minyak atsiri dapat dilihat pada Tabel 10. Setelah diidentifikasi maka diperoleh kemungkinan bahwa didalam minyak atsiri daun kemangi terdapat senyawa Linalool, TRANS-CARAN, 4,5-EPOXI, TRANS-CARAN, 4,5-EPOXI, CIS 3 HEXENYL LACTATE, 3,5-Heptadienal, 2-ethylidene-6-methyl-(CAS), trans-Caryophyllene, alpha-Bergamotene, alpha-Humulene, GEMACRENE-D, Alpha-Humulene. Menurut tabel di atas, senyawa linalool mempunyai luas area yang paling besar yaitu 35,71%. Minyak atsiri daun kemangi mempunyai aktivitas antibakteri karena ada komponen senyawa yang berperan didalamnya. Senyawa yang berperan dalam minyak atsiri daun kemangi adalah linalool yang menghambat bakteri dengan cara merusak membran sel bakteri.

Menurut pustaka kandungan minyak atsiri di dalam genus *Ocimum* mengandung senyawa eugenol, osimen, pinen, linalool, sineol, geraniol, metil kavikol, metil sinamat, sitral, kamfor, timol, benzyl, sitronella, lineon, dan lain-lain (Martono *et al* 2004). Penelitian Lestarie (2014) menghasilkan komponen utama minyak atsiri kemangi mengandung Z-Sitral 16,65%, Verbenol 13,14%, Alpha-Humulene 7,54%, Linalool 6,88%, Trans-Caryophyllene 5,66%, Benzofuran 4,68%, Bicyclo [3.1.1] heptane 3,71%, 6-Methyl-5-Hepten-2-one

3,57% dan d-Nerolidol 3,40%. Hasil komponen senyawa menunjukkan komponen peak yang sudah sesuai dan memiliki kemiripan sesuai dengan referensi senyawa komponen minyak atsiri yaitu linalool memiliki aktivitas paling besar dan berpotensi sebagai antibakteri (Hussain *et al* 2008).

Tabel 11. Hasil analisis komponen utama minyak atsiri daun jeruk purut dengan GCMS

Peak	Senyawa terkonfirmasi <i>library</i> *	RT (min)	BM	% area	% kemiripan dengan <i>library</i>
1	CITRONELLA	7.953	154	34.23	95
2	CITRONELLA	8.080	154	9.86	97
3	Beta-Citronellol	8.974	156	21.95	97
4	Citronellyl acetate	10.081	198	17.59	94
5	NERYL ACETATE	10.280	196	4.37	96
6	Elemol	11.650	222	2.10	93
7	Nerolidol	11.696	222	1.64	98
8	LONGIVERBENON (VULGARON B)	12.476	218	2.15	84
9	LONGIVERBENON (VULGARON B)	12.555	218	0.89	85
10	2(3H)-NAPHTHALENONE,4,4A,5,6,7,8-HEXAHYDRO-4A,5-DIME	12.629	218	5.22	86

Hasil analisis minyak atsiri daun jeruk purut terdapat 10 senyawa yang dilihat dari jumlah peak. Hasil analisis senyawa minyak atsiri dapat dilihat pada Tabel 11. Setelah diidentifikasi maka diperoleh kemungkinan bahwa didalam minyak atsiri daun jeruk purut terdapat senyawa CITRONELLA, CITRONELLA, Beta-Citronellol, Citronellyl acetate, NERYL ACETATE, Elemol, Nerolidol, LONGIVERBENON (VULGARON B), LONGIVERBENON (VULGARON B), 2(3H)-NAPHTHALENONE,4,4A,5,6,7,8-HEXAHYDRO-4A,5-DIME. Menurut tabel diatas, senyawa CITRONELLA mempunyai luas area yang paling besar yaitu 34,23%. Minyak atsiri daun jeruk purut mempunyai aktivitas antibakteri karena ada komponen senyawa yang berperan didalamnya. Senyawa yang berperan dalam minyak atsiri daun jeruk purut adalah citronella yang menghambat bakteri dengan cara merusak struktur dinding sel, mengganggu kerja transport aktif dan kekuatan proton didalam membran dinding sel.

Menurut pustaka kandungan minyak atsiri daun jeruk purut adalah Kurchiline 0,24%, Sabinene 0,48%, 1,6-Octadiene 1,23%, Linalool 5,31%, Citronellal 64,15%, Isopulegol 0,46%, Beta-Citronellol 10,71%, Trans-Geraniol 0,82%, Alpha-Copaene 1,52%, Germacrene 1,17%, Trans-Caryophyllene 5,54%, Beta-Selinene 0,82% dan Nerolidol Z 2,31% (Khasanah *et al* 2014). Hasil

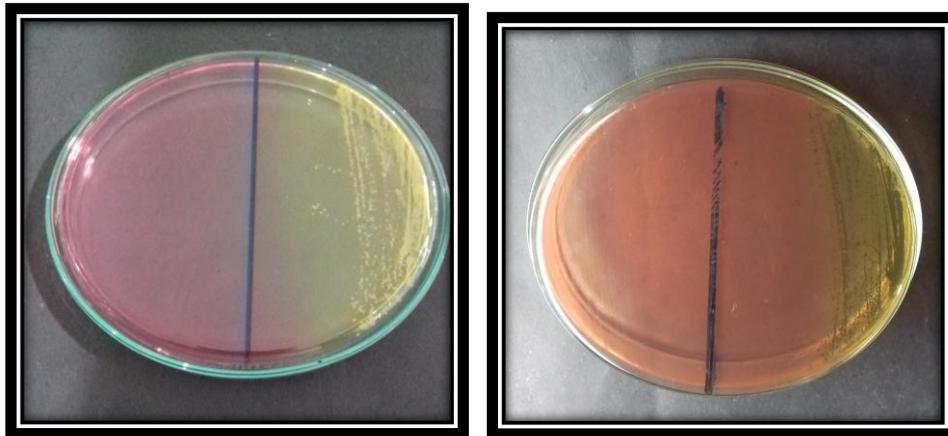
komponen senyawa menunjukkan komponen peak yang sudah sesuai dan memiliki kemiripan sesuai dengan referensi senyawa komponen minyak atsiri yaitu citronella memiliki aktivitas paling besar dan berpotensi sebagai antibakteri (Loh *et al* 2013). Hasil masing-masing peak dapat dilihat pada lampiran 8.

8. Hasil pembuatan suspensi bakteri *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228

Biakan murni bakteri *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 diambil dengan menggunakan jarum Ose kemudian dimasukkan secara aseptis ke dalam tabung reaksi steril yang berisi media BHI. Tabung diamati kekeruhannya setiap kali penambahan dengan jarum Ose dari biakan murni. Kekeruhan hasil suspensi bakteri uji disesuaikan dengan kekeruhan standar Mc Farland 0,5 setara dengan jumlah $1,5 \times 10^8$ cfu/mL. Standar kekeruhan MC Farland 0,5 ini bertujuan untuk menggantikan perhitungan bakteri satu persatu dan untuk memperkirakan kepadatan sel yang akan digunakan pada prosedur pengujian antimikroba (Sutton 2011). Hasil pembuatan suspensi bakteri *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 dapat dilihat pada lampiran 8.

9. Hasil identifikasi bakteri *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 secara morfologi

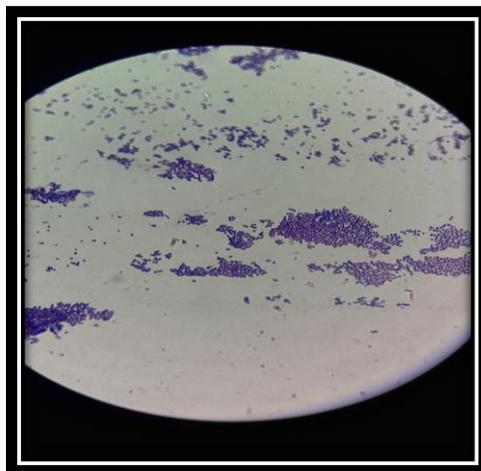
Identifikasi *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 berdasarkan morfologi dilakukan dengan inokulasi suspensi *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 pada media *Vogel Johnson Agar* (VJA) yang ditambahkan 3 tetes kalium tellurit 1% dalam cawan petri dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa bakteri *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 menghasilkan media tetap berwarna merah karena *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 tidak dapat mereduksi tellurit menjadi metalik warna medium sehingga tidak terjadinya fermentasi manitol yang dideteksi tidak adanya perubahan warna indikator phenol red dari merah menjadi kuning (asam). Hasil identifikasi koloni dapat dilihat pada gambar 9.



Gambar 9. Hasil identifikasi koloni

10. Hasil identifikasi bakteri *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 secara pewarnaan gram

Identifikasi mikroskopis *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 secara pewarnaan gram. *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 dapat mempertahankan warna violet dari Gram A (kristal violet) pada pengecatan Gram *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 karena memiliki peptidoglikan yang lebih tebal daripada Gram negatif. Hasil pengamatan dengan melakukan pewarnaan Gram pada mikroskop perbesaran kuat (1000x) akan tampak berwarna ungu, berbentuk bulat dan bergerombol seperti buah anggur. Tujuan pewarnaan Gram ialah untuk melihat apakah bakteri *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 termasuk Gram positif atau Gram negatif. Perbedaan respon terhadap mekanisme pewarnaan Gram didasarkan pada struktur dan komposisi dinding sel bakteri. Bakteri Gram positif mengandung protein dalam prevalensi lebih rendah dan dinding selnya tebal. Pemberian kristal violet dan iodine, pemberian alkohol (etanol) pada pewarnaan Gram menyebabkan tidak terestrasinya lipid sehingga memperkecil permeabilitas dinding sel Gram positif. Dinding selnya terdehidrasi dengan perlakuan alkohol, pori-pori mengkerut, daya rembes dinding sel dan membran menurun sehingga perwarnaan safranin tidak dapat masuk sehingga sel berwarna ungu (Pelczar dan Chan 2007). Hasil identifikasi secara mikroskopis dapat dilihat pada gambar 10.

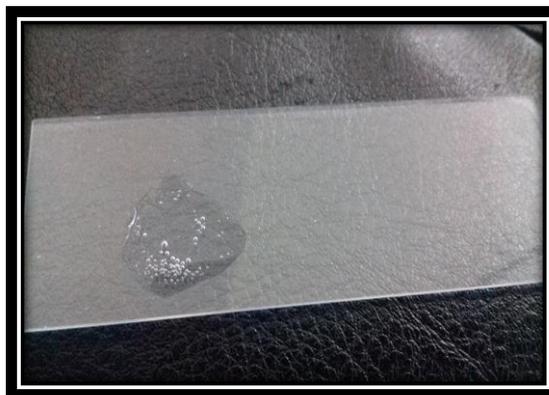


Gambar 10. Hasil identifikasi secara mikroskopis

11. Hasil identifikasi bakteri *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 secara biokimia

Identifikasi biokimia bakteri *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 secara biokimia dengan menggunakan uji katalase dan uji koagulase.

11.1 Hasil uji katalase. Uji katalase menggunakan suspensi bakteri uji yang diinokulasi pada medium nutrisi cair dengan H_2O_2 3%. Hasil positif ditandai dengan adanya gelembung udara sebab *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 mempunyai enzim katalase, di mana H_2O_2 yang dituang akan terurai menjadi H_2O (air) dan O_2 (oksigen). Mekanisme enzim katalase memecah H_2O_2 yaitu saat melakukan respirasi, bakteri menghasilkan berbagai macam komponen salah satunya H_2O_2 . Bakteri yang memiliki kemampuan memecah H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 di mana parameter yang menunjukkan adanya aktivitas katalase tersebut adalah adanya gelembung-gelembung oksigen seperti pada percobaan yang telah dilakukan (Waluyo 2004). Hasil gambar identifikasi fisiologi berdasarkan katalase dapat dilihat pada gambar 11.



Gambar 11. Hasil gambar identifikasi fisiologi berdasarkan katalase

11.2 Hasil uji koagulase. Uji koagulase bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menghasilkan enzim koagulase (Abrar 2001). Koagulase ekstraseluler yang merupakan protein dihasilkan oleh *Staphylococcus aureus* yang dapat menggumpalkan plasma dengan bantuan faktor yang terdapat dalam serum. Peran koagulase yang dihasilkan oleh *Staphylococcus aureus* dapat digunakan sebagai sarana diagnostik (Bruckler *et al.* 1994). Oleh karena itu uji koagulase dilakukan untuk membedakan antara bakteri *Staphylococcus aureus* dengan *Staphylococcus epidermidis*. Uji koagulase dinyatakan positif kuat, jika gumpalan plasma tidak lepas dan tetap melekat pada dinding tabung saat dimiringkan. Uji ini menunjukkan virulensi dari bakteri itu dimana bakteri dapat melindungi dirinya dari fagositosis dan menghalangi kerja dari sistem imunitas inang. *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 mempunyai enzim koagulase yang berfungsi untuk menggumpalkan plasma karena perubahan fibrinogen menjadi fibrin. Hasil identifikasi pada penelitian ini menunjukkan negatif, tidak terjadi perubahan plasma darah kelinci yang terdenaturasi oleh *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 sehingga tidak terjadi penggumpalan putih dalam waktu 1 jam (Jawetz *et al.* 2001). Pada pengujian koagulase dengan menggunakan plasma darah kelinci yang diberi asam sitrat, diencerkan (1:5) ditambah satu Ose biakan bakteri, diinkubasi pada suhu 37°C tidak menunjukkan terjadinya penggumpalan plasma serta tidak terbentuknya plak pada dinding tabung reaksi yang dapat dilihat secara kasat mata. Hasil uji koagulase bakteri *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 dapat dilihat pada gambar 12.



Gambar 12. Hasil uji koagulase bakteri *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228

13 Hasil pengujian aktivitas antibakteri minyak atsiri daun jeruk purut dan kemangi secara difusi

Hasil sampel dari kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan daun jeruk purut dilakukan pengujian aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 menggunakan metode difusi untuk mengetahui terbentuk atau tidaknya daerah jernih disekeliling cakram disk yang dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan larutan uji terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis* pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA). Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui sampel yang paling aktif yang mempunyai daya hambat yang paling baik terhadap *Staphylococcus epidermidis*. Pengujian daya hambat antibakteri menggunakan bakteri *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 dengan konsentrasi 8%, 4%, dan 2% dan klindamisin sebagai kontrol positif dan aquadest steril sebagai kontrol negatif dan kombinasi perbandingan 1:1, 1:2, 2:1, 1:3, dan 3:1. Masa inkubasi dilakukan selama 24-48 jam pada suhu 37°C. Hasil diameter hambat dari uji difusi minyak atsiri daun jeruk purut dan kemangi tunggal dan kombinasi dapat dilihat pada Tabel 12.

Tabel 12. Diameter hambat tunggal dari uji difusi minyak atsiri

Sampel	Konsentrasi	Diameter hambat (mm)			Rata-rata (mm) ± SD
		Replikasi			
		1	2	3	
Daun jeruk purut	2%	7,25	7,75	7,00	7,33 ± 0.311805
Daun kemangi	2%	9,25	10,00	8,75	9,33 ± 0.513701
(1:1)	2%	7,50	7,25	7,00	7,25 ± 0.204124
(1:2)	2%	7,00	8,75	7,50	7,75 ± 0.73598
(2:1)	2%	7,75	8,00	8,50	8,08 ± 0.311805
(1:3)	2%	11,00	11,25	9,75	10,67 ± 0.656167
(3:1)	2%	11,25	9,00	7,50	9,25 ± 1.541104
Kontrol (+)		20,50	18,00	19,50	20,50 ± 1.027402
Kontrol (-)		0	0	0	0
Daun jeruk purut	4%	9,75	7,00	8,50	8,42 ± 1.124228
Daun kemangi	4%	14,50	13,00	12,50	13,33 ± 0.849837
(1:1)	4%	8,50	9,00	9,00	8,83 ± 0.235702
(1:2)	4%	9,25	9,00	9,50	9,25 ± 0.204124
(2:1)	4%	12,75	11,75	11,00	11,83 ± 0.71686
(1:3)	4%	15,00	14,25	13,00	14,08 ± 0.824958
(3:1)	4%	12,50	13,00	11,25	12,25 ± 0.73598
Kontrol (+)		21,75	20,00	21,25	21,00 ± 0.73598
Kontrol (-)		0	0	0	0
Daun jeruk purut	8%	12,75	12,25	11,00	12,00 ± 0.73598
Daun kemangi	8%	14,25	14,25	14,50	14,33 ± 0.117851
(1:1)	8%	15,25	15,25	13,25	14,58 ± 0.942809
(1:2)	8%	17,25	13,50	13,50	14,75 ± 1.767767
(2:1)	8%	13,00	13,00	14,00	13,33 ± 0.471405
(1:3)	8%	16,25	14,50	15,00	15,25 ± 0.73598
(3:1)	8%	15,25	14,00	15,25	14,83 ± 0.589256
Kontrol (+)		25,50	24,75	24,00	24,75 ± 0.612372
Kontrol (-)		0	0	0	0

Luas daerah hambat pertumbuhan *Staphylococcus epidermidis* ditunjukkan dengan terbentuknya daerah jernih di sekeliling cakram (disk) pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA). Menurut Suriawiria (2005), berdasarkan zona hambat yang terbentuk maka aktivitas antimikroba dapat digolongkan menjadi beberapa golongan yaitu lemah (zona hambat < 5 mm), sedang (zona hambat antara 5-10 mm), kuat (zona hambat 10-20 mm), dan tergolong sangat kuat (zona hambat >20mm).

Hasil dari uji difusi adalah didapatkannya daya hambat terhadap *Staphylococcus epidermidis* yang paling besar adalah pada kontrol positif dengan konsentrasi 8% yang diameter daya hambatnya adalah 24,75. Daya hambat paling besar pada minyak atsiri kombinasi adalah pada perbandingan 1:3 dengan konsentrasi 8% yang diameter daya hambatnya adalah 15,25. Uji difusi dilakukan

untuk mengetahui apakah kombinasi minyak atsiri daun jeruk purut dan daun kemangi dapat menghambat pertumbuhan *Syaphylococcus epidermidis* ATCC 12228. Berdasarkan data yang diperoleh dilakukan analisis statistik untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan daya hambat yang besar dari sampel minyak atsiri tunggal dan kombinasi yang diteliti. Hasil analisa statistik menunjukkan bahwa daya hambat kontrol positif mempunyai perbedaan yang besar dari minyak atsiri tunggal daun kemangi, tunggal daun jeruk purut, dan kombinasi 1:1, 1:2, 2:1, 1:3, 3:1 pada uji ANOVA two-way. Hasil rata-rata diameter daya hambat menunjukkan bahwa kombinasi dengan perbandingan 1:3 adalah kombinasi perbandingan yang besar dibandingkan dengan kombinasi 1:2, 1:2, 2:1, 3:1.

Berdasarkan tabel 12 dan analisis data dapat disimpulkan bahwa minyak atsiri kombinasi 1:3 dengan konsentrasi 8% merupakan sampel yang mempunyai aktivitas antibakteri paling aktif dibandingkan dengan kombinasi yang lain. Diameter hambat minyak atsiri kombinasi 1:3 dengan konsentrasi 8% mempunyai diameter hambat yang besar daripada sampel minyak atsiri daun jeruk purut tunggal dan minyak atsiri daun kemangi tunggal, hal tersebut berarti kombinasi minyak atsiri daun jeruk purut dan daun kemangi mempunyai efek yang sinergis karena dapat meningkatkan diameter hambat terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* daripada dalam bentuk tunggalnya. Sampel minyak atsiri daun jeruk purut dan minyak atsiri daun kemangi mempunyai aktivitas antibakteri karena ada komponen senyawa yang berperan didalamnya. Senyawa yang berperan dalam minyak atsiri daun kemangi adalah linalool yang menghambat bakteri dengan cara merusak membran sel bakteri dan senyawa yang berperan dalam minyak atsiri daun jeruk purut adalah citronella yang menghambat bakteri dengan cara merusak struktur dinding sel, mengganggu kerja transport aktif dan kekuatan proton didalam membran dinding sel. Jika dilihat berdasarkan data penelitian menunjukkan ada perbedaan yang signifikan antara minyak atsiri tunggal jeruk purut, minyak atsiri tunggal kemangi, kontrol positif, dan kombinasi 1:1, 1:2, 2:1, 1:3, 3:1. Tetapi jika dilihat dari hasil analisis statistik tidak menunjukkan adanya

perbedaan yang signifikan antara minyak atsiri tunggal jeruk purut, minyak atsiri tunggal kemangi, dan kombinasi 1:1, 1:2, 2:1, 1:3, 3:1.

Hasil analisa statistik menunjukkan daya hambat kontrol positif mempunyai perbedaan yang signifikan dari minyak atsiri tunggal daun jeruk purut, minyak atsiri tunggal kemangi, dan kombinasi 1:1, 1:2, 2:1, 1:3, 3:1. Daya hambat minyak atsiri tunggal daun jeruk purut tidak mempunyai perbedaan yang signifikan dari minyak atsiri tunggal daun kemangi, kontrol positif, dan kombinasi 1:1, 1:2, 2:1, 1:3, 3:1. Daya hambat minyak atsiri tunggal kemangi tidak mempunyai perbedaan yang signifikan dari minyak atsiri tunggal jeruk purut, kontrol positif, dan kombinasi 1:1, 1:2, 2:1, 1:3, 3:1.

Daya hambat minyak atsiri dari kombinasi 1:3 tidak mempunyai perbedaan yang signifikan dari minyak atsiri tunggal daun kemangi, minyak atsiri tunggal daun jeruk purut, kontrol positif, dan kombinasi 1:1, 1:2, 2:1, 3:1.

Pada uji ANOVA dua jalan, berdasarkan hasil rata-rata diameter daya hambat dapat disimpulkan bahwa kombinasi yang lebih efektif adalah pada kombinasi dengan perbandingan 1:3 dibandingkan dengan kombinasi 1:1, 1:2, 2:1, dan 3:1. Hasil uji statistik dapat dilihat pada lampiran 18.

14 Hasil pengujian aktivitas antibakteri minyak atsiri daun jeruk purut dan kemangi secara dilusi

Uji aktivitas antibakteri minyak atsiri daun kemangi dan daun jeruk purut terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 dalam penelitian ini menggunakan metode dilusi. Metode ini digunakan hanya untuk mencari KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum). Hasil kombinasi minyak atsiri dari uji difusi yang paling efektif daya hambatnya, kemudian dilanjutkan dengan melakukan uji dilusi dengan tujuan untuk mengetahui berapa hasil KBM dalam bentuk konsentrasi. Hasil uji difusi paling efektif yang didapatkan yaitu pada kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan daun jeruk purut dengan perbandingan kombinasi 1:3. Selanjutnya dilakukan uji dilusi dengan pengenceran secara bertingkat. Konsentrasi yang digunakan adalah 8%; 4%; 2%; 1%; 0,5%; 0,25%; 0,13%; 0,06%; 0,03%; 0,02%, kontrol negatif yaitu kombinasi minyak atsiri dan kontrol positifnya adalah suspensi bakteri. Hasil uji dilusi dari kombinasi minyak atsiri

daun kemangi dan daun jeruk purut terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 dapat dilihat pada tabel 13.

Tabel 13. Hasil uji dilusi kombinasi minyak atsiri daun jeruk purut dan daun kemangi (1:3) pada bakteri *Staphylococcus epidermidis*

Konsentrasi (1:3)	I	II	III
Kontrol (-)	-	-	-
8	-	-	-
4	-	-	-
2	-	-	-
1	-	-	-
0,5	+	+	+
0,25	+	+	+
0,13	+	+	+
0,06	+	+	+
0,03	+	+	+
0,02	+	+	+
Kontrol (+)	+	+	+

Keterangan :

- (-) : Tidak ada pertumbuhan bakteri
- (+) : Ada pertumbuhan bakteri
- Kontrol (-) : Berisi kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan daun jeruk purut
- Kontrol (+) : Berisi suspensi bakteri

Uji dilusi yaitu menggunakan deret konsentrasi minyak atsiri. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dilihat dari kejernihan tabung yang menunjukkan bahwa pada tabung konsentrasi tertentu dapat menghambat pertumbuhan bakteri, selanjutnya dilakukan inokulasi bakteri pada media NA dari semua tabung seri dilusi. Hal ini dilakukan karena dalam penelitian tidak dapat dilihat kejernihan tabung seri dilusi yang disebabkan karena tertutupi oleh kekeruhan dari bahan kombinasi minyak atsiri yang digunakan. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dapat diketahui dengan menginokulasi sampel yang ada ditabung uji ke medium NA dalam cawan petri. Konsentrasi Bunuh Minimum ditentukan pada media NA dengan konsentrasi minimum yang tidak menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri, dari hasil uji yang dilakukan dapat ditentukan bahwa Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) terdapat pada konsentrasi 1%. Pertumbuhan bakteri dapat terlihat mulai pada konsentrasi 0,5% yaitu pada tabung nomor 6 dan dapat dilihat pertumbuhan bakterinya pada medium NA. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) berfungsi untuk menegaskan dari hasil kejernihan pada tabung suspensi yang berisi bakteri, media BHI, dan minyak atsiri untuk membuktikan bahwa bakteri *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 memang tidak tumbuh pada

konsentrasi tersebut, dengan melakukan penggoresan pada setiap tabung ke media NA, dan jika tidak ada pertumbuhan bakteri yang terlihat sampai pada goresan terakhir, maka konsentrasi pada goresan terakhir yang dianggap sebagai Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM).

Hasil uji yang dilakukan pada aktivitas antibakteri kombinasi minyak atsiri kombinasi daun kemangi dan daun jeruk purut dapat menunjukkan adanya hubungan yang positif antara daya bunuh atau daya hambat dengan konsentrasi yaitu semakin tinggi konsentrasi maka semakin tinggi pula kandungan zat aktif didalamnya sehingga aktivitas antibakteri akan semakin bertambah, sedangkan yang memiliki KBM semakin kecil menandakan semakin potensial sediaan tersebut sebagai antibakteri karena dengan konsentrasi kecil sediaan uji sudah dapat membunuh bakteri.