

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI MINYAK ATSIRI DAUN
KEMANGI (*Ocimum basilicum* L.) DAN ZODIA
(*Evodia sauveolens*, Scheff.) TERHADAP
Salmonella typhi ATCC 13311**



Oleh :

**Jhen Sarti Fasak
20144217A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI MINYAK ATSIRI DAUN
KEMANGI (*Ocimum basilicum* L. DAN ZODIA
(*Evodia sauveolens*, Scheff.) TERHADAP
Salmonella typhi ATCC 13311**

SKRIPSI

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

Oleh :

**Jhen Sarti Fasak
20144217A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

PENGESAHAN SKRIPSI

berjudul

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI MINYAK ATSIRI DAUN
KEMANGI (*Ocimum basilicum* L) DAN ZODIA (*Evodia sauveolens*, Scheff)
TERHADAP *Salmonella typhi* ATCC 13311**

Oleh :

Jhen sarti fasak
20144217A

Dipertahankan di hadapan Panitia Prnguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal: 17 Juli 2018

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



Dekan,

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

Pembimbing Utama

Dr Ana Indrayati, M.Si.,

Pembimbing Pendamping

Desi Purwaningsih, S.Pd., M.Si

Penguji :

1. Dra. Nony Puspawati, M.Si
2. Dwi Ningsih, M. Farm., Apt
3. Drs. Mardiyono, M.Si
4. Dr. Ana Indrayati, M.Si

PERSEMBAHAN

Segala puji bagi Tuhan Yang Maha Kuasa, atas rahmat dan karunia-Nya sehingga karya ini dapat diselesaikan, Teriring doa, rasa syukur dan segala kerendahan hati

Dengan segala cinta dan kasih sayang kupersembahkan karya ini untuk orang-orang tercinta sepanjang hidupku:

Bapak terhebat Markus Fasad dan Ibunda luar biasa Ester ertin Tanan Sampe yang senantiasa membimbingku, mendoakanku, memotivasiku dan membahagiakan kalian adalah tujuan utamaku, terimakasih banyak

Untuk adik-adikku Liandro dan Selandi yang selalu memberikan do'a, keceriaan dan menantikan keberhasilanku,

Ibu Dr. Ana Indrayati, M.Si., dan Ibu Desi Purwaningsih S.Pd. M.Si, selaku dosen pembimbing tugas akhir saya, terimakasih banyak atas ilmu, didikan pengalaman, motivasi seta ketulusan dan kesabarannya dalam membimbing selama penelitian dan penulisan skripsi ini,

Semua staf akademik di Fakultas Farmasi

Almamater tercinta Universitas Setia Budi Surakarta

MOTTO:

Yesaya 58:11

Tuhan akan menuntun engkau senantiasa dan akan memuaskan hatimu ditengah yang kering, dan akan membaharui kekuatanmu; Engkau akan seperti tanaman yang diairi dengan baik dan seperti mata air yang tidak pernah mengecewakan.

PERNYATAAN

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 atau karya pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

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

Surakarta, 17 Juli

2018



Jhen Sarti Fasak

20144217A

KATA PENGANTAR

Segala Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa atas semua karunia dan restu-Nya Sehingga dapat diselesaikannya karya ini. Semoga kita semua kedepannya menjadi manusia yang lebih rendah hati dengan pengetahuan yang kita miliki, serta menjadi pribadi yang semakin baik kedepannya.

Syukur tak hentinya penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yesus Kristus dengan anugrah kesehatan, bimbingan, restu serta jalan yang diberikan sehingga dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI MINYAK ATSIRI DAUN KEMANGI (*Ocimum basilicum L.*) DAN ZODIA (*Evodia saueolens, Scheff.*) TERHADAP *Salmonella typhi* ATCC 13311**

” sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Strata 1 pada Program Studi S1 Farmasi Universitas Setia Budi.

Skripsi ini tidak lepas dari dukungan dan bantuan dari beberapa pihak, baik material maupun spiritual. Oleh karena itu, pada kesempatan ini dengan segala kerendahan hati penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada :

1. Dr.Djoni Tarigan, M.BA selaku Rektor Universitas Setia Budi.
2. Prof. Dr. R. A. Oetari, S.U., M.M., M.Sc., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Dwi Ningsih, M.Farm., Apt. selaku Kepala Progam Studi S1 Farmasi Universitas Setia Budi.
4. Yane Dila Keswara, M.Si.Apt . selaku pembimbing akademik atas segala bimbingan dan pengarahannya.
5. Dr. Ana Indrayati selaku pembimbing utama yang telah bersedia mendampingi, membimbing, memberi suntikan semangat serta bertukar pikiran sehingga membantu terselesaikannya skripsi ini.
6. Ibuk Desi Purwaningsih. S.Pd, M.Si . Selaku pembimbing pendamping yang telah memberikan bimbingan, berbagi ilmu, motivasi serta perhatian maupun suntikan semangat sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

7. Segenap dosen pengajar dan staff Program Studi S1 Farmasi Universitas Setia Budi yang telah banyak memberikan ilmu dan pelajaran berharga.
8. Segenap Staff Laboratorium Mikrobiologi yang dengan tulus telah membimbing saya
9. Orang tua yang telah memberikan dukungan dalam material maupun spiritual untuk membantu menyelesaikan skripsi ini.
10. Teman - teman semuanya yang tak bisa disebutkan satu persatu khususnya Sahabat S1 Farmasi angkatan 2014.
11. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu yang berperan serta memberikan dukungan atau bantuan dalam penyusunan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih sangat jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan adanya kritik serta saran yang diberikan dalam upaya penyempurnaan penulisan skripsi ini. Akhir kata, penulis berharap semoga apa yang telah penulis persembahkan dalam karya ini akan bermanfaat khususnya bagi penulis dan umumnya bagi para pembaca.

Surakarta, 17 Juli 2018

Penulis,

Jhen Sarti Fasak

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
PERSEMBAHAN.....	iii
PERNYATAAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
INTISARI.....	xiv
ABSTRACT	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Perumusan Masalah	2
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
A. Tanaman kemangi.....	4
1. Sistematika kemangi.....	4
2. Nama lain:	4
3. Morfologi kemangi	4
4. Manfaat dan khasiat	5
5. Kandungan zat kimia	5
6. Aktivitas antibakteri minyak atsiri daun kemangi.....	5
B. Tanaman zodia	6
1. Sistematika tanaman zodia (<i>Evodia sauveolens</i> , Scheff.)	6
2. Nama lain	7
3. Morfologi zodia	7
4. Manfaat dan khasiat	7
5. Kandungan zat kimia	8
6. Aktivitas antibakteri minyak atsiri daun zodia.....	8

C.	Simplisia	8
1.	Pengertian simplisia.....	8
2.	Pengumpulan simplisia	9
3.	Pengeringan simplisia	9
D.	Ekstraksi	9
1.	Pengertian ekstraksi	9
2.	Pengertian maserasi	10
3.	Pengertian destilasi	10
4.	Macam-macam destilasi.....	10
4.1	Destilasi dengan air.....	11
5.	Pengertian perlokasi	11
6.	Pengertian soxhletasi	11
7.	Pengertian refluks	12
8.	Pengertian digesti	12
9.	Larutan penyari.....	12
E.	Minyak Atsiri.....	12
1.	Pengertian minyak atsiri	12
2.	Sumber minyak atsiri.....	13
3.	Sifat minyak atsiri.....	13
4.	Penggunaan minyak atsiri	14
5.	Isolasi minyak atsiri.....	14
6.	Penyimpanan minyak atsiri	14
7.	Anlisis minyak atsiri	15
7.1	Pengamatan organoleptik.....	15
7.2	Identifikasi minyak atsiri.....	15
7.3	Penetapan indeks bias minyak atsiri.....	15
7.4	Penetapan bobot jenis minyak atsiri.....	15
7.5	Penetapan kelarutan dalam alkohol.....	16
F.	<i>Gas Chromatography Spectofotometry (GC-MS)</i>	16
G.	Media.....	17
1.	Pengertian Media.....	17
2.	Klasifikasi Media.....	17
H.	Sterilisasi	18
I.	<i>Salmonella typhi</i> ATCC 13311.....	18
1.	Sistematika <i>Salmonella typhi</i>	18
2.	Morfologi dan identifikasi	18
3.	Patogenitas dan patologi	19
J.	Antibakteri.....	20
1.	Definisi antibakteri	20
2.	Uji aktivitas antibakteri.....	21
2.1	Difusi.....	21
2.2	Dilusi.....	22
K.	Kloramfenikol.....	22
L.	Landasan Teori.....	23
M.	Hipotesis	24

BAB III	METODE PENELITIAN	25
A.	Populasi dan sampel	25
B.	Variabel penelitian	25
	1. Identifikasi variable utama	25
	2. Klasifikasi variabel utama	25
	3. Definisi operasional variabel utama	26
C.	Alat dan Bahan	27
	1. Alat	27
	2. Bahan	27
D.	Jalannya Penelitian	27
	1. Identifikasi tanaman	27
	2. Pengambilan bahan	27
	3. Pemisahan minyak atsiri	27
	4. Penetapan sifat fisika	28
	4.1 Penetapan bobot jenis.	28
	4.2 Pengamatan organoleptik.	28
	4.3 Identifikasi minyak atsiri	28
	4.4 Penetapan indeks bias minyak atsiri.	28
	4.5 Penetapan kelarutan dalam alkohol.	29
	5. Sterilisasi	29
	6. Identifikasi bakteri uji	29
	6.1 Identifikasi pada media selektif.	29
	6.2 Identifikasi secara biokimia.	29
	6.3 Uji pada media KIA.	30
	6.4 Uji pada media LIA.	30
	6.5 Uji pada media Citrat.	30
	6.6 Uji pewarnaan Gram.	30
	7. Penentuan jumlah bakteri sesuai standar Mc Farland 0,5	31
	8. Pengujian aktivitas antibakteri secara difusi dan dilusi.	31
E.	Analisa Hasil	32
BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN	37
A.	Hasil Penelitian	37
	1. Identifikasi tanaman	37
	2. Pengambilan bahan	37
	3. Hasil pemisahan minyak atsiri daun kemangi dan zodia.	37
	4. Hasil organoleptik	38
	5. Hasil kromatografi Gas - Spektrofotometri Massa (GC-MS) ...	38
	40	
	6. Hasil indeks bias minyak atsiri	40
	7. Penetapan bobot jenis minyak atsiri	41
	8. Identifikasi bakteri uji <i>Salmonella typhi</i> ATCC 13311.	42
	8.1 Identifikasi secara goresan.	42
	8.2 Identifikasi secara pewarnaan Gram.	42
	8.3 Hasil identifikasi uji biokimia.	43

9. Pengujian daya hambat antibakteri dengan metode difusi.....	44
10. Pengujian daya antibakteri dengan metode dilusi	47
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	51
A. Kesimpulan.....	51
B. Saran.....	51
DAFTAR PUSTAKA	52
LAMPIRAN	56

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Tanaman kemangi (<i>Ocimum basilicum</i> L.).....	4
Gambar 2. Tanaman Zodia (<i>Evodia saueolens</i> , Scheff)	7
Gambar 3. Struktur kimia Kloramfenikol.....	22
Gambar 4. Skema destilasi uap dan air minyak atsiri daun kemangi	32
Gambar 5. Skema destilasi uap dan air minyak atsiri daun zodia.....	33
Gambar 6. Skema pengujian antibakteri dari minyak atsiri daun kemangi dan daun zodia terhadap <i>Salmonella typhi</i> ATCC 13311 secara difusi	34
Gambar 7. Standar uji Mac Farland	35
Gambar 8. Skema kerja pengujian aktivitas antibakteri dari minyak atsiri daun kemangi dan daun zodia terhadap <i>Salmonella typhi</i> ATCC 13311 secara dilusi.....	36
Gambar 9. Peack dari kromatogra pada line 10	39
Gambar 10. Peack dari kromatogra pada line 8	40
Gambar 11. Foto Hasil identifikasi <i>Salmonella typhi</i> ATCC dengan media selektif	42
Gambar 12. Foto hasil identifikasi bakteri <i>Salmonella typhi</i> ATCC 13311	43
Gambar 13. Foto identifikasi uji Biokimia <i>Salmonella typhi</i> ATCC 13311	44
Gambar 14. Aktivitas antibakteri minyak atsiri daun kemangi dan zodia serta kombinasinya terhadap <i>Salmonella typhi</i> ATCC 13311.....	46

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Hasil pemeriksaan Organoleptik minyak atsiri Daun Kemangi.	38
Tabel 2. Hasil pemeriksaan Organoleptik minyak atsiri Daun Zodia.	38
Tabel 3. Hasil identifikasi komponen minyak atsiri daun kemangi	38
Tabel 4. Hasil identifikasi komponen minyak atsiri daun zodia	39
Tabel 5. Hasil penetapan indeks bias minyak atsiri daun kemangi (<i>Ocimum Basilicum</i> . L) dan minyak atsiri daun zodia (<i>Evodia sauveolens</i> , Scheff)	40
Tabel 6. Hasil Bobot minyak atsiri daun kemangi. (<i>Ocimum bacillum</i> L.).....	41
Tabel 7. Hasil Bobot minyak atsiri daun zodia. (Evodia Sauveolen scheff.)	41
Tabel 8. Hasil identifikasi uji biokimia pada <i>Salmonella typhi</i> ATCC 13311.....	43
Tabel 9. Hasil diameter hambat uji aktivitas antibakteri kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan zodia metode difusi dapat dilihat pada lampiran 6.....	45
Tabel 10. Hasil pengujian aktivitas antibakteri dari kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan zodia yang teraktif (2:1) dengan metode dilusi.....	48

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Derterminasi Tanaman	57
Lampiran 2. Foto daun kemangi dan minyak atsiri daun kemangi.....	59
Lampiran 3. Foto daun zodia dan minyak atsiri daun zodia.	60
Lampiran 4. Gambar proses isolasi minyak atsiri daun zodia dan kemangi dengan metode destilasi uap	61
Lampiran 5. Alat GC-MS, Oven, Inkubator dan autoklaf.....	64
Lampiran 6. Pengamatan organoleptik minyak atisiri daun kemangi dan zodia.	66
Lampiran 7. Uji kelarutan minyak atsiri dalam alkohol dan hasil indeks bias minyak atsiri.	67
Lampiran 8. Uji aktivitas antibakteri kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan zodia terhadap <i>Salmonella typhi</i> ATCC 13311 metode difusi.....	68
Lampiran 9. Uji dilusi kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan zodia perbandingan 2:1	69
Lampiran 12. Perhitungan bobot jenis minyak atsiri	71
Lampiran 13. Perhitungan persen (%) kemurnian berdasarkan indeks bias.	73
Lampiran 14. Perhitungan dan pembuatan laurutan stok minyak atsiri kombinasi daun kemangi dan zodia metode difusi.	74
Lampiran 15. Perhitungan dan pembuatan konsentrasi minyak atsiri kombinasi daun kemangi dan zodia 2:1.	75
Lampiran 16. Formulasi dan pembuatan media.	77
Lampiran 17. Hasil uji SPSS	80

INTISARI

FASAK JS., 2018, UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI MINYAK ATSIRI DAUN KEMANGI (*Ocimum basilicum* L.) DAN ZODIA (*Evodia sauveolens*, Scheff.) TERHADAP *Salmonella typhi* ATCC 13311 SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Minyak atsiri yang diperoleh dari tanaman kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dan zodia (*Evodia sauveolens*, scheff) mengandung antibakteri diketahui tanaman kemangi memiliki komponen senyawa tertinggi Z-Citral berkhasiat sebagai antimikroba dan tanaman zodia yang memiliki komponen senyawa tertinggi Evodone yang memiliki aktivitas antibakteri dengan mekanisme mengganggu permeabilitas membran sel bakteri dan membuat sel menjadi lisis. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui senyawa utama yang memiliki aktivitas antibakteri dari minyak atsiri kemangi dan zodia serta aktivitasnya sebagai antibakteri terhadap *Salmonella typhi* ATCC 13311

Metode penelitian yang digunakan untuk mengetahui aktivitas antibakteri adalah metode difusi yang bertujuan untuk mengetahui daya hambat dari kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan zodia setelah dilakukan uji difusi, data yang diperoleh kemudian diolah menggunakan SPSS untuk mengetahui apakah data yang diperoleh dari metode difusi telah terdistribusi normal serta mengetahui konsentrasi dari kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan zodia yang memiliki daya hambat paling besar yang selanjutnya dilakukan uji dilusi untuk mengetahui konsentrasi hambat minimum atau KHM dan konsentrasi bunuh minimum atau KBM dari kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan zodia.

Hasil yang diperoleh dari metode difusi menunjukkan bahwa kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan zodia dengan perbandingan 2:1 yaitu 50 mL minyak atsiri daun zodia dan 25 mL minyak atsiri daun kemangi memiliki daya hambat sebesar 18,13 %. Hasil uji dilusi tidak dapat menentukan KHM karena larutan dari minyak atsiri yang berwarna putih susu. KBM yang diperoleh dari uji dilusi adalah sebesar 25%.

Kata kunci: Aktivitas antibakteri, kemangi, zodia, minyak atsiri

ABSTRACT

FASAK JS., 2018, UJI, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA. IDENTIFICATION ANTIBACTERIAL ACTIVE COMPOUND FROM ESSENTIAL OIL LEAVES KEMANGI (*Ocimum basilicum* L.) AND ZODIA (*Evodia sauveolens*, Scheff AGAINST *Salmonella typhi* ATCC 13311 FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Essential oils obtained from basil plants (*Ocimum basilicum* .L) and zodia (*Evodia sauveolen*, scheff) contain antibacterials known to basil plants have the highest compound components Z-Citral efficacious as antimicrobials and zodia plants that have the highest component of Evodone compound which has antibacterial activity with mechanisms interfere with the permeability of bacterial cell membranes and make the cell lysate.

The purpose of this study was to determine the main compounds that have antibacterial activity of essential oils of basil and zodia and its activity as antibacterial to *Salmonella typhi* ATCC 13311. The research method used to know the antibacterial activity is the diffusion method which aims to know the inhibition power of the combination of essential oil of basil leaf and zodia after the diffusion test, the data obtained then processed using SPSS to find out whether the data obtained from the diffusion method has been normal distributed as well knowing the concentration of the essential oils of basil and zodia leaves that have the greatest inhibitory power which then dilution test to determine the minimum inhibitory concentration or KHM and minimum killing concentration or KBM from the combination of essential oils of basil and zodia leaves.

The results obtained from the diffusion method showed that the combination of essential oil of basil leaf and zodia with a 2: 1 ratio of 50 mL of volatile oil of zodia leaf and 25 mL of basil leaf oil had an inhibitory power of 18.13%. Dilution test results can not determine KHM because the solution of the essential oil is milky white. KBM obtained from the dilution test is 25%.

Key words: Antibacterial activity, kemangi, zodia essential oil.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Obat-obatan herbal atau tradisional banyak dimanfaatkan berasal dari tanaman yang ada disekitar untuk mengatasi penyakit. Salah satu penyakit yang menjadi masalah serius dimasyarakat adalah infeksi oleh bakteri. Infeksi bakteri dapat disembuhkan dengan obat kimia tetapi memiliki efek samping berupa resistensi. Hal ini menjadi dasar penelitian untuk mengembangkan pengobatan tradisional menggunakan tanaman zodia (*Evodia suaveolens*, Scheff.) yang merupakan tanaman asli Indonesia berasal dari Irian (Papua) berdasarkan penelitian terdahulu mempunyai efek antimikroba. Kandungan utama herbal zodia adalah *evodiamin* dan *rutaecarpin*. Beberapa literatur menyebutkan manfaat lain dari tanaman zodia adalah sebagai anti nyamuk dan antikanker (Kardinan. 2004). Tang *et al.* (1996) menemukan lima jenis alkaloid baru golongan quinolone dari bagian buah *Evodia rutaecarapa*, yang merupakan obat tradisional dari Cina. Masyarakat setempat menggunakannya untuk terapi sakit kepala, sakit perut, disentri, pendarahan setelah melahirkan, nyeri tulang, migrain dan meredakan rasa mual.

Penelitian yang dilakukan oleh Anggraeni (2009) disebutkan bahwa hasil skrining fitokimia serbuk simplisia daun zodia (*Euodia hortentis* J.R. & G.Forst) menunjukkan adanya senyawa alkalioda, flavanoida, tanin dan glikosida. berdasarkan Depkes (2003) daun zodia (*Evodia sauveolens*, Scheff) mengandung saponin, alkaloid, berberine, dan furoquinolone. Daun zodia (*Evodia sauveolens*, Scheff) memiliki kandungan minyak atsiri yang menghasilkan aktivitas antibakteri berspektrum luas. Linalool merupakan kandungan utama minyak atsiri dalam tanaman pengusir nyamuk zodia (Kardinan. 2007). Menurut hasil analisis yang dilakukan di Balai penelitian tanaman rempah dan obat (Balitro) dengan gas kromatografi, minyak yang disuling dari tanaman ini mengandung linalool (44%) dan α -pinene (13,26%).

Tanaman kemangi (*Ocimum bacilicum*. L) merupakan salah satu tanaman obat tradisional yang memiliki banyak manfaat. Kemangi memiliki senyawa aktif seperti minyak atsiri, alkaloid, saponin, flavonoid, triterpenoid, minyak atsiri dan fenol. Sifat dari penghambat bakteri ini disebut sebagai bakteristatik atau bakteriosida (Hadipoentyanti dan Wahyuni, 2008). Minyak atsiri daun kemangi diketahui memiliki efek antibakteri terhadap *Salmonella typhi* (Angganawati, 2014) *Salmonella typhi* merupakan bakteri Gram negatif yang dapat menular pada manusia dan mengakibatkan terkena penyakit tifus. *Salmonella typhi* masuk ke tubuh manusia bersama bahan makanan atau minuman yang tercemar. Cara penyebarannya melalui muntahan, urin, dan kotoran dari penderita yang kemudian secara pasif terbawa oleh lalat (kaki-kaki lalat) Lalat itu mengkontaminasi makanan, minuman, sayuran maupun buah-buahan segar (Inawati. 2014).

Sejauh ini, upaya yang dilakukan untuk mengobati penyakit tifus masih terbatas pada antibiotik. Seperti yang kita ketahui antibiotik tidak hanya memiliki keuntungan bagi manusia tapi juga kerugian yaitu kemampuan bakteri dalam mempertahankan diri atau dalam istilah kesehatan disebut dengan Resisten. Menurut (Jawetz et al.,1996). Penggunaan antibiotik dalam jangka panjang dan tidak tepat dosis juga dapat mengganggu fungsi kinerja pada organ ginjal, jantung, dan hati (WHO. 2014). Minyak atsiri daun kemangi memiliki aktivitas antibakteri yang kuat berupa eugenol dan minyak atsiri daun zodia yang berspektrum luas pada bakteri Gram positif dan negatif, sehingga dengan adanya kombinasi minyak atsiri dari kedua tanaman herbal tersebut diharapkan dapat memberikan efek yang sinergis sebagai antibakteri terhadap *Salmonella typhi* ATCC 13311.

B. Perumusan Masalah

Pertama, apa senyawa tertinggi yang dimiliki oleh minyak atsiri daun kemangi dan zodia yang berperan sebagai antibakteri ?

Kedua, apakah minyak atsiri kombinasi daun kemangi dan zodia memiliki aktivitas antibakteri melalui daya hambat, (KHM) konsentrasi hambat minimum

dan (KBM) konsentrasi bunuh minimum terhadap *Salmonella typhi* ATCC 13311?

Ketiga, manakah dari berbagai perbandingan kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan daun zodia yang memiliki aktivitas paling aktif terhadap *Salmonella typhi* ATCC 13311?

C. Tujuan Penelitian

Dari permasalahan diatas dapat dirumuskan mengenai tujuan penelitian sebagai berikut

Pertama, mengetahui senyawa tertinggi yang dimiliki oleh minyak atsiri daun kemangi dan zodia yang berperan sebagai antibakteri.

Kedua, mengetahui aktivitas antibakteri minyak atsiri kombinasi daun kemangi dan zodia melalui daya hambat, (KHM) konsentrasi hambat minimum dan (KBM) konsentrasi bunuh minimum terhadap *Salmonella typhi* ATCC 13311.

Ketiga, mengetahui perbandingan kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan daun zodia yang memiliki aktivitas paling aktif terhadap *Salmonella typhi* ATCC 13311.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini dilakukan untuk memperoleh informasi mengenai senyawa yang diharapkan dapat menjadi bahan pengobatan dari minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dan zodia (*Evodia sauveolens*, Scheff.) untuk mengatasi penyakit akibat infeksi bakteri *Salmonella typhi* yang dialami oleh masyarakat serta memberikan informasi secara ilmiah.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman kemangi

1. Sistematika kemangi

- Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
Divisio : Magnoliophyta
Sub Divisi : Spermatophyta
Kelas : Magnoliopsida
Ordo : Lamiales
Genus : *Ocimum*
Spesies : *Ocimum basilicum* L.(Bilal *et al.*, 2012)



Gambar 1. Tanaman kemangi (*Ocimum basilicum* L.)

2. Nama lain:

Setiap daerah, kemangi memiliki nama yang berbeda-beda yaitu kemangi dikenal di Jawa: lampes (Sunda), roko-roko (Madura), (Bali): uku-uku, Maluku: Lufe-lufe (Ternate), Sumatra : Balakama, kemangi utan, Madura: ruku-ruku (Depkes. 2011)

3. Morfologi kemangi

Kemangi merupakan tanaman semak semusim dengan tinggi 30-150 cm, batang berkayu, segi empat, beralur, bercabang, dan memiliki bulu berwarna hijau. Daunnya tunggal dan berwarna hijau, bersilang, berbentuk bulat telur, ujungnya runcing, pangkal tumpul, tepi bergerigi, dan pertulangan daun menyirip.

Bunga majemuk berbentuk tandan memiliki bulu tangkai pendek berwarna hijau, mahkota bunga berbentuk kotak dan berwarna coklat tua, bijinya berukuran kecil, tiap buah terdiri dari empat biji yang berwarna hitam, akarnya tunggang dan berwarna putih kotor. (Depkes RI. 2001).

4. Manfaat dan khasiat

Kemangi memiliki beberapa manfaat untuk kesehatan antara lain untuk memperlancar ASI, memperbaiki metabolisme pencernaan, menenangkan saraf, selain itu dapat digunakan untuk menurunkan panas, obat sariawan, obat rematik, peluruh dahak dan peluruh keringat (Irawan. 2008)

5. Kandungan zat kimia

Daun kemangi mengandung minyak atsiri, Saponin, Flavonoid, dan Tanin (Irawan 2008). Kandungan kimia hasil destilasi dari tanaman kimia adalah minyak atsiri. Minyak atsiri merupakan zat yang memberikan aroma pada tumbuhan. Minyak atsiri pada daun kemangi banyak dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri baik Gram positif maupun Gram negatif, jamur dan kapang. Minyak atsiri memiliki komponen volatil pada beberapa tumbuhan dengan karakteristik tertentu. Minyak atsiri daun kemangi tersusun atas senyawa hidrokarbon, alkohol, ester, phenol (eugenol 1-19%, iso-eugenol), eter phenolat (metil clavicol 3-31%, metil eugenol 1-9%), oksida dan keton (Maryati *et al*, 2007).

6. Aktivitas antibakteri minyak atsiri daun kemangi

Penelitian dari tanaman kemangi telah banyak dilakukan. Salah satunya untuk menguji aktivitas antibakteri dari tanaman kemangi. Penelitian (Hussain *et al*, 2008) dilaporkan bahwa minyak atsiri daun kemangi memiliki komponen utama linalool sebesar (56,7-60,6%) diketahui mempunyai diameter zona hambat sebesar 22,2-24,4 mm terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan penelitian (Maryati. 2007) membuktikan bahwa minyak atsiri daun kemangi mengandung eugenol yang tergolong turunan senyawa fenol yang mempunyai efek antiseptik dan bekerja dengan merusak membrane sel. Mekanisme antibakteri kemungkinan karena pengikatan senyawa fenol dengan sel bakteri, kemudian akan mengganggu permeabilitas membran dan proses transportasi. Minyak atsiri daun kemangi mengandung senyawa fenol dan timol yang bertanggung jawab sebagai

antibakteri. Perbedaan komponen kimia pada beberapa minyak atsiri daun kemangi menjadi pertimbangan bahwa mekanisme aksi antibakterinya tidak spesifik namun ada beberapa target di dalam sel (Adeola *et al*,2012) Penelitian dari (Kiromah *et al*, 2014) kombinasi minyak atsiri kemangi dengan kloramfenikol dan gentamisin terhadap *Salmonella typhi* Membuktikan bahwa minyak atsiri kemangi berefek antagonis terhadap kloramfenikol dan gentamisin. Hasil kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan kloramfenikol menunjukkan minyak atsiri menurunkan diameter zona hambat kloramfenikol. Diameter zona hambat kloramfenikol tunggal 20 mm dan zona hambat minyak atsiri tunggal 11 mm dan ketika dikombinasikan zona hambat kloramfenikol turun menjadi 15 mm, hasil dari kombinasi minyak atsiri murni dengan gentamisin menghasilkan diameter zona hambat yang menurun. Minyak atsiri mempunyai efek menurunkan diameter zona hambat gentamisin, dimana zona hambat gentamisin sebelum dikombinasi mencapai 19 mm sedangkan ketika dikombinasi menurun menjadi 16 mm.

B. Tanaman zodia

1. Sitematika tanaman zodia (*Evodia sauveolens*,Scheff.)

Berdasarkan Depkes RI (2003), adapun klasifikasi secara lengkap tanaman zodia adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Sub Divisi : Angiospermae
Kelas : Dicotyledonae
Bangsa : Rutaceae
Marga : *Evodia*
Jenis : *Evodia sauveolens*, Scheff.



Gambar 2. Tanaman Zodia (*Evodia sauveolens*, Scheff)

2. Nama lain

Masyarakat Indonesia umumnya, tanaman ini disebut Zodia. Sedangkan Masyarakat Biak numfor menyebutnya sirih hutan (Maryuni. 2008). Nama Latin dari tanaman zodia adalah *Evodia sauveolens*, Scheff.

3. Morfologi zodia

Morfologi tanaman zodia adalah berupa perdu, menahun, tumbuh tegak, tinggi mencapai 200 cm, banyak cabang. Batang bulat, pada permukaan tampak tonjolan bekas menempelnya daun, berwarna coklat. Daun tunggal, bertangkai pendek, letak berhadapan, helaian memanjang sampai lanset, ujung runcing, tepi sampai bertoreh, pangkal runcing, pertulangan menyirip, permukaan licin, halus, berwarna hijau muda. Perbungaan majemuk, keluar dari ujung tangkai dan ketiak daun dengan 4 helai mahkota bunga berbentuk bulat telur, berwarna putih. Buahnya berbentuk bulat telur berdiameter 0,3 mm, berwarna hijau. Berbiji kecil, bulat telur, berjumlah 1-2 buah, berwarna hitam. Berakar tunggang, berwarna coklat (Pratiwi. 2015)

4. Manfaat dan khasiat

Tanaman zodia berkhasiat sebagai pengusir nyamuk, tonik, penambah stamina, dan Pereda malaria. Daun tanaman ini berkhasiat sebagai obat sakit kepala, demam, nyeri perut, luka, dan sakit gigi (Depkes RI. 2003) Rebusan daun zodia dipakai sebagai tonik penambah stamina tubuh (Muryani. 2008). Minyak atsiri daun zodia yang diisolasi menggunakan metode destilasi uap berperan sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Salmonella enteritidis* dan *Escherichia coli*.

5. Kandungan zat kimia

Minyak atsiri daun zodia diisolasi dan dianalisis dengan metode GC-MC. Spektra GC-MC menampakkan 26 puncak yang menunjukkan adanya 26 komponen penyusun minyak atsiri. Total persentase komponen penyusun adalah 100% dengan komponen utama adalah Evodone dengan kadar 72,32% diikuti dengan Menthofuran sebesar 7,52% limonene 4,73% curcumene 4,28% dan fenol 1,66%, sedangkan sisanya merupakan komponen-komponen berkadar rendah (Maryuni. 2008)

6. Aktivitas antibakteri minyak atsiri daun zodia

Minyak atsiri daun zodia (*Evodia saueolens*, Scheff) menghasilkan antibakteri berspektrum luas yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan negatif yaitu *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Salmonella enteriditis* dan *Escherichia coli*. Diketahui dari penelitian yang dilakukan minyak atsiri daun zodia memiliki daya hambat antibakteri sebesar 10 mm. Senyawa aktif antibakteri minyak atsiri daun zodia berhasil diisolasi dan diidentifikasi sebagai Evodone. Minyak atsiri daun zodia bekerja dengan merusak membran sel bakteri, bakteri mengalami “Swelling” dan sel bakteri berubah menjadi sel ghost. (Muryani. 2008)

C. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia adalah bahan alami yang digunakan untuk obat dan belum mengalami perubahan proses apapun dan kecuali dinyatakan lain umumnya berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dibagi menjadi tiga golongan, yaitu simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelican atau mineral. Simplisia nabati adalah simplisia berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Simplisia hewani adalah simplisia berupa hewan utuh atau bagian hewan yang masih berupa zat kimia murni. Simplisia mineral adalah simplisia berupa bahan mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat murni (Gunawan& Mulyani, 2004).

2. Pengumpulan simplisia

Simplisia yang digunakan pada penelitian ini adalah simplisia nabati dan diambil bagian daunnya saja, Pemanenan dan pengumpulan herba pada umumnya ketika herba telah berbunga. Pengumpulan herba dilakukan sebaiknya pada saat cuaca kering, bila suasana basah akan menurunkan mutu, dan warnanya akan hilang serta berubah selama pengeringan (Depkes RI. 2007)

3. Pengeringan simplisia

Pengeringan simplisia bertujuan untuk mengurangi kadar air agar menjamin penyimpanan dan mencegah pertumbuhan jamur serta mencegah terjadinya proses atau reaksi enzimatik yang dapat menurunkan mutu pengeringan dapat dilakukan baik secara langsung dibawah sinar matahari dan pengeringan secara tidak langsung (Depkes RI.2007).

D. Ekstraksi

1. Pengertian ekstraksi

Ekstraksi adalah penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair seperti Etanol dan N Heksan. Simplisia yang diekstrak mengandung senyawa aktif yang dapat larut seperti serat, karbohidrat, protein dan lain-lain. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat digolongkan ke dalam golongan minyak atsiri, Flavonoid dan lain-lain. Struktur kimia yang berbeda-beda akan mempengaruhi kelarutan serta stabilitas senyawa-senyawa tersebut terhadap pemanasan, udara, cahaya, logam berat, dan derajat keasaman. Senyawa aktif yang diketahui dikandung simplisia akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat. Simplisia yang lunak seperti rimpang dan daun mudah untuk diserap oleh pelarut. Simplisia yang keras seperti biji, kulit kayu, dan kulit akar susah diserap oleh pelarut. Sifat fisik dan senyawa aktif dari simplisia perlu diperhatikan serta senyawa-senyawa lain yang terdapat dalam simplisia seperti protein, karbohidrat, lemak, dan gula, karena senyawa ini akan mempengaruhi tingkat kejenuhan pelarut sehingga akan berpengaruh pula pada proses pelarutan senyawa aktif. Keajegan kadar senyawa aktif merupakan syarat mutlak mutu ekstrak yang diproduksi, oleh sebab itu setiap ekstrak harus di standarisasi (Depkes. 2000).

2. Pengertian maserasi

Maserasi merupakan metode penyarian yang sederhana. Keuntungan dari maserasi adalah mudah dilakukan, konsentrasi bahan ekstrak terjamin keseimbangannya, maserasi secara teoritis tidak memungkinkan terjadinya ekstrak absolut, kerugiannya adalah pengerjaan yang lama, membutuhkan pelarut yang banyak dan penyarian yang kurang sempurna. Secara teknologi termasuk ekstrak dengan prinsip metode dengan pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya.

Maserasi dapat dilakukan dengan cara memasukkan 10 bagian simplisia dengan derajat halus yang cocok, dimasukkan kedalam bejana lalu dituangi dengan 75 bagian cairan penyari, ditutup dan dibiarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya sambil berulang-ulang diaduk, sari kemudian diencerkan dan ampas diperas. Ampas dicuci dengan cairan penyari secukupnya hingga diperoleh 100 bagian (Depkes. 2000)

3. Pengertian destilasi

Destilasi merupakan metode yang paling sering digunakan untuk mendapatkan minyak atsiri. Destilasi atau penyulingan adalah suatu metode pemisahan bahan kimia berdasarkan perbedaan kecepatan atau kemudahan menguap bahan atau juga didefinisikan sebagai teknik pemisahan kimia berdasarkan perbedaan titik didih. Prinsip destilasi adalah penguapan cairan dan pengembunan kembali uap tersebut pada suhu titik didih. Cairan yang diembunkan kembali disebut destilat. Tujuan destilasi adalah pemurnian zat cair pada titik didihnya, dan memisahkan cairan tersebut dari zat padat yang terlarut atau dari zat cair lainnya yang mempunyai perbedaan titik didih cairan murni (Depkes. 2000)

4. Macam-macam destilasi

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

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

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

4.1.2 Destilasi dengan uap langsung.Metode ini disebut destilasi uap atau destilasi uap langsung. Pada prinsipnya sama dengan metode destilasi uap dan air. Kecuali air tidak diisikan dalam ketel. Uap yang digunakan tidak jenuh atau uap yang dialirkan melalui pipa uap melingkar yang berpori yang terletak dibawah bahan. Uap akan bergerak keatas melalui bahan yang terletak diatas saringan. Metode ini digunakan untuk penyarian bahan-bahan yang mengandung minyak atsiri dengan komponen bertitik didih tinggi.

5. Pengertian perlokasi

Perlokasi merupakan proses ekstraksi senyawa terlarut dan jaringan selular simplisia dengan pelarut yang sesuai dan selalu baru sampai dengan sempurna yang umumnya dilakukan pada suhu ruangan. Perlokasi cukup sesuai, baik ekstraksi pendahuluan maupun dalam jumlah besar (Depkes. 2006)

6. Pengertian soxhletasi

Soxhletasi merupakan metode ekstraksi dengan prinsip pemanasan dan perendaman sampel, hal itu menyebabkan terjadinya pemecahan dinding dan membrane sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel, dengan demikian, metabolit sekunder yang ada di dalam sitoplasma akan terlarut kedalam pelarut organik. Larutan itu kemudian menguap dan melewati pendinginan udara

yang akan mengembunkan uap tersebut menjadi tetesan yang akan terkumpul kembali. Bila larutan melewati batang lubang pipa samping soxhlet maka akan terjadi sirkulasi. Sirkulasi yang berulang itulah yang menghasilkan ekstrak yang baik (Depkes. 2006)

7. Pengertian refluks

Ekstraksi dengan metode refluks pada dasarnya merupakan ekstraksi berkesinambungan. Bahan yang akan diekstraksi direndam dengan cairan penyari yang sesuai dengan labu alas bulat yang telah dilengkapi dengan alat pendingin tegak, lalu dipanaskan sampai mendidih. Cairan penyari akan menguap, uap tersebut akan diembunkan dengan pendingin tegak dan akan kembali menyari zat aktif dalam simplisia tersebut. Ekstraksi ini biasanya dilakukan 3 kali dan setiap kali diekstraksi selama 4 jam (Depkes. 2006).

8. Pengertian digesti

Digesti adalah maserasi kinetik dengan pengadukan secara kontinyu pada suhu yang lebih tinggi dari suhu ruangan, yaitu secara umum dilakukan pada suhu 40°C -50°C (Depkes. 2006)

9. Larutan penyari

Pemilihan larutan penyari harus mempertimbangkan beberapa faktor yaitu: mudah diperoleh, murah, stabil secara fisika dan kimia, bereaksi netral, tidak mudah terbakar, selektif dan tidak mempengaruhi zat aktif (Depkes.1986).

E. Minyak Atsiri

1. Pengertian minyak atsiri

Minyak atsiri yang dikenal dengan nama minyak menguap (*Volatile oil*) atau minyak eteris (*essential oil*) adalah komoditi ekstrak alami dari jenis tumbuhan yang berasal dari daun, bunga, kayu, Biji-bijian bahkan putik bunga. Minyak atsiri merupakan minyak yang mudah menguap, dengan komposisi dan titik didih yang berbeda-beda. Setiap substansi yang dapat menguap memiliki titik didih dan tekanan uap tertentu dan hal ini dipengaruhi oleh suhu (Guenther. 2006) sifat dari minyak atsiri yang lain adalah mempunyai rasa getir (*punget taste*), berbau wangi sesuai dengan bau tanaman penghasilnya, yang diambil dari bagian-

bagian tanaman seperti daun, buah, biji bunga, rimpang, kulit kayu, bahkan seluruh bagian tanaman. Minyak atsiri mudah larut dalam pelarut organik seperti alkohol, eter, petroleum, benzene, dan tidak larut dalam air.

2. Sumber minyak atsiri

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

3. Sifat minyak atsiri

Minyak atsiri memiliki sifat-sifat yang tersusun oleh bermacam-macam komponen senyawa dan memiliki bau khas. Umumnya bau ini mewakili bau tanaman aslinya, mempunyai rasa getir, kadang-kadang terasa tajam, menggigit, memberi kesan hangat sampai panas, atau justru dingin ketika terasa di kulit, 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 (Gunawan dan Mulyani, 2004).

Minyak atsiri pada umumnya tidak dapat bercampur dengan air tetapi cukup dapat larut hingga dapat memberikan baunya kepada air walaupun kelarutannya sangat kecil, sangat mudah larut dalam pelarut organik (Gunawan dan Mulyani, 2004) minyak atsiri ini berupa cairan jernih, tidak berwarna, selama penyimpanan akan mengental dan berwarna kekuningan atau kecoklatan. Hal tersebut terjadi karena adanya pengaruh oksidasi dan resinifikasi (berubah menjadi damar atau resin). Proses oksidasi dan resinifikasi dapat dicegah atau diperlambat dengan cara minyak atsiri dilindungi dari pengaruh sinar matahari yang dapat merangsang terjadinya oksidasi dan oksigen udara yang dapat mengoksidasi minyak atsiri (Koensoemardiyah. 2010)

Minyak atsiri sebaiknya disimpan dalam wadah berbahan dasar kaca yang berwarna gelap (misalnya, botol berwarna coklat atau biru gelap) untuk

mengurangi sinar yang masuk. Botol penyimpanan minyak atsiri harus terisi penuh agar oksigen udara yang ada dalam ruang udara tempat penyimpanan tersebut kecil (Koensoemardiyah. 2010)

4. Penggunaan minyak atsiri

Minyak atsiri dalam industri farmasi digunakan sebagai antibakteri, antifungi, antiseptik, pengobatan lesi, antinyeri, dapat digunakan sangat luas dan spesifik, khususnya dalam berbagai bidang industri, misal industri parfum, kosmetik, esenses, industri farmasi dan flavoring agent. Minyak atsiri yang berasal dari rempah-rempah, misalnya lada, minyak kayu manis, minyak jahe, minyak cengkeh, minyak ketumbar, umumnya digunakan sebagai bahan penyedap (Flavoring agent) dalam bahan pangan dan minuman (Keteren. 2008)

5. Pengambilan minyak atsiri

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

6. Penyimpanan minyak atsiri

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

dalam wadah yang benar-benar kering dan harus bebas dari cahaya yang masuk oleh karena itu, wadah harus terbuat dari kaca dan dilapisi dengan bahan yang *inert*. Misalnya, wadah berwarna gelap sehingga cahaya tidak dapat tembus dan wadah harus dalam keadaan penuh untuk menghindari adanya oksigen udara yang berlebihan (biarkan sedikit saja udara dalam tempat penyimpanan tersebut). Sebelum ditutup, sebaiknya wadah tersebut disemprot dengan gas CO² atau Nitrogen. (Koensoemardiyah S. 2010)

7. Analisis minyak atsiri

7.1 Pengamatan organoleptik. Pengamatan organoleptik pada minyak atsiri meliputi warna, aroma, bentuk dan rasa dari minyak. Warna minyak atsiri hasil destilasi masing-masing sampel diambil volume sama dan ditempatkan dalam sebuah wadah berbahan kaca yang bersih dan jernih. Bau dan rasa minyak memiliki bau dan rasa yang khas sesuai dengan tanaman asalnya. Organoleptik minyak atsiri daun kemangi memiliki warna kuning jernih, bau khas menyengat dan mudah menguap (Dewi. 2008) dan daun zodia memiliki bau aromatik, warna coklat muda, rasa tidak berasa (Stahl. 2008)

7.2 Identifikasi minyak atsiri. Identifikasi minyak atsiri daun kemangi dan daun zodia seperti identifikasi minyak atsiri pada umumnya yaitu minyak atsiri daun kemangi dan daun zodia diteteskan pada permukaan air, minyak atsiri akan menyebar dan permukaan air tidak akan keruh. Minyak atsiri diteteskan pada kertas saring, apabila dibiarkan minyak akan menguap sempurna tanpa meninggalkan noda lemak (Gunawan dan Mulyani, 2004)

7.3 Penetapan indeks bias minyak atsiri. Penetapan indeks bias ditetapkan dengan alat refraktometer dan diulang sebanyak 3 kali. Badan prisma dibuka dan kemudian dibersihkan dengan kapas yang telah dibasahi alkohol. Refraktometer diatur sehingga garis dan skala tampak jelas, mencatat suhu ruang tempat bekerja kemudian meneteskan cairan yang diukur pada prisma dan ditutup kembali, pemutar sebelah kanan diatur sehingga batas gelap dan terang tepat pada garis dan dibaca skala dan dicatat indeks biasnya (Irawan. 2009)

7.4 Penetapan bobot jenis minyak atsiri. Penetapan bobot jenis ditetapkan dengan cara botol ditimbang kemudian dikeringkan dengan cara

dioven, kemudian ditimbang botol kosong dan dicatat hasilnya. Minyak atsiri daun kemangi dan daun zodia ditimbang dalam botol timbang dan catat hasilnya, penimbangan diulang sebanyak tiga kali, data hasil penimbangan botol ditimbang dan minyak atsiri daun kemangi dan daun zodia dikurangkan bobot, botol timbangan kosong sehingga didapatkan bobot minyak atsiri. Dibandingkan bobot minyak dengan bobot air sehingga didapatkan bobot jenis dari minyak atsiri.

$$\text{Bobot minyak atsiri} = \frac{\text{Bobot botol timbang berisi minyak atsiri}}{\text{Bobot botol timbang kosong}}$$

(Idy. 2017)

7.5 Penetapan kelarutan dalam alkohol. Menurut badan standar Nasional Indonesia (2006), Uji Kelarutan minyak atsiri dalam alkohol dilakukan dengan cara memipet minyak sebanyak 1 ml ke dalam gelas ukur 10 ml, ditambah alkohol 70 % dengan cara bertahap. Pada setiap penambahan alkohol kocok dan amati kejernihannya.

F. Gas Chromatography Spectofotometry (GC-MS)

Analisis dan komponen minyak atsiri merupakan masalah yang cukup rumit, ditambah dengan sifatnya yang mudah menguap pada suhu kamar sehingga perlu diseleksi metode yang akan diterapkan untuk menganalisis minyak atsiri. Sejak ditemukannya kromatografi gas (GC), kendala dalam analisis komponen minyak atsiri ini mulai dapat diatasi walaupun terbatas hanya pada analisis kualitatif dan penentuan kuantitatif komponen penyusun minyak atsiri saja.

Pada penggunaan GC efek penguapan dapat dihindari. Perkembangan teknologi instrumentasi yang sangat pesat akhirnya dapat melahirkan suatu alat yang merupakan gabungan dua sistem dengan prinsip dasar yang berbeda satu sama lain tetapi dapat saling menguntungkan dan saling melengkapi, yaitu merupakan gabungan antara kromatografi gas dan spektrofotometri massa (GCMS). Pada alat GC-MS, kedua alat dihubungkan dengan suatu interfase kromatografi gas disini berfungsi sebagai alat pemisah berbagai komponen campuran dalam sampel sedangkan spektrometer massa berfungsi untuk

mendeteksi masing-masing molekul komponen yang telah dipisahkan pada kromatografi gas (Agusta. 2000)

G. Media

1. Pengertian Media

Media adalah tempat bagi jaringan untuk tumbuh dan mengambil nutrisi yang mendukung kehidupan jaringan. Media tumbuh menyediakan berbagai bahan yang diperlukan jaringan untuk hidup dan memperbanyak diri. Mikroba dapat tumbuh dan berkembang biak dengan baik didalam media, media yang digunakan harus memenuhi beberapa persyaratan tertentu, yaitu media harus mengandung semua unsur hara yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangan mikroba.

Media harus mempunyai tekanan osmosa, tegangan permukaan dan pH yang sesuai dengan kebutuhan mikroba. Media harus dalam keadaan steril artinya sebelum ditanami mikroba yang dimaksud, tidak ditumbuhi mikroba yang lain (Sri yanti dan Wijayani, 2008)

2. Klasifikasi Media

Media adalah suatu bahan yang digunakan untuk menumbuhkan dan mengembangkan bakteri. Media yang digunakan harus dalam keadaan steril. artinya tidak ditumbuhi oleh mikroba lain yang tidak diharapkan. Agar mikroba dapat tumbuh dan berkembang dengan baik didalam media maka diperlukan beberapa persyaratan, antara lain dalam media harus terkandung unsur yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan bakteri, harus mempunyai tekanan osmosa, tegangan permukaan dan pH yang sesuai dengan kebutuhan mikroba. (Sri Yanti dan Wijayani, 2008) Media secara umum dapat dibagi menjadi tiga jenis yaitu media cair, padat, dan setengah padat. Media cair (*liquid media*) dapat digunakan pembiakan organisme dalam jumlah besar, fermentasi dan berbagai uji. Media padat (*solid media*) digunakan untuk mengamati bentuk dan morfologi koloni serta mengisolasi biakan murni. Media setengah padat (*semisolid media*) digunakan untuk menguji ada atau tidaknya motilitas dan kemampuan fermentasi (Sriyanti dan Wijayani, 2008).

H. Sterilisasi

Bahan atau peralatan yang digunakan didalam mikrobiologi harus dalam keadaan steril, artinya pada bahan atau peralatan tersebut tidak didapatkan mikroba yang tidak diharapkan kehadirannya. Baik yang akan mengganggu atau merusak media ataupun mengganggu kehidupan dalam dan proses yang sedang dikerjakan (Waluyo. 2004) Sterilisasi merupakan suatu tindakan untuk membebaskan alat dan media dari mikroba. Sterilisasi yang umum dilakukan meliputi sterilisasi secara fisik yaitu pemanasan basah dan kering, penggunaan sinar bergelombang pendek seperti sinar- X, sinar alfa, sinar gamma dan sinar UV. Sterilisasi secara kimia yaitu menggunakan desinfektan, larutan alkohol, sterilisasi secara mekanik yaitu penggunaan saringan atau filter untuk bahan yang akan mengalami perubahan atau penguraian akibat pemanasan tinggi atau tekanan tinggi (Darmadi. 2008)

I. *Salmonella typhi* ATCC 13311

1. Sistematika *Salmonella typhi*

Sistematika *Salmonella typhi* sebagai berikut (Jawetz *et al*, 2005):

Kingdom	: Bacteria
Divisi	: Protophyta
Sub Divisi	: Schizomycetea
Ordo	: Gamma Proteobacteria
Class	: Enterobacteriales
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: Salmonella
Spesies	: <i>Salmonella typhi</i>

2. Morfologi dan identifikasi

Salmonella typhi merupakan bakteri batang Gram negatif, tidak memiliki spora, bergerak dengan flagel peritrik. ukurannya berkisar antara 0,7-1,5 x 2-5 μm , memiliki antigen O (antigen somatik) merupakan bagian pada struktur pembentuk dinding sel bakteri, antigen H terdiri dari protein yang disebut flagela

dan bersifat termolabil, antigen Vi merupakan polisakarida yang terdapat pada permukaan bakteri.

Bakteri ini tahan terhadap selenit dan natrium deoksikolat yang dapat membunuh bakteri enterik lain, menghasilkan endotoksin, protein invasin dan Mannosa Resistant Haemagglutinin (MRHA). *Salmonella typhi* mampu bertahan hidup selama beberapa bulan sampai setahun jika melekat pada feses, mentega, susu, keju dan air beku. *Salmonella typhi* adalah parasit intraseluler fakultatif, yang dapat hidup dalam makrofag dan menyebabkan gejala-gejala infeksi lambung, biasanya sesudah demam yang lama bakteremia dan akhirnya lokalisasi infeksi dalam jaringan limfoid sub mukosa usus kecil (Shulman *et al*, 2011)

3. Patogenitas dan patologi

Demam tifoid disebabkan oleh bakteri *Salmonella typhi* atau *Salmonella para typhi*. Penularan ke manusia melalui makanan atau minuman yang tercemar dengan feses manusia. Setelah melewati lambung kuman mencapai usus halus dan invasi ke jaringan limfoid (Plak payer) yang merupakan tempat prediksi untuk berkembang biak. Melalui saluran limfe mesenterik kuman masuk aliran darah sistemik (bakterimia I) dan mencapai sel-sel retikulo endothelial dari hati dan limpa, usus halus dan kandung empedu.

Kuman *Salmonella* menghasilkan endotoksin yang merupakan kompleks lipopolisakarida dan dianggap berperan penting pada pathogenesis demam tifoid. Endotoksin bersifat pirogenik serta memperbesar reaksi peradangan dimana kuman *Salmonella* berkembang biak. Di samping itu merupakan stimulator yang kuat untuk memproduksi sitokin oleh sel-sel makrofag dan sel leukosit di jaringan yang meradang. Sitokin ini merupakan mediator-mediator untuk timbulnya demam dan gejala toksemia (*proinflammatory*). Oleh karena basil *Salmonella* bersifat intraseluler maka hampir semua bagian tubuh dapat terserang dan kadang-kadang pada jaringan yang terinvasi dapat timbul fokal-fokal infeksi.

Kelainan patogenesis yang utama terdapat di usus halus terutama di ileum bagian distal dimana terdapat kelenjar plak peyer. Pada minggu pertama, pada plak payer terdapat hiperpelasia berlanjut menjadi nekrosis pada minggu kedua dan ulserasi pada minggu ketiga. akhirnya terbentuk ulkus. Ulkus ini mudah

menimbulkan perdarahan dan perforasi yang merupakan komplikasi yang berbahaya. Hati membesar karena infiltrasi sel-sel limfosit dan sel mononuklear lainnya serta nekrosis fokal. Demikian juga proses ini terjadi pada jaringan ratikuloendotelial lain seperti limpa dan kelenjar mesentrika. Kelainan-kelainan patologis yang sama juga dapat ditemukan pada organ tubuh lain seperti tulang, usus, paru, ginjal, jantung dan selaput otak. Pada pemeriksaan klinis sering ditemukan proses radang dan abses- abses pada banyak organ, sehingga dapat ditemukan bronkhitis, arthritis septik, pielonefritis, meningitis, dll. Kandungan empedu merupakan tempat yang disenangi basil *Salmonella*. Bila penyembuhan tidak sempurna, basil tetap tahan dikandung empedu ini, mengalir ke dalam usus, sehingga menjadi karier intestinal. demikian juga ginjal dapat mengandung basil dalam waktu lama sehingga juga menjadi karier (*urinary carier*). Adapun tempat-tempat yang menyimpan basil ini, memungkinkan penderita mengalami kekambuhan (relaps). (Kepmenkes. 2006)

J. Antibakteri

1. Definisi antibakteri

Antibakteri adalah obat atau senyawa kimia yang dihasilkan dari suatu mikroorganisme yang dalam konsentrasi kecil dapat menghambat dan membunuh mikroorganisme (Jawetz *et al*, 2005) Mekanisme kerja antibakteri dapat dikelompokkan sebagai berikut:

Pertama, menghambat sintesis dinding sel mikroba. Dinding sel bakteri sangat penting untuk mempertahankan struktur sel bakteri. zat yang dapat merusak dinding sel akan melisiskan dinding sel sehingga akan mempengaruhi bentuk dan struktur sel yang pada akhirnya dapat membunuh sel bakteri tersebut. Beta-laktam, penisilin, polipeptida, sefalosporin, ampisilin, oksasilin adalah yang termasuk dalam golongan ini.

Kedua, merusak membran sel. Membran sel mempunyai peran penting dalam mengatur transportasi nutrisi dan metabolit yang keluar masuk sel. Membran sel juga berfungsi sebagai tempat berlangsungnya respirasi dan aktivitas biosintesis dalam sel. Antibiotik yang termasuk dalam golongan ini adalah peptide

seperti polimiksin, gramisidin, sirkulin, tirosidin, valinomisin dan antibiotik poliena seperti amphoterasin, nystatin..

Ketiga, menggunakan biosintesis asam nukleat. Proses replikasi DNA didalam sel merupakan siklus yang sangat penting bagi kehidupan sel. Beberapa jenis antibiotik dapat mengganggu metabolisme asam nukleat, sehingga mempengaruhi seluruh fase pertumbuhan sel bakteri. Antibiotik kelompok ini meliputi aminoglikosida, makrolid, linkomisin, tetrasiklin, kloramfenikol, novobiosin.

Keempat, menghambat sintesis protein sel bakteri. Bakteri perlu mensintesis berbagai protein untuk melangsungkan hidupnya. Sintesis protein berlangsung diribosom dengan bantuan mRNA dan tRNA. Salah satu kerja antibakteri adalah menyebabkan kode mRNA salah dibaca oleh tRNA pada waktu sintesi protein. Antibakteri yang termasuk dalam golongan ini antara lain aktinomisin, rifampisin, streptomisin, tetrasiklin, kloramfenikol, eritromisin, klindamisin dan gentamisin (Radji. 2011).

Daya antibakteri dapat ditentukan berdasarkan nilai KHM dan KBM nya terhadap pertumbuhan suatu bakteri. Konsentrasi minimum yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan bakteri dikenal sebagai konsentrasi hambat minimum (KHM). Konsentrasi hambat minimum yang diperlukan untuk membunuh 99,9% bakteri dikenal sebagai konsentrasi bunuh minimum (KBM) (Forbes. 20007).

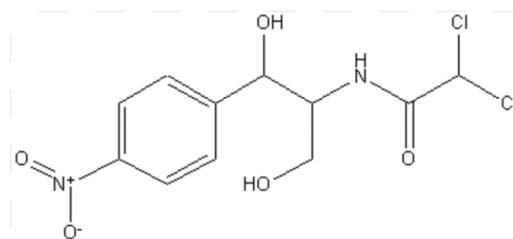
2. Uji aktivitas antibakteri

Metode pengujian terhadap antibakteri :

2.1 Difusi. Metode yang paling sering digunakan dalam penelitian ini adalah metode difusi cakram. Cakram kertas berisi sejumlah tertentu obat ditempatkan pada permukaannya. Setelah diinkubasi, diameter zona hambat sekitar cakram dipergunakan untuk mengukur kekuatan hambat obat terhadap organisme uji. Standarisasi faktor-faktor tersebut memungkinkan melakukan uji kepekaan dengan baik (Jawetz *et al*, 2005). Keuntungan dari metode difusi yaitu fleksibilitas yang lebih besar dalam memilih obat yang akan diperiksa, kemudian mengenali biakan campuran, dan biaya yang relatif murah (Sacher and Pherson, 2004).

2.2 Dilusi. Zat antibakteri dengan konsentrasi yang berbeda-beda dimasukkan kedalam media cair. Media tersebut langsung diinokulasi dengan bakteri dan diinkubasi. Tujuan dari metode ini adalah menentukan konsentrasi terkecil dari suatu zat antibakteri dapat menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri uji. Metode dilusi membutuhkan waktu yang lama dalam pengerjaannya (Jawetz *et al*, 2001). Dilusi memiliki kelemahan yaitu membutuhkan waktu yang lama dan penggunaannya dibatasi dan keuntungan metode ini adalah memberikan hasil kuantitatif yang menunjukkan jumlah antimikroba yang dibutuhkan untuk mematikan bakteri (Jawetz *et al*, 2001).

K. Kloramfenikol



Gambar 3. Struktur kimia Kloramfenikol

Kloramfenikol pertama kali dipisahkan pada Tahun 1947 dari pembiakan *Streptomyces venezuelae*. Antibiotik ini disintesis pada Tahun 1949, Kemudian menjadi antibiotik penting pertama yang sepenuhnya disintesis secara komersial (Katzung. 2004) Kloramfenikol merupakan antibiotik spektrum luas yang berasal dari beberapa jenis *Streptomyces* misalnya *S.venezuelae*, *S.pharacromogenes* dan *S.amiyamensis*. Setelah para ahli berhasil mengelusidasi strukturnya, maka sejak tahun 1950 kloramfenikol sudah dapat disintesis secara lokal. pertama kali diisolasi oleh Burkhoder pada tahun 1947 dari sampel tanah yang diambil di Venezuela.

Filtrat kultur cair organisme menunjukkan aktivitas terhadap beberapa bakteri Gram negatif dan riketsia (Katzung. 2004). Kloramfenikol masih merupakan jenis antibiotik yang digunakan dalam pengobatan demam tifoid (53,55%) dan merupakan antibiotik pilihan utama yang diberikan untuk demam tifoid. Penelitian yang lain menunjukkan bahwa angka relaps pada pengobatan demam tifoid dengan menggunakan kloramfenikol lebih tinggi di bandingkan

dengan penggunaan kotrimoksazol, selain itu pada lima tahun terakhir ini para klinis di beberapa negara mengamati adanya kasus demam tifoid anak yang berat bahkan fatal yang disebabkan oleh strain *Salmonella typhi* yang resisten terhadap kloramfenikol. Angka kematian di Indonesia mencapai 12% akibat strain *Salmonella typhi*. Penelitian yang dilakukan oleh Musnelina *et al* (2004) di RS Fatmawati menunjukkan adanya pemberian obat golongan sefalosporin generasi ketiga yang digunakan untuk pengobatan demam tifoid pada anak yakni seftriakson (26,92%) dan Sefiksime (2,19%) Namun dari 2 jenis obat ini, seftriakson menjadi pilihan alternatif pengobatan demam tifoid pada anak.

Pemilihan kloramfenikol selain sebagai pemilihan pertama pengobatan demam tifoid juga berdasarkan struktur kimia antibiotik golongan kloramfenikol memiliki spektrum luas yang bersifat bakteristatik terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif (Tjay dan Rahardja, 2007) berdasarkan mekanisme kerja kloramfenikol adalah inhibitor sintesis protein bakteri memiliki efek bakterisidal atau bakteristatik dengan cara mengganggu sel-sel normal dan menghambat tahap-tahap sintesis protein (Stringer, 2006).

L. Landasan Teori

Masyarakat Indonesia pada umumnya masih menggunakan bahan-bahan alami untuk keperluan sehari-hari maupun dalam bidang kesehatan. Obat-obatan tradisional ini dipercaya dapat mengobati berbagai penyakit. Pengobatan tradisional tanaman daun kemangi berkhasiat untuk merangsang penyerapan, peluruh keringat, diuretik, pelancar peredaran darah, penghilang rasa sakit (analgesik) dan pembersih racun (Hariana, 2008). Minyak atsiri daun kemangi mengandung eugenol yang tergolong turunan senyawa fenol yang mempunyai efek antiseptik dan bekerja dengan merusak membran sel. Mekanisme antibakteri kemungkinan karena pengikatan senyawa fenol dengan sel bakteri, kemudian akan mengganggu permeabilitas membran dan proses transportasi (Maryati, 2007). Penelitian Anggrawati (2014) membuktikan bahwa minyak atsiri daun kemangi memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Salmonella typhi* dengan nilai diameter zona hambat sebesar 11 mm.

Minyak atsiri daun zodia dapat dihasilkan dari daun tanaman zodia. Kandungan utama dari minyak atsiri daun zodia adalah evodone dengan kadar 72,32 % diikuti dengan menthofuran sebesar 4,28% dan fenolol 1,66 % sedangkan sisanya merupakan komponen-komponen berkadar rendah. Pada penelitian yang dilakukan oleh (Muryani. 2008) diketahui bahwa minyak atsiri dari tanaman zodia memiliki aktivitas antibakteri berspektrum luas yaitu pada bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif salah satunya adalah bakteri *Salmonella enteritidis* yaitu sebesar 10 mm. Penelitian tentang uji dari kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan minyak atsiri daun zodia belum pernah dilakukan penelitian sebelumnya. Kombinasi keduanya diharapkan dapat meningkatkan efektifitasnya dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella thypi* ATCC 13311. Kombinasi yang pernah dilakukan pada penelitian Pratiwi (2016) adalah kombinasi minyak atsiri daun kemangi dengan Tetrasiklin dan Sefalotin diketahui bahwa kombinasi dengan kedua antibiotik tersebut tidak efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella thypi* ATCC 13311. Sehingga dengan adanya kombinasi minyak atsiri dari kedua bahan alam akan saling menunjang efektifitasnya sebagai antibakteri.

M. Hipotesis

Berdasarkan landasan teori dalam penelitian ini, ditarik hipotesis antara lain:

Pertama, kombinasi minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dan minyak atsiri daun zodia (*Evodia sauveolens*, Scheff.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Salmonella thypi* ATCC 13311.

Kedua, Perbandingan minyak atsiri dari daun kemangi (*Ocimum basilicum*. L) dan daun zodia (*Evodia sauveolens*, Scheff.) yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Salmonella thypi* ATCC 13311 adalah sebesar 2 : 1 yaitu 2 bagian minyak atsiri daun zodia dan 1 bagian minyak atsiri daun kemangi.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman kemangi (*Ocimum basilicum* L.) yang didapat dari Jogja, Jawa tengah dan tanaman zodia (*Evodia sauveolens*, Scheff) yang didapat dari Solo, Jawa Tengah. Sampel yang digunakan adalah daun kemangi dan zodia.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variable utama

Variabel utama adalah aktivitas antibakteri kombinasi minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum basilicum* L) dan daun zodia (*Evodia sauveolens*, Scheff.) terhadap *Salmonella thyphi* ATCC 13311.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama yang telah diidentifikasi terdahulu dapat diklasifikasikan ke dalam berbagai macam variabel yaitu variabel bebas, variabel terkontrol, dan variabel tergantung.

Variabel bebas adalah variabel yang dengan sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas yang dimaksud dalam penelitian ini adalah konsentrasi minyak atsiri daun kemangi dan daun zodia serta kombinasinya. Minyak atsiri diperoleh dengan metode destilasi uap dan air.

Variabel terkontrol dalam penelitian ini merupakan variabel yang dianggap dapat mempengaruhi hasil yang diperoleh dari suatu penelitian sehingga perlu diperhatikan. Variabel terkontrol adalah minyak atsiri daun kemangi, daun zodia dan bakteri uji *Salmonella typhi* ATCC 13311, sterilisasi, suhu, kondisi peneliti, kondisi laboratorium, media dan metode penelitian.

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

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, minyak atsiri daun kemangi adalah minyak atsiri yang dihasilkan dari proses destilasi uap air yang diambil secara acak dari daerah Solo, Jawa Tengah, dengan ciri-ciri populasi dan sampel daun kemangi sehat dan bebas dari penyakit.

Kedua, minyak atsiri daun zodia adalah minyak atsiri yang dihasilkan dari proses destilasi uap dan air yang diambil secara acak dari Solo, Jawa Tengah, dengan ciri-ciri populasi dan sampel daun zodia sehat dan bebas dari penyakit, ditandai dengan bebas dari serangga, fragmen hewan dan kotoran hewan, tidak boleh menyimpang bau dan warna, tidak boleh mengandung lendir atau cendawan atau menunjukkan tanda-tanda pengotor lainnya, tidak boleh mengandung bahan-bahan beracun atau berbahaya (Depkes. 2014).

Ketiga, bakteri uji *Salmonella typhi* ATCC 13311 adalah bakteri yang diperoleh dari laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi Surakarta.

Keempat, kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan daun zodia adalah campuran minyak atsiri daun kemangi dan daun zodia dengan perbandingan (1 :1) yaitu 1 bagian minyak atsiri daun kemangi dan 1 bagian minyak atsiri daun zodia. (1: 2) yaitu 1 bagian minyak atsiri daun zodia dan 2 bagian minyak atsiri daun kemangi, (2:1) yaitu 2 bagian minyak atsiri daun zodia dan 1 bagian minyak atsiri daun kemangi.

Kelima, uji aktivitas antibakteri adalah uji menggunakan metode difusi menggunakan metode sumuran dengan konsentrasi Aktivitas antibakteri dengan melihat diameter zona hambat pertumbuhan bakteri dalam media uji, Kontrol positif adalah antibiotik kloramfenikol berupa cakram 30 µg dan kontrol negatif adalah larutan N-heksan.

Keenam, uji aktivitas antibakteri adalah uji menggunakan metode dilusi dan difusi untuk mengukur konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM), kontrol negatif menggunakan antibiotik kloramfenikol dan kontrol positif menggunakan larutan N-heksan.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah satu set alat destilasi uap, kertas saring, timbangan, Erlenmayer, gelas kimia, corong kaca, spatula, GC-MS, Lampu spirtus, Kaca objek, Jarum Ose, Mikroskop, Neraca analitik, gelas timbang.

2. Bahan

Bahan sampel yang digunakan adalah minyak atsiri daun kemangi dan daun zodia. Bakteri *Salmonella typhi* ATCC, *Muller Hinton Agar* (MHA), *Kliger Iron Agar* (KIA), *Sulfida Indol Motilitas* (SIM), *Lysin Iron Agar* (LIA), *Citrate, Brain Heart Infusion* (BHI), *Salmonella Shigiella Agar* (SSA), Na sulfat anhidrat dengan kualitas Pro Analisis, tween 80, N-heksan Pro analisis dan antibiotik kloramfenikol, Larutan NaCl, Lugol, Alkohol 96%, dan Safranin.

D. Jalannya Penelitian

1. Identifikasi tanaman

Tujuan identifikasi adalah mengetahui kebenaran simplisia yang digunakan dalam penelitian ini yaitu tanaman kemangi dan zodia, maka dilakukan tahap identifikasi dibagian Laboratorium unit penelaksanaa teknis Universitas Setia Budi Surakarta.

2. Pengambilan bahan

Tanaman zodia diambil di daerah Solo, Jl. Kepatihan Wetan Jebres, Jawa Tengah. Sedangkan tanaman kemangi di ambil didaerah Jogjakarta. Sampel yang digunakan adalah daun kemangi dan daun zodia. Kemudian sampel yang terkumpul dicuci. Setelah dicuci kemudian dipotong kecil-kecil untuk membuka kelenjar minyak atsiri sampel sehingga dapat mempercepat proses penyulingan dan mendapatkan hasil yang banyak.

3. Pemisahan minyak atsiri

Proses pemisahan dilakukan menggunakan destilasi uap dan air, masing-masing bahan yang dibutuhkan dari setiap proses adalah sebesar 5 kg, kemudian waktu destilasi bahan diletakkan di atas air dengan penahan (sang-sang) dan diatur sedemikian rupa agar ruang antar bahan tidak longgar. Ketel tersebut dipanaskan

dengan menggunakan kompor gas. Waktu destilasi selama 5 jam diukur mulai dari tetesan kondensat pertama. Pada metode destilasi uap-air dipisahkan dengan sang-sang (Saringan). Permukaan air berada di bawah saringan, sehingga tidak ada kontak langsung antara air dan bahan (Yulianto, *et al* 2012)

4. Penetapan sifat fisika

4.1 Penetapan bobot jenis. Bobot jenis merupakan salah satu kriteria penting dalam menentukan mutu dan kemurnian minyak atsiri. Nilai bobot jenis minyak atsiri berkisar antara 0,696-1,188 pada suhu 15°C. Penetapan bobot jenis dilakukan dengan membandingkan bobot minyak dengan bobot air sehingga di dapatkan bobot jenis dari minyak atsiri. Bobot minyak atsiri = bobot botol timbang berisi minyak atsiri : botol timbang kosong.

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

4.2 Pengamatan organoleptik. Pengamatan organoleptik terhadap minyak atsiri meliputi warna, aroma, bentuk, dan rasa dari minyak. Warna minyak atsiri hasil destilasi masing-masing sampel diambil volume sama dan ditempatkan dalam sebuah tempat kaca bersih dan jernih. Bau dan rasa minyak atsiri memiliki bau dan rasa yang khas sesuai dari tanaman asalnya. Pada keadaan murni mudah menguap pada suhu kamar sehingga bila diteteskan pada selembar kertas maka ketika dibiarkan menguap, tidak meninggalkan bekas noda pada benda yang ditempel. (Gunawan & Mulyani, 2004).

4.3 Identifikasi minyak atsiri. Identifikasi minyak atsiri daun kemangi dan daun zodia diteteskan pada permukaan air, minyak atsiri akan menyebar dan permukaan air tidak akan keruh. Minyak atsiri pada umumnya tidak bercampur dengan air, tetapi cukup dapat larut hingga dapat memberikan baunya kepada air walaupun kelarutannya sangat kecil. Minyak atsiri diteteskan pada kertas saring, jika dibiarkan minyak atsiri akan menguap sempurna tanpa meninggalkan noda lemak (Gunawan & Mulyani, 2004).

4.4 Penetapan indeks bias minyak atsiri. Minyak atsiri yang diperoleh ditetapkan indeks biasnya dengan alat refraktometer. Diperlukan 1-2 tetes minyak atsiri untuk menetapkan indeks bias, ditempatkan alat sedemikian rupa sehingga identitas sinar matahari atau sinar buatan dapat ditangkap, Kedalam prisma

dialirkan air kemudian prisma tersebut dibersihkan dengan alkohol dan eter, kemudian meneteskan cairan yang diukur pada prisma dan menutup kembali. Digerakkan alidade mundur atau maju sampai bayangan bidang berubah dari terang menjadi gelap. Diatur garis pembatas dan nilai indeks bias dari bahan dapat dibaca secara langsung (Guenther. 2006).

4.5 Penetapan kelarutan dalam alkohol. Sebanyak 1 ml contoh uji dipipet ke dalam gelas ukur 10 ml, ditambah etanol dengan cara bertahap. Pada setiap penambahan alkohol dikocok dan diamati kejernihannya (Standar Nasional Indonesia 2001).

4.6 Analisis komponen minyak atsiri menggunakan GC-MS. Minyak atsiri di ambil 10 μ L lalu dilarutkan ke dalam 240 μ L methanol. Larutan tersebut kemudian diinjeksikan ke dalam system GC-MS sebanyak 1 μ L.

5. Sterilisasi

Alat yang digunakan dicuci bersih, dikeringkan dan disterilkan terlebih dahulu, Alat seperti tabung reaksi, gelas ukur, erlenmeyer dan Cawan petri disterilisasi secara panas kering menggunakan oven, bahan tersebut dibungkus dalam kertas perkamen kemudian dimasukkan kedalam oven selama 2 jam dengan suhu 60 - 180 $^{\circ}$ C, sedangkan untuk media bakteri yang akan dipakai disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121 $^{\circ}$ C selama 25 menit.

6. Identifikasi bakteri uji

6.1 Identifikasi pada media selektif. Bakteri uji *Salmonella typhi* ATCC 13311 dalam biakan murni diambil satu ose kemudian dimasukkan dalam tabung yang berisi BHI, kemudian diinkubasi pada suhu 37 $^{\circ}$ C selama 18-24 jam. Identifikasi bakteri biakan *Salmonella typhi* ATCC 13311 diinokulasi kemudian digores pada media SSA, diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37 $^{\circ}$ C (Idy. 2017). Hasil positif bila pada biakan terdapat koloni kecil, berwarna hitam, permukaan cembung dan jernih dengan tepian halus (Reni Yunus *et al*, 2017)

6.2 Identifikasi secara biokimia. Medium yang digunakan yaitu SIM, KIA, LIA dan Citrat. Uji pada media SIM, biakan murni bakteri diinokulasi dengan cara ditusuk, kemudian diinkubasi pada suhu 37 $^{\circ}$ C selama 24 Jam. Identifikasi ini bertujuan untuk mengetahui terbentuknya sulfid, indol, dan motilitas bakteri. Uji positif jika media berwarna hitam, terbentuk warna merah

setelah ditambahkan reagen Ehrlich A dan B serta terjadi pertumbuhan pada seluruh media.

6.3 Uji pada media KIA. Biakan bakteri diinokulasi dengan cara tusukan dan goresan kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Identifikasi ini bertujuan untuk mengetahui fermentasi karbohidrat (glukosa, laktosa), ada tidaknya gas dan sulfide. Jika bagian lereng berwarna merah di tulis K, bagian dasar berwarna kuning ditulis A, adanya gas ditandai dengan pecahnya atau terperangkap medium keatas ditulis G(+) dan jika terbentuk warna hitam pada medium ditulis S(+).

6.4 Uji pada media LIA. Diinokulasi bakteri dengan cara tusukan dan goresan, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Identifikasi ini bertujuan untuk menguji diaminasi lisin. Bagian lereng berwarna merah coklat akan ditulis R, jika berwarna ungu ditulis K, Jika berwarna kuning ditulis A. Medium berwarna hitam maka ditulis S(+) dan jika tidak berwarna hitam maka ditulis S(-).

6.5 Uji pada media Citrat. Bakteri diinokulasi dengan cara goresan kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Identifikasi ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri menggunakan citrat sebagai sumber karbon tunggal. Uji positif bila media berwarna biru.

6.6 Uji pewarnaan Gram. Kaca objek dilewatkan di atas api untuk menghilangkan lemak, kemudian kaca objek ditandai dengan spidol untuk menandai tempat meletakkan koloni. Kemudian ambil larutan NaCL dengan Ose dan letakkan pada kaca Objek. Koloni dari media SSA diambil dengan Ose kemudian Diratakan pada kaca Objek. Preparat difiksasi dengan melewati di atas api sebanyak 8-10 kali dan Dinginkan pada suhu ruang. Untuk pewarnaan Gram yang pertama kali dilakukan adalah preparat ditetaskan larutan gentian violet didiamkan selama 3 menit, kemudian dibilas dengan air yang mengalir, setelah itu ditetaskan lugol iodin dan didiamkan selama 1 menit. Kemudian dibilas dengan air yang mengalir, lalu tetaskan alkohol 96% kemudian dibilas dengan air yang mengalir. Tetaskan safranin diamkan selama 45-60 detik kemudian bilas dengan air yang mengalir. setelah itu keringkan dengan tisu. Lalu tetaskan minyak imersi sebanyak 1 tetes dan lihat di mikroskop dengan perbesaran 100x. jika hasil

positif bakteri *Salmonella* maka ditandai dengan warna merah dan berbentuk batang (Yuswandana. 2015).

7. Penentuan jumlah bakteri sesuai standar Mc Farland 0,5

Bakteri uji *Salmonella typhi* ATCC 13311 dalam biakan murni diambil 2-3 ose steril kemudian dimasukan secara aseptis kedalam tabung reaksi steril yang sudah berisi 5 ml BHI (*Brain Heart Infussion*) kemudian tingkat kekeruhan disertakan dengan standar Mc Farland 0,5 yaitu $1,5 \times 10^8$ CFU/ml dan di inokulasi pada suhu 37°C selama 2-5 jam.

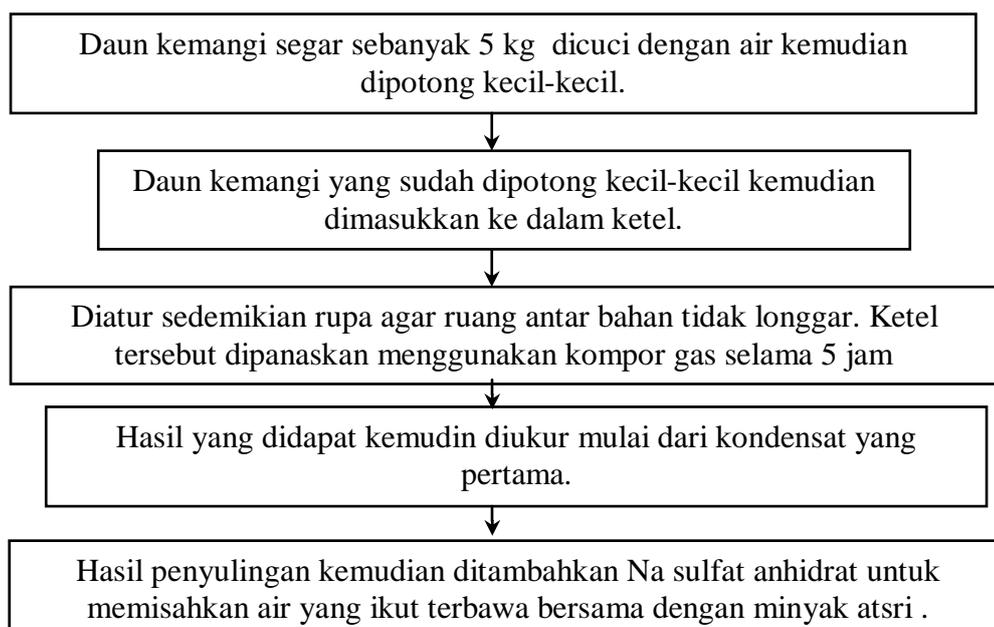
8. Pengujian aktivitas antibakteri secara difusi dan dilusi.

Minyak atsiri yang diperoleh dari daun kemangi dan daun zodia secara destilasi uap air. diuji secara mikrobiologi terhadap bakteri uji *Salmonella typhi* ATCC 13311. Metode yang digunakan adalah metode difusi agar dengan menggunakan metode sumuran yang berdiameter 8 mm dengan volume 0,50 mikroliter hal pertama yang dilakukan yaitu membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian. Setelah lubang dibuat kemudian diinjeksikan larutan yang berisi antibakteri. Kontrol positif menggunakan disk antibiotik kloramfenikol. Minyak atsiri diteteskan menggunakan mikropipet sebanyak 50 mikron dengan larutan kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan daun zodia dengan konsentrasi 30% yaitu sebanyak 2 ml minyak atsiri ditambah dengan 4 ml pelarut N-heksan agar minyak atsiri dapat berdifusi dengan baik maka ditambahkan tween 80 sebanyak 0,15 ml. Kombinasi yang pertama berisi 1:1 yaitu minyak atsiri daun kemangi 0,25 ml dan minyak atsiri daun zodia sebanyak 0,25 ml, yang kedua berisi kombinasi 1:2 yaitu minyak atsiri daun zodia sebanyak 0,25 ml dan minyak atsiri daun kemangi 0,50 ml. ketiga berisi kombinasi 2:1 sebanyak 0,50 ml minyak atsiri daun zodia dan minyak atsiri daun kemangi sebanyak 0,25 ml. Kontrol positif menggunakan disk antibiotik kloramfenikol dan kontrol negatif menggunakan N-heksan. Antibakteri dapat berdifusi dan diinkubasi pada suhu 37°C selam 18-24 jam. Hasil dapat dilihat dengan adanya area jernih yang mengidentifikasi adanya penghambat pertumbuhan mikroorganisme oleh antimikroba (Pratiwi. 2008).

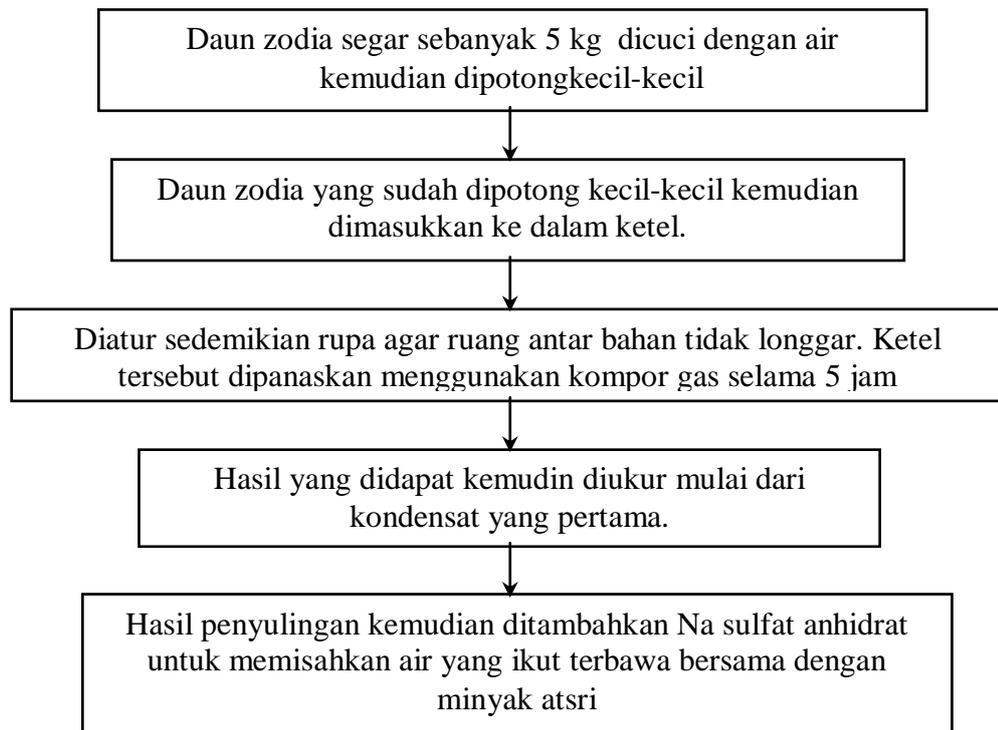
Metode dilusi menggunakan antimikroba dengan konsentrasi yang menurun secara bertahap yaitu 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,13%, 1,57%, 0,79%, 0,20%, 0,10%. Metode dilusi menggunakan 1 seri tabung reaksi yang diisi media cair dan jumlah zat tertentu sel mikroba yang telah diuji. Kemudian masing-masing tabung diisi dengan bahan yang telah diencerkan secara serial yaitu suspensi bakteri yang setara dengan standard Mc Farland 0,5. kecuali tabung nomor 1 sebagai kontrol negatif. Selanjutnya seri tabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam dan diamati terjadinya kekeruhan pada tabung. konsentrasi yang rendah pada tabung yang ditunjukkan dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih (tidak ada pertumbuhan mikroba) adalah KHM dari bahan uji. Konsentrasi terendah yang ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni mikroba adalah KBM dari bahan terhadap bakteri uji.

E. Analisa Hasil

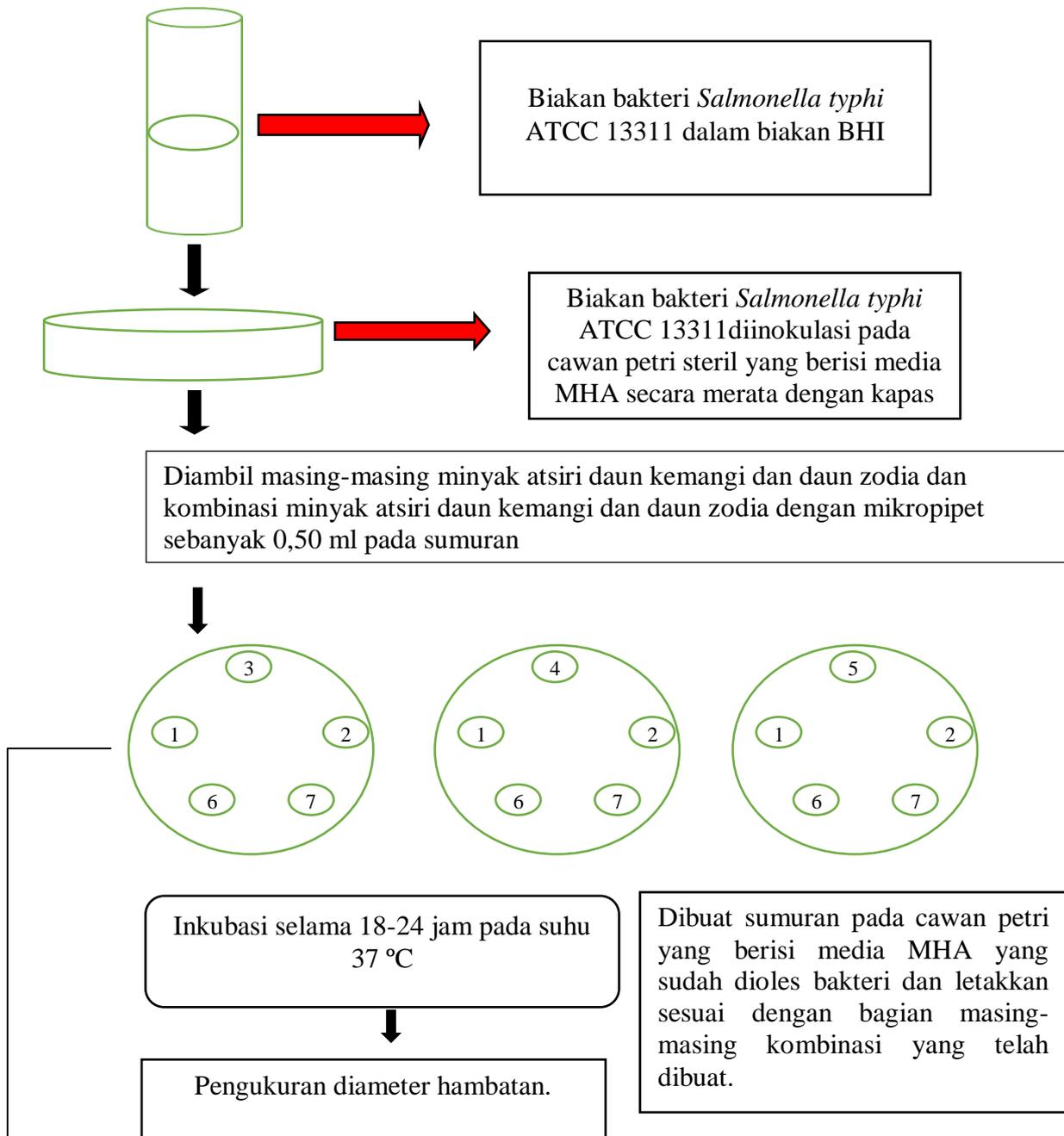
Data yang diperoleh dari metode ini berupa nilai besarnya zona hambat dari minyak atsiri dalam milimeter. Besarnya nilai zona hambat yang dihasilkan dari kontrol positif dan perlakuan pada bakteri dianalisis dengan statistik menggunakan metode uji *Shapiro-wilk* jika terdistribusi secara normal kemudian dilanjutkan dengan *One way analysis of varian* (ANOVA).



Gambar 4. Skema destilasi uap dan air minyak atsiri daun kemangi

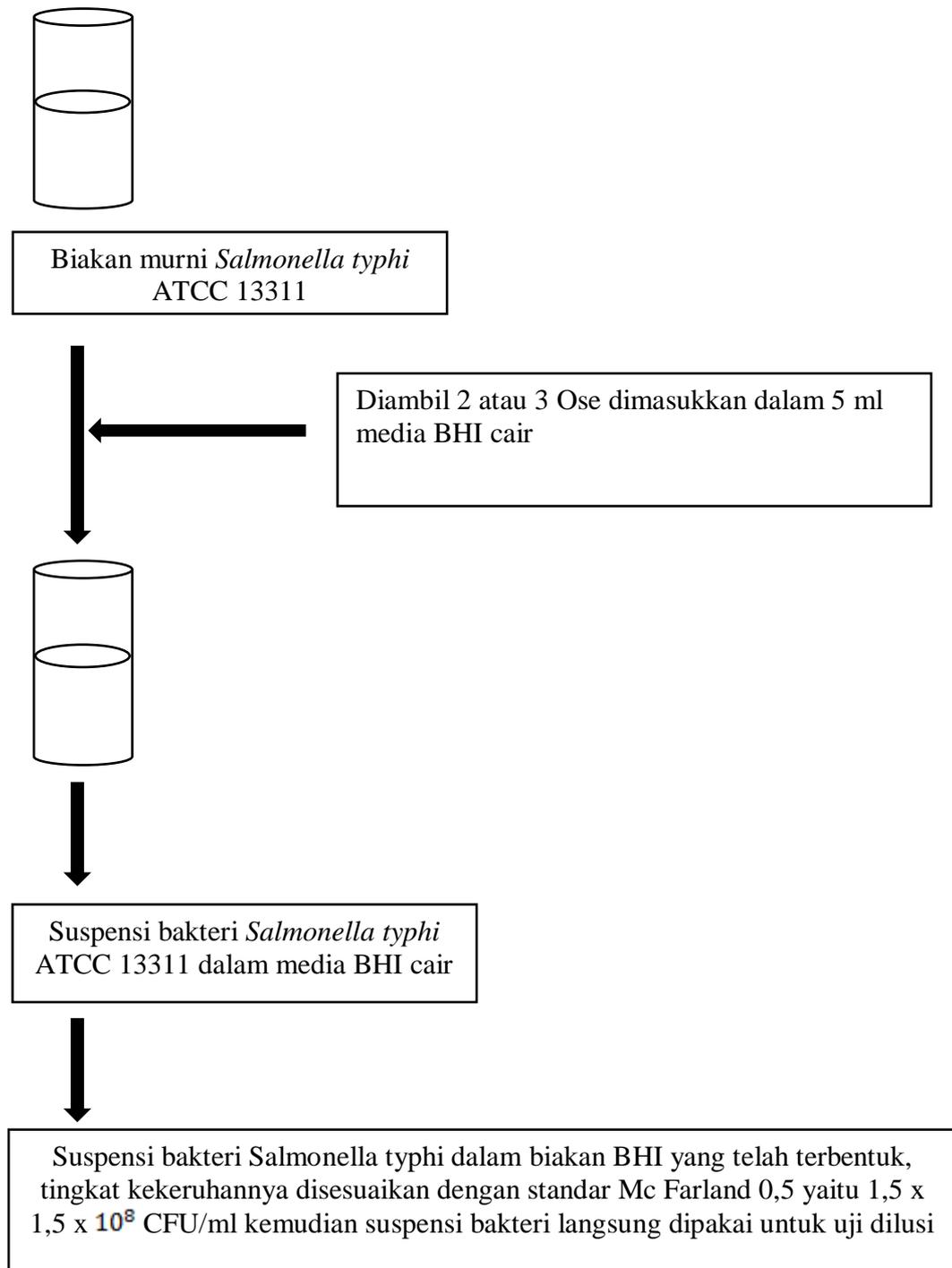


Gambar 5. Skema destilasi uap dan air minyak atsiri daun zodia

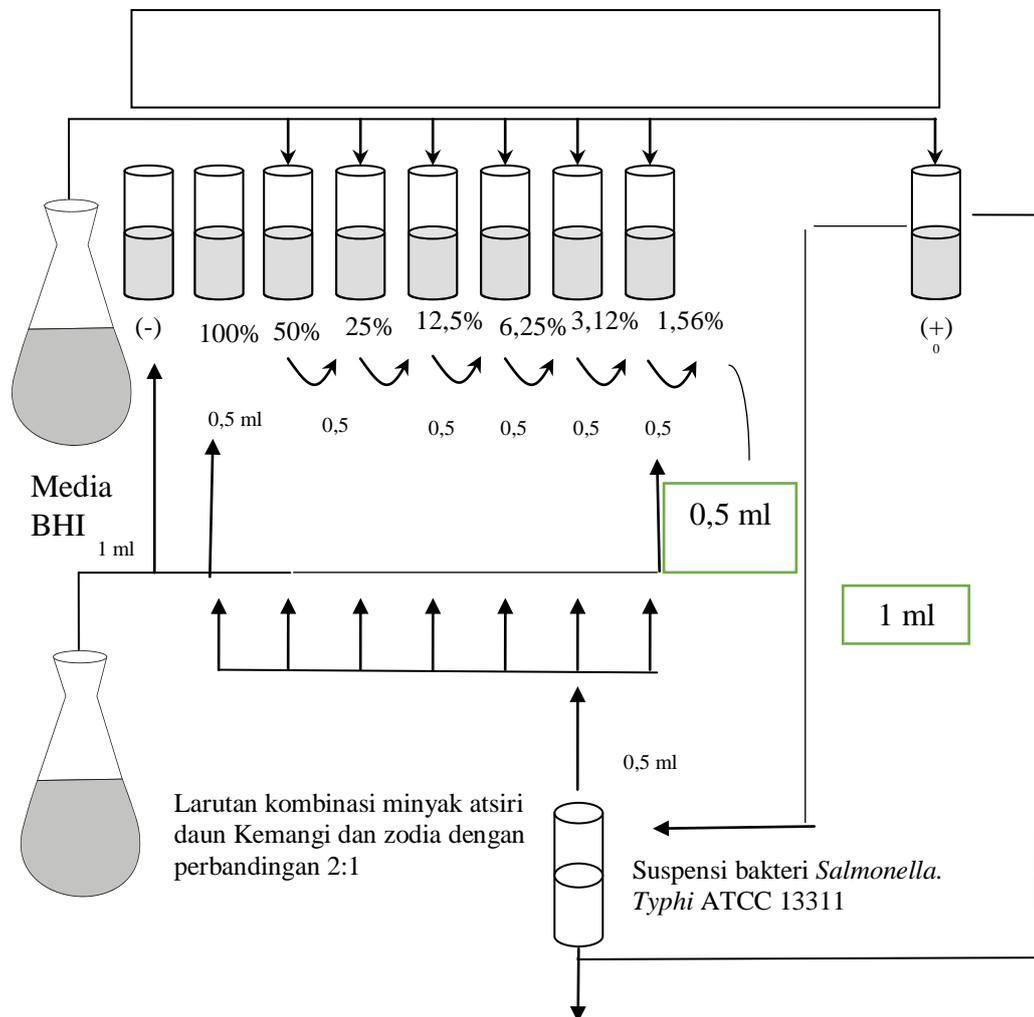


Gambar 6. Skema pengujian antibakteri dari minyak atsiri daun kemangi dan daun zodia terhadap *Salmonella typhi* ATCC 13311 secara difusi

Keterangan:(1) Sampel minyak atsiri daun kemangi, (2) sampel minyak atsiri daun zodia(3) kombinasi minyak atsiri daun zodia dan daun kemangi (1:1), (4) Kombinasi minyak atsiri daun zodia dan daun kemangi (1:2), (5) kombinasi minyak atsiri daun zodia dan daun kemangi (2:1), (6) kontrol positif disk antibiotik kloramfenikol, (7) Kontrol negatif menggunakan N-heksan.



Gambar 7. Standar uji Mac Farland



Seluruh tabung diinkubasi pada suhu 37° C selama 18 jam

lalu diamati kekeruhannya

Tabung yang di tempatkan sebagai KHM di inokulasi pada media BSA diinkubasi selama 24-48 jam lalu di amati ada tidaknya pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* ATCC 13311.

Gambar 8. Skema kerja pengujian aktivitas antibakteri dari minyak atsiri daun kemangi dan daun zodia terhadap *Salmonella typhi* ATCC 13311 secara dilusi.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Identifikasi tanaman

Identifikasi tanaman pada penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta. Identifikasi tanaman bertujuan untuk mengetahui kebereradaan tanaman yang diambil, menghindari terjadinya kesalahan dalam pengembalian bahan sampel dan menghindari tercampurnya bahan sampel dengan bahan tanaman lain serta mencocokkan ciri morfologi yang ada pada tanaman yang diteliti dengan kunci identifikasi. Berdasarkan hasil determinasi dapat dipastikan bahwa tanaman kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dan tanaman zodia (*Evodia sauveolens*, Scheff.) Hasil identifikasi dapat dilihat pada Lampiran 1.

2. Pengambilan bahan.

Tanaman yang digunakan berasal dari dua tempat berbeda yaitu dari Jogjakarta dan Solo. Tanaman yang digunakan adalah dari daun kemangi dan zodia. tanaman kemangi sendiri diambil dari Jogjakarta, Jawa tengah dan tanaman zodia diambil dari Solo, Jawa tengah Pada bulan Januari 2018. Daun kemangi dan daun zodia dicuci bersih dengan air untuk menghilangkan debu dan kotoran yang menempel pada daun kemudian ditiriskan.

3. Hasil pemisahan minyak atsiri daun kemangi dan zodia.

Hasil isolasi minyak atsiri dilakukan menggunakan alat destilasi uap air, sebanyak 5000 gram berat daun yang masih segar dicuci kemudian dilakukan perajangan berguna untuk membebaskan minyak atsiri yang terdapat di jaringan tanaman. Minyak atsiri pada tanaman dikelilingi oleh kelenjar minyak, pembuluh dan kantung minyak. Bahan dimasukkan ke dalam wadah, diletakan di atas penyekat dan air dibawahnya. Metode ini lebih baik dari cara perebusan Karena menghasilkan rendemen yang tinggi, mutu lebih baik dan Proses penguapan lebih cepat sehingga waktu penyulingan lebih pendek (Guenther 1990). Kemudian dilakukan destilasi uap air selama 5 jam sampai minyak atsiri tidak menetes lagi.

Minyak atsiri ditampung dan dipisahkan dengan air menggunakan Na₂SO₄ anhidrat. minyak atsiri yang diperoleh disimpan dibotol yang tertutup rapat dan terlindung dari cahaya. Hasil isolasi dapat

4. Hasil organoleptik

Uji organoleptik minyak atsiri daun kemangi dan daun zodia meliputi bentuk, warna, bau dan rasa. Hasil uji dari penelitian minyak atsiri daun kemangi adalah bentuk minyak, warna kuning berbau khas tanaman aslinya dan terasa pahit. warna minyak atsiri hasil destilasi masing-masing sampel diambil pada volume yang sama dan ditempatkan dalam sebuah tempat kaca yang bersih dan jernih, kemudian dibandingkan dengan minyak pembanding pada masing-masing sampel minyak atsiri. Bau dan rasa minyak atsiri memiliki bau dan rasa yang khas sesuai dari tanaman asalnya.

Tabel 1. Hasil pemeriksaan Organoleptik minyak atsiri Daun Kemangi.

No	Jenis Pemeriksaan	Hasil	Pustaka (Anonim 1979)
1	Warna	Kuning	Kuning
2	Bau	Wangi	Wangi
3	Bentuk	Cair	Cair
4	Rasa	Pahit	Pahit

Tabel 2. Hasil pemeriksaan Organoleptik minyak atsiri Daun Zodia.

No	Jenis Pemeriksaan	Hasil	Pustaka (Anonim 1979)
1	Warna	Jernih	Jernih
2	Bau	Wangi	Wangi
3	Bentuk	Cair	Cair
4	Rasa	Pahit	Pahit

5. Hasil kromatografi Gas - Spektrofotometri Massa (GC-MS)

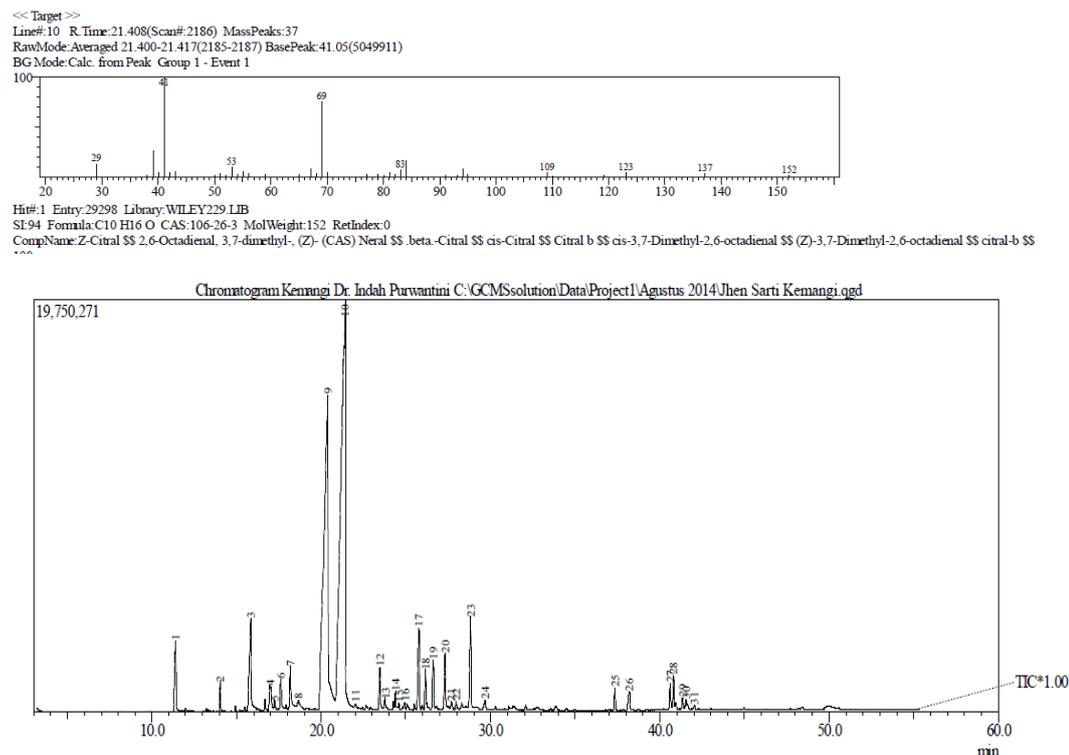
Hasil identifikasi dari minyak atsiri dari daun kemangi dan daun zodia menggunakan GC-MS dilakukan untuk mengetahui komponen-komponen yang terkandung didalam minyak atsiri. Hasil identifikasi komponen dengan GC-MS dapat dilihat pada tabel 6 dan 7 serta lampiran 16.

Tabel 3. Hasil identifikasi komponen minyak atsiri daun kemangi

No	Peak	Constituen	Kadar %
1	10	Z-Citral	41,62
2	9	Linalool	31,14
3	3	Z- citral	3,61
4	23	Alpha humulene	2,50
5	17	Beta-carhyopillene	2,43
6	1	6-Methyl-5-hepten-2-one	1,90
7	20	Germacrene	1,62
8	12	Eugenol	1,24

Berdasarkan hasil data pada tabel 6 menunjukkan bahwa didalam minyak atsiri daun kemangi yang diidentifikasi terdapat 8 komponen senyawa dengan puncak tertinggi yaitu Z-Citral, Linalool, Z-Citral, Alpha humulene, Beta-carhyopillene, 6-Methyl-5-hepten-2-one, Germacrene dan eugenol. Komponen senyawa hasil identifikasi minyak atsiri daun kemangi adalah komponen utama senyawa minyak atsiri yang paling besar dan berpotensi sebagai aktivitas antibakteri diketahui Z-citral merupakan senyawa golongan monoterpen terbentuk dari dua satuan isopren membentuk 10 atom karbon. Sitral telah diteliti dan berkhasiat sebagai antimikroba (Ajizah 2004) .

Gambar Puncak kromatogram dan MS dari minyak atsiri daun kemangi



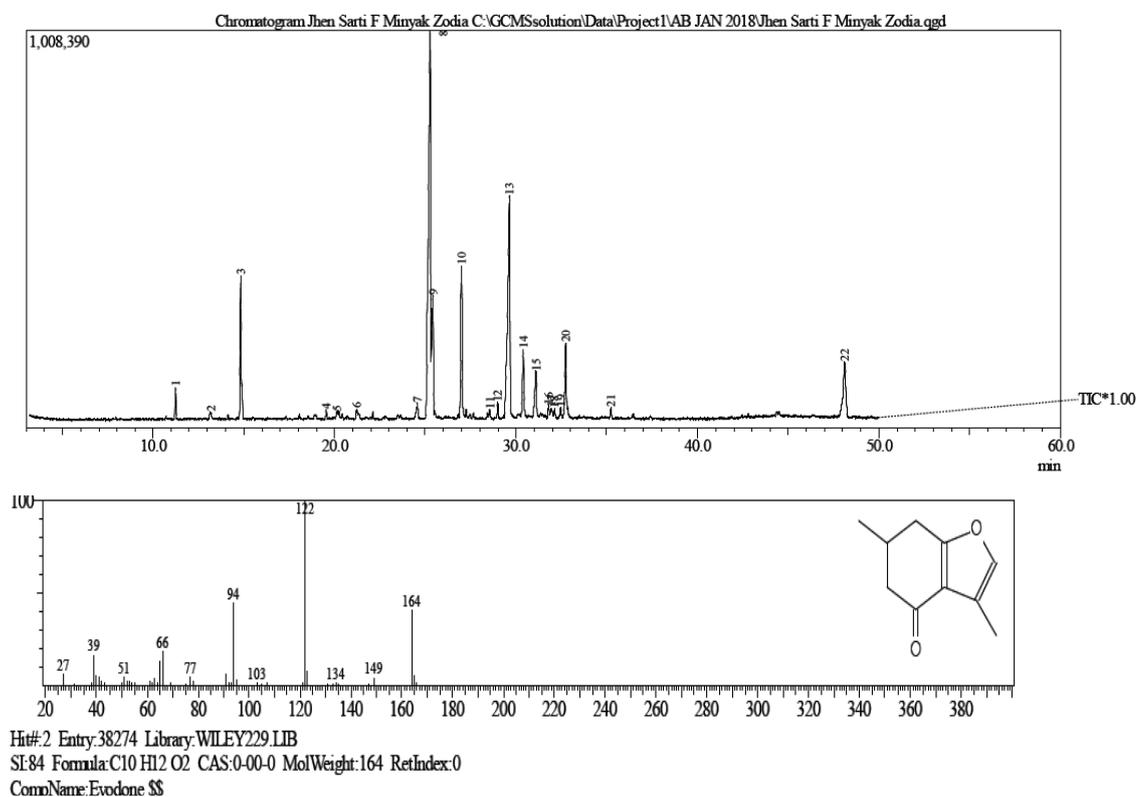
Gambar 9. Peack dari kromatogra pada line 10

Tabel 4. Hasil identifikasi komponen minyak atsiri daun zodia

No	Peak	Constituen	Kadar%
1	1	1,2,6 Ostatriene	1,20
2	3	Limonene	6,74
3	8	Evodone	31,78
4	9	Cyclopentane	8,32
5	10	Limonene	6,69
6	13	5-Undecyne	19,97
7	14	5-Undecyne	3,67
8	15	2-Noninoic acid	3,53
9	20	3-6-Octadien	4,55
10	22	Benzofuronone	5,98

Berdasarkan hasil data pada tabel 4 menunjukkan bahwa didalam minyak atsiri daun zodia yang diidentifikasi terdapat 10 komponen senyawa yaitu 1,2,6 Ostatriene, Limonene, Evodone, Cyclopentane, Limonene, 5-Undecyne, 5-Undecyne, 2-Noninoic acid, 3-6-Octadien, Benzofuronone. Komponen senyawa hasil identifikasi minyak atsiri daun zodia adalah komponen utama senyawa minyak atsiri yang paling besar dan berpotensi sebagai aktivitas antibakteri diketahui evodone memiliki mekanisme antibakteri dengan cara melisiskan sel bakteri kemudian sel menjadi pecah dan inti sel keluar sehingga sel menjadi kosong.

Gambar Puncak kromatogram dan MS dari minyak atsiri daun zodia



Gambar 10. Peack dari kromatogra pada line 8

6. Hasil indeks bias minyak atsiri

Hasil penetapan indeks bias dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 5. Hasil penetapan indeks bias minyak atsiri daun kemangi dan zodia.

Minyak atsiri	Hasil Indeks bias (37°C)	Pustaka (Anonim 1979)
Daun Kemangi	1,151	1,49250-1,49597
Daun Zodia	1,497	1, 497-1,498

Berdasarkan tabel no 7 dapat dilihat hasil penetapan indeks bias minyak atsiri daun kemangi adalah 1,151 secara umum nilai indeks bias minyak atsiri adalah 1,3-1,7 jika minyak mengandung air nilai indeks biasanya akan lebih rendah. Standar mutu minyak *Ocimum SPP*. Kateren (1987) adalah 1,49250-1,49597 nD maka nilai indeks bias minyak atsiri rendah. Hasil indeks bias minyak atsiri daun zodia yang didapat adalah 1,497 dan hasil indeks menurut pustaka 1,947-1,948 maka nilai indeks bias minyak atsiri daun zodia rendah, hal ini bisa terjadi karena 2 kemungkinan, yaitu pertama masih terdapat kandungan air yang terdispersi pada minyak, yang kedua terpen rantai Panjang cenderung sedikit, jika indeks bias lebih besar pada biasanya kemungkinan terjadi pencampuran bahan-bahan dengan rantai karbon Panjang.

7. Penetapan bobot jenis minyak atsiri

Tabel 6. Hasil Bobot minyak atsiri daun kemangi. (*Ocimum bacillum L.*)

Percobaan	Bobot jenis minyak	Pustaka (Depkes 1970)
I	0,856	
II	0,639	0,952-0,973
III	0,609	
Rata-rata	0,701	

Tabel 7. Hasil Bobot minyak atsiri daun zodia. (*Evodia Sauveolen scheff.*)

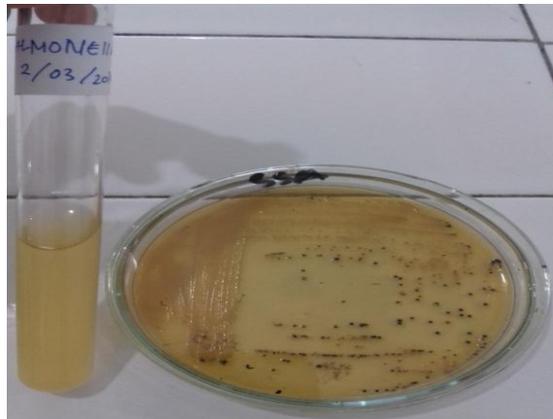
Percobaan	Bobot jenis minyak	Pustaka (Depkes 1970)
I	1,296	
II	0,805	0,937-0,987
III	0,858	
Rata-rata	0,986	

Berdasarkan hasil yang diperoleh dapat digunakan untuk mengetahui kriteria mutu minyak atsiri yang dihasilkan, hasil analisis dibandingkan dengan standar mutu minyak atsiri yang ada. Standar mutu minyak *Ocimum spp.* Berdasarkan EOA (Anonim 1970) standar mutu minyak *Ocimum spp* dengan karakteristik bobot jenis yaitu 0,952- 0,973 g/ml. Sehingga berat jenis (Densitas) pada penelitian ini sudah mendekati karakteristik standar mutu minyak *Ocimum spp.* Menurut Depkes 1970 bobot jenis minyak atsiri zodia (*Evodia sauveolen. Scheff*) adalah 0,937-0,987 g/ml sehingga berdasarkan pustaka sudah sesuai . Bobot jenis minyak atsiri adalah salah satu kriteria penting dalam menentukan mutu dan kemurnian minyak atsiri. Maka semakin rendah bobot jenis suatu

minyak atsiri maka semakin rendah kemurniannya. Berat jenis minyak atsiri dipengaruhi oleh jenis dan jumlah komponen kimia pada minyak (Wiyono *et al* 2000)

8. Identifikasi bakteri uji *Salmonella typhi* ATCC 13311.

8.1 Identifikasi secara goresan. Bakteri uji *Salmonella typhi* ATCC 13311 Hasil positif bila pada biakan terdapat koloni kecil, berwarna hitam, permukaan cembung dan jernih dengan tepian halus (Reni Yunus *et al*, 2017) Hasil identifikasi secara goresan *Salmonella typhi* ATCC 1311 dapat dilihat pada gambar 11.



Gambar 11. Foto Hasil identifikasi *Salmonella typhi* ATCC dengan media selektif

8.2 Identifikasi secara pewarnaan Gram. Pewarnaan Gram bertujuan untuk memastikan bahwa bakteri yang digunakan tersebut golongan Gram negatif didapatkan apabila sel bakteri berwarna merah, berbentuk batang dan bergerombol berarti positif golongan *Salmonella typhi*. Penetesan kristal violet atau Gram A menyebabkan kristal ungu akan mewarnai seluruh permukaan sel bakteri Gram negatif dan positif. Penetesan Mordant atau Lugol Iodin atau Gram B menyebabkan adanya ikatan kristal violet dengan Iodine yang akan meningkatkan afinitas pengikatan zat warna oleh bakteri. Penetesan Gram C atau Etanol 96% menyebabkan terbentuknya pori-pori pada gram negatif yang memiliki banyak lapisan lemak (lipid larut etanol) sehingga kompleks kristal violet Iodin tidak menempel di dinding sel yang menyebabkan sel bakteri Gram negatif menjadi bening. Penetesan safranin atau Gram D akan mewarnai bakteri Gram negatif menjadi berwarna merah.



Gambar 12. Foto hasil identifikasi bakteri *Salmonella typhi* ATCC 13311

8.3 Hasil identifikasi uji biokimia. Hasil identifikasi uji biokimia pada *Salmonella typhi* ATCC 13311 dapat dilihat pada table 7 dan gambar 8.

Tabel 8. Hasil identifikasi uji biokimia pada *Salmonella typhi* ATCC 13311

Media Uji	Pustaka (Septiani 2017)	Hasil
SIM	+ - +	+ - +
KIA	K/ A S(+) G(+)	K/ A S(+) G(+)
LIA	K/K S(+)	K/K S(+)
SITRAT	+	+

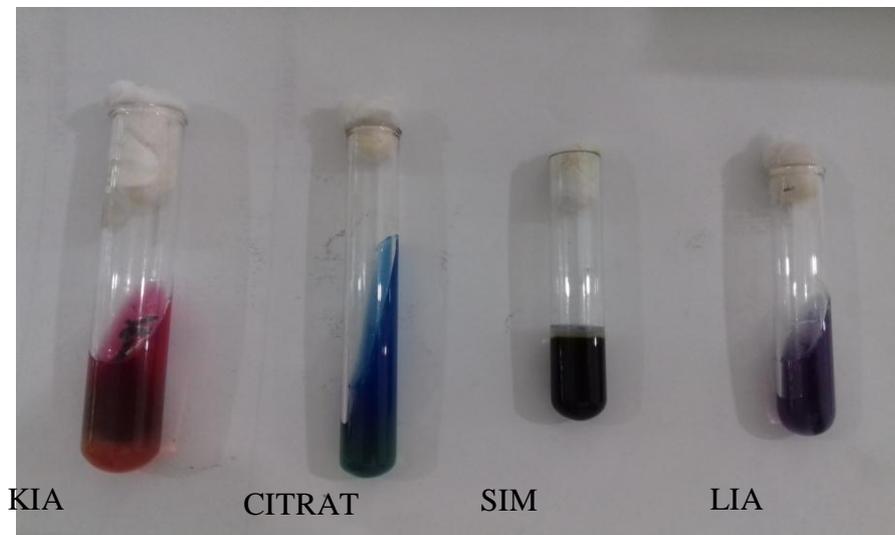
Keterangan:

SIM = <i>Sulfida indol motilitas</i>	A = Alkali (Kuning)
KIA = <i>Klinger iron agar</i>	K = Alkali (Merah atau Ungu)
LIA = <i>Lysin iron agar</i>	G = Gas (Media Terangkat)
+ = Reaksi Positif	S = Sulfida (Hitam)
- = Reaksi Negatif	

Hasil pengujian pada media SIM (*Sulfida indol motilitas*) bertujuan untuk mengetahui sulfide indol, dan motilitas bakteri hasil (+_+). Hasil positif artinya pada uji sulfide media berwarna hitam karena *Salmonella typhi* dapat mereduksi thiosulfat sehingga menghasilkan H₂S, hasil negatif artinya pada uji indol tidak terbentuk cincin indol berwarna merah pada permukaan media setelah ditambahkan reagen erlich 3 tetes dan hasil positif (+) artinya pada uji motilitas terjadi pertumbuhan bakteri yang menyebar pada seluruh media (Koneman *et al.* 1983). Hasil pengujian pada media KIA (*Klinger Iron Agar*) bertujuan untuk uji fermentasi karohidrat (Glukosa, Laktosa) ada tidaknya gas dan sulfide. menunjukkan hasil K/A S(+) G(+). Hasil K artinya pada bagian lereng akan berwarna merah, (A) artinya pada hasil bagian dasar berwarna kuning karena bakteri tidak memfermentasi glukosa dan laktosa, hasil S(+) artinya terbentuk warna hitam pada medium karena bakteri tidak mampu mendesulfurasi asam

amino dan methion yang akan menghasilkan H₂S dan H₂S akan bereaksi dengan Fe⁺⁺ yang terdapat pada media hasil G(+) artinya terbentuk gas yang ditandai dengan pecahnya atau terperangkap medium ke atas (Koneman *et al.* 1983).

Hasil pengujian pada media LIA (*Lysin Iron Agar*) bertujuan untuk menguji deaminasi lysin dan sulfida menunjukkan hasil K/K (S+). Hasil K/K artinya pada bagian lereng dan dasar media akan berwarna ungu hal ini menunjukkan bahwa bakteri tidak mendominasi lisin tetapi mendekarboksilasi lisin yang menyebabkan reaksi basa. Warna ungu di seluruh media S (+) artinya medium berwarna hitam karena terbentuknya H₂S (Koneman *et al.* 1983) Hasil pengujian pada media sitrat bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri menggunakan sitrat sebagai sumber karbon tunggal. Dari penelitian menunjukkan hasil (+), hasil positif artinya media berwarna biru karena pada media sitrat terdapat indikator BTB (*Brom Tymol Blue*) yang merupakan indikator pH jika mikroba mampu menggunakan sitrat menyebabkan suasana basa sehingga terjadi peningkatan pH dan merubah warna media menjadi biru (Koneman *et al.* 1983).



Gambar 13. Foto identifikasi uji Biokimia *Salmonella typhi* ATCC 13311

9. Pengujian daya hambat antibakteri dengan metode difusi

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi menggunakan metode difusi yang bertujuan untuk mengetahui daya hambat pertumbuhan dari bakteri uji. Pengujian antibakteri terhadap *Salmonella typhi* ATCC 13311 menggunakan Kombinasi minyak atsiri

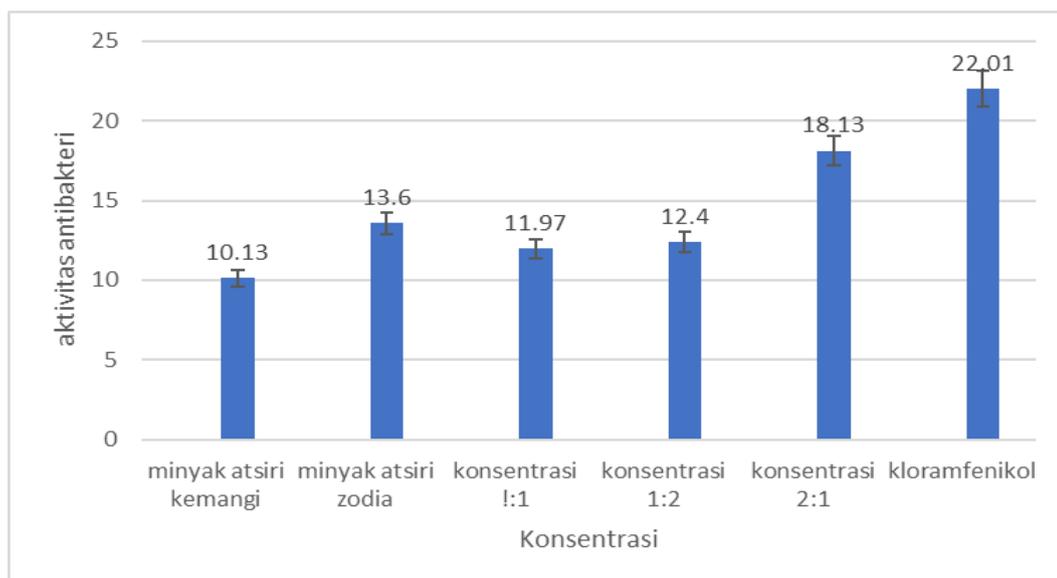
daun kemangi dan zodia dengan konsentrasi 30% yaitu sebanyak 2 ml minyak atsiri ditambah dengan 4 ml pelarut N-heksan. Konsentrasi dari kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan zodia dapat dilihat pada lampiran 10. kekeruhan suspensi bakteri uji disesuaikan dengan standar Mc Farland 0,5. Metode difusi yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode difusi menggunakan metode sumuran. Sebelum bahan uji dimasukkan kedalam media, terlebih dahulu diberi sumuran menggunakan brod prop dengan diameter 8 mm daya hambat yang terbentuk berupa warna jernih disekitar daerah sumuran dalam ukuran mm. hasil uji antibakteri secara difusi menunjukkan bahwa minyak atsiri kombinasi daun kemangi dan zodia memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Salmonella typhi* ATCC 13311. Hasil diameter hambat uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi dapat dilihat pada tabel 8. Foto uji aktivitas antibakteri dari kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan zodia dengan metode difusi dapat dilihat pada lampiran 6.

Tabel 9. Hasil diameter hambat uji aktivitas antibakteri kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan zodia metode difusi dapat dilihat pada lampiran 6.

Sampel	Diameter hambat mm			Rata-rata±SD
	Replikasi			
	1	2	3	
Minyak atsiri kemang	9,7	12,4	8,3	10.13
Minyak atsiri Zodia	13,4	12,7	14,7	13.60
Perbandingan 1:1 (30%)	14,8	12,2	8,9	11.97
Perbandingan 1:2 (30%)	12,3	12,2	12,7	12.40
Perbandingan 2:1 (30%)	18,4	17,5	18,5	18.13
Kloramfenikol	21,4	22,5	23,12	22.34
N-Heksan	0	0	0	0

Berdasarkan tabel nomor 8 menunjukkan bahwa bahwa dari perbandingan 2:1 mempunyai daya hambat yang paling besar terhadap *Salmonella typhi* ATCC 13311 daripada perbandingan 1:2, 1:1 minyak atsiri zodia dan minyak atsiri kemangi hasil rata-rata diameter zona hambat dari perbandingan 2:1 secara berturut adalah 18,13 sedangkan kloramfenikol selaku kontrol positif memiliki diameter rata-rata sebesar 22,34 kontrol negatif dalam pengujian aktivitas antibakteri menggunakan N-heksan dan berdasarkan hasil dari pengujian yang telah dilakukan bahwa N heksan tidak memiliki daya hambat terhadap *Salmonella typhi* ATCC 13311. Hasil perhitungan statistik yang digunakan adalah oneway

anova untuk membandingkan sampel pada tiap konsentrasi. Data yang dianalisis dengan ANOVA *one way* adalah kontrol positif, minyak atsiri daun kemangi, minyak atsiri daun zodia dan kombinasi minyak atsiri dengan perbandingan 1:1, 1:2 dan 2:1 pada konsentrasi 30%. Data yang dihasilkan digunakan untuk membandingkan hubungan antara perbandingan 1:1, 1:2 dan 2:1 untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan yang signifikan. Hasil uji *Shapiro wilk* diperoleh signifikansi lebih dari 0,05 maka data tersebut terdistribusi secara normal sehingga dilanjutkan uji ANOVA. Hasil uji *one way* ANOVA tabel diameter hambat diperoleh $F = 21,789$. Dari hasil yang statistik perbandingan 2:1 memiliki perbedaan yang nyata dari minyak atsiri tunggal serta kombinasinya. Berdasarkan tabel tukey HSD terdapat tanda * pada *Mean Difference*, tanda tersebut menunjukkan bahwa perbedaan diameter hambat aktivitas antibakteri tersebut signifikan. Apabila tidak terdapat tanda * pada *Mean Difference*, tanda tersebut menunjukkan bahwa perbedaan diameter hambat aktivitas antibakteri tersebut signifikan. Apabila tidak terdapat tanda * maka diameter hambat aktivitas antibakteri tersebut tidak signifikan artinya tidak memiliki perbedaan. Hasil analisis Tukey test dapat dilihat pada lampiran 17.



Gambar 14. Aktivitas antibakteri minyak atsiri daun kemangi dan zodia serta kombinasinya terhadap *Salmonella typhi* ATCC 13311.

Gambar tersebut menunjukkan aktivitas antibakteri dari kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan zodia terhadap *Salmonella typhi* ATCC 13311. Dari data diatas dapat disimpulkan bahwa aktivitas antibakteri dari kloramfenikol masih lebih besar dari aktivitas antibakteri yang berasal dari minyak atsiri, Hasil kombinasi minyak atsiri 2:1 memiliki aktivitas antibakteri yang lebih besar dari minyak atsiri tunggal serta kombinasi dari perbandingan 1:1 dan 1:2. hal ini dikarenakan Kemurnian serta kualitas minyak atsiri daun zodia yang lebih baik dari minyak atsiri daun kemangi hal ini bisa dipengaruhi oleh kesegaran bahan baku serta ketidakseragaman daun kemangi yang digunakan (daun muda serta tua semuanya disuling) dan waktu panen dari bahan baku tersebut. sehingga zat aktif dari minyak atsiri zodia bekerja lebih baik dan secara sinergis mampu menghambat pertumbuhan bakteri pada media padat. Kontrol negatif yang digunakan adalah N heksan dimana pelarut ini merupakan pelarut yang digunakan dalam pembuatan konsentrasi dari perbandingan 1:1, 1:2 dan 2:1. Penggunaan N heksan telah terlebih dahulu dilakukan pengujian terhadap aktivitas antibakteri dan tidak memiliki daya hambat terhadap *Salmonella typhi* ATCC 13311. Sehingga daya hambat yang terbentuk benar-benar merupakan aktivitas dari masing-masing Kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan zodia.

10. Pengujian daya antibakteri dengan metode dilusi

Pengujian aktivitas antibakteri terhadap *Salmonella typhi* ATCC 13311 dilakukan dengan metode dilusi untuk mencari konsentrasi hambat minimum (KHM) ditentukan dengan melihat batas terendah tabung media yang jernih atau yang memberikan hasil negatif sedangkan konsentrasi bunuh minimum (KBM) ditentukan dengan cara tabung media yang jernih diinokulasi secara goresan pada media selektif diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18-24 jam. Konsentrasi bunuh minimum (KBM) ditunjukkan oleh konsentrasi terendah pada media yang tidak menunjukkan koloni bakteri yang tumbuh. Seri konsentrasi yang digunakan dari kombinasi 2:1 yaitu 50%, 25%, 6,25%, 3,13%, 1,57%, 0,79%, 0,40%, 0,20%, 0,10%. Kontrol (+) dan kontrol (-) Perhitungan dan pembuatan konsentrasi dari kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan zodia teraktif (2:1) metode dilusi dapat dilihat pada lampiran 4. Nilai KHM dalam penelitian ini tidak dapat

ditentukan karena sampel uji yang digunakan berwarna putih susu sehingga mempersulit pengamatan. karena hal tersebut untuk menentukan nilai KBM dilakukan inokulasi dari tabung dilusi pada cawan petri yang telah berisi media (*salmonella shigiella agar*) SSA untuk mengetahui ada tidaknya pertumbuhan *Salmonella typhi* ATCC 13311 yang berwarna hitam seperti mata ikan. Hasil pengujian antibakteri dari kombinasi teraktif pada metode dilusi dapat dilihat pada tabel 10. Foto uji aktifitas antibakteri kombinasi minyak atsiri daun zodia dan kemangi terhadap *Salmonella typhi* ATCC 13311 dapat dilihat pada lampiran 7 dan 8.

Tabel 10. Hasil pengujian aktivitas antibakteri dari kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan zodia yang teraktif (2:1) dengan metode dilusi.

No	Konsentrasi (%)	Kombinasi minyak atsiri		
		I	II	III
1	K (-)	-	-	-
2	50	-	-	-
3	25	-	-	-
4	12,5	+	+	+
5	6,25	+	+	+
6	3,13	+	+	+
7	1,57	+	+	+
8	0,79	+	+	+
9	0,40	+	+	+
10	0,20	+	+	+
11	K (+)	+	+	+

Keterangan:

(-) : Tidak ada pertumbuhan bakteri.

(+) : Ada pertumbuhan bakteri

(K-) : Larutan stok (Minyak atsiri kombinasi 1:2)

(K+) : Suspensi bakteri

Penelitian ini dapat diketahui bahwa nilai KBM pada Minyak atsiri perbandingan 2:1 yaitu pada konsentrasi 25% . semakin tinggi konsentrasi larutan uji maka semakin tinggi pula kandungan zat aktif di dalamnya, sehingga aktivitas antibakteri akan semakin besar. Semakin rendah konsentrasi larutan uji maka semakin sedikit kandungan zat aktif di dalamnya sehingga aktivitas antibakteri akan semakin berkurang. Larutan uji yang memiliki konsentrasi bunuh minimum semakin kecil, menandakan semakin potensialnya sediaan tersebut sebagai antibakteri karena dengan konsentrasi kecil larutan uji sudah dapat membunuh bakteri. Perbandingan konsentrasi dari Kombinasi minyak atsiri daun kemangi

dan zodia 2:1 menunjukkan hasil yang diharapkan karena dengan konsentrasi 25% sudah dapat membunuh bakteri *Salmonella typhi* ATCC 13311. Hal tersebut diduga karena komponen senyawa yang terdapat dalam masing-masing minyak atsiri saling memperkuat mekanisme kerja minyak atsiri. Aktivitas kerja minyak atsiri dapat menghambat pertumbuhan atau mematikan bakteri yaitu dengan cara mengganggu proses terbentuknya membrane atau dinding sel, sehingga membrane sel tidak terbentuk secara sempurna. Telah diteliti mengenai beberapa senyawa terpenoid yang aktif sebagai antibakteri. Senyawa yang bersifat antibakteri diantaranya eugenol, linalool, dan sitral (Knobloch *et al.*, 1989). Senyawa sitral pada minyak atsiri daun kemangi merupakan senyawa aldehid golongan monoterpen (tersusun dari 2 unit isoprene), yang berasal dari hidroksis geranyl pirifosfat (GPP) menjadi linalool lalu mengalami oksidasi. Kandungan senyawa terbesar pada minyak atsiri daun zodia adalah Benzofuranon dalam senyawa ini terdapat substansi gugus keto pada cincin furan, diketahui bahwa senyawa tersebut berperan sebagai *scavenging reactive oxygen species* (ROS). Supaya dapat membunuh mikroorganisme, bahan uji harus masuk ke dalam sel melalui dinding sel. Bakteri ditutupi oleh membrane sel yang semipermeabel. Bakteri memiliki DNA, protein, enzim, garam, nutrisi dan ion dalam larutan sitoplasma yang diadakan oleh sifat semipermeabel membran. Hal ini penting bagi kelangsungan hidup bakteri yang molekul-molekul ini tinggal pada sitoplasma di dalam sel. Larutan sitoplasma adalah hipertonik dibandingkan dengan lingkungan apabila terjadi hipertonik menyebabkan tekanan yang signifikan dan berusaha untuk menjaga keseimbangan dan harus berdifusi ke dalam sel, sehingga keadaan hipertonik dan menyebabkan penghambatan pembentukan dinding sel sehingga sel hanya dibatasi oleh membran yang tipis (Jawetz *et al.* 2012)

Selain itu minyak atsiri dapat melarutkan fosfolipid yang merupakan penyusun dinding sel bakteri. Hal ini dikarenakan komponen minyak atsiri mempunyai gugus fenol dan alkohol (Dorman dan Deans, 2000). Adanya gugus fenol maupun alkohol berfungsi sebagai racun terhadap mikroba. Fosfolipid yang rusak atau larut menyebabkan kerusakan pada membran sel, kerusakan ini menyebabkan kebocoran sel sehingga komponen-komponen penting seperti

protein, asam nukleat dan nukleotida akan keluar dari sel bakteri yang menyebabkan bakteri tidak dapat melakukan aktivitas kehidupannya dan pertumbuhan bakteri tersebut terhambat atau mati (Rupilu dan Lamapaha 2008).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut :

Pertama, senyawa tertinggi yang dimiliki oleh minyak atsiri daun kemangi sebagai antiakteri adalah Z-citral dan senyawa tertinggi yang dimiliki oleh minyak atsiri zodia sebagai antibakteri adalah Evodone.

Kedua, minyak atsiri kombinasi (2 : 1) dari daun kemangi dan daun zodia memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Salmonella typhi* ATCC 13311 dengan daya hambat sebesar 18,13 mm, nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) tidak dapat dilihat karena larutan antibakteri yang keruh dan nilai (KBM) sebesar 25%.

Ketiga, Perbandingan 2 : 1 yaitu 50 ml minyak atsiri daun zodia dan 25 ml minyak atsiri kemangi memiliki aktivitas paling aktif terhadap *Salmonella typhi* ATCC 13311.

B. Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait dengan kandungan zat aktif dari minyak atsiri daun kemangi dan zodia serta pengujian pada bakteri lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggraeni (2009), *Hubungan beberapa faktor obesitas dan hipertensi*. Semarang *Medika Indonesia*: Rineka Cipta Jakarta
- Adeola, S. A., Folorunso, O. S., & Amisu, K. O., 2012, *Antimicrobial activity of Ocimum*.
- Agusta, A 2000. *Minyak Atsiri Tumbuhan Tropika*, Bandung. ITB
- Ajizah, A., 2004. *Sensitivitas Salmonella Typhirium terhadap Ekstrak Daun Psidium Guajava L*. *Bioscientiae* Vol.1. pp: 8-13
- Badan standar Nasional Indonesia (2006). *Minyak Kelapa Sawit Mentah (CPO)* (SNI 01-2901-2006) Jakarta: Departemen Perdagangan Halaman 2
- Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatika (Balitro), 2006, *Standar Prosedur Operasional (SPO) Tanaman Pegagan* Badan Litbang Pertanian Bogor.
- Basilicum and its Inhibition on the Characterized and Partially Purified Extracellular Protease of *Salmonella typhirium*, *Research Journal Of Biology*, 2 (5), 138-144.
- Bilal, Alia *et al*, 2012, Phytochemical and Pharmacological Studies On *Ocimum basilicum* Linn-A Review, *IJCRR*,4 (23),73-83
- [BSN] Badan Standarisasi Nasional, (2001), *Sistem Manajemen Mutu-Persyaratan*, Jakarta : BSN; (SNI 19-9004-2001
- Darmadi 2008. *Infeksi Nosokomial : Problematika Dan Pengendaliannya*. Jakarta : Penerbit Salemba Medika.
- Depkes 1986 Sediaan Galenik Jilid III, Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Depkes RI,2000 *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Direktorat jendral pengawasan obat dan makanan. Jakarta.
- Depkes 2011. *Profil Departemen Kesehatan Indonesia*. Jakarta 55-57.
- Depkes, 2001. *Materia Medika Indonesia* Jilid 1. Jakarta: Departemen Kesehatan
- Depkes.,2003 *Pedoman Teknologi Pengolahan Cassiavera*. Jakarta: Departemen Pertanian

- Depkes RI, 2006. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*. (1) Jilid 1 Jakarta: Departemen Kesehatan dan Kesejahteraan Sosial RI, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Hlm 67-68
- Depkes RI, 2007 *Riset Kesehatan Dasar*. Edisi iii. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- Ernita, 2009. *Pembuatan Krim Cair dan Uji Anti Nyamuk dari Ekstrak Zodia(Eudia hortentis J.R. & G.Forst)* Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara. Medan
- Forbes BA, Sahm DF, Weeissfeld AS (2007) *Bailey and Scout's Diagnostig Mikrobiology* 12 Edition. Missouri Elsevier, 190-6.
- Guenther E, 2006 *Minyak Atsiri Jilid I* (Terjemahan). Jakarta : UI Press Hal 44-484.
- Gunawan D,Mulyani S, 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi)Jilid I* Jakarta: Penerit Penebar Swadaya.
- Hadipoentyanti, E . & Wahyuni, S., 2008, *Keragaman Selasih (Ocimum Spp) Berdasarkan Karakter Morfologi, Produksi, dan Mutu Herba, Jurnal Littri*, 14(4), 141-148.
- Hariana. A, 2008 *Tumbuhan Obat dan khasiat nya*, Penear Swadaya; Jakarta
- Hussain, Al., Anwar, F., Sherzi, S. T. H., Przybyskli, R., 2008, *Chemical composition, Antioxidant and antimicrobial activities of basil (Ocimum basilicum L.) essentialoils depend on seasonal variations, Food Chem*, 108,986-995.
- Irawan, 2008 Teknik Pewarnaan Mikroba. [Http:// wordbiology.wordpress.com](http://wordbiology.wordpress.com).
- Irawan. 2009 *Farmakognosi dan Fitoterapi* . Jakarta: Penerbit EGC. Hal 49-50, 235-238.
- Jawetz E, Melnick JL., Adelberg EA ., 1996, *Mikrobiologi Kedokteran*, Edisi ke - 20, 213, EGC, Penerbit Buku Kedokteran, EGC, Jakarta.
- Jawetz E, Melnick JL., Adelberg EA.2001. *Mokrobiologi Kedokteran* Edisi XXII, diterjemahkan oleh Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Jakarta, Penertbit Salemba Medika.
- Jawetz E, Melnick JL., Adelberg EA.2005. *Mokrobiologi Kedokteran* diterjemahkan oleh Mudihardi E, Kuntaman, Wasito EB, Mertaniasih NM. Jakarta, Penerbit Salemba Medika.

- Kardinan, A. 2004 *Tanaman Pengusir Nyamuk*. Tabloid Sinar Tani. www.litbang.deptan.go.id
- Kardinan, A. 2007. *Tanaman Pengusir dan pembasmi nyamuk*, Depok : PT. Agromedia Pustaka
- Kiromah, N.Z.W Ika, T.D.K, dan Rima M. 2014. *Aktivitas antibakteri kombinasi minyak atsiri kemangi (Ocimum Basilicum) dengan Kloramfenikol dan Gentamisin terhadap Salmonella Typhi*. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Katzung BG, 2004 *Farmakologi Dasar dan Klinik* Buku 3 edisi 8. Penerjemah dan editor: Bagian Farmakologi FK UNAIR. Penerbit Salemba Medika, Surabaya. Hlm 37-41
- Koensoemardiyah, (2010). *A to Z Minyak Atsiri*. Jakarta : Penerbit Balai Putaka. Hal. 15-24, 38
- Maryati, R.S Fauzia, T Rahayu. 2007. *Uji aktivitas antibakteri minyak atsiri daun kemangi (Ocimum Bsilicum L.) terhadap Staphylococcus aureus, Atcc6538 dan Eschericia coli* Jurnal Penelitian Sains dan Teknologi 6 (1): 30-38.
- Musnelina., L Alfdhal, A. F., Gani A. & Andayani, P.,2004, *Analisis Efektivitas Biaya Pengobatan Demam Tifoid Anak menggunakan Kloramfenikol dan Seftriakson di Rumah Sakit Fatmawati* .Jakarta Tahun 2001-2002, *Makara Kesehatan*, Vol 8 No.2 Desember 2004 : 59-64.
- Pratiwi, S.T., 2008, *Mikrobiologi farmasi*. Jakarta. Erlangga,: 150-171.
- Pratiwi, Dian 2015 *Pengaruh Due Profesional Care dan Perilaku Disfungsional Auditor Terhadap Kualitas Audit*. Jurnal.
- Pratiwi, I., (2016) Uji Aktivitas Anti Bakteri dari kombinasi minyak atsiri daun Kemangi (*Ocimum Basilicum L.*) dan Kulit Kayu Manis (*Cinamomum burmanni*) Terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 [Skripsi]. Surakarta : Fakultas Farmasi, Universita Setia Budi
- Radji, 2011. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi & Kedokteran*. Jakarta: EGC.
- Rupilu, N.S dan Lamapaha, Y.F.,. 2008 *Potensi Lengkuas Sebagai Antimikroba (Studi In vitro pada bakteri gram negatif)*. Malang: Universitas Negeri Malang.
- Sacher, R.A, McPherson R.A. 2004. *Tinjauan klinis atas hasil pemeriksaan Laboratorium*. Cetakan 1. Jakarta : Widya Medika

- Shulman, J. M., Cox R. A. K., Oshawa, Stalkamp, T. T (2011) Competitiveness Review: An International Business Journal, 21 (1), 217-2
- Sriyanti dan Wijayani. 2008. Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek. Jakarta : Gramedia
- Stahl E, 2008. Analisa Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopis. Padmawinanto K, Sudiro L., Penerjemah: Bandung: Penerbit ITB.
- Stringer, J. L. (2006) *Basic Concepts In Pharmacology*. New York : McGraw Hill.
- Tjay, Tan Hoan dan Kirana Rahardja, 2007 *Obat- obat penting Khasiat, Penggunaan, Efek- efek sampingnya*, Edisi Keenam, 262, 269-271, PT Alex Media Komputindo, Jakarta
- Yunus, Reni., Mongan, Ruth., Rosnani 2017. Gambaran bakteri gram negative pada jajanan siomay. Kendari
- Waluyo L 2004. *Mikrobiologi Umum*. Edisis Pertama Malang. UMM Press. Hal 197-198.
- WHO. Maternal Mortality: Word Healt Organization; 2014.
- Yuswandara, Nindya Permata. 2015. Identifikasi bakteri *Salmonella sp* [Skripsi] Pada makanan jajanan di Masjid Fathullah Ciputat. Jakarta : Fakultas Kedokteran dan ilmu kesehatan, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.

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

Lampiran 1. Derterminasi Tanaman



No : 245/DET/UPT-LAB/23/III/2018
Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

Menerangkan bahwa :

Nama : Jhen Sarti Fasak
NIM : 20144194 A
Fakultas : Farmasi Universitas Setia Budi

Telah mendeterminasikan tumbuhan : **Zodia (*Evodia suaveolens* Scheff.)**

Determinasi berdasarkan **Backer : Flora of Java.**

1b – 2b – 3b – 4b – 12b – 13b – 14b – 17b – 18b – 19b – 20b – 21b – 22b – 23b – 24b – 25b –
26b – 27a – 28b – 29b – 30b – 31a – 32a – 33a – 34a – 35a – 36d – 37b – 38b – 39b – 41b – 42b
– 44b – 45b – 46e – 50b – 51b – 53b – 54b – 56b – 57b – 58b – 59d – 72b – 73b – 74a – 75b –
76a – 77a – 78b – 103c – 104b – 106b – 107a – 108b – 109b – 134a – 135b – 136b – 137a –
138c – 139b – 140c – 185a. familia 133. Rutaceae. 1b – 2b – 5a – 6a. 2. Evodia. 1a – 2a – 3a –
4b – 6a – 7b. *Evodia suaveolens* Scheff.

Deskripsi :

Habitus : Perdu menahun, tumbuh tegak, tinggi dapat mencapai 2 meter.
Batang : Bulat, berwarna coklat, pada permukaan tampak tonjolan bekas menempelnya daun.
Daun : Tunggal, berhadapan, bentuk memanjang sampai lanset, ujung runcing, pangkal runcing, panjang 11,2 – 17,8 cm, lebar 1,1 – 2,1 cm, tulang daun menyirip, permukaan licin, berwarna hijau muda kekuningan, bau “wangi” spesifik.
Bunga : Majemuk malai, muncul di ujung batang dan ketiak daun, sepala 4, petala 4, mula-mula berwarna putih kekuningan, kemudian berubah menjadi berwarna hijau, benangsari 4.
Buah : Bentuk bulat telur, waktu muda hijau, setelah masak berwarna coklat, biji kecil, umumnya tiap buah terdapat 1 biji.
Akar : Tunggang, berwarna coklat.
Pustaka : Backer C.A. & Brink R.C.B. (1965): *Flora of Java* (Spermatophytes only). N.V.P. Noordhoff – Groningen – The Netherlands

Surabaya, 23 Maret 2018

 Kepala Laboratorium
 Widiyosoendjojo, SU.



No : 245/DET/UPT-LAB/19/III/2018
Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

Menerangkan bahwa :

Nama : Jhen Sarti Fasak
NIM : 20144217 A
Fakultas : Farmasi Universitas Setia Budi

Telah mendeterminasikan tumbuhan : **Kemangi / *Ocimum basilicum L.***

Hasil determinasi berdasarkan : Steenis : FLORA

1b – 2b – 3b – 4b – 6b – 7b – 9b – 10b – 11b – 12b – 13b – 14b – 16a. golongan 10. 239b – 243b – 244b – 248b – 249b – 250b – 266b – 267a – 268b – 271b. familia 110. Labiatae. 1a – 2b – 4b – 6b – 7b. 8. Ocimum. ***Ocimum basilicum L.***

Deskripsi :

Habitus : Herba, tegak, tinggi 0,3 – 0,6 m.

Akar : Tunggang.

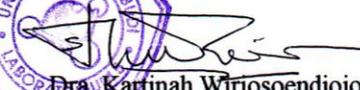
Batang : Percabangan monopodial, keunguan, berambut.

Daun : Tunggal, bulat telur elips, elips, atau memanjang, ujung runcing, pangkal tumpul, tepi bergerigi, bertulang menyirip, pada sebelah menyebelah ibu tulang 3 – 6 tulang cabang, panjang 3,5 – 6,4 cm, lebar 1,5 – 2,5 cm, herbaceous. Bila diremas berbau harum spesifik. Tangkai daun 0,5 – 1,8 cm.

Bunga : Karangan semu berbunga 6, berkumpul menjadi tandan ujung. Daun pelindung elip atau bulat telur, panjang 0,5 – 1cm. Kelopak sisi luar berambut, sisi dalam bagian bawah dalam tabung berambut rapat, panjang lk 0,5 cm; gigi belakang jorong sampai bulat telur terbalik, dengan tepi mengecil sepanjang tabung, gigi samping kecil dan runcing; kedua gigi bawah berlekatan menjadi bibir bawah yang bercelah dua. Mahkota putih, berbibir 2, panjang 8 – 9mm, dari luar berambut; bibir atas bertaju 4; bibir bawah rata. Benangsari 4, panjang 2.

Buah : Keras coklat tua, gundul,waktu dibasahi membengkak sekali. Tangkai dari kelopak buah tegak dan tertekan pada sumbu dari karangan bunga, dengan ujung bentuk kait melingkar. Kelopak buah panjang 6 – 9mm.

Pustaka : Steenis C.G.G.J., Bloembergen S. Eyma P.J. (1978): *FLORA*, PT PradnyaParamita. Jl. KebonSirih 46.Jakarta Pusat, 1978.

Surakarta, 19 Maret 2018
Tmdeterminasi

Dra. Kartinah Wirjosoendjojo, SU

Lampiran 2. Foto daun kemangi dan minyak atsiri daun kemangi



Foto daun kemangi



Minyak atsiri daun kemangi

Lampiran 3. Foto daun zodia dan minyak atsiri daun zodia.



Foto daun zodia



Minyak atsiri daun Zodia

Lampiran 4. Gambar proses pemisahan minyak atsiri daun zodia dan kemangi dari daun dengan metode destilasi uap.



Wadah Destilasi uap



Daun Zodia dalam wadah destilasi uap



Rangkaian alat destilasi uap



Pemisahan minyak dan air



Daun kemangi dalam wadah destilasi uap



Rangkaian destilasi uap



Pemisahan minyak dan air



Pemisahan minyak dan air

Gambar alat dan Wadah api Bunsen, enkas, neraca analitik, dan refraktometer



Wadah api Bunsen



Enkas



Neraca analitik

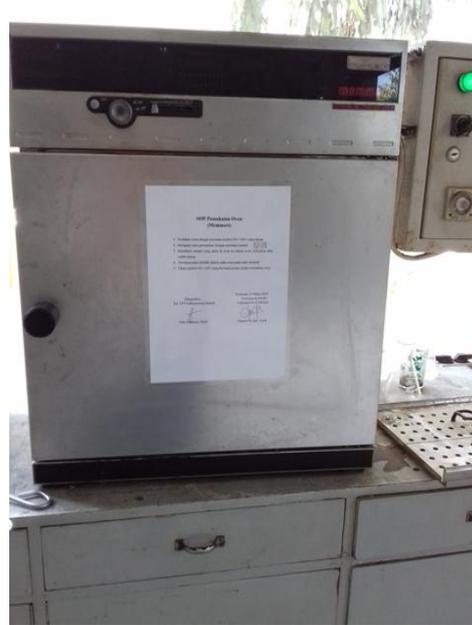


Refraktometer

Lampiran 5. Alat GC-MS, Oven, Inkubator dan autoklaf



Alat GC-MS



Oven



Inkubator



Autoklaf

Vortex, mikropipet, disposable tip dan gelas ukur



Vortex



Mikropipet



Disposable tip



Gelas ukur



Standar Mc farland 0,5

Lampiran 6. Pengamatan organoleptik minyak atsiri daun kemangi dan zodia



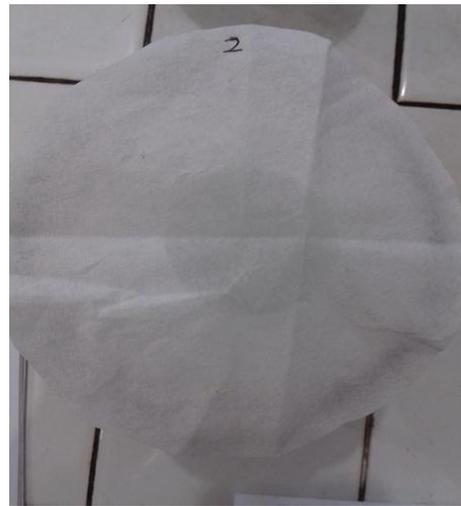
Identifikasi minyak atsiri daun kemangi



Identifikasi minyak atsiri daun zodia



Identifikasi minyak atsiri daun kemangi



Identifikasi minyak atsiri daun zodia

Lampiran 7. Uji kelarutan minyak atsiri dalam alkohol dan hasil indeks bias minyak atsiri



Kelarutan minya atsiri daun kemangi dalam etanol



Kelarutan minyak atsiri daun zodia dalam etanol

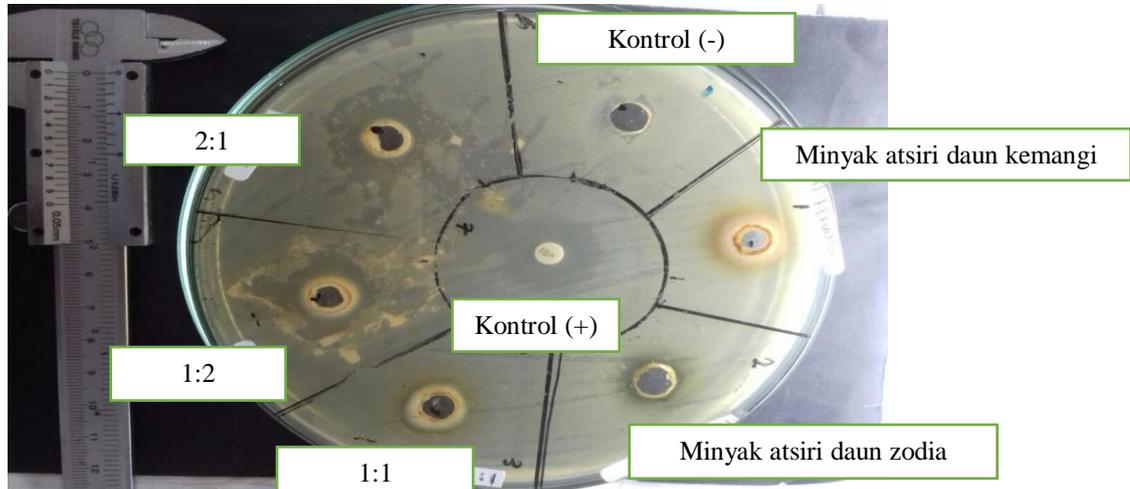


Indeks bias minyak atsiri daun kemangi

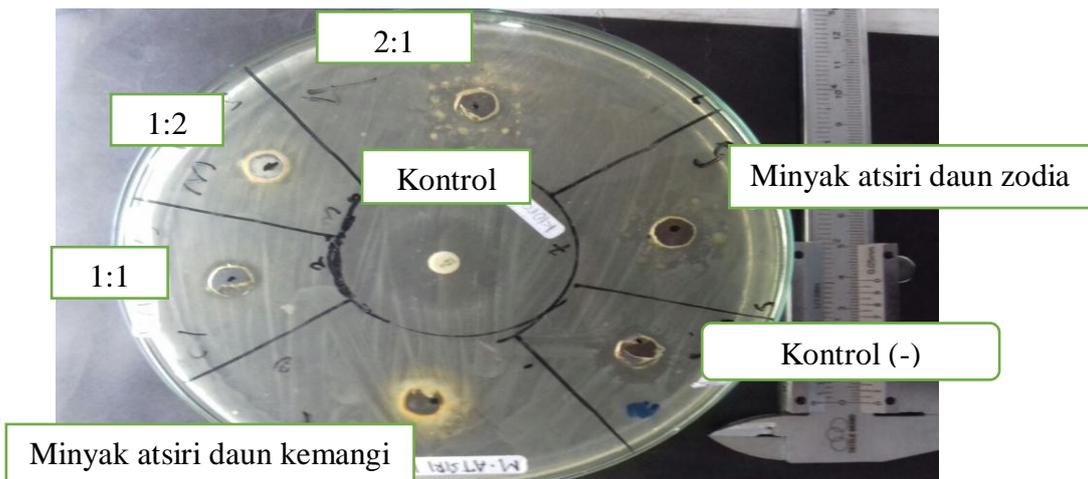


Indeks bias minyak atsiri daun zodia

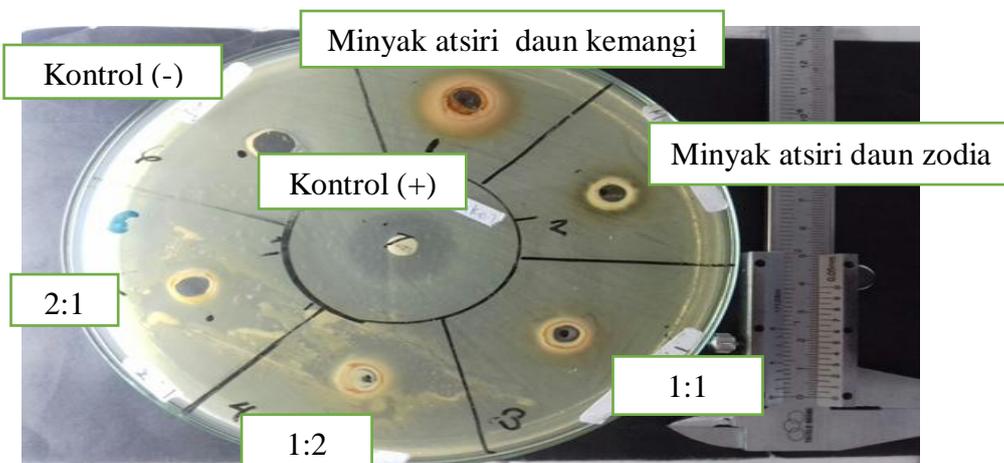
Lampiran 8. Uji aktivitas antibakteri kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan zodia terhadap *Salmonella typhi* ATCC 13311 metode difusi



Replikasi I

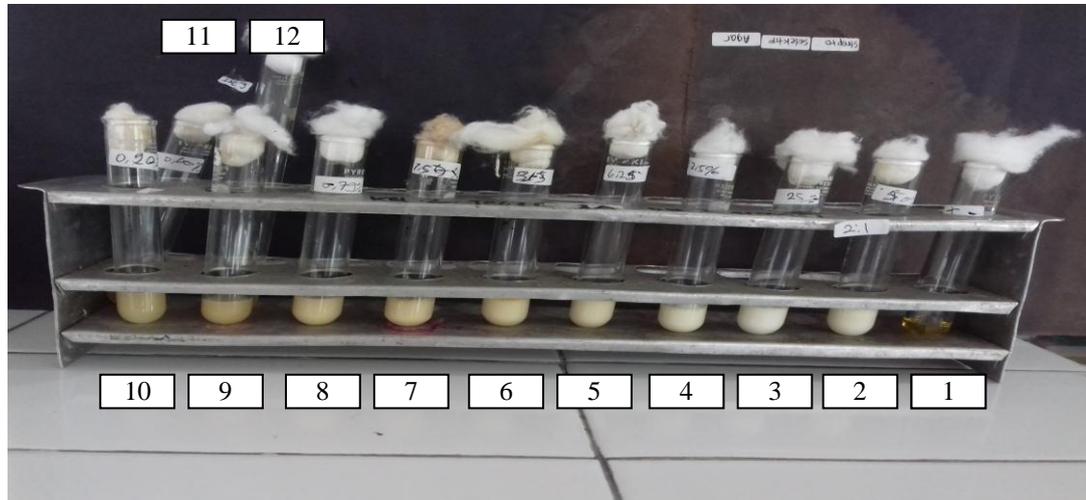


Replikasi 2



Replikasi 3

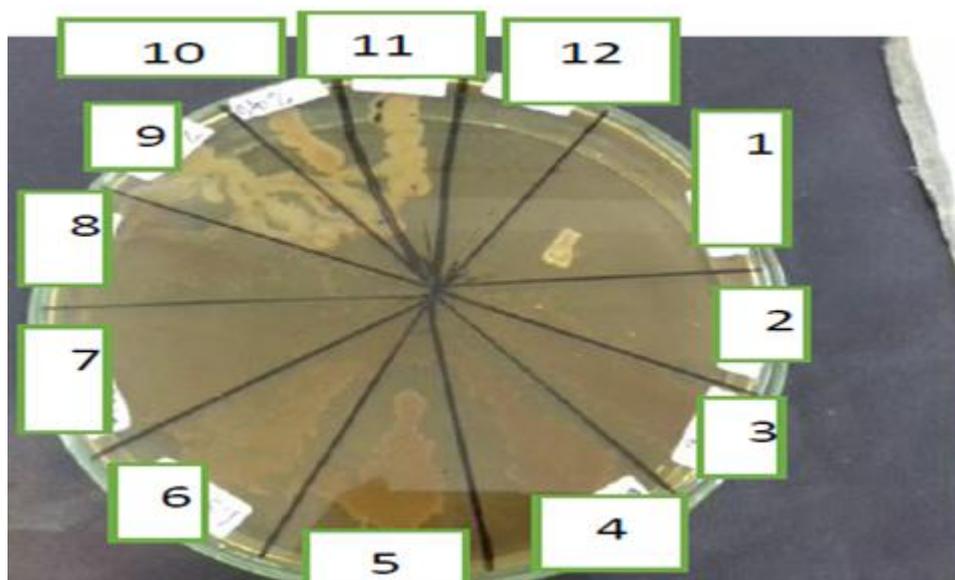
Lampiran 9. Uji dilusi kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan zodia perbandingan 2:1

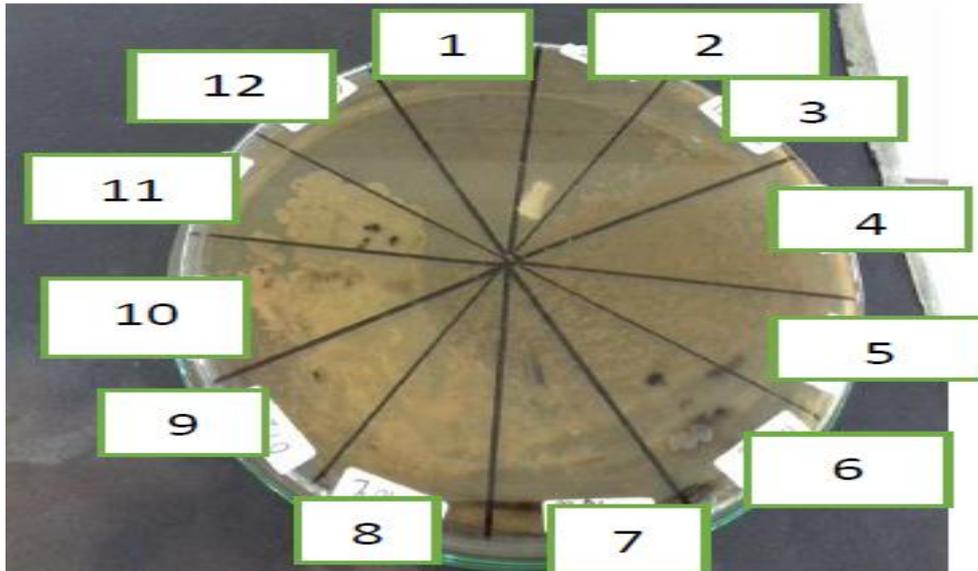
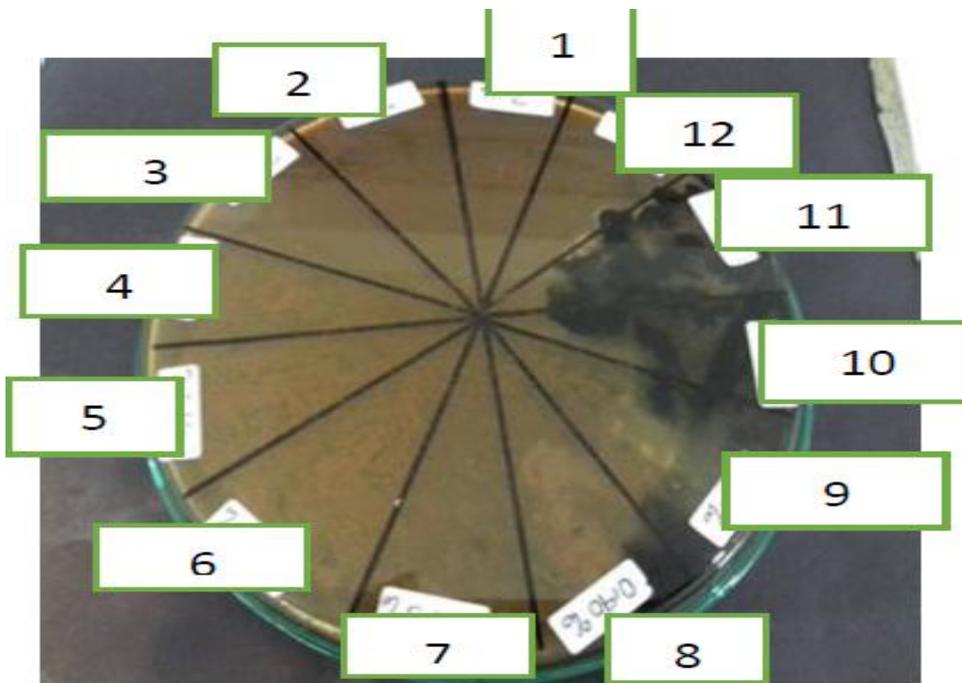


Keterangan:

- | | | |
|----------------------|-----------------------|-----------------|
| 1. Konsentrasi 50% | 6. Konsentrasi 1,57% | 11. Kontrol (+) |
| 2. Konsentrasi 25% | 7. Konsentrasi 0,79% | 12. Kontrol (-) |
| 3. Konsentrasi 12,5% | 8. Konsentrasi 0,40% | |
| 4. Konsentrasi 6,25% | 9. Konsentrasi 0,20% | |
| 5. Konsentrasi 3,13% | 10. Konsentrasi 0,10% | |

Replikasi 1.



Replikasi II**Replikasi III**

Lampiran 10. Perhitungan bobot jenis minyak atsiri
Perhitungan bobot jenis.

1. Bobot jenis kemangi

$$\begin{aligned}
 \text{Bobot botol + air} &= 31,501 \text{ gram} \\
 \text{Bobot botol kosong} &= 30,851 \text{ gram} - \\
 \text{Bobot air} &= 0,686 \text{ gram} \\
 \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{Berat minyak}}{\text{Bobot air}} \\
 &= \frac{0,594 \text{ gram}}{0,686 \text{ gram}} \\
 &= 0,865 \text{ gram}
 \end{aligned}$$

bobot jenis kemangi

$$\begin{aligned}
 \text{Bobot botol + air} &= 34,281 \text{ gram} \\
 \text{Bobot botol kosong} &= 33,350 \text{ gram} - \\
 \text{Bobot air} &= 0,931 \text{ gram} \\
 \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{Berat minyak}}{\text{Bobot air}} \\
 &= \frac{0,595 \text{ gram}}{0,931 \text{ gram}} \\
 &= 0,639 \text{ gram}
 \end{aligned}$$

Bobot jenis kemangi

$$\begin{aligned}
 \text{Bobot botol + air} &= 34,281 \text{ gram} \\
 \text{Bobot botol kosong} &= 33,350 \text{ gram} - \\
 \text{Bobot air} &= 0,931 \text{ gram} \\
 \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{Berat minyak}}{\text{Bobot air}} \\
 &= \frac{0,595 \text{ gram}}{0,931 \text{ gram}} \\
 &= 0,639 \text{ gram}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Rata-rata bobot jenis Kemangi} &= \frac{0,865 + 0,639 + 0,612}{3} \\
 &= 0,778 \text{ gram}
 \end{aligned}$$

2. Bobot jenis zodia.

Bobot jenis zodia

$$\text{Bobot botol + air} = 34,231 \text{ gram}$$

$$\underline{\text{Bobot botol kosong}} = 33,396 \text{ gram} -$$

$$\text{Bobot air} = 0,835 \text{ gram}$$

$$\begin{aligned} \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{Berat minyak}}{\text{Bobot air}} \\ &= \frac{0,812 \text{ gram}}{0,835 \text{ gram}} \end{aligned}$$

$$= 0,972 \text{ gram}$$

Bobot jenis zodia

Bobot jenis zodia

$$\text{Bobot botol + air} = 34,230 \text{ gram}$$

$$\underline{\text{Bobot botol kosong}} = 33,405 \text{ gram} -$$

$$\text{Bobot air} = 0,825 \text{ gram}$$

$$\begin{aligned} \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{Berat minyak}}{\text{Bobot air}} \\ &= \frac{0,657 \text{ gram}}{0,825 \text{ gram}} \end{aligned}$$

$$= 0,805 \text{ gram}$$

Bobot jenis zodia.

$$\text{Bobot botol + air} = 34,230 \text{ gram}$$

$$\underline{\text{Bobot botol kosong}} = 33,405 \text{ gram} -$$

$$\text{Bobot air} = 0,869 \text{ gram}$$

$$\begin{aligned} \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{Berat minyak}}{\text{Bobot air}} \\ &= \frac{0,746 \text{ gram}}{0,869 \text{ gram}} \end{aligned}$$

$$= 0,858 \text{ gram.}$$

$$\text{Rata-rata bobot jenis zodia} = \frac{0,972 + 0,805 + 0,858}{3}$$

$$= 0,878 \text{ gram.}$$

Lampiran 11. Perhitungan persen (%) kemurnian berdasarkan indeks bias

Rumus:

$$\text{Persen (\%)} \text{ kemurnian} = 1 - \frac{(\text{indeks bias teori}-\text{indeks bias praktek})}{\text{indeks bias teori}} \times 100\%$$

1. Untuk daun kemangi

Indeks bias praktek : 1,151

Indeks bias teori : 1,512-1,519

a. Persen kemurnian = $1 - \frac{1,512 - 1,151}{1,512} \times 100\% = 76,12\%$

b. Persen kemurnian = $1 - \frac{1,519 - 1,151}{1,519} \times 100\% = 75,77\%$

Jadi % Kemurnian minyak atsiri daun Kemangi adalah sebesar 75-77%-76,12%.

2. Untuk daun zodia

Indeks bias praktek : 1,488

Indeks bias teori : 1,4970-1,5050

a. Persen kemurnian = $1 - \frac{1,4970 - 1,488}{1,4970} \times 100\% = 99,39\%$

b. Persen kemurnian = $1 - \frac{1,5050 - 1,488}{1,5050} \times 100\% = 98,87\%$

Jadi % Kemurnian minyak atsiri daun Kemangi adalah sebesar 98,87%-99,39%.

Lampiran 12. Perhitungan dan pembuatan larutan stok minyak atsiri kombinasi daun kemangi dan zodia metode difusi

Larutan stok 30% $\frac{b}{v}$

Konsentrasi 30% = 2 ml minyak atsiri dilarutkan dengan N-heksan 4 ml.

Perbandingan 1:1 = 1 ml minyak atsiri kemangi dan 1 ml minyak atsiri zodia

Perbandingan 1: 2 =1 ml minyak atsiri zodia dan 2 ml minyak atsiri kemangi

Perbandingan 2:1 =1 ml minyak atsiri kemangi dan 2 ml minyak atsiri zodia

Perhitungan diameter daya hambat

Lampiran 13. Perhitungan dan pembuatan konsentrasi minyak atsiri kombinasi daun kemangi dan zodia 2:1

Minyak atsiri konsentrasi 50% $\frac{b}{v}$ 2 ml minyak atsiri kombinasi 2: 1 sebanyak 1 ml dilarutkan dalam Larutan N heksan sampai 2 ml.

Tabung 1= Kontro (-) diisi minyak atsiri 1ml dengan konsentrasi 50%

Tabung 2= 2 ml minyak atsiri konsentrasi 50%

Tabung 3= Pembuatan konsentrasi 25%

$$V1. C1 = V2.C2$$

$$V1. 50\% = 2ml. 25\%$$

$$V1 = \frac{2 \text{ ml. } 25\%}{50\%}$$

$$V1 = 1 \text{ ml}$$

Diambil 1 ml dari tabung 2 kemudian ditambah BHI sampai 1 ml

Tabung 4= Pembuatan konsentrasi 12,5%

$$V1. C1 = V2.C2$$

$$V1. 25\% = 2ml. 12,5\%$$

$$V1 = \frac{2 \text{ ml. } 12,5\%}{25\%}$$

$$V1 = 1 \text{ ml}$$

Diambil 1 ml dari tabung 3 kemudian ditambah BHI sampai 1 ml

Tabung 5= Pembuatan konsentrasi 6,25%

$$V1. C1 = V2.C2$$

$$V1. 12,5\% = 2ml. 6,25 \%$$

$$V1 = \frac{2 \text{ ml. } 6,25\%}{12,5\%}$$

$$V1 = 1 \text{ ml}$$

Diambil 1 ml dari tabung 4 kemudian ditambah BHI sampai 1 ml

Tabung 6 = Pembuatan konsentrasi 3,13%

$$V1. C1 = V2.C2$$

$$V1. 6,25\% = 2ml. 3,13 \%$$

$$V1 = \frac{2 \text{ ml. } 3,13\%}{6,25\%}$$

$$V1 = 1 \text{ ml}$$

Diambil 1 ml dari tabung 5 kemudian ditambah BHI sampai 1 ml

Tabung 7= Pembuatan konsentrasi 3,13%

$$V1. C1 = V2.C2$$

$$V1. 3,125\% = 2ml. 3,13\%$$

$$V1 = \frac{2 \text{ ml. } 3,13\%}{3,125\%}$$

$$V1 = 1 \text{ ml}$$

Diambil 1 ml dari tabung 6 kemudian ditambah BHI sampai 1 ml

Tabung 8 = Pembuatan konsentrasi 1,57 %

$$V1. C1 = V2.C2$$

$$V1. 1,56\% = 2\text{ml. } 1,57\%$$

$$V1 = \frac{2 \text{ ml. } 1,57\%}{1,56\%}$$

$$V1 = 1 \text{ ml}$$

Diambil 1 ml dari tabung 7 kemudian ditambah BHI sampai 1 ml

Tabung 9 = Pembuatan konsentrasi 0,79 %

$$V1. C1 = V2.C2$$

$$V1. 0,78\% = 2\text{ml. } 0,79\%$$

$$V1 = \frac{2 \text{ ml. } 0,79\%}{0,79\%}$$

$$V1 = 1 \text{ ml}$$

Diambil 1 ml dari tabung 9 kemudian ditambah BHI sampai 1 ml

Tabung 10 = Pembuatan konsentrasi 0,79 %

$$V1. C1 = V2.C2$$

$$V1. 0,39\% = 2\text{ml. } 0,40\%$$

$$V1 = \frac{2 \text{ ml. } 0,40\%}{0,39\%}$$

$$V1 = 1 \text{ ml}$$

Diambil 1 ml dari tabung 9 kemudian ditambah BHI sampai 1 ml

Tabung 11 = Pembuatan konsentrasi 0,20 %

$$V1. C1 = V2.C2$$

$$V1. 0,19\% = 2\text{ml. } 0,20\%$$

$$V1 = \frac{2 \text{ ml. } 0,20\%}{0,19\%}$$

$$V1 = 1 \text{ ml}$$

Diambil 1 ml dari tabung 10 kemudian ditambah BHI sampai 1 ml

Tabung 12 = Pembuatan konsentrasi 0,10 %

$$V1. C1 = V2.C2$$

$$V1. 0,09\% = 2\text{ml. } 0,10\%$$

$$V1 = \frac{2 \text{ ml. } 0,10\%}{0,09\%}$$

$$V1 = 1 \text{ ml}$$

Tabung nomor 12 kontrol positif diisi suspensi bakteri 1 ml.

Lampiran 14. Formulasi dan pembuatan media

1. Formulasi pembuatan (*Muller Hilton Agar*) MHA.

Beef dehydrated infusion.....	300 gram
Casein hydrolysate	17,5 gram
Strach.....	1,5 gram
Agar.....	17 gram

Suspensikan 38 gram bahan diatas dalam akuades sampai 1000 ml, panaskan sampai larut sempurna, disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit kemudian media diukur pH 7,4 dan masukkan kedalam cawan petri.

2. Formulasi dan pembuatan (*Brain heart Infusion*) BHI.

Brain heart 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

Suspensikan 37 gram bahan diatas dalam akuades sampai 1000 ml, panaskan sampai larut sempurna, disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit kemudian media diukur pH 7,4 dan masukkan kedalam cawan petri.

3. Formulasi dan pembuatan (*Salmonella Shigella Agar*)

Lab Lemco powder	5,0 gram
Peptone	5,0 gram
Laktose	10,0 gram
Bile salt	8,5 gram
Sodium citrate	10,0 gram
Sodium thiosulphate.....	8,5 gram
Ferric citrate.....	1,0 gram
Briliant green	0,00033 gram
Neutral red	0,025 gram

Bacto agar..... 13,5 gram

Suspensikan 37 gram bahan diatas dalam akuades sampai 1000 ml, panaskan sampai larut sempurna, disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit kemudian media diukur pH 7,4 dan masukkan kedalam cawan petri.

4. Formulasi dan pembuatan *Sulfide Indol Motility* (SIM)

Pepton from casein..... 12,5 gram

Pepton from meat 5 gram

Ammonium iron (II) Sitrat 10 gram

Sodium thiosulfate 0,2 gram

Agar..... 0,2 gram

Suspensikan 55 gram bahan diatas dalam akuades sampai 1000 ml, panaskan sampai larut sempurna, disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit kemudian media diukur pH 7,4 dan masukkan kedalam cawan petri.

5. Formulasi dan pembuatan *Klinger Iron Agar* (KIA)

Pepton from casein..... 15 gram

Pepton from meat 5 gram

Ammonium iron (II) Sitrat 0,5 gram

Meat extract 3 gram

Yeast ekstrak..... 3 gram

Sodium chloride 0,2 gram

Laktosa 0,2 gram

Glukosa..... 1 gram

Sodium thiosulfate 0,5 gram

Phenol red..... 0,024 gram

Agar..... 12 gram

Suspensikan 55 gram bahan diatas dalam akuades sampai 1000 ml, panaskan sampai larut sempurna, disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit kemudian media diukur pH 7,4 dan masukkan kedalam cawan petri.

6. Formulasi pembuatan (*Lysine Iron Agar*) LIA.

Peptone from casein	5 gram
Yeast extract	3 gram
Glukosa.....	1 gram
Lysine monohydrochloride.....	10 gram
Sodium thiosulfate	0,40 gram
Ammonium iron (II) Sitrat	0,5 gram
Bromo cresol purple	0,02 gram
Agar.....	0,2 gram

Suspensikan 32 gram bahan diatas dalam akuades sampai 1000 ml, panaskan sampai larut sempurna, disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit kemudian media diukur pH 7,4 dan masukkan kedalam cawan petri.

7. Suspensi dan pembuatan *Citrat Agar*.

Ammonium hydrogen fosfat.....	1 gram
Di-sodium hydrogen fosfat.....	3 gram
Sodium chloride	5 gram
Magnesium sulfat.....	0,2 gram
Bromo thymol blue	0,08 gram
Agar.....	12,5 gram

Suspensikan 23 gram bahan diatas dalam akuades sampai 1000 ml, panaskan sampai larut sempurna, disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit kemudian media diukur pH 7,4 dan masukkan kedalam cawan petri.

Lampiran 15. Hasil uji SPSS

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
minyak_atsiri_kemangi	.249	3	.	.968	3	.654
minyak_atsiri_zodia	.245	3	.	.971	3	.672
konsentrasi11	.198	3	.	.995	3	.869
konsentrasi12	.314	3	.	.893	3	.363
konsentrasi21	.353	3	.	.824	3	.174
kloramfenokol	.302	3	.	.910	3	.419

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

konsentrasi

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.177	5	12	.125

ANOVA

konsentrasi

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	300.001	5	60.000	21.789	.000
Within Groups	33.044	12	2.754		
Total	333.046	17			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

konsentrasi
Tukey HSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
minyak atsiri kemangi	minyak atsiri zodia	-3.46667	1.35491	.182	-8.0177	1.0844
	konsentrasi 1:1	-1.83333	1.35491	.752	-6.3844	2.7177
	konsentrasi 1:2	-2.26667	1.35491	.572	-6.8177	2.2844
	konsentrasi 2:1	-8.00000	1.35491	.001	-12.5510	-3.4490
	kloramfenikol	-11.87333	1.35491	.000	-16.4244	-7.3223
minyak atsiri zodia	minyak atsiri kemangi	3.46667	1.35491	.182	-1.0844	8.0177
	konsentrasi 1:1	1.63333	1.35491	.826	-2.9177	6.1844
	konsentrasi 1:2	1.20000	1.35491	.943	-3.3510	5.7510
	konsentrasi 2:1	-4.53333	1.35491	.051	-9.0844	.0177
	kloramfenikol	-8.40667	1.35491	.001	-12.9577	-3.8556
konsentrasi 1:1	minyak atsiri kemangi	1.83333	1.35491	.752	-2.7177	6.3844
	minyak atsiri zodia	-1.63333	1.35491	.826	-6.1844	2.9177
	konsentrasi 1:2	-.43333	1.35491	.999	-4.9844	4.1177
	konsentrasi 2:1	-6.16667	1.35491	.007	-10.7177	-1.6156
	kloramfenikol	-10.04000	1.35491	.000	-14.5910	-5.4890
konsentrasi 1:2	minyak atsiri kemangi	2.26667	1.35491	.572	-2.2844	6.8177
	minyak atsiri zodia	-1.20000	1.35491	.943	-5.7510	3.3510
	konsentrasi 1:1	.43333	1.35491	.999	-4.1177	4.9844
	konsentrasi 2:1	-5.73333	1.35491	.011	-10.2844	-1.1823
	kloramfenikol	-9.60667	1.35491	.000	-14.1577	-5.0556
konsentrasi 2:1	minyak atsiri kemangi	8.00000	1.35491	.001	3.4490	12.5510
	minyak atsiri zodia	4.53333	1.35491	.051	-.0177	9.0844
	konsentrasi 1:1	6.16667	1.35491	.007	1.6156	10.7177
	konsentrasi 1:2	5.73333	1.35491	.011	1.1823	10.2844
	kloramfenikol	-3.87333	1.35491	.114	-8.4244	.6777
kloramfenikol	minyak atsiri kemangi	11.87333	1.35491	.000	7.3223	16.4244
	minyak atsiri zodia	8.40667	1.35491	.001	3.8556	12.9577
	konsentrasi 1:1	10.04000	1.35491	.000	5.4890	14.5910
konsentrasi 1:2	9.60667	1.35491	.000	5.0556	14.1577	
konsentrasi 2:1	3.87333	1.35491	.114	-.6777	8.4244	

Homogeneous Subsets

konsentrasi

Tukey B^a

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
minyak atsiri kemangi	3	10.1333		
konsentrasi 1:1	3	11.9667		
konsentrasi 1:2	3	12.4000		
minyak atsiri zodia	3	13.6000		
konsentrasi 2:1	3		18.1333	
kloramfenikol	3			22.0067

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.