

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI MINYAK ATSIRI BANGLE  
(*Zingiber cassumunar*) DAN LENGKUAS MERAH (*Alpinia purpurata* K.)  
TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**



oleh :

**Muhamad Aulia Putra Tawakal  
19133823 A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2017**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI MINYAK ATSIRI BANGLE  
(*Zingiber cassumunar*) DAN LENGKUAS MERAH (*Alpinia purpurata* K.)  
TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

*SKRIPSI*

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

**Oleh:**

**Muhamad Aulia Putra Tawakal**

**19133823 A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2017**

**PENGESAHAN SKRIPSI**

Berjudul

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI MINYAK ATSIRI BANGLE  
(*Zingiber cassumunar*) DAN LENGKUAS MERAH (*Alpinia purpurata* K.)  
TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

Oleh

**Muhamad Aulia Putra Tawakal  
19133823 A**

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi  
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi  
Pada Tanggal : 7 Juni 2017



Pembimbing Utama,



Dr. Ana Indrayati M.Si

Pembimbing Pendamping,



Endang Sri Rejeki, M.Si., Apt

Penguji :

1. Iswandi S.Si., M.Farm., Apt
2. Dra. Kartinah Wiryosoendjoyo, SU.
3. Dwi Ningsih, S.Si., M.Farm., Apt
4. Dr. Ana Indrayati M.Si

1. ....
2. ....
3. ....
4. ....



## PERSEMBAHAN

MOTTO :

*Tuhanlah Pembimbingku*

*Kupersembahkan karya tulis ini untuk :*

- ◆ ALLAH SWT yang selalu membimbingku
- ◆ Orang tuaku yang selalu mendo'akan ku
- ◆ Adik-adik ku Fajri dan Naya yang selalu mendukungku
- ◆ *Special thanks* untuk calon teman hidupku (Jeni)
- ◆ Semua teman-teman yang sudah membantu dalam semua proses karyaku

## **PERNYATAAN**

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

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

Surakarta, 7 Juni 2017



Muhamad Aulia Putra Tawakal

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan segala rahmat dan hidayah-Nya serta kasih dan sayang-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI MINYAK ATSIRI BANGLE (*Zingiber cassumunar*) dan LENGKUAS MERAH (*Alpinia purpurata* K.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923”**.

Penyusunan skripsi ini dimaksudkan untuk memenuhi salah satu syarat dalam mencapai derajat sebagai Sarjana Farmasi (S.Farm) pada Program studi S1 Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

Penyusunan skripsi ini melibatkan banyak pihak yang sangat membantu penulis dalam berbagai hal, baik secara langsung maupun tidak langsung. Oleh karena itu, penulis sampaikan terima kasih kepada :

1. Allah SWT yang senantiasa memberikan anugerah, nikmat serta petunjuk disetiap langkah hidupku.
2. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA., selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
3. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.
4. Dr. Ana Indrayati, M.Si. selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah banyak memberikan ilmu, masukan, pengarahan dan bimbingan selama penyusunan skripsi ini.
5. Endang Sri Rejeki, M.Si., Apt. selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah banyak memberikan ilmu, masukan, pengarahan dan bimbingan selama penyusunan skripsi ini.
6. Dosen Penguji yang telah meluangkan waktu untuk menguji dan memberikan masukan untuk skripsi ini.
7. Segenap dosen, instruktur laboratorium yang banyak memberikan bantuan dan kerjasama selama penyusunan penelitian skripsi ini.
8. Orangtuaku tercinta yang selalu mendukung dan mendoakanku.
9. Adik-adik ku tersayang yang menjadi penyemangatku.
10. Teman-teman seperjuanganku dalam menyelesaikan penyusunan skripsi ini.

11. Semua orang yang terlibat dalam penyelesaian skripsi ini yang penulis tidak bisa sebutkan satu-persatu

Surakarta, 7 Juni 2017

Muhamad Aulia Putra Tawakal

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
PENGESAHAN SKRIPSI .....	ii
PERSEMBAHAN .....	iii
PERNYATAAN.....	iv
DAFTAR GAMBAR .....	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
INTISARI.....	xiii
ABSTRACT .....	xiv
<b>BAB I PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
A. Latar Belakang .....	1
B. Rumusan Masalah.....	2
C. Tujuan Penelitian .....	3
D. Kegunaan Penelitian .....	3
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>4</b>
A. Bangle .....	4
1. Sistematika bangle .....	4
2. Nama lain .....	4
3. Morfologi bangle .....	4
4. Kandungan kimia .....	5
5. Kegunaan tanaman.....	5
B. Lengkuas Merah .....	5
1. Sistematika lengkuas merah .....	5
2. Nama daerah .....	5
3. Morfologi lengkuas merah.....	5
4. Kandungan kimia .....	6
5. Kegunaan tanaman.....	6
C. Simplisia .....	7
1. Pengertian simplisia.....	7
2. Pengeringan dan pencucian simplisia .....	7
D. Ekstraksi.....	8
E. Minyak Atsiri .....	9
1. Pengertian .....	9



2.	Sifat minyak atsiri .....	9
3.	Metode isolasi minyak atsiri .....	10
3.1.	Destilasi air .....	10
3.2.	Destilasi dengan uap-air .....	10
3.3.	Destilasi uap langsung .....	11
4.	Sisa penguapan .....	11
5.	Penetapan bobot jenis minyak atsiri .....	12
6.	Uji kelarutan dalam etanol .....	12
F.	GC-MS .....	12
G.	<i>Staphylococcus aureus</i> .....	13
1.	Sistematika <i>Staphylococcus aureus</i> .....	13
2.	Morfologi dan identifikasi bakteri .....	13
3.	Patologi .....	14
H.	Antibakteri .....	15
1.	Definisi antibakteri .....	15
2.	Uji aktivitas antibakteri .....	17
2.1	Metode Difusi .....	17
2.2	Metode Dilusi .....	17
I.	Amoksisilin .....	17
J.	Media .....	18
1.	Media padat .....	18
2.	Media semi padat dan semi cair .....	19
3.	Media cair .....	19
K.	Landasan Teori .....	19
L.	Hipotesis .....	21

### BAB III METODE PENELITIAN..... 22

A.	Populasi dan Sampel .....	22
B.	Variabel Penelitian .....	22
1.	Identifikasi variabel utama .....	22
2.	Variabel penelitian dan definisi operasional .....	22
3.	Definisi operasional .....	23
C.	Alat dan Bahan .....	23
1.	Alat dan bahan .....	23
D.	Jalannya Penelitian .....	24
1.	Identifikasi tanaman .....	24
2.	Pengumpulan bahan .....	24
3.	Isolasi minyak atsiri .....	24
4.	Penetapan sifat fisika .....	24
4.1.	Penetapan bobot jenis .....	24
4.1	Pengamatan organoleptik .....	25
4.2	Identifikasi minyak atsiri .....	25
4.3	Penetapan indeks bias minyak atsiri .....	25
4.4	Analisis komponen senyawa penyusun minyak atsiri dengan <i>Gas Chromatography-Mass Spectrometry</i> (GC-MS) .....	25

4.5	Penetapan kelarutan dalam etanol .....	26
5.	Sterilisasi.....	26
6.	Identifikasi bakteri <i>S. aureus</i> ATCC 25923 .....	26
6.1	Identifikasi bakteri <i>S. aureus</i> dengan medium VJA.....	26
6.2	Identifikasi dengan pewarnaan Gram.....	26
6.3	Identifikasi biokimia .....	27
7.	Pembuatan suspensi bakteri uji <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 .....	27
8.	Pengujian aktivitas antibakteri.....	27
E.	Analisis Hasil.....	29
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN .....		36
A.	Hasil Penelitian dan Pembahasan .....	36
1.	Identifikasi tanaman bangle ( <i>Z. cassumunar</i> ) dan lengkuas merah ( <i>A. purpurata</i> K.) .....	36
2.	Pengambilan bahan .....	36
3.	Isolasi minyak atsiri .....	36
4.	Penetapan sifat fisika .....	36
5.	Analisis komponen senyawa penyusun minyak atsiri dengan <i>Gas Chromatography-Mass Spectometry</i> (GC-MS). .....	38
6.	Identifikasi bakteri uji.....	39
6.1	Identifikasi bakteri <i>S. aureus</i> dengan medium VJA.....	39
6.2	Identifikasi dengan pewarnaan Gram.....	39
6.3	Identifikasi biokimia. ....	39
7.	Pembuatan suspensi bakteri uji <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 .....	40
8.	Pengujian aktivitas antibakteri secara difusi dan dilusi.....	40
9.	Analisa data .....	43
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....		46
A.	Kesimpulan .....	46
B.	Saran .....	46
DAFTAR PUSTAKA .....		47
LAMPIRAN.....		52

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Alur penelitian.....	30
Gambar 2. Skema isolasi minyak atsiri bangle .....	31
Gambar 3. Skema isolasi minyak atsiri lengkuas merah.....	32
Gambar 4. Skema pembuatan suspensi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 .....	33
Gambar 5. Skema pengujian aktivitas antibakteri secara difusi .....	34
Gambar 6. Skema pengujian aktivitas antibakteri kombinasi minyak atsiri bangle dan lengkuas merah terhadap bakteri <i>S. aureus</i> ATCC 25923 secara dilusi .....	35

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Data hasil uji organoleptik minyak atsiri bangle .....	37
Tabel 2. Data hasil uji organoleptik minyak atsiri lengkuas merah.....	37
Tabel 3. Data hasil identifikasi minyak atsiri bangle .....	37
Tabel 4. Data hasil identifikasi minyak atsiri lengkuas merah.....	37
Tabel 5. Hasil analisis komponen minyak atsiri bangle dengan GC-MS .....	38
Tabel 6. Hasil analisis komponen minyak atsiri lengkuas merah dengan GC-MS.....	38
Tabel 7. Diemeter hambat tunggal minyak atsiri.....	41
Tabel 8. Diameter hambat kombinasi minyak atsiri.....	41
Tabel 9. Hasil uji dilusi kombinasi minyak atsiri bangle dan lengkuas merah (3:1) terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	43

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil determinasi tanaman bangle .....	53
Lampiran 2. Hasil determinasi tanaman lengkuas merah.....	54
Lampiran 3. Tanaman bangle dan lengkuas merah .....	55
Lampiran 4. Alat-alat sterilisasi .....	56
Lampiran 5. Penetapan sifat fisikakimia .....	57
Lampiran 6. Minyak atsri bangle, lengkuas merah, dan kombinasi .....	58
Lampiran 7. Hasil identifikasi bakteri .....	60
Lampiran 8. Hasil uji difusi dan dilusi .....	61
Lampiran 9. Perhitungan kadar minyak atsiri Bangle dan Lengkuas merah.....	64
Lampiran 10. Perhitungan bobot jenis minyak atsiri.....	67
Lampiran 11. Hasil perhitungan indeks bias minyak atsiri .....	70
Lampiran 12. Hasil analisis GCMS minyak atsiri.....	71
Lampiran 13. Diameter daya hambat tunggal dan kombinasi dari uji difusi minyak atsiri.... ..	90
Lampiran 14. Data SPSS .....	94

## INTISARI

**TAWAKAL M.A.P., 2017, UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI MINYAK ATSIRI BANGLE (*Zingiber cassumunar*) DAN LENGKUAS MERAH (*Alpinia purpurata* K.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.**

*Staphylococcus aureus* merupakan salah satu flora normal yang ada di kulit yang dapat menyebabkan penyakit infeksi. Infeksi ditandai dengan adanya kerusakan jaringan dan diikuti dengan abses bernanah. Rimpang bangle (*Zingiber cassumunar*) dan lengkuas merah (*Alpinia purpurata* K.) diduga memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri karena mengandung antara lain minyak atsiri, tanin, flavonoid, dan saponin. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui efektivitas kombinasi minyak atsiri terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan untuk mengetahui diameter zona hambatnya serta konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM).

Penelitian ini menggunakan metode difusi dan dilusi seri pengenceran. Bangle dan lengkuas merah diekstraksi dengan metode destilasi uap air menghasilkan rendemen bangle 0,2% dan lengkuas merah 0,057%. Pada uji difusi konsentrasi minyak atsiri bangle dan lengkuas merah yang digunakan adalah 50%, 25% dan 12,5% dengan perbandingan (1:1, 1:3, 3:1). Pada dilusi menggunakan seri pengenceran dengan konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,56%, dan 0,78%.

Hasil dari uji difusi kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle dengan perbandingan 1:1,1:3,3:1 memiliki zona hambat masing-masing 19,60 mm, 25,30 mm, 31,30 mm. Pada dilusi hasil KHM yang didapat yaitu pada konsentrasi 1,56% dan KBM 3,125%. Berdasarkan hasil dapat disimpulkan bahwa efek antibakteri terbesar kombinasi minyak atsiri lengkuas merah (*Alpinia purpurata* K.) dan bangle (*Zingiber cassumunar*) dan pada perbandingan 3:1 dengan zona hambat 31,30 mm terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

---

Kata kunci: Antibakteri, *Staphylococcus aureus*, Kombinasi, Minyak Atsiri, *Zingiber cassumunar*, *Alpinia purpurata* K.

## ABSTRACT

**TAWAKAL M.A.P., 2017, ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST COMBINATION OF ESSENTIAL OIL OF BANGLE (*Zingiber cassumunar*) AND RED GALANGA (*Alpinia purpurata* K.) TO *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, ESSAY, PHARMACY FACULTY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.**

*Staphylococcus aureus* is one of the normal flora of the skin that can cause infectious diseases. The signs of infection are characterized by tissue damage and followed by abscesses. Bangle rhizome (*Zingiber cassumunar*) and red galanga (*Alpinia purpurata* K.) suspected to have inhibitory effect on bacterial growth because they contain essential oil, tannin, flavonoid and saponin. This study aims to know the effectiveness of essential oil combinations to *S. aureus* growth and to know the inhibition diameter zone and Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC)

The method of this study used diffusion and dilution (serial dilutions). Bangle and red galanga were extracted by water and steam distillation method, each to their rendements were 0.2% and 0.057%. The concentration diffusion test of essential oil of bangle and red galanga used were 50%, 25%, 12.5% with their combinations 1:1, 1:3, and 3:1. The dilution test used concentration serial dilutions of 50%, 25%, 12.5%, 6.25%, 3.125%, 1.56%, and 0.78%.

The result of diffusion test combination of essential oil red galanga and bangle with their comparisons of 1:1,1:3,3:1 had inhibition diameter zone of 19,60 mm, 25,30 mm, 31,30 mm respectively. MIC amd MBC on dilution test were obtained 1.56% and 3.125%. Based on the result, can be concluded that the highest antimicrobial potential is their comparisons of combination 3:1 with inhibition diameter zone of 31.30 mm to *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

---

*Key words: Alpinia purpurata* K., Antibacterial, Combination, Essential oil, *Staphylococcus aureus*, *Zingiber cassumunar*,

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang**

Indonesia sebagai negara tropis memiliki kekayaan akan flora, pengetahuan masyarakat lokal akan etnobotani dalam bidang obat-obatan (farmakologi) telah menjadi sumber kajian bagi bidang medis modern. Popularitas obat bahan alam pada tiga dasawarsa terakhir mengalami peningkatan baik di negara maju maupun berkembang, hal ini disebabkan telah meningkatnya kepedulian terhadap efek samping yang diakibatkan oleh obat sintesis. Selain itu juga meningkatnya penderita penyakit degeneratif dan kronis yang membutuhkan pengobatan dengan jangka waktu lama, sehingga penggunaan obat herbal lebih diminati karena lebih aman (Hamid, 2009).

Bangle adalah salah satu tanaman yang banyak tumbuh di Indonesia, tetapi belum dikembangkan menjadi produk yang bernilai ekonomis, padahal tanaman ini mempunyai manfaat yang banyak bagi kesehatan. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, bangle mempunyai beberapa aktivitas, di antaranya sebagai antibakteri dengan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) 12,5% dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) 25% (Gunardi *et al*, 2009), antinyeri dan antiradang, antioksidan (Vankar *et al*, 2006), relaksan otot, memberikan efek dingin (astringent), antihistamin, antijamur (Ficker *et al*, 2003; Ayuningtyas, 2008), dan imunomodulator (Chairul dan Pratiwi, 2008). Pada penelitian sebelumnya Sayuti *et al* (2014) penggunaan minyak atsiri bangle tanpa pengenceran sebagai antibakteri memberikan zona hambat sebesar 10,11 mm.

Tumbuhan dari keluarga Zingiberaceae yang telah lama dipergunakan oleh masyarakat adalah lengkuas merah (*Alpinia purpurata* K.). Bagian dari tanaman lengkuas yang sering digunakan sebagai obat adalah rimpangnya. Lengkuas memiliki berbagai khasiat di antaranya sebagai antijamur dan antibakteri. Lengkuas secara tradisional sering dipergunakan sebagai obat penyakit perut, diare, kudis, panu, radang telinga, bronkhitis, pereda kejang, menghilangkan bau mulut, dan karies gigi. Lengkuas juga diketahui memiliki beberapa efek berupa antiinflamasi, antioksidan, stimulator imun dan antikanker. Pada penelitian



sebelumnya (Lestari, 2015) penggunaan minyak atsiri lengkuas merah dengan konsentrasi 10% sebagai antibakteri memberikan zona hambat sebesar 6,67 mm.

*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif yang berasal dari genus *Staphylococcus* dan termasuk dalam keluarga *Staphylococcaceae*. *S. aureus* merupakan salah satu flora normal yang ada di kulit, namun pada kondisi tertentu *S. aureus* dapat menjadi patogen sehingga menyebabkan timbulnya penyakit infeksi (Jawetz *et al*, 2013). Infeksi dapat terjadi secara langsung maupun tidak langsung, infeksi oleh *S. aureus* ditandai dengan adanya kerusakan jaringan dan diikuti dengan abses bernanah. Bakteri ini masuk ke dalam tubuh melalui folikel rambut, kelenjar keringat atau luka-luka kecil (Dowshen *et al*, 2002).

Antibakteri merupakan suatu substansi yang mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan ataupun membunuh bakteri. Ada beberapa faktor yang mempengaruhi aktivitas antibakteri yaitu pH lingkungan, komponen medium, stabilitas obat, ukuran inokulum, lama inkubasi dan aktivitas metabolik bakteri. Beberapa hal yang mempengaruhi penghambatan bakteri oleh senyawa antibakteri yaitu mencakup kepekaan bakteri terhadap bahan antibakteri, waktu aplikasi, temperatur dan konsentrasi bahan antibakteri yang diberikan.

Berdasarkan uraian tersebut, maka akan dilakukan penelitian mengenai kombinasi minyak atsiri bangle (*Z. purpureum*) dan lengkuas merah (*A. purpurata* K.) untuk mengetahui aktivitas dari minyak atsiri tanaman tersebut yang berhasiat sebagai antibakteri terhadap *S. aureus* dengan menggunakan metode difusi dan dilusi.

## **B. Rumusan Masalah**

Permasalahan dalam penelitian ini adalah :

Pertama, apakah kombinasi minyak atsiri bangle dan lengkuas merah memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* ATCC 25923 ?

Kedua, manakah dari berbagai perbandingan minyak atsiri bangle dan lengkuas merah yang memiliki aktivitas antibakteri paling besar terhadap *S. aureus* ATCC 25923 ?

Ketiga, berapakah Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari kombinasi minyak atsiri bangle dan lengkuas merah yang memiliki aktivitas antibakteri paling optimal terhadap *S. aureus* ATCC 25923 ?

### **C. Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian ini adalah untuk :

Pertama, mengetahui apakah kombinasi minyak atsiri bangle dan lengkuas merah memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* ATCC 25923.

Kedua, mengetahui perbandingan dari minyak atsiri bangle dan lengkuas merah yang memiliki aktivitas antibakteri paling besar terhadap *S. aureus* ATCC 25923.

Ketiga, mengetahui pada Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) berapa dari kombinasi minyak atsiri bangle dan lengkuas merah yang memiliki aktivitas antibakteri paling optimal terhadap *S. aureus* ATCC 25923.

### **D. Kegunaan Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan data ilmiah bagi ilmu pengetahuan dan memberikan informasi kepada masyarakat mengenai efek kombinasi dari tanaman bangle dan lengkuas merah dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus* ATCC 25923. Serta dapat memberikan informasi dan wawasan ilmiah untuk melakukan penelitian lebih lanjut.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Bangle**

##### **1. Sistematika bangle**

Klasifikasi tanaman bangle dalam taksonomi sebagai berikut : (USDA 2014)

Kingdom : Plantae  
Divisi : Magnoliophyta  
Kelas : Liliopsida  
Ordo : Zingiberales  
Famili : Zingiberaceae  
Genus : Zingiber  
Species : *Zingiber purpureum* Roxb.

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

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

##### **3. Morfologi bangle**

*Z. purpureum* merupakan tanaman herba semusim. Batangnya tegak, berwarna hijau, dengan rimpang kuat, menjalar berdaging, tangkai daun pendek, daun tunggal, persilangan menyirip, pangkal tumpul, ujung sangat lancip, kedua permukaan berbulu halus, panjang helai daun 23-25 cm, lebar 20-25 cm. Bagian yang mengandung bunga berbentuk tandan, bentuk bundar telur atau seperti gelendong, panjang 6-10 cm, lebar 4-5 cm. Daun kelopak tersusun seperti sisik tebal, kelopak seperti tabung, ujungnya bergerigi 3, panjang lebih kurang 1,5 cm, warna merah menyala. Akar serabut berwarna putih kotor (Syukur *et al.*, 2001).

#### 4. Kandungan kimia

Kandungan kimia dari rimpang bangle adalah damar, pati, tanin, saponin, flavonoid. Kandungan minyak atsiri rimpang bangle antara lain sabinen,  $\beta$ -pinen,  $\alpha$ -terpinen, osimen, terpinen-4-ol, karene,  $\alpha$ -zingiberen (Chowdury *et al* 2008).

#### 5. Kegunaan tanaman

Rimpang bangle digunakan secara tradisional untuk mengobati demam, sakit kepala, batuk berdahak, masuk angin, sembelit, sakit kuning, cacingan, reumatik, ramuan jamu pada wanita setelah melahirkan, mengecilkan perut setelah melahirkan dan kegemukan (Agoes, 2010).

### B. Lengkuas Merah

#### 1. Sistematika lengkuas merah

Sistematika tanaman lengkuas merah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Liliopsida
Ordo	: Zingiberales
Famili	: Zingiberaceae
Genus	: <i>Alpinia</i>
Spesies	: <i>Alpinia purpurata</i> K. Schum

#### 2. Nama daerah

Nama daerah dari lengkuas merah adalah Lakuwe (Nias), Lengkuas (Melayu), lengkueh (Minang), Laja (Sunda), Laos (Jawa, Madura), Galangal, Greater galangal, Java galangal, Siamese ginger (Inggeris), Grote galanga, Galanga de l'Inde (Belanda), Galanga (Perancis), Grosser galgant (Jerman) (Sinaga, 2009).

#### 3. Morfologi lengkuas merah

Lengkuas ditemukan menyebar di seluruh dunia. Penyebarannya termasuk di seluruh Indonesia, Asia tenggara, di bawah kaki pegunungan Himalaya sebelah timur hingga laut cina dan India barat daya di antara Chats dan Lautan Indonesia. Di Jawa tumbuh liar di hutan, semak belukar, umumnya ditanam di tempat yang

terbuka sampai di tempat yang kenaungan. Tumbuh pada ketinggian tempat hingga ketinggian 1.200 meter di atas permukaan laut (Depkes, 2001).

Lengkuas merah berbatang semu, tinggi sekitar 1 sampai 2 meter, dan tumbuh dalam rumpun yang rapat. Batangnya tegak, tersusun oleh pelepah-pelepah daun yang bersatu membentuk batang semu, berwarna hijau agak keputih-putihan. Batang muda keluar sebagai tunas dari pangkal batang tua. Daun tunggal, berwarna hijau, bertangkai pendek, tersusun berseling. Daun di sebelah atas dan bawah biasanya lebih kecil daripada yang di tengah. Bentuk daun lanset memanjang, ujung runcing, pangkal tumpul, dengan tepi daun rata. Pertulangan daun menyirip, panjang daun sekitar 20-60 cm, dan lebarnya 4-15 cm. Pelepah daun lebih kurang 15-30 cm, beralur, warnanya hijau. Pelepah daun ini saling menutup membentuk batang semu berwarna hijau. Bunga lengkuas merupakan bunga majemuk berbentuk lonceng, berbau harum, berwarna putih kehijauan atau putih kekuningan, terdapat dalam tandan bergagang panjang dan ramping, yang terletak tegak di ujung batang (Sinaga, 2009).

Buahnya berbentuk bulat dan keras. Sewaktu masih muda berwarna hijau-kekuningan, setelah tua berubah menjadi hitam kecoklatan, berdiameter lebih kurang 1 cm. Buahny ada juga yang berwarna merah. Bijinya kecil-kecil, berbentuk lonjong, berwarna hitam (Sinaga, 2009).

#### **4. Kandungan kimia**

Menurut (Darwis *et al*, 2013), kandungan kimia dari rimpang lengkuas merah mengandung minyak atsiri, saponin, tanin, eugenol, seskuiterpen, pinen, metal sinamat, kaemferida, galangan, galangol, dan kristal kuning. Rimpang lengkuas merah mengandung senyawa flavonoid kaempferol-3-rutinoside dan kaempferol-3-3 oliucronide. Darwis *et al* (2013) menjelaskan bahwa lengkuas mengandung golongan senyawa flavonoid, fenol dan terpenoid yang dapat digunakan sebagai bahan dasar obat-obatan moderen.

#### **5. Kegunaan tanaman**

Rimpang lengkuas sering digunakan untuk mengatasi gangguan lambung, misalnya kolik dan untuk mengeluarkan angin dari perut (stomachikum), menambah nafsu makan, menetralkan keracunan makanan, menghilangkan rasa

sakit (analgetikum), melancarkan buang air kecil (diuretikum), mengatasi gangguan ginjal, dan mengobati penyakit herpes. Rimpang lengkuas juga digunakan untuk mengobati diare, disentri, demam, kejang karena demam, sakit tenggorokan, sariawan, batuk berdahak, radang paru-paru, pembesaran limpa, dan untuk menghilangkan bau mulut. Rimpang lengkuas dianggap memiliki khasiat sebagai antitumor atau antikanker terutama di bagian mulut dan lambung (Sinaga, 2009).

Antioksidan pada lengkuas merah dapat menekan efek karsinogenik dari senyawa radikal bebas penyebab kanker. Minyak atsiri yang terkandung dalam lengkuas merah dapat digunakan sebagai obat luar, untuk mengobati pegal linu, mematangkan bisul, mengatasi rambut rontok, mengobati pilek/flu, mengusir nyamuk, bakterisida dan fungisida kulit (Kurniawati, 2010).

### **C. Simplisia**

#### **1. Pengertian simplisia**

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dikatakan lain, berupa bahan yang dikeringkan. Simplisia dibedakan simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia pelikan (mineral). Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan atau eksudat tumbuhan. Eksudat tumbuhan ialah isi sel yang secara spontan keluar dari tumbuhan atau isi sel yang dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya, atau senyawa nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tumbuhannya dan belum berupa senyawa kimia murni. Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia pelikan (mineral) adalah simplisia yang belum berupa zat kimia murni (Depkes, 2000).

#### **2. Pengeringan dan pencucian simplisia**

Pencucian dilakukan untuk memisahkan kotoran atau bahan asing lainnya dari bahan simplisia. Pencucian dilakukan dengan air bersih. Bahan simplisia

yang mengandung zat yang mudah larut dalam air, pencucian agar dilakukan dalam waktu yang sesingkat mungkin (Prastowo, 2013).

Tujuan pengeringan adalah untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Penurunan mutu atau kerusakan simplisia dapat dicegah dengan mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik. Reaksi enzimatik tidak akan berlangsung bila kadar air dalam simplisia kurang dari 10% (Prastowo, 2013).

Menurut Pramono (2005) jika kadar air dalam bahan masih tinggi dapat memicu enzim melakukan aktivitasnya mengubah kandungan kimia yang ada dalam bahan menjadi produk lain yang mungkin tidak lagi memiliki efek farmakologi seperti senyawa aslinya. Hal ini tidak akan terjadi jika bahan yang telah dipanen segera dikeringkan sehingga kadar airnya rendah. Beberapa enzim perusak kandungan kimia yang telah lama dikenal antara lain hidrolase, oksidase dan polimerase.

#### **D. Ekstraksi**

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes, 2000). Pemilihan pelarut sangat penting dalam proses ekstraksi sehingga bahan berkhasiat yang akan ditarik secara sempurna (Farouq, 2003).

Ekstrak tumbuhan obat yang dibuat dari simplisia nabati dapat dipandang sebagai bahan awal, bahan antara atau bahan produk jadi. Ekstrak sebagai bahan awal dianalogkan dengan komoditi bahan baku obat yang dengan teknologi fitofarmasi diproses menjadi produk jadi. Ekstrak sebagai bahan antara berarti masih menjadi bahan yang dapat diproses lagi menjadi fraksi-fraksi, isolat senyawa tunggal atau sebagai campuran dengan ekstrak lain. Ekstrak sebagai produk jadi berarti ekstrak yang berada dalam sediaan obat jadi siap digunakan oleh penderita (Depkes, 2000).

## **E. Minyak Atsiri**

### **1. Pengertian**

Minyak atsiri adalah zat berbau yang terkandung dalam tanaman. Minyak ini disebut juga minyak menguap, minyak eteris, minyak esensial karena pada suhu kamar mudah menguap. Istilah esensial dipakai karena minyak atsiri mewakili bau dari tanaman asalnya. Minyak atsiri dalam keadaan segar dan murni umumnya tidak berwarna, dan pada penyimpanan yang lama dapat teroksidasi. Minyak atsiri harus disimpan dalam bejana gelas yang berwarna gelap, diisi penuh, ditutup rapat, serta disimpan di tempat yang kering dan sejuk untuk mencegahnya teroksidasi (Gunawan & Mulyani, 2004).

### **2. Sifat minyak atsiri**

Sifat minyak atsiri tersusun oleh bermacam-macam komponen senyawa dengan bau yang khas, umumnya bau ini mewakili bau tanaman asalnya. Bau minyak atsiri satu dengan yang lain berbeda-beda, sangat tergantung dari macam dan intensitas bau dari masing-masing komponen penyusunnya. Minyak atsiri memiliki rasa getir, kadang-kadang berasa tajam, menggigit, memberi kesan hangat sampai panas, atau justru dingin ketika tersa dikulit, tergantung dari jenis komponen penyusunnya. Minyak atsiri dalam keadaan murni (belum tercemar oleh senyawa lain) mudah menguap pada suhu kamar sehingga bila ditetaskan pada selembar kertas maka ketika dibiarkan menguap, tidak meninggalkan bekas noda pada benda yang ditempel. Minyak atsiri bersifat tidak bisa disabunkan dengan alkali dan tidak bisa berubah menjadi tengik. Ini berbeda dengan minyak lemak yang tersusun oleh asam-asam lemak. Bersifat tidak stabil terhadap pengaruh lingkungan, baik pengaruh oksigen udara, sinar matahari (terutama gelombang ultra violet), dan panas karena terdiri dari berbagai macam komponen penyusun. Indeks bias umumnya tinggi, pada umumnya bersifat optis aktif dan memutar bidang polarisasi dengan rotasi yang spesifik karena banyak komponen penyusun yang memiliki atom C asimetrik. 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, 2010).



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

Isolasi minyak atsiri dapat dilakukan dengan menggunakan beberapa metode, yaitu: destilasi, ekstraksi dengan minyak dingin, ekstraksi dengan lemak panas (maserasi), dan ekstraksi dengan pelarut yang mudah menguap. Minyak atsiri dapat diperoleh dengan cara destilasi dari bahan tumbuhan. Destilasi adalah proses pemisahan komponen yang berupa cairan atau padatan dari dua macam campuran, berdasarkan titik uapnya dan proses ini dilakukan terhadap minyak atsiri yang tidak larut terhadap air (Guenther, 2006). Metode destilasi yang digunakan tergantung pada jenis bahan tanaman, ada tiga metode destilasi yang digunakan dalam industri minyak atsiri, yaitu:

**3.1. Destilasi air.** Metode destilasi dengan air, bahan yang akan didestilasi dikontak langsung dengan air mendidih. Bahan tersebut mengapung di atas air atau secara sempurna, tergantung dari berat jenis dan bahan yang didestilasi. Peristiwa pokok yang terjadi pada proses ini yaitu: difusi minyak atsiri dan air panas melalui membran tanaman, hidrolisa terhadap beberapa komponen minyak atsiri dan dekomposisi yang disebabkan oleh panas. Bahan tanaman yang digunakan pada cara ini adalah bunga dan daun yang mudah bergerak di dalam air dan tidak mudah rusak oleh panas uap air. Kelebihan destilasi dengan air adalah kemudahan prosesnya karena menggunakan metode yang sangat sederhana yaitu perebusan dan waktu yang dibutuhkan singkat, bahan yang akan disuling dimasukkan ke dalam ketel berisi air lalu dipanaskan. Kekurangannya adalah tidak baik digunakan untuk bahan-bahan yang fraksi sabun, bahan yang larut dalam air karena dapat membuat peluang terjadinya hidrolisa pada konstituen minyak sangat besar (Lansida, 2010). Resiko terjadinya hangus atau gosong sangat tinggi bila pemanasan tidak dilakukan secara merata, alat atau ketel yang digunakan lebih besar dan bahan bakarnya banyak.

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

panas. Kelebihan metode destilasi dengan air-uap adalah membutuhkan sedikit air sehingga bisa menyingkat waktu proses destilasi dan alatnya sederhana namun dapat menghasilkan minyak atsiri dalam jumlah yang cukup banyak sehingga efisien dalam penggunaan. Metode ini biasa dilengkapi sistem kohobasi yaitu air kondensat yang keluar dari separator masuk kembali secara otomatis ke dalam ketel agar meminimalkan kehilangan air dan mengurangi biaya produksi. Sistem kohobasi ini juga lebih menguntungkan karena terbebas dari proses hidrolisa terhadap komponen minyak atsiri dan proses difusi minyak dengan air panas karena bahan tidak berhubungan langsung dengan air yang mendidih. Dekomposisi minyak akibat panas akan lebih baik dibandingkan dengan metode uap langsung. Metode destilasi air-uap ini dapat menghasilkan uap dan panas yang stabil oleh karena tekanan uap yang konstan. Uap berpenetrasi secara merata kedalam jaringan bahan dan uap air yang dihasilkan dalam keadaan jenuh basah (tekanan rendah) dan akan naik melalui bahan sehingga dapat mempertahankan suhu sampai 100°C. Kekurangannya adalah metode ini tidak cocok untuk minyak atsiri yang rusak oleh panas uap air, serta membutuhkan waktu destilasi yang lebih panjang untuk hasil yang lebih banyak (Sumitra, 2010).

**3.3. Destilasi uap langsung.** Metode ini pada prinsipnya sama dengan air dan uap kecuali air tidak diisikan dalam labu. Uap yang digunakan uap jenuh pada tekanan lebih dari 1 atmosfer. Uap dipisahkan melalui pipa uap bertingkat yang berpori yang terletak di bawah bahan dan uap bergerak keatas melalui bahan terletak di atas saringan. Kelebihan destilasi dengan uap langsung adalah memiliki efisiensi destilasi yang lebih tinggi karena waktu destilasi relatif singkat dan rendemen yang dihasilkan tinggi. Kualitas dari rendemennya juga tinggi karena tidak bercampur dengan air. Kekurangannya adalah membutuhkan peralatan yang lebih kompleks dan mahal (Hersipa, 2011).

#### **4. Sisa penguapan**

Menurut Guenther (2006), sisa penguapan minyak atsiri merupakan banyaknya sisa dari minyak setelah mengalami penguapan yang dinyatakan dalam persen bobot/bobot (% b/b). Nilai sisa penguapan hasil rektifikasi terpentin

menunjukkan kurang sempurnanya proses rektifikasi, atau karena terjadinya proses polimerisasi selama penyimpanan minyak.

#### **5. Penetapan bobot jenis minyak atsiri**

Bobot jenis merupakan salah satu kriteria penting dalam menentukan mutu dan kemurnian minyak atsiri. Besarnya bobot jenis suatu minyak merupakan hasil perbandingan berat suatu volume minyak pada suhu 25°C dengan berat air pada volume dan suhu yang sama. Besarnya bobot jenis suatu minyak bisa dipengaruhi oleh jenis dan jumlah komponen kimia di dalam minyak.

Cara penentuan bobot jenis adalah contoh minyak atau lemak dimasukkan ke dalam piknometer kemudian ditutup dan direndam dalam air suhu  $25^{\circ}\pm 0,2^{\circ}\text{C}$  selama 30 menit. Piknometer bagian luar dikeringkan dan ditimbang, dengan jalan yang sama piknometer diisi dengan air dan ditimbang (Zulnely, 2012).

#### **6. Uji kelarutan dalam etanol**

Menurut Badan Standar Nasional Indonesia (2001), uji kelarutan minyak atsiri dalam etanol dilakukan dengan cara memipet minyak sebanyak 1 ml ke dalam gelas ukur 10 ml, ditambahkan etanol 5 ml dengan cara bertahap. Pada setiap penambahan alkohol dikocok dan diamati kejernihannya.

### **F. GC-MS**

Analisis dan karakterisasi 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 bahkan dihilangkan sama sekali.

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 gabungan antara kromatografi gas dan spektrometri massa (GC-

MS). 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).

Prinsip kerja dari GC-MS yaitu sampel yang berupa cairan diinjeksikan ke dalam injektor kemudian diuapkan. Sampel yang berbentuk uap akan dibawa oleh gas pembawa melalui kolom dan komponennya akan terpisah di dalam kolom. Setelah terpisah, masing-masing komponen akan keluar melalui kamar pengion dan dibombardir oleh elektron sehingga terjadi ionisasi. Fragment-fragment ion yang dihasilkan akan ditangkap oleh detektor dan dihasilkan spektrum massa (McNair, 2009).

### **G. *Staphylococcus aureus***

#### **1. Sistematika *Staphylococcus aureus***

Sistematika bakteri *Staphylococcus aureus* menurut G.M. Garrity, *et al*, (2007) sebagai berikut :

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Firmicutes
Class	: Bacili
Ordo	: Bacillales
Famili	: Staphylococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>

#### **2. Morfologi dan identifikasi bakteri**

*S. aureus* berbentuk bulat, bergaris tengah 0,5–1,5 mikrometer, satu-satu atau berpasangan, non-motil, Gram positif. Dinding sel mengandung dua komponen utama, peptidoglikan dan asam-asam teikoat. Metabolisme aerob dan anaerob, biasanya peka terhadap antibiotika beta-laktam dan makrolida, tetrasiklin, dan kloramfenikol, tetapi resisten terhadap polimiksin. Peka terhadap fenol dan

derivat-derivatnya, senyawa-senyawa yang mempunyai aktivitas permukaan, salsilanida, karbanilida dan halogen.

Cara untuk mengidentifikasi *S. aureus* adalah dengan mengisolasi sampel pada medium *Vogel Johnson Agar* (VJA). Koloni yang tumbuh pada medium diamati dan dilanjutkan dengan berbagai uji, yaitu pewarnaan Gram, uji katalase, dan uji koagulase. Uji tersebut dapat membedakan *S. aureus* dengan bakteri kokus lainnya (Iskamto, 2009).

### **3. Patologi**

Bakteri stafilokokus merupakan flora normal pada kulit, saluran pernafasan, dan saluran pencernaan makanan pada manusia. Bakteri ini juga ditemukan di udara dan lingkungan sekitar. *S. aureus* yang patogen bersifat invasif, menyebabkan hemolisis, membentuk koagulase, dan mampu meragikan manitol. Penyakit yang sering disebabkan oleh bakteri ini adalah bisul, jerawat, impetigo, dan infeksi luka pada infeksi yang lebih berat bakteri ini dapat menyebabkan pneumonia, mastitis, plebitis, meningitis, infeksi saluran kemih, osteomielitis, dan endokarditis. *S. aureus* juga merupakan penyebab utama infeksi nosokomial, keracunan makanan, dan sindroma syok toksik (Kusuma, 2009).

Bisul atau abses setempat seperti jerawat dan borok merupakan infeksi kulit di daerah folikel rambut, kelenjar sebacea, atau kelenjar keringat. Mula-mula terjadi nekrosis jaringan setempat, lalu terjadi koagulasi fibrin di sekitar lesi dan pembuluh getah bening, sehingga terbentuk dinding yang membatasi proses nekrosis. Infeksi dapat menyebar ke bagian tubuh lain melalui pembuluh getah bening dan pembuluh darah, sehingga terjadi peradangan pada vena, trombosis, bahkan bakterimia. Bakterimia dapat menyebabkan terjadinya endokarditis, osteomielitis akut hematogen, meningitis atau infeksi paru-paru. Kontaminasi langsung *S. aureus* pada luka terbuka (seperti luka pasca bedah) atau infeksi setelah trauma (seperti osteomielitis kronis setelah fraktur terbuka) dan meningitis setelah fraktur tengkorak, merupakan penyebab infeksi nosokomial. Keracunan makanan dapat disebabkan kontaminasi enterotoksin dari *S. aureus*. Waktu onset dari gejala keracunan biasanya cepat dan akut, tergantung pada daya tahan tubuh dan banyaknya toksin yang termakan. Jumlah toksin yang dapat menyebabkan

keracunan adalah 1,0 µg/g makanan. Gejala keracunan ditandai oleh mual, muntah-muntah dan diare yang hebat tanpa disertai demam (Jawetz *et al*, 2005).

Penggunaan antibiotik akan menyebabkan munculnya beberapa resistensi terhadap *S. aureus*. Antibiotik yang dikenal mampu membuat *S. aureus* menjadi resisten adalah eritromisin, ampisilin, tetrasiklin, penisillin seperti amoksisilin, metasilin, dan vankomisin (Kusuma 2009). Beberapa galur *S. aureus* resisten terhadap antibiotik, sehingga muncul golongan antibakteri baru yang terbukti lebih efektif untuk menanggulangi kejadian resisten tersebut. Antibiotik tersebut adalah streptogamin, oksazolidinon, daptomisin, glisilsiklin dan oritavansin (Yuwono *et al*, 2010).

## H. Antibakteri

### 1. Definisi antibakteri

Antibakteri adalah zat yang membunuh atau menekan pertumbuhan atau reproduksi bakteri (Dorland, 2002). Suatu obat antibakteri memperlihatkan toksisitas selektif jika obat ini lebih toksik terhadap organisme yang menyerang dari pada sel hospes. Toksisitas selektif mungkin merupakan fungsi reseptor spesifik yang dibutuhkan untuk melekatnya obat-obatan, atau bisa karena hambatan biokimia yang bisa terjadi bagi organisme namun tidak bagi inang. Mekanisme kerja anti mikroba dibagi menjadi lima cara, yaitu :

Pertama, menghambat metabolisme mikroba. Mikroba membutuhkan asam folat untuk kelangsungan hidupnya, bakteri patogen harus mensintesis sendiri asam folat dari Para Amino Benzoic Acid (PABA) untuk kebutuhan hidupnya. Antimikroba bila bersaing dengan PABA dalam pembentukan asam folat, maka terbentuk analog asam folat non fungsional sehingga kebutuhan akan asam folat tidak terpenuhi dan bisa menyebabkan bakteri mati. Contoh antibakteri yang bekerja menghambat metabolisme sel bakteri adalah sulfonamid dan trimetoprin (Bakung, 2014).

Kedua, menghambat sintesis dinding sel bakteri. Dinding sel bakteri terdiri atas polipeptidoglikan yaitu suatu kompleks polimer mukopeptida (glikopeptida). Struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukannya atau

mengubah setelah terbentuk. Kerusakan dinding sel bakteri akan menyebabkan terjadinya lisis sel. Contoh antibakteri yang menghambat dinding sel adalah penisilin sefalosporin, fosfomisin, vankomisin, dan basitrasin (Radji, 2002).

Ketiga, menghambat permeabilitas membran sel bakteri. Membran sel berguna sebagai penghalang yang selektif, meloloskan beberapa zat yang terlarut dan menahan zat-zat yang terlarut lainnya. Kerusakan membran sel menyebabkan keluarnya berbagai komponen dari dalam sel bakteri yaitu protein, asam nukleat, nukleotida dan lain-lain. Beberapa jenis antibakteri dapat mengganggu membran sel sehingga mempengaruhi kehidupan sel bakteri antara lain polimiksin, nistatin, golongan makrolida dan poliena (misal amfoterisin B) (Radji, 2002).

Keempat, menghambat sintesis protein sel bakteri. Bakteri perlu mensintesis berbagai protein untuk kelangsungan hidupnya. Sintesis protein berlangsung di ribosom dengan bantuan mRNA dan tRNA. Salah satu mekanisme kerja antibakteri adalah menyebabkan kode pada mRNA salah dibaca oleh tRNA pada waktu sintesis protein. Antibakteri yang termasuk dalam golongan ini antara lain aktinomisin, rifampisin, streptomisin, tetrasiklin, kloramfenikol, eritromisin, klindamisin dan gentamisin (Radji, 2002).

Kelima, menghambat sintesis atau merusak asam nukleat sel bakteri. Antibakteri yang memiliki mekanisme kerja ini pada umumnya bersifat toksik kurang selektif, karena antibakteri ini bersifat sitotoksik terhadap sel tubuh hospes, sehingga hanya bersifat sitotoksik yang masih dapat diterima sebagai antibakteri. Antibakteri yang termasuk dalam golongan ini antara lain asam nalidiksat dan kuinolon (Radji, 2002).

Daya antibakteri dapat ditentukan berdasarkan nilai KHM dan KBM-nya terhadap pertumbuhan suatu bakteri. Konsentrasi minimal yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan bakteri dikenal sebagai konsentrasi hambat minimum (KHM). Konsentrasi minimum yang diperlukan untuk membunuh 99,9% pertumbuhan bakteri dikenal sebagai konsentrasi bunuh minimum (KBM) (Forbes, 2007).

## 2. Uji aktivitas antibakteri

Penentuan kepekaan bakteri patogen terhadap antimikroba dapat dilakukan dengan salah satu dari dua metode pokok yaitu dilusi atau difusi. Penting sekali menggunakan metode standar untuk mengendalikan semua faktor yang mempengaruhi aktivitas antimikroba. Metode pengujian terhadap antibakteri diantaranya adalah :

**2.1 Metode Difusi.** Prinsip metode difusi adalah pengukuran potensi antibakteri berdasarkan pengamatan diameter daerah hambatan bakteri karena berdifusinya obat dari titik awal pemberian ke daerah difusi. Cakram kertas, lubang sumuran, atau silinder tak beralas yang mengandung senyawa antibakteri diletakkan di atas media lalu diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Setelah inkubasi, diameter daerah hambatan jernih yang mengelilingi senyawa antibakteri dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan senyawa tersebut terhadap bakteri uji (Jawetz *et al*, 2005).

**2.2 Metode Dilusi.** Metode ini menggunakan antimikroba dengan kadar yang menurun secara bertahap, baik dengan media cair atau padat. Kemudian media diinokulasi bakteri uji dan diinkubasi. Tahap akhir dilarutkan antimikroba dengan kadar yang menghambat atau mematikan. Tujuan dari metode ini adalah menentukan konsentrasi terkecil 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).

### I. Amoksisilin

Amoksisilin merupakan antibiotik yang termasuk dalam golongan penisilin yang berdasarkan strukturnya, termasuk dalam golongan antibiotik betalaktam. Amoksisilin berdasarkan spektrum kerjanya merupakan antibiotik berspektrum sempit (*narrow spectrum*). Antibiotik spektrum sempit merupakan



antibiotik yang mekanisme kerjanya hanya menghambat bakteri Gram negatif atau bakteri Gram positif tanpa memusnahkan kedua golongan bakteri tersebut (Sulistyaningsih, 2007).

Amoksisilin memiliki mekanisme kerja dengan menghambat sintesis dari dinding sel bakteri. Antibiotik dalam golongan ini bekerja dengan cara menghambat penggabungan N-asetilmuramat yang dibentuk di dalam sel menuju struktur dari mukopeptida yaitu pemberi bentuk kaku pada dinding sel bakteri. Amoksisilin berbentuk serbuk hablur dan sukar larut dalam air dan etanol, tidak larut dalam benzene, karbon tetraklorida dan kloroform, agar amoksisilin dapat larut dalam air maka dibuat garamnya (Sulistyaningsih, 2007).

## **J. Media**

Media adalah bahan untuk menumbuhkan mikroorganisme. Media yang digunakan harus steril dan pH harus sesuai dengan kebutuhan mikroba karena sangat mempengaruhi pertumbuhan mikroba. Keasaman sangat berpengaruh bagi pertumbuhan organisme, terutama pada kerja enzimnya. Sebagian besar bakteri tumbuh paling baik pada pH 7 (Suriawiria, 2005). Fungsi media antara lain adalah menumbuhkan mikroba, mengisolasi mikroba, memperbanyak mikroba, menguji sifat-sifat mikroba, menghitung jumlah mikroba, dan menyimpan mikroba (Pratiwi, 2008).

Bentuk media ada tiga macam yang dapat dibedakan dari ada atau tidaknya bahan tambahan berupa bahan pematat seperti agar-agar atau gelatin, bentuk media tersebut yaitu :

### **1. Media padat**

Dibuat dengan cara menambahkan agen pematat, misalnya agar, gelatin atau silica gel ke dalam media cair. Agen pematat yang baik adalah tidak diuraikan oleh mikroorganisme, tidak menghambat pertumbuhan mikroorganisme, tidak mencair pada suhu ruang. Agar dan silica gel tidak mencair pada suhu ruang dan tidak diuraikan oleh mikroorganisme, sebaliknya gelatin diuraikan oleh mikroorganisme dan mencair pada suhu ruang. Contoh : agar nutrien, agar darah.

## 2. Media semi padat dan semi cair

Media semi padat dan semi cair adalah media yang sedikit diberi agar sehingga tidak menjadi media padat ataupun media cair. Meliputi *nutrient broth* (kaldu nutrien), *citrate broth*, *glucose broth* dan *litmus milk* dsb.

## 3. Media cair

Media cair merupakan media yang tidak ditambahi bahan pematat umumnya digunakan untuk pertumbuhan mikro alga dan mikroba lain terutama bakteri, ragi.

## K. Landasan Teori

Salah satu alternatif penanganan resistensi obat adalah dengan penggunaan tanaman obat yang mengandung sifat antibakteri. Salah satu tanaman obat tradisional yang banyak tumbuh di Indonesia adalah lengkuas dan bangle. Lengkuas termasuk tumbuhan tegak yang tinggi batangnya mencapai 2-2,5 m. Lengkuas dapat hidup di daerah dataran rendah sampai dataran tinggi, lebih kurang 1200 m di atas permukaan laut. Rimpang lengkuas yang merupakan salah satu bahan obat alam yang telah banyak digunakan oleh masyarakat untuk pengobatan tradisional, terbagi menjadi dua jenis, yaitu lengkuas putih dan lengkuas merah. Kandungan kimia dari lengkuas merah yaitu 1% minyak atsiri berwarna kuning kehijauan yang terdiri dari metil-sinamat 48%, sineol 20-30%, eugenol, kamfer 1%, galangin, flavanoid, saponin, tanin dan lain-lain. Lengkuas merah adalah salah satu sumber alamiah terbaik dari kuersetin, suatu bioflavanoid yang secara khusus baik untuk melawan radikal bebas. Di samping kemampuan antioksidannya, kuersetin juga memiliki sifat mencegah kanker, antijamur, antibakteri, dan anti peradangan (Klohs, 2012). Pada penelitian sebelumnya (Lestari, 2015) penggunaan minyak atsiri lengkuas merah sebagai antibakteri memberikan zona hambat sebesar 6,67 mm.

Rimpang bangle adalah tanaman yang sudah lama digunakan di masyarakat sebagai obat tradisional. Tanaman ini diduga mengandung zat antibakteri sehingga dimungkinkan untuk digunakan sebagai pengganti antibiotika konvensional (Raharjojo dan Gunardi, 2009). Rimpang bangle mengandung

beberapa senyawa kimia antara lain alkaloid, flavonoid, minyak atsiri, saponin, pati, tanin, steroid atau triterpenoid, lemak dan gula. Flavonoid berfungsi sebagai antioksidan, sistem kekebalan tubuh, melancarkan peredaran darah ke seluruh tubuh dan mencegah terjadinya penyumbatan pada pembuluh darah. Saponin menjadi sumber antibakteri dan antivirus, meningkatkan sistem kekebalan tubuh dan mengurangi kadar gula dalam darah (Harmanto, 2004). Pada penelitian sebelumnya Sayuti *et al* (2014) penggunaan minyak atsiri bangle sebagai antibakteri memberikan zona hambat sebesar 10,11 mm.

Bakteri *S. aureus* adalah bakteri bersifat Gram positif, biasanya tersusun dalam rangkaian tidak beraturan seperti buah anggur. Beberapa diantaranya tergolong flora normal pada kulit dan selaput mukosa manusia, menyebabkan penanahan, abses, berbagai infeksi pirogen dan bahkan septikimia yang fatal. *S. aureus* mengandung polisakarida dan protein yang berfungsi sebagai antigen dan merupakan substansi penting didalam struktur dinding sel, tidak membentuk spora, dan tidak membentuk flagel (Jawetz *et al*, 2005).

Penelitian sebelumnya tentang uji daya hambat pertumbuhan *S. Aureus* dengan ekstrak metanol lengkuas konsentrasi 1% menunjukkan kemampuan daya hambat terhadap bakteri tersebut. Lengkuas mengandung minyak atsiri dan damar, digunakan untuk wangi-wangian dan penambah aroma makanan, juga digunakan untuk pengobatan yaitu sebagai antibakteri, antimikroba, antifungi, dan antiseptik. Minyak atsiri terdiri atas senyawa-senyawa eugenol, sineol, metil sinamat, kadinen, basorin, galangin, kaemferid, dan galangol (Depkes, 2001). Minyak atsiri pada umumnya terdiri atas campuran senyawa kompleks. Minyak atsiri dari simplisia biasanya tersusun dari alkohol, hidrokarbon, aldehid, fenol, keton, eter fenolik dan lain-lain.

Metode yang digunakan adalah metode difusi agar dengan cakram atau disk yang mengandung larutan antibakteri dan metode dilusi dengan berbagai konsentrasi. Kontrol positif yang digunakan adalah amoksilin dan kontrol negatif yang digunakan adalah N-heksan. Metode difusi digunakan untuk mengetahui adanya daya hambat terhadap bakteri uji dan untuk menentukan diameter zona hambat dari minyak atsiri bangle dan lengkuas merah dengan konsentrasi 100%.

Uji dilusi dilakukan untuk mengetahui konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) minyak atsiri terhadap bakteri dengan konsentrasi pengenceran 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,56%. Kontrol positif berisi suspensi bakteri dan kontrol negatif berisi larutan kombinasi minyak atsiri bangle dan lengkuas merah. Tabung diinkubasi pada suhu kamar selama 24 jam pada suhu 37<sup>0</sup>C, lalu diamati kekeruhannya. Daya antibakteri dapat ditentukan berdasarkan nilai KHM dan KBM-nya terhadap pertumbuhan suatu bakteri. Konsentrasi minimal yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan bakteri dikenal sebagai konsentrasi hambat minimum (KHM). Konsentrasi minimum yang diperlukan untuk membunuh 99,9% pertumbuhan bakteri dikenal sebagai konsentrasi bunuh minimum (KBM) (Forbes, 2007).

#### **L. Hipotesis**

Berdasarkan uraian diatas, maka dapat disusun suatu hipotesis yaitu :

Pertama, kombinasi minyak atsiri bangle (*Z. cassumunar*) dan lengkuas merah (*A. purpurata* K.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* ATCC 25923.

Kedua, pada perbandingan kombinasi minyak atsiri bangle (*Z. cassumunar*) dan lengkuas merah (*A. purpurata* K.) memiliki aktivitas antibakteri paling besar terhadap bakteri *S. aureus* ATCC 25923.

Ketiga, pada Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari kombinasi minyak bangle (*Z. cassumunar*) dan lengkuas merah (*A. purpurata* K.) memiliki aktivitas antibakteri paling optimal terhadap *S. aureus* ATCC 25923.

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

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

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah bangle dan lengkuas merah yang diambil di daerah Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah pada bulan Januari 2017. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah bangle dan lengkuas merah rimpang yang digunakan adalah rimpang yang bersih, segar, dan bebas dari penyakit.

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

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

Variabel utama pertama dalam penelitian ini adalah minyak atsiri bangle dan lengkuas merah beserta kombinasinya.

Variabel utama kedua adalah antibakteri kombinasi minyak atsiri bangle dan lengkuas merah terhadap bakteri *S. aureus*.

##### **2. Variabel penelitian dan definisi operasional**

Variabel utama dapat diklasifikasikan ke dalam berbagai variabel yaitu variabel bebas, variabel terikat dan variabel terkendali.

Variabel bebas yang dimaksud dalam penelitian ini adalah konsentrasi minyak atsiri dari bangle dan minyak atsiri lengkuas merah dengan perbandingan (1:1);(1:3);(3:1).

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah daya hambat antibakteri kombinasi minyak atsiri bangle dan lengkuas merah terhadap bakteri *S. aureus* yang tumbuh pada media setelah kontak selama 24 jam (selama inkubasi 37°C) berupa diameter zona hambat dan hambatan minimum bakteri *S. aureus*.

Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah simplisia bangle dan lengkuas merah, pengambilan minyak atsiri bangle dan lengkuas merah, media *Mueller Hinton Agar* (MHA), *Vogel Johnson Agar* (VJA), dan *Brain Heart Infusion* (BHI), suhu dan waktu inkubator, sterilisasi alat dengan menggunakan autoklaf, cara pengukuran daya hambat *S. aureus*, serta prosedur penelitian.

### 3. Definisi operasional

Pertama, minyak atsiri bangle dan lengkuas merah adalah minyak atsiri yang dihasilkan dari proses destilasi uap dan air bagian simplisia bangle dan lengkuas merah yang diambil secara acak di daerah Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah.

Kedua, bakteri *S. aureus* yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri yang masih sensitif terhadap berbagai antibiotik.

Ketiga, uji aktivitas antibakteri kombinasi minyak atsiri bangle dan lengkuas merah menggunakan metode difusi dengan cakram atau disk. Aktivitas antibakteri dengan melihat diameter zona hambat pertumbuhan bakteri dalam media uji, diameter daerah hambatan jernih yang mengelilingi senyawa antibakteri dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan senyawa tersebut terhadap bakteri uji. Kontrol positif dalam penelitian ini adalah antibiotik amoksisilin dan kontrol negatif adalah N-heksan.

Keempat, uji aktivitas antibakteri kombinasi minyak atsiri bangle dan lengkuas merah dengan metode dilusi yaitu berupa seri pengenceran dalam berbagai konsentrasi berikut : 50% ; 25% ; 12,5% ; 6,25% ; 3,125% ; 1,56% ; 0,78% kontrol negatif adalah kombinasi minyak atsiri bangle dan lengkuas merah dan kontrol positif adalah biakan murni bakteri.

## C. Alat dan Bahan

### 1. Alat dan bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi lampu spiritus, jarum ose tangkai panjang, tabung reaksi, rak tabung reaksi, cawan petri steril, kapas lidi steril, inkubator, cakram ukuran 6 mm, mikropipet, autovortex mixer, gelas ukur, pipet volume steril, botol vial steril, inkas, autoklaf, oven, pinset, neraca analitik dan penggaris.

Bahan sampel yang digunakan adalah minyak atsiri rimpang bangle, minyak atsiri lengkuas merah, *S. aureus*, *Mueler Hinton Agar* (MHA), *Vogel Johnson Agar* (VJA), dan *Brain Heart Infusion* (BHI), Na sulfat eksikatus, tween 80, dan antibiotik amoksisilin.

## **D. Jalannya Penelitian**

### **1. Identifikasi tanaman**

Kebenaran simplisia dipastikan dengan melakukan identifikasi tanaman yang digunakan dalam penelitian ini, identifikasi dilakukan di bagian Laboratorium Biologi, Fakultas Farmasi, Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

### **2. Pengumpulan bahan**

Dilakukan sortasi basah yang bertujuan untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing lainnya dari rimpang tanaman. Bahan-bahan asing seperti tanah, kerikil, rumput, batang, daun, akar yang telah rusak. Pada proses ini akan diperoleh rimpang yang sudah bersih dari akar dan tanah yang melekat. Rimpang kemudian dicuci untuk menghilangkan kotoran yang melekat pada sela-sela rimpang dengan menggunakan air mengalir, rimpang ditiriskan dari air pencucinya. Selanjutnya dilakukan pengupasan kulit dan dirajang secara melintang dengan ketebalan kurang lebih 3-6 mm. Setelah diiris dikering anginkan selama 5 hari dan tidak terkena sinar matahari langsung (Depkes, 2001).

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

Rimpang bangle dan lengkuas merah masing-masing yang telah dipotong kecil-kecil dimasukkan ke dalam alat penyulingan minyak dan air dan didestilasi selama kurang lebih 4 jam sampai volume minyak atsiri tidak bertambah lagi. Selanjutnya minyak atsiri dipisahkan. Minyak atsiri yang masih bercampur dengan sedikit air dihilangkan dengan menambahkan natrium sulfat anhidrat sampai jenuh kemudian dipisahkan dan dihitung kadarnya. Minyak diperoleh kemudian disimpan dalam botol coklat dan di tempat yang sejuk, hal ini dilakukan untuk menghindari minyak atsiri yang didapat tidak rusak atau teroksidasi.

### **4. Penetapan sifat fisika**

**4.1. Penetapan bobot jenis.** Menimbang botol timbang kosong, memasukkan 1 ml minyak atsiri kedalam botol timbang tersebut, kemudian minyak atsiri dan botol timbang ditimbang dengan teliti dan akurat selanjutnya dibaca bobot jenis minyak atsiri tersebut. Bobot jenis minyak atsiri adalah perbandingan bobot minyak atsiri dengan bobot air pada suhu dan volume yang sama. Penetapan bobot jenis dilakukan 3 kali pengulangan (Ansel 2006).

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

**4.1 Pengamatan organoleptik.** Pengamatan organoleptik terhadap minyak atsiri meliputi warna, aroma, bentuk, dan rasa dari minyak. Warna minyak atsiri hasil destilasi masing-masing sampel diambil volume sama dan ditempatkan dalam sebuah tempat kaca yang 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).

**4.2 Identifikasi minyak atsiri.** Identifikasi minyak atsiri dengan cara diteteskan pada permukaan air, minyak atsiri akan menyebar dan permukaan air tidak akan keruh. Minyak atsiri diteteskan pada kertas saring, jika dibiarkan minyak akan menguap sempurna tanpa meninggalkan noda lemak (Gunawan dan Mulyani, 2004).

**4.3 Penetapan indeks bias minyak atsiri.** Indeks bias sampel minyak ditentukan dengan bantuan Abbe Model refractometer A 80251 (BS). Dua tetes minyak masing ditempatkan pada prisma dengan bantuan jarum suntik dan prisma tegas ditutup dengan mengencangkan kepala sekrup. Alat itu didiamkan selama 5 menit, kemudian dapat dibaca nilai indeks bias (Juliani *et al*, 2004).

**4.4 Analisis komponen senyawa penyusun minyak atsiri dengan Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS).** Pengujian komponen senyawa penyusun minyak atsiri bangle dan lengkuas merah menggunakan GC-MS Shimadzu GCMS-QP2010S (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan) Shimadzu GCMS-QP2010S (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan) dilengkapi dengan Capillary Column Model Number: Agilent 19091S-433 HP-5MS 5 % Phenyl Methyl Siloxane (diameter dalam 250 µm, panjang 30 m, dan ketebalan film 0,25 µm) dan detektor yang digunakan FID. Kondisi GC: suhu awal 60°C dinaikkan sampai 300°C. Senyawa diidentifikasi dengan membandingkan retention index dan membandingkan mass spektra dengan yang ada di database *wiley library* (Adams 2004).



**4.5 Penetapan kelarutan dalam etanol.** Sebanyak 1 mL contoh uji dipipet ke dalam gelas ukur 10 mL, ditambahkan etanol dengan cara bertahap. Pada setiap penambahan alkohol kocok dan diamati kejernihannya (SNI, 2001).

## **5. Sterilisasi**

Seluruh alat yang akan digunakan dicuci bersih, dikeringkan dan disterilkan terlebih dahulu. Alat seperti tabung reaksi, gelas ukur, erlenmeyer ditutup dengan kapas lemak dan dibungkus dengan kertas perkamen. Cawan petri dibungkus dengan kertas perkamen dan semua alat gelas dimasukkan dalam plastik tahan panas, disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Jarum ose disterilkan dengan nyala api Bunsen. Seluruh media disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

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

**6.1 Identifikasi bakteri *S. aureus* dengan medium VJA.** Tujuan utama dari penggoresan ini adalah untuk menghasilkan koloni-koloni bakteri yang terpisah dengan baik dari suspensi sel yang pekat. Suspensi bakteri *S. aureus* diinokulasi pada media VJA yang sebelumnya telah ditambahkan kalium tellurit 1% yang bertujuan untuk menghambat pertumbuhan mikroba selain *S. aureus*, kemudian diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Hasil positif bila penampakan koloni berwarna hitam sebagai akibat pengendapan hasil reduksi tellurite dan warna medium disekitar koloni kuning karena fermentasi mannitol yang terkandung dalam VJA (Jawetz *et al* 2007).

**6.2 Identifikasi dengan pewarnaan Gram.** Tujuan dari pewarnaan Gram adalah untuk memudahkan melihat bakteri dengan mikroskop, memperjelas ukuran dan bentuk bakteri, untuk melihat struktur luar dan struktur dalam bakteri seperti dinding sel dan vakuola, menghasilkan sifat-sifat fisik dan kimia yang khas daripada bakteri dengan zat warna, serta meningkatkan kontras mikroorganisme dengan sekitarnya. Pewarnaan Gram dilakukan dengan menggunakan Kristal Violet (Gram A) sebagai pewarna utama, didiamkan kurang lebih 1 menit, dicuci aquadest mengalir dan ditetesi Lugols iodine (Gram B sebagai mordant) diamkan kurang lebih 1 menit, dicuci aquadest mengalir dan dikeringkan, kemudian ditetesi Gram C dan didiamkan kurang lebih 45 detik, dicuci aquadest mengalir kemudian

ditetesi Gram D (cat safranin sebagai cat lawan atau penutup) dan didiamkan selama kurang lebih 1 menit, lalu dicuci aquadest mengalir, kemudian preparat dikering anginkan di udara. *S. aureus* positif bila berwarna ungu karena bakteri gram (+) akan mengikat warna ungu dari carbol gentian violet dan akan diperkuat oleh lugol sehingga pada saat pelunturan dengan alkohol 96% warna ungu tidak akan luntur, bentuk bulat, dan bergerombol seperti anggur waktu diamati di bawah mikroskop (Jawetz *et al*, 2007).

**6.3 Identifikasi biokimia.** Identifikasi dengan uji biokimia ada dua cara yaitu dengan uji koagulase dan uji katalase. Uji koagulase dilakukan dengan cara plasma darah kelinci yang diberi sitrat, diencerkan kemudian dicampur dengan biakan kaldu yang sama banyaknya dan dieramkan pada suhu 37°C. Tabung plasma dicampur dengan kaldu steril dieramkan sebagai kontrol. Tabung-tabung sering diperiksa dengan melihat pembentukan setiap masa 1-4 jam. Hasilnya positif kuat jika tabung tes dibalik, gumpalan plasma tidak terlepas dan tetap melekat pada dinding tabung. Uji katalase *S. aureus*, koloni bakteri pada kaca objek ditambah 2 tetes hidrogen peroksida 3% hasil dinyatakan positif bila terlihat pembentukan gelembung udara disekitar koloni (Radji, 2011).

## **7. Pembuatan suspensi bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

Pembuatan suspensi bakteri untuk difusi dibuat dengan mengambil bakteri *S. aureus* dari biakan menggunakan jarum ose yang steril lalu ditanam ke dalam tabung yang berisi 5 ml medium BHI lalu diinkubasi selama 5-8 jam pada suhu 37°C. Suspensi disamakan tingkat kekeruhannya dengan standar Mc Farland 0,5 yaitu  $1,5 \times 10^8$  CFU/ml. Tujuan disesuaikannya suspensi bakteri *S. aureus* dengan standar Mc Farland 0,5 yaitu agar jumlah bakteri yang digunakan sama selama penelitian dan mengurangi kepadatan bakteri saat pengujian dilakukan.

## **8. Pengujian aktivitas antibakteri**

Metode yang digunakan untuk uji daya antibakteri adalah metode difusi dan dilusi. Metode difusi digunakan untuk mengetahui adanya daya hambat minyak atsiri bangle dan lengkuas merah terhadap bakteri uji dan untuk menentukan diameter daerah hambat dari minyak atsiri bangle dan lengkuas merah. Penelitian ini menggunakan cawan petri yang berisi MHA. Pertama

bakteri diambil dari media BHI yang berisi suspensi bakteri yang setara dengan standar Mc Farland 0,5 dengan menggunakan kapas lidi steril sebanyak satu kali kemudian dioleskan pada cawan petri yang berisi MHA dan tunggu sampai bakteri tumbuh pada media. Cakram disk kosong berukuran 6 mm ditetesi menggunakan mikropipet sebanyak 10 uL dengan larutan kombinasi minyak atsiri bangle dan lengkuas merah. Kombinasi yang pertama berisi kombinasi 1:1 yaitu minyak atsiri lengkuas merah 1 bagian sebanyak 0,5 ml dan minyak atsiri bangle 1 bagian 0,5 ml, yang kedua berisi kombinasi 1:3 yaitu minyak atsiri lengkuas merah 1 bagian sebanyak 0,25 ml dan minyak atsiri bangle 3 bagian 0,75 ml, yang ketiga berisi kombinasi 3:1 yaitu minyak atsiri lengkuas merah 3 bagian sebanyak 0,75 ml dan minyak atsiri bangle 1 bagian 0,25 ml. Kontrol positif menggunakan amoksisilin. Setelah itu cakram diletakkan atau ditempelkan pada media MHA dengan menggunakan pinset, cawan petri diinkubasi di dalam inkubator selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Kemudian zona hambat yang terbentuk dapat diukur. Pengukuran zona hambat di sekitar cakram dilakukan menggunakan penggaris dengan ketelitian 1 mm. Hasil dari pengukuran tersebut dijumlahkan dan dibagi dengan banyaknya pengukuran untuk mendapatkan besarnya zona hambat yang terbentuk.

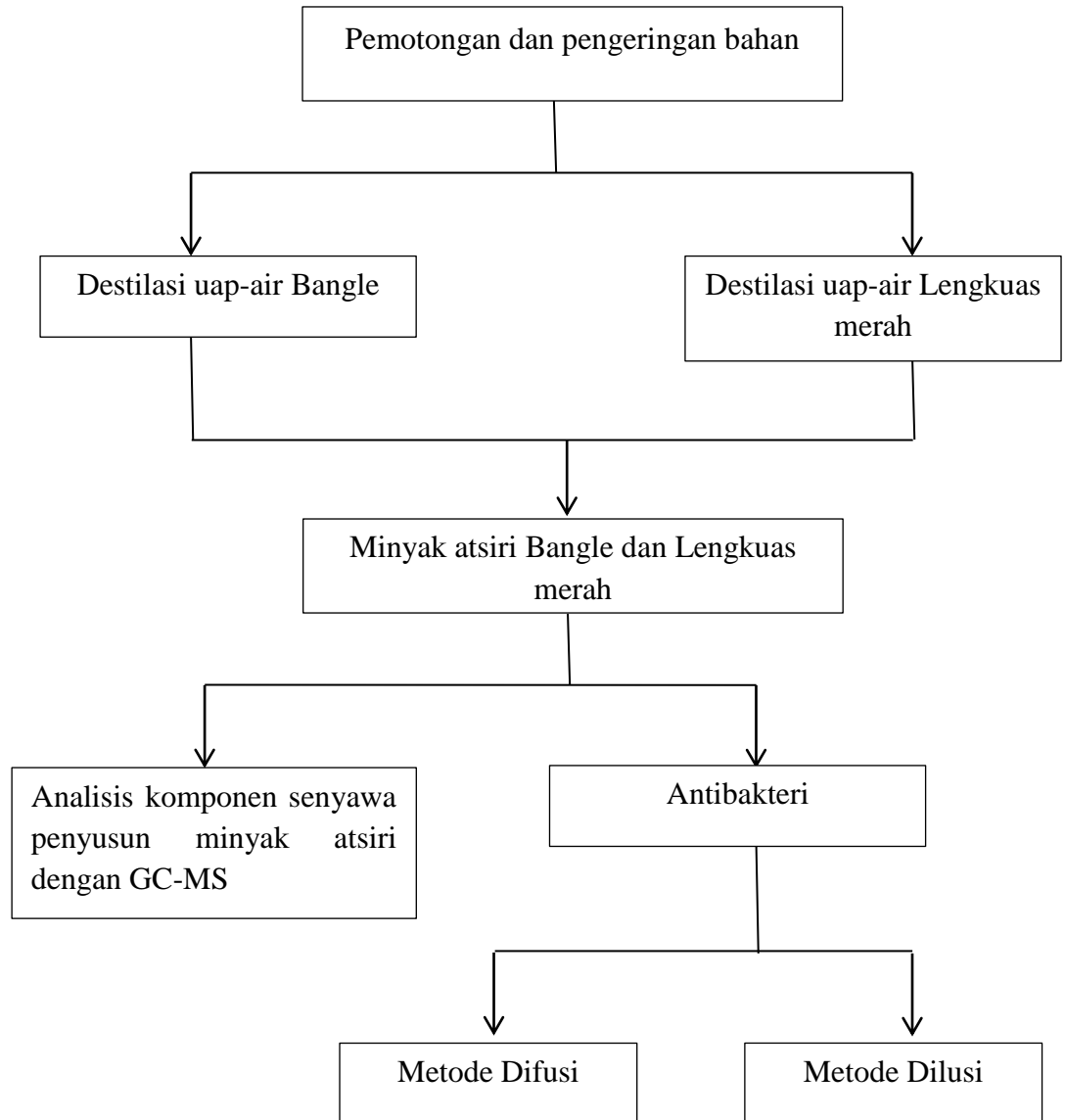
Uji dilusi dilakukan untuk mengetahui konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) minyak atsiri terhadap bakteri dengan konsentrasi pengenceran 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,56%, 0,78%. Metode dilusi dilakukan dengan cara pengenceran 9 tabung reaksi yang steril dan dibuat secara aseptis. Metode ini dilakukan dengan cara memasukkan bahan uji ke dalam masing-masing tabung reaksi kecuali tabung nomor 9 sebagai kontrol positif yang berisi suspensi bakteri dan kontrol negatif yang berisi larutan kombinasi minyak atsiri bangle dan lengkuas merah, masing-masing tabung tersebut mempunyai beberapa konsentrasi bahan uji yang berbeda dengan menambahkan bahan pengencer atau media BHI, untuk dapat mencampurkan sampel uji minyak dan media cair BHI digunakan tween 80 1-2 tetes. Suspensi bakteri yang setara dengan standard Mc Farland 0,5 dimasukkan kedalam masing-masing tabung uji kecuali tabung nomor 1 sebagai kontrol negatif. Seluruh tabung

diinkubasi pada suhu kamar selama 24 jam pada suhu 37<sup>0</sup>C, lalu diamati kekeruhannya. Semua tabung uji dilakukan pengujian kembali untuk membuktikan apakah bakteri tersebut memang tidak dapat tumbuh dalam konsentrasi tersebut dengan menggunakan media VJA untuk melihat pertumbuhan bakterinya dan untuk menentukan KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum) dari minyak atsiri tersebut.

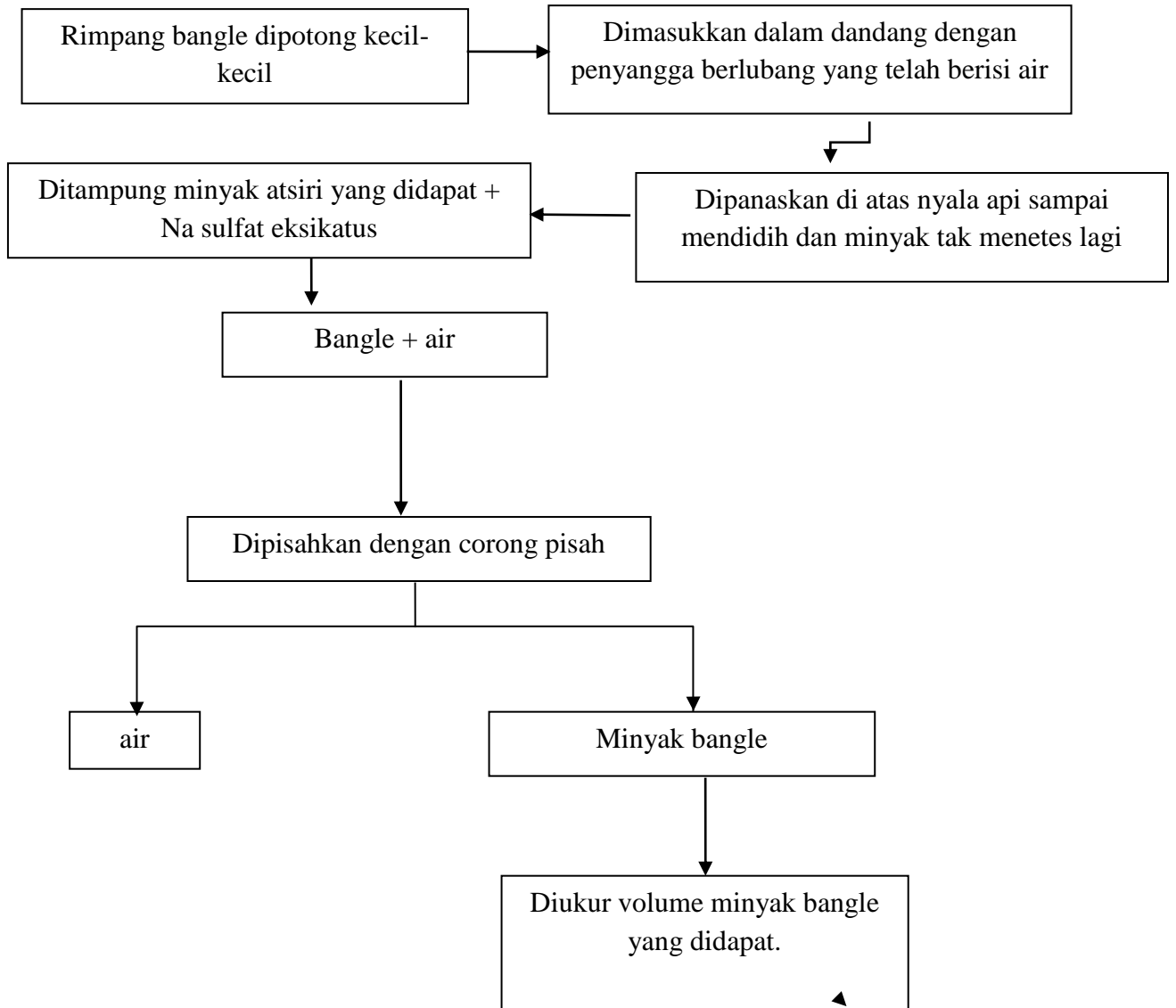
### **E. Analisis Hasil**

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

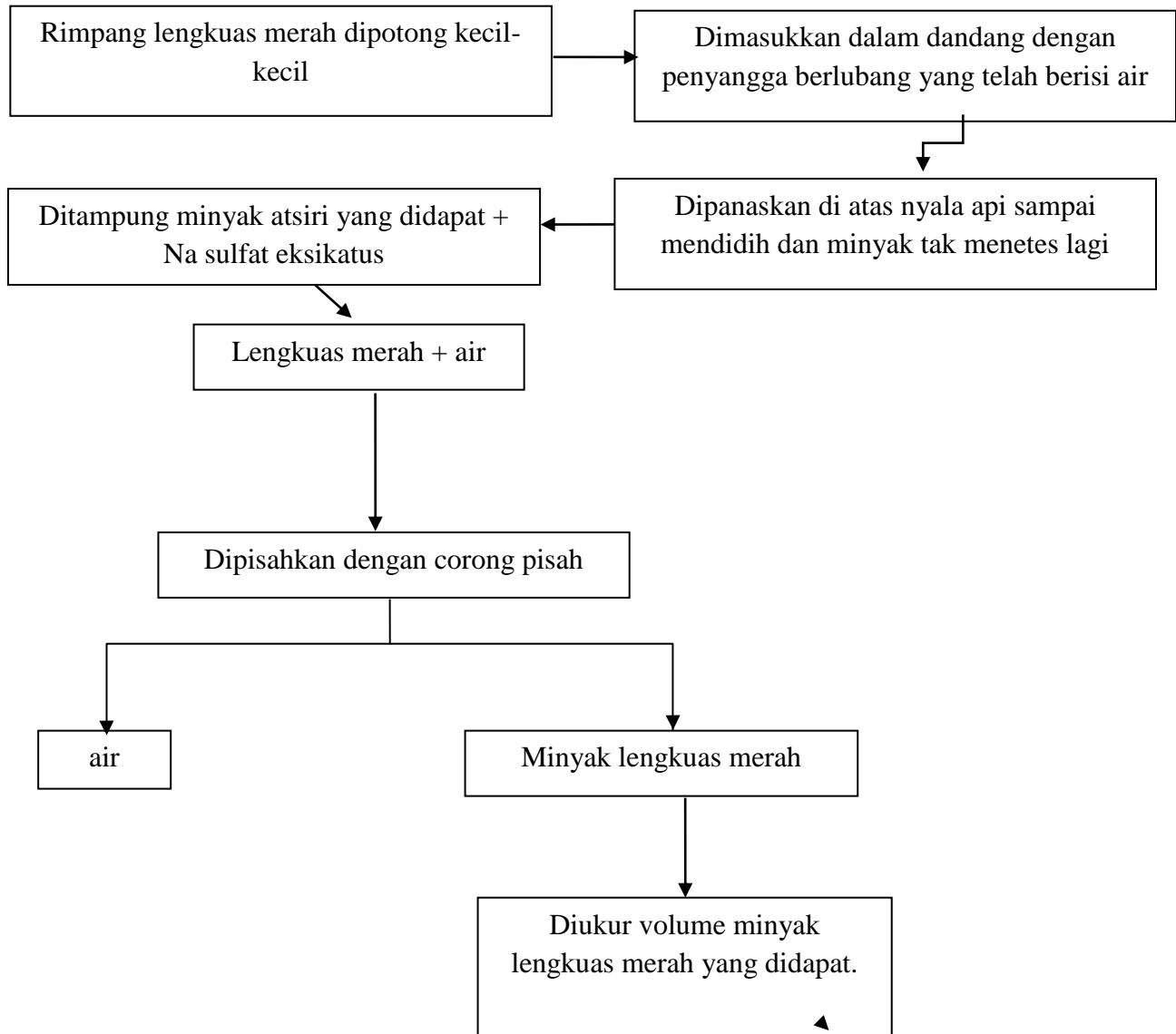
Analisis hasil yang digunakan pada metode dilusi adalah dengan melihat pertumbuhan bakteri *S. aureus* ATCC 25923 pada tabung reaksi. Konsentrasi bunuh minimum (KBM) ditentukan berdasarkan hasil pengamatan, dimana konsentrasi terkecil yang tidak ada pertumbuhan ditentukan sebagai KBM.



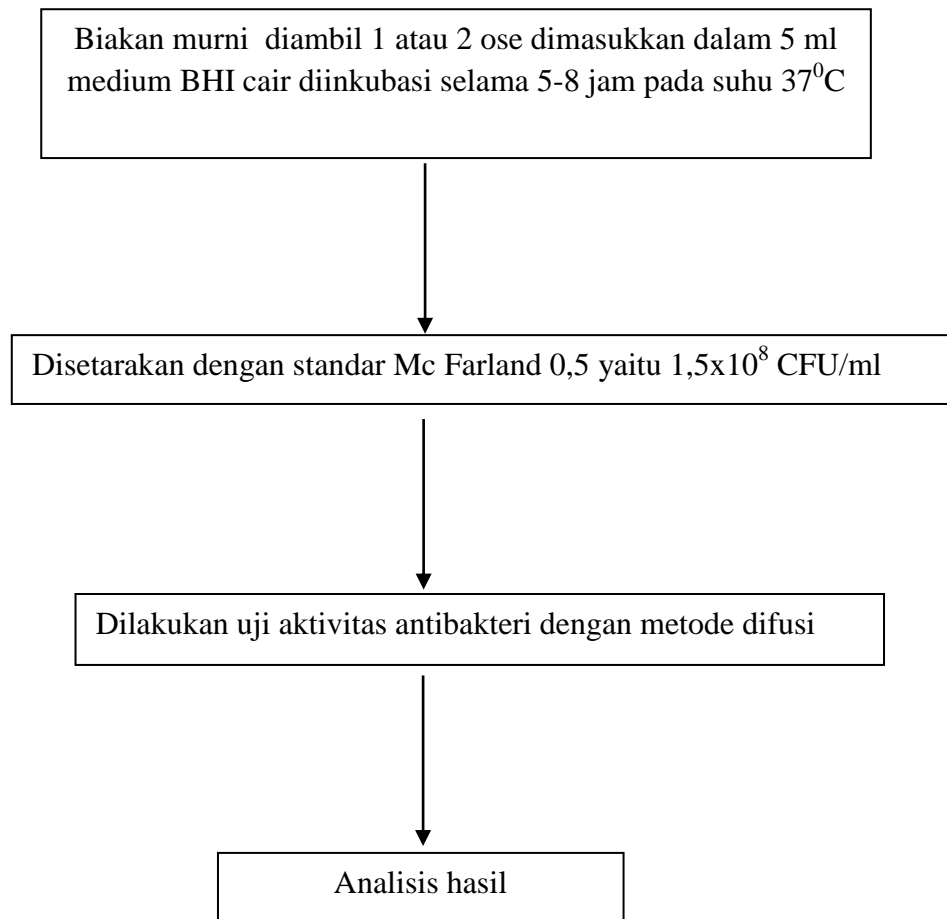
**Gambar 1. Alur penelitian**



Gambar 2. Skema isolasi minyak atsiri bangle

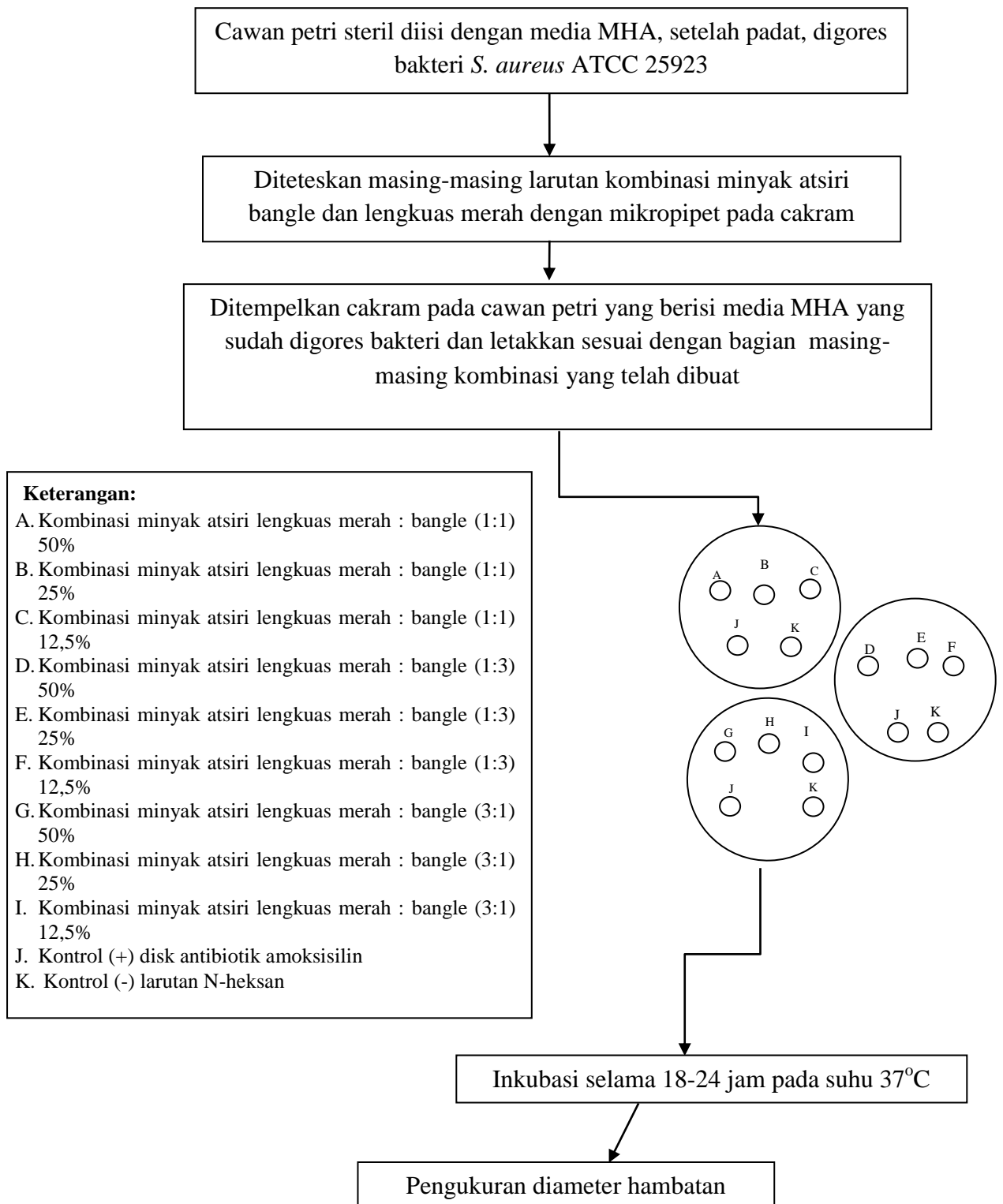


Gambar 3. Skema isolasi minyak atsiri lengkuas merah

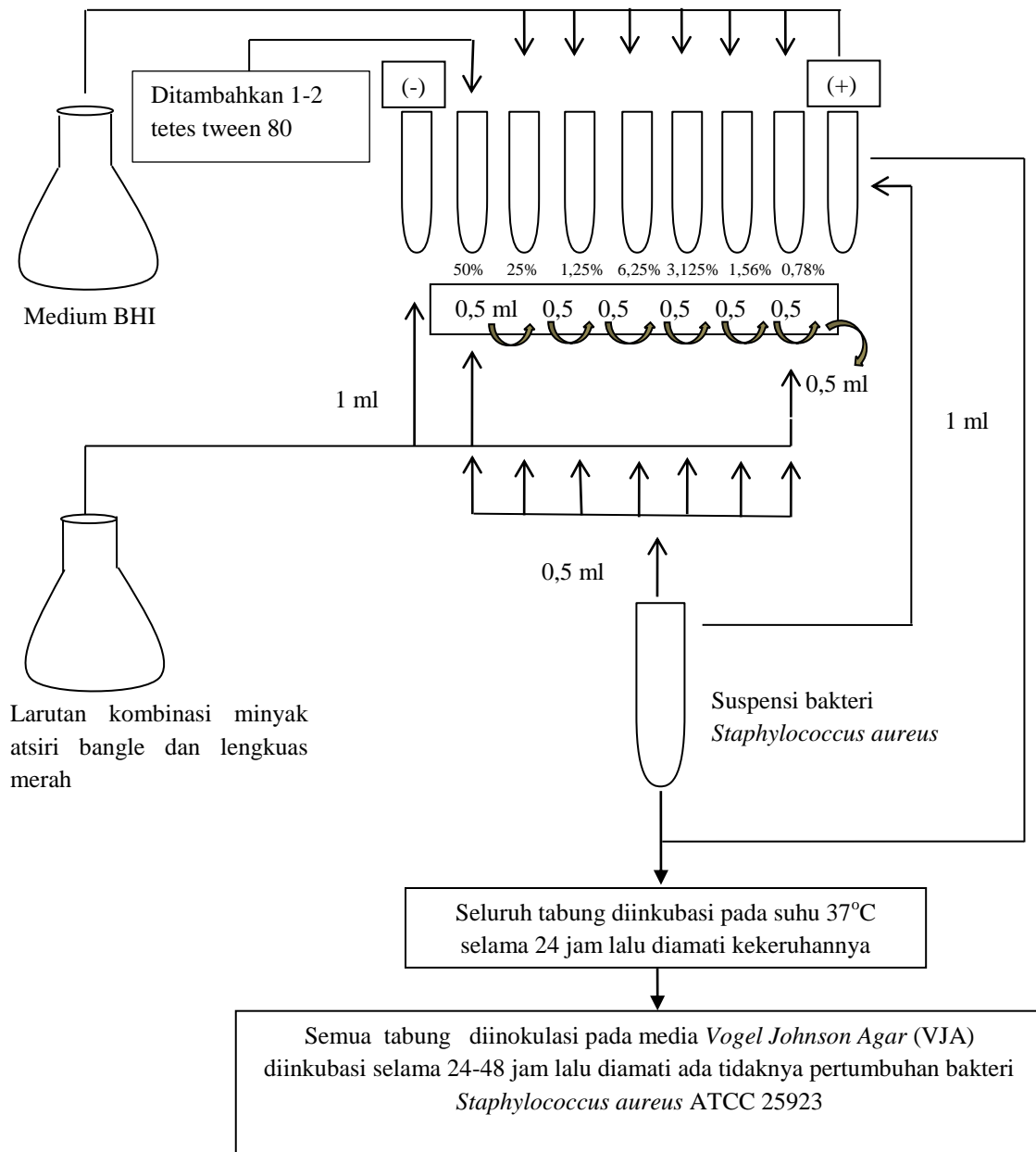


**Gambar 4.** Skema pembuatan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923





Gambar 5. Skema pengujian aktivitas antibakteri secara difusi



**Gambar 6.** Skema pengujian aktivitas antibakteri kombinasi minyak atsiri bangle dan lengkuas merah terhadap bakteri *S. aureus* ATCC 25923 secara dilusi

## **BAB IV**

### **HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN**

#### **A. Hasil Penelitian dan Pembahasan**

##### **1. Identifikasi tanaman bangle (*Z. cassumunar*) dan lengkuas merah (*A. purpurata* K.)**

Identifikasi tanaman bangle dan lengkuas merah dilakukan bertujuan untuk mengetahui tanaman yang akan digunakan tidak mengalami kesalahan dalam pengumpulan bahan serta terhindar dari tercampurnya bahan dengan tanaman lain. Tanaman bangle (*Z. cassumunar*) dan lengkuas merah (*A. purpurata* K.) yang digunakan untuk penelitian ini diidentifikasi di bagian Laboratorium Biologi, Fakultas Farmasi, Universitas Sebelas Maret, Surakarta, berdasarkan hasil identifikasi di atas dapat dipastikan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah bangle dan lengkuas merah. Hasil identifikasi dapat dilihat pada Lampiran 1 dan 2.

##### **2. Pengambilan bahan**

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah bangle dan lengkuas merah yang di ambil di daerah Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah pada bulan Januari 2017, pengambilan sampel dilakukan pada siang hari.

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

Isolasi minyak atsiri pada tanaman bangle dan lengkuas merah menggunakan metode destilasi uap dan air selama 1 minggu dengan jumlah tanaman bangle yang digunakan sebanyak 5 kg dengan hasil minyak atsiri yang diperoleh sebanyak 10 mL atau 0,2%, dan lengkuas merah sebanyak 12 kg memperoleh minyak atsiri sebanyak 7 mL atau 0,057%. Data perhitungan lengkap dapat dilihat pada Lampiran 9.

##### **4. Penetapan sifat fisika**

Hasil uji organoleptik minyak atsiri bangle dan lengkuas merah dapat dilihat pada Tabel 1 dan 2.

**Tabel 1. Data hasil uji organoleptik minyak atsiri bangle**

No	Uji organoleptik	Hasil
1.	Bentuk	Cairan jernih
2.	Warna	Kuning muda
3.	Bau	Khas tanaman

**Tabel 2. Data hasil uji organoleptik minyak atsiri lengkuas merah**

No	Uji organoleptik	Hasil
1.	Bentuk	Cairan jernih
2.	Warna	Kuning kehijauan
3.	Bau	Khas tanaman

Hasil identifikasi sifat fisika minyak atsiri meliputi bobot jenis, indeks bias, dan kelarutan minyak atsiri dalam etanol dapat dilihat pada Tabel 3 dan 4.

**Tabel 3. Data hasil identifikasi minyak atsiri bangle**

No.	Identifikasi	Hasil identifikasi
1.	Bobot jenis	0,8021
2.	Indeks bias	1,495
3.	Kelarutan dalam etanol	1:1 mL

**Tabel 4. Data hasil identifikasi minyak atsiri lengkuas merah**

No.	Identifikasi	Hasil identifikasi
1.	Bobot jenis	0,7721
2.	Indeks bias	1,487
3.	Kelarutan dalam etanol	1:1 mL

Berdasarkan hasil uji organoleptik, minyak atsiri bangle merupakan cairan jernih berwarna kuning muda serta memiliki bau khas tanaman asalnya dan berdasarkan hasil identifikasi sifat fisika yang diperoleh, terdapat sedikit perbedaan antara data hasil penelitian di laboratorium dengan data pada literatur. Bobot jenis minyak atsiri bangle secara teoritis adalah 0,88 dan lengkuas merah 0,89 pada suhu 31°C. Perbedaan nilai bobot jenis yang didapatkan dapat dipengaruhi oleh usia tanaman, waktu panen tanaman, dan saat destilasi tanaman.

Indeks bias minyak atsiri bangle secara teoritis pada suhu 31°C adalah 1,47 dan lengkuas merah adalah 1,3-1,7, perbedaan indeks bias yang didapatkan dapat dipengaruhi oleh faktor kerapatan minyak yang disebabkan oleh panjang rantai karbon sehingga indeks bias semakin tinggi. Kelarutan minyak atsiri bangle

dan lengkuas merah dalam etanol adalah minyak atsiri larut dengan perbandingan 1:1 yang artinya minyak atsiri sebanyak 1 mL ditambahkan sedikit demi sedikit etanol hingga 1 mL terlarut sempurna setelah dikocok.

### 5. Analisis komponen senyawa penyusun minyak atsiri dengan *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS).

Hasil analisis senyawa penyusun komponen utama minyak atsiri menggunakan GCMS didapatkan hasil seperti pada tabel 5 dan 6.

**Tabel 5. Hasil analisis komponen minyak atsiri bangle dengan GC-MS**

Peak	Senyawa	RT (min)	BM	Kadar (%)
4	Sabinen	4,982	136	17,36
5	$\beta$ -pinene	5,059	136	1,59
17	Terpinene-4-ol	8,088	154	48,65
23	$\beta$ -sesquiphellandrene	12,894	204	0,43

Rimpang bangle mengandung beberapa senyawa kimia antara lain alkaloid, flavonoid, minyak atsiri, saponin, pati, tanin, steroid atau triterpenoid, lemak dan gula. Flavonoid berfungsi sebagai antioksidan, sistem kekebalan tubuh, melancarkan peredaran darah ke seluruh tubuh dan mencegah terjadinya penyumbatan pada pembuluh darah. Saponin menjadi sumber antibakteri dan antivirus, meningkatkan sistem kekebalan tubuh dan mengurangi kadar gula dalam darah (Harmanto, 2004).

**Tabel 6. Hasil analisis komponen minyak atsiri lengkuas merah dengan GC-MS**

Peak	Senyawa	RT (min)	BM	Kadar (%)
3	$\beta$ -pinene	5,053	136	1,61
6	eucalyptol (1,8-cineole)	5,824	154	35,65
8	Citronella	7,524	154	2,36
9	Terpinen-4-ol	8,029	154	4,35
11	Chavicol acetate	10,463	176	29,91
16	$\beta$ -farnesene	11,898	204	3,17
24	Zerumbone	15,693	218	0,42

Kandungan kimia dari lengkuas merah yaitu 1% minyak atsiri berwarna kuning kehijauan yang terdiri dari  $\beta$ -pinene (2,06%), 1,8-cineole (20,79%), terpineol (0,91%), chavicol (14,51%),  $\beta$ -farnesene (2,36%) dan lain-lain (Rialita *et al* 2015). Lengkuas merah adalah salah satu sumber alamiah terbaik dari kuersetin, suatu bioflavanoid yang secara khusus baik untuk melawan radikal

bebas. Di samping kemampuan antioksidannya, kuersetin juga memiliki sifat mencegah kanker, antijamur, antibakteri, dan anti peradangan (Klohs, 2012).

## **6. Identifikasi bakteri uji**

**6.1 Identifikasi bakteri *S. aureus* dengan medium VJA.** Identifikasi bakteri *S. aureus* pada media VJA bertujuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri selain *S. aureus*. Hasil pengujian menunjukkan koloni dengan warna hitam, karena bakteri *S. aureus* dapat mereduksi tellurit menjadi tellurium logam dan disekitar koloni berwarna kuning karena fermentasi manitol yang dideteksi oleh perubahan warna indikator phenol red dari merah menjadi kuning (asam). Kondisi asam menghasilkan pigmen yang bervariasi dari putih sampai kuning tua (Jawetz *et al* 2012). Hasil identifikasi koloni dapat dilihat pada Lampiran 7.

**6.2 Identifikasi dengan pewarnaan Gram.** Identifikasi *S. aureus* dengan pewarnaan Gram bertujuan untuk mengamati morfologi dan kemurnian sel bakteri. Hasil pengamatan menggunakan mikroskop perbesaran kuat (100x) tampak sel berwarna ungu, berbentuk bulat dan bergerombol seperti buah anggur. Bakteri Gram positif (*S. aureus*) memiliki peptidoglikan yang lebih tebal dari pada Gram negatif, sehingga pada pengecatan Gram *S. aureus* dapat mempertahankan warna violet dari Gram A (kristal violet). Hasil gambar identifikasi secara mikroskopis dapat dilihat pada Lampiran 7.

**6.3 Identifikasi biokimia.** Uji katalase menggunakan suspensi bakteri uji yang ditanam pada medium nutrisi cair dengan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3%. Hasil positif ditandai dengan adanya gelembung udara sebab *S. aureus* mempunyai enzim katalase. Fungsi uji katalase pada bakteri berbentuk kokus adalah untuk membedakan antara *S. aureus* dan *Streptococcus*, dimana kelompok *staphylococcus* bersifat katalase positif. Katalase merupakan enzim yang mengkatalisa penguraian hidrogen peroksida menjadi H<sub>2</sub>O dan O<sub>2</sub>. Hidrogen peroksida bersifat toksik terhadap sel karena bahan ini menginaktifkan enzim dalam sel. Hidrogen peroksida terbentuk sewaktu metabolisme aerob, sehingga mikroorganisme yang tumbuh dalam lingkungan aerob pasti menguraikan bahan tersebut (Lay, 1994). Hasil gambar identifikasi secara biokimia berdasarkan katalase dapat dilihat pada Lampiran 7.

Uji koagulase menggunakan plasma darah kelinci yang berfungsi untuk mengetahui kemampuan bakteri menghasilkan enzim koagulase. Hasil pengamatan tabung diperiksa dengan melihat pembentukan *clot* atau *jelly* selama 1-4 jam. Hasil positif kuat jika tabung tes dibalik atau dimiringkan, *jelly* tetap berada di dasar tabung. *S. aureus* yang bersifat koagulase positif akan menggumpalkan plasma dalam waktu 1 jam (Jawetz *et al* 2001). Produksi koagulase adalah kriteria yang paling umum digunakan untuk identifikasi sementara *S. aureus*. Reaksi koagulase positif sangat penting untuk membedakan *S. aureus* dengan spesies *staphylococcus* yang lain (Abrar, 2001). Hasil identifikasi pada penelitian ini menunjukkan positif terjadi perubahan plasma darah kelinci yang terdenaturasi oleh *S. aureus* sehingga terjadi penggumpalan putih. Hasil gambar identifikasi secara biokimia dapat dilihat pada Lampiran 7.

#### **7. Pembuatan suspensi bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

Tujuan disesuaikannya suspensi bakteri *S. aureus* dengan standar Mc Farland 0,5 yaitu agar jumlah bakteri yang digunakan sama selama penelitian dan mengurangi kepadatan bakteri saat pengujian dilakukan. Standar kekeruhan Mc Farland ini dimaksudkan untuk menggantikan perhitungan bakteri satu per satu dan untuk memperkirakan kepadatan sel yang akan digunakan (Sutton, 2011).

#### **8. Pengujian aktivitas antibakteri secara difusi dan dilusi**

Uji antibakteri dilakukan dengan metode difusi kertas cakram. Sampel uji yang digunakan adalah minyak atsiri bangle dan lengkuas merah serta kombinasi keduanya dengan menggunakan konsentrasi 50%, 25%, dan 12,5% pada perbandingan 1:1, 1:3, 3:1 dan direplikasi sebanyak 3 kali. Kontrol positif yang digunakan adalah antibiotik amoksisilin. Kontrol negatif yang digunakan adalah N-heksan merupakan cairan yang tidak berwarna, memiliki titik didih 69°C, bersifat polar dan memiliki rumus struktur  $C_6H_{14}$ , pada umumnya N-heksan dimanfaatkan sebagai pelarut karena sifatnya yang inert, tidak bereaksi dengan komponen yang akan disintesis (Kastianti dan Amalia, 2008). N-heksan ini telah

digunakan sebagai pelarut minyak atsiri umbi teki (*Cyperus rotundus L.*) (Solihah, 2008). Diameter zona hambat yang terbentuk dapat dilihat pada Tabel 7 dan 8.

**Tabel 7. Diameter hambat tunggal minyak atsiri**

Sampel	Konsentrasi (%)	Diameter zona hambat (mm)			Rata-rata±SD
		I	II	III	
amoksisilin	50	19,00	18,30	18,60	18,63±0,35
	25	18,00	17,60	18,60	18,07±0,50
	12,5	20,30	19,30	20,00	19,87±0,51
Minyak atsiri bangle	50	17,00	18,00	17,30	17,43±0,51
	25	16,00	15,30	15,60	15,63±0,35
	12,5	16,00	15,00	15,30	15,43±0,51
Minyak atsiri lengkuas merah	50	26,00	25,30	24,60	25,30±0,70
	25	22,60	21,60	22,00	22,07±0,50
	12,5	20,30	21,30	19,60	20,40±0,85

**Tabel 8. Diameter hambat kombinasi minyak atsiri**

Sampel uji	Konsentrasi (%)	Diameter zona hambat (mm)			Rata-rata±SD
		I	II	III	
Kombinasi 1:1	50	19,60	18,00	19,00	18,87±0,81
	25	17,00	17,30	18,00	17,43±0,51
	12,5	16,30	16,00	15,60	15,97±0,35
Kombinasi 1:3	50	25,30	24,60	24,00	24,63±0,65
	25	22,60	22,00	21,30	21,97±0,65
	12,5	20,00	19,00	19,60	19,53±0,50
Kombinasi 3:1	50	31,30	30,00	29,30	30,20±1,01
	25	27,60	28,00	28,30	27,97±0,35
	12,5	24,30	23,00	23,60	23,63±0,65
Kontrol (+)	-	19,00	18,00	20,30	18,63±0,35
Kontrol (-)	-	0	0	0	00,00±00,00

Berdasarkan hasil pada Tabel 7 terlihat bahwa uji tunggal minyak atsiri lengkuas merah tunggal dan minyak atsiri bangle tunggal dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dimana minyak atsiri lengkuas merah tunggal memberikan zona hambat yang lebih besar dengan rata-rata nilai  $25,30 \pm 0,70$  dibandingkan minyak atsiri bangle tunggal yaitu  $17,43 \pm 0,51$ . Minyak atsiri lengkuas merah mengandung senyawa antara lain  $\beta$ -pinene, eucalyptol (1,8-cineole), terpinen-4-ol, dan  $\beta$ -farnesene yang bersifat sebagai antibakteri. Semakin meningkatnya konsentrasi minyak atsiri meningkatkan juga zona hambat pertumbuhan yang terbentuk, hal ini dapat disebabkan karena lebih banyaknya zat



aktif yang terkandung pada konsentrasi yang lebih besar sehingga zona hambat yang terbentuk berbeda (Brooks *et al* 2005).

Uji difusi dilakukan untuk mengetahui apakah kombinasi minyak atsiri bangle dan lengkuas merah dapat menghambat pertumbuhan *S. aureus*. Pada Tabel 8 menunjukkan bahwa kombinasi minyak atsiri bangle dan lengkuas merah pada perbandingan 3:1 konsentrasi 50% memberikan zona hambat yang paling besar dengan nilai rata-rata  $30,20 \pm 1,01$ , hal ini disebabkan pada uji difusi minyak atsiri tunggal pada minyak atsiri lengkuas merah lebih besar dibandingkan uji tunggal minyak atsiri bangle. Pada perbandingan 3:1 kandungan minyak atsiri lengkuas merah lebih banyak dibandingkan kandungan minyak atsiri bangle sehingga pada perbandingan ini memberikan diameter zona hambat yang lebih besar dibandingkan perbandingan 1:3 dan 1:1.

Komposisi minyak atsiri lengkuas merah berdasarkan hasil GC-MS menghasilkan 25 komponen yang berhasil diidentifikasi, dengan beberapa komponen utama yaitu eucalyptol (1,8-cineole) (35,65%), citronella (2,36%), terpinen-4-ol (4,35%), chavicol (29,91%). Komponen utama yaitu eucalyptol (1,8-cineole) (35,65%) merupakan senyawa monoterpen teroksidasi yang menurut Chudiwal *et al* (2010) memiliki aktivitas antimikroba dengan spektrum luas.

Uji antibakteri menggunakan metode dilusi tabung memiliki dua indikator untuk menunjukkan suatu bahan memiliki potensi antibakteri, yaitu KHM dan KBM (Dzen *et al*, 2003). Konsentrasi dilusi tabung yang digunakan dalam penelitian ini adalah 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,56%, dan 0,78%. Pengamatan nilai KHM dilakukan dengan pengamatan secara fisik terhadap tingkat kekeruhan setiap tabung, kemudian untuk menentukan KBM seri pengenceran diinokulasikan pada media VJA dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

Uji potensi antibakteri minyak atsiri bangle dan lengkuas merah terhadap bakteri *S. aureus* menggunakan metode dilusi tabung. Hasil dari metode dilusi tabung adalah penentuan nilai KHM dengan pengamatan terhadap tingkat kekeruhan. Menurut Dzen *et al*. (2003) penilaian KHM metode dilusi dinilai dengan mengamati tingkat kekeruhan pada setiap tabung setelah diinkubasi selama 24 jam yang ditunjukkan dengan kekeruhan pada tabung reaksi. Tingkat

kekeruhan ini merupakan tanda awal dari potensi antibakteri minyak atsiri bangle dan lengkuas merah terhadap bakteri *S. aureus*. Metode dilusi menggunakan emulgator tween 80 sebanyak 1-2 tetes agar sampel uji minyak atsiri dapat bercampur dengan media cair BHI yang digunakan.

**Tabel 9. Hasil uji dilusi kombinasi minyak atsiri bangle dan lengkuas merah (3:1) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*.**

Konsentrasi (%)	I	II
Kontrol (-)	-	-
50	-	-
25	-	-
12,5	-	-
6,25	-	-
3,125	-	-
1,56	+	+
0,78	+	+
Kontrol (+)	+	+

Keterangan :

(-) : Tidak ada pertumbuhan bakteri

(+) : Ada pertumbuhan bakteri

Kontrol (-) : Berisi kombinasi minyak atsiri bangle dan lengkuas merah

Kontrol (+) : Berisi suspensi bakteri

Hasil pada Tabel 9 menunjukkan bahwa Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) kombinasi minyak atsiri bangle dan lengkuas merah terhadap *S. aureus* adalah 3,125%, maka penggunaan konsentrasi minyak lebih dari 3,125% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*.

## 9. Analisa data

Berdasarkan data yang diperoleh dilakukan analisis statistik terhadap sampel uji minyak atsiri lengkuas merah tunggal dan minyak atsiri bangle tunggal, serta kombinasi keduanya dengan perbandingan 1:1, 1:3, 3:1 dan dengan konsentrasi 50%, 25%, 12,5%. Kontrol positif adalah amoksisilin dan kontrol negatif adalah N-heksan. Analisis statistik dilakukan untuk mengetahui perbedaan diameter zona hambat yang signifikan dari sampel uji kombinasi minyak atsiri dengan perbandingan 50%, 25%, 12,5%. Analisis yang pertama dilakukan uji normalitas dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk* didapatkan data terdistribusi normal. Analisis selanjutnya dilakukan uji homogenitas dengan *Levene's Test of Equality of Error Variances* dan didapatkan data yang homogen dengan nilai

$p > 0,05$ . Hasil ditunjukkan pada homogeneous subsets sampel uji memiliki 5 kolom subset. Sampel uji minyak atsiri bangle tunggal serta kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle pada perbandingan 1:1 menunjukkan mean sampel uji memiliki perbedaan yang signifikan terhadap antibiotik amoksisilin artinya sampel uji minyak atsiri bangle tunggal serta kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle pada perbandingan 1:1 tidak memiliki aktivitas antibakteri yang lebih baik dari amoksisilin, sedangkan minyak atsiri lengkuas merah tunggal serta kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle pada perbandingan 1:3 dan 3:1 menunjukkan mean sampel uji memiliki perbedaan yang signifikan terhadap amoksisilin dengan mean terbesar pada kombinasi perbandingan 3:1 dengan nilai mean 27,26 pada kolom subset 5, hal ini menunjukkan sampel uji minyak atsiri lengkuas merah tunggal serta kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle pada perbandingan 1:3 dan 3:1 memiliki aktivitas antibakteri yang lebih baik dari amoksisilin. Pada kolom subset 4 terdapat 2 sampel uji yaitu minyak atsiri tunggal lengkuas merah dan kombinasi pada perbandingan 1:3 yang artinya keduanya tidak memiliki perbedaan yang signifikan, nilai mean tertinggi pada kolom subset 4 yaitu minyak atsiri lengkuas merah tunggal dengan mean 22,58. Tabel homogeneous subsets konsentrasi 50%, 25%, 12,5% menunjukkan nilai variabel ketiganya berada pada kolom subset yang berbeda, hal ini menunjukkan konsentrasi 50%, 25%, 12,5% memiliki perbedaan yang signifikan.

Sampel uji minyak atsiri lengkuas merah tunggal dan minyak atsiri bangle tunggal serta kombinasi keduanya pada perbandingan 1:1, 1:3, dan 3:1 menunjukkan adanya zona hambat yang terbentuk artinya sampel uji memiliki aktivitas antibakteri. Sampel uji yang menunjukkan zona hambat terbesar yaitu kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle pada perbandingan 3:1 dengan konsentrasi 50% yaitu sebesar  $30,20 \pm 1,01$ . Uji difusi pada minyak atsiri lengkuas merah tunggal dan minyak atsiri bangle tunggal menunjukkan bahwa minyak atsiri lengkuas merah tunggal memiliki aktivitas antibakteri yang lebih besar dibandingkan minyak atsiri bangle tunggal sehingga kombinasi pada perbandingan 3:1 memiliki aktivitas antibakteri yang paling besar karena

kandungan minyak atsiri lengkuas merah tunggal yang lebih banyak dibandingkan minyak atsiri bangle tunggal. Berdasarkan analisis menggunakan GCMS diketahui kandungan minyak atsiri lengkuas merah adalah eucalyptol (1,8-cineole) (35,65%), citronella (2,36%), dan terpinen-4-ol (4,35%) sedangkan minyak atsiri bangle tunggal adalah terpinen-4-ol (48,65%), sabinen (17,36%), dan  $\beta$ -pinen (1,59%) yang diduga memiliki aktivitas antibakteri sehingga menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*.

Analisis hasil menggunakan statistika dilakukan untuk mengetahui apakah hasil penelitian memiliki perbedaan signifikan sehingga dapat dikatakan bahwa sampel dapat mewakili populasinya dilakukan uji *Two Way* ANOVA. Berdasarkan hasil perhitungan uji ANOVA, diperoleh perbedaan yang signifikan dari pengaruh konsentrasi terhadap diameter zona hambat yang terbentuk.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut :

Pertama, minyak atsiri tunggal bangle dan lengkuas merah serta kombinasinya dengan berbagai perbandingan dan konsentrasi memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* ATCC 25923.

Kedua, pada uji difusi kombinasi minyak atsiri bangle dan lengkuas merah pada perbandingan 3:1 mempunyai aktivitas antibakteri yang paling besar terhadap *S. aureus* ATCC 25923 dengan zona hambat yang terbentuk adalah 31,30 mm.

Ketiga, pada uji dilusi nilai KBM diketahui berada pada konsentrasi 3,125% karena tidak adanya koloni bakteri yang terbentuk, pertumbuhan bakteri dimulai dari konsentrasi 1,5625%.

#### **B. Saran**

Pertama, dapat dilakukan penelitian serupa dengan kombinasi antar tanaman yang telah diketahui khasiatnya sebagai antibakteri untuk mendapatkan khasiat yang lebih baik.

Kedua, dapat dilakukan lagi pengujian aktivitas antibakteri dengan konsentrasi dan perbandingan yang berbeda terhadap bakteri Gram positif lainnya.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abrar M. 2001. Isolasi Karakterisasi dan Aktivitas Biologi Hemaglutinin *Staphylococcus aureus* dalam Proses Adhesi pada Permukaan Sel Epitel Ambing Sapi Perah. Program Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor.
- Agoes A. 2010. *Tanaman Obat Indonesia*. Salemba Medica. Palembang.
- Agusta, Andria. 2000. *Minyak Atsiri Tumbuhan Tropika Indonesia*. Bandung : ITB Press, hal 1-7.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 2000. *Official methods of analysis*. Gaithersburg, MD, Washington, USA.
- Ayuningtyas AK. 2008. Efektivitas Campuran Meniran *Phyllanthus niruri* dan Bawang Putih *Allium sativum* untuk Pengendalian Infeksi Bakteri *Aeromonas hydrophila* pada Ikan Lele Dumbo *Clarias gariepinus* [Skripsi]. Prodi Teknologi dan Manajemen Akuakultur Institut Pertanian Bogor: Bogor.
- Badan Standardisasi Nasional. 2001. *Sistem Manajemen Mutu – Persyaratan*. Jakarta : BSN; (SNI 19-9001-2001)
- Bakung CT. 2014. Studi Penggunaan Antibiotik pada Pasien ISPA Rawat Jalan di Rumah Sakit Professor dr. Aloei Saboe Kota Gorontalo [Tesis]. Universitas Negeri Gorontalo.
- Brooks GF, Butel JS, Morse SA. 2005. *Mikrobiologi kedokteran*. Alih Bahasa. Mudihardi E, Kuntaman, Wasito EB. Jakarta: Salemba Medika: 317-27.
- Chairul, Pratiwi. 2008. Uji efektivitas imunomodulator tiga Jenis Zingiberaceae secara in vitro melalui pengukuran aktivitas sel magrofaq dan Kapasitas fagositosis. *Biodiversitas*, 13(44):40-43.
- Chowdhury JU, Nandi NC, Bhuiyan MNI, Mobarok MH. 2008. Essential Oil Constituents of The Rhizomes of Two Types of Curcuma Longa of Bangladesh. *Bangladesh Journal Of Scientific And Industrial Research*. 43(2): 259 – 66.
- Chudiwal AK, Jain DP, Somani RS. 2010. Alpinia galangal wild an overview on phyto-pharmacological properties. *Indian J Nat Prod Res* 1: 143-149.
- Darwis W, Chandra D, Muslim C, Supriati R. 2013. Uji efektivitas ekstrak rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata* k.schum) sebagai antibakteri *Escherichia coli* penyebab diare. *Jurnal Ilmiah Konservasi Hayati*; 9(1): 8.

- Depkes RI. 2000. *Parameter Standard Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta.
- Depkes RI. 2001. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (I)*. Jilid 2. Jakarta: Departemen Kesehatan dan Kesejahteraan Sosial RI Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan RI. Hal. 348-350.
- Dorland, Newman. 2002. *Kamus Kedokteran Dorland*. Edisi 29, Jakarta: EGC, 1765.
- Dowshen *et al.* 2002. *Staphylococcus aureus*. <http://ud/ac.id/primahapsa/files/2012/06/jtptunimus-gdl-primahapsa-5337-1-bab1.pdf>. Diakses tanggal 23 Agustus 2016 Pukul 13.48 WIB.
- Dzen SM, Roekistiningsih S, Santoso, Winarsih S. 2003. *Bakteriologi Medik*. Malang: Bayumedia Publisng
- Farooq S, Velioglu SG. 2003. Physico-Chemical Treatment of Domestic Wastewater. Dalam P.N. Cheremisinoff (Editor). *Encyclopedia of Environmental Control Technology*.
- Ficker CE *et al.* 2003. Inhibition of human pathogenic fungi by members of Zingiberaceae used by the the Kenyah (Indonesian Borneo). *Journal of Ethnopharmacology*, 85(2-3):289-293.
- Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. 2007. *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology* 12<sup>th</sup> Edition. Missouri: Elsevier: 190-6.
- Garrity GM, Bell JA, Lilburn TG. 2007. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (2Nd Edition). Baltimore: Williams & Wilkins.
- Guenther E. 2006. *Minyak Atsiri jilid I* (Terjemahan). Jakarta : UI Press. Hal. 44-484.
- Gunardi, Raharjojo L. 2009. Profil kromatogram dan aktivitas antibakteri ekstrak etanol rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb) terhadap bakteri *Escherichia coli in vitro*. Media Medika Indonesiana, Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang.
- Gunawan. 2010. Asam Amino. Terhubung berkala (<http://www.scribd.com/doc/12936574/Asam-Amino-Non-Esensial>)
- Gunawan D, Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi)* Jilid I. Jakarta: Penerbit Penebar Swadaya.
- Hamid AF. 2009. *Pengembangan Farmasi Berbasis Tanaman Obat untuk Pemberdayaan dan Peningkatan Kesejahteraan*. International Seminar and Workshop Research and Development of Herbal Medicine for Community,

- Empowerment and controlling Tropical Diseases. Syiah Kuala University, Banda Aceh, Indonesia.
- Harmanto N. 2004. *Menggempur Penyakit Hewan Kesayangan dengan Mahkota Dewa*. Cetakan I. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Hersipa. 2011. Ekstraksi Minyak Atsiri. <http://hersipa.wordpress.com/2011/11/13/ekstraksi-minyak-atsiri/>. Diakses pada [13 September 2016].
- Iskamto B. 2009. *Bakteriologi Kesehatan*. Surakarta: UNS Press
- Jawetz E, Melnick J, Adelberg EA. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta, Penerbit Salemba Medika.
- Jawetz E, Melnick J, Adelberg EA. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Salemba Medika. Jakarta.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 2007. *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan, Staphylococcus aureus*. Bonang G, penerjemah. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 2013. *Medical Microbiology*. 26<sup>rd</sup>. Ed. Elferia Nr, Penerjemah: Jakarta.
- Juliani HR, Zygadlo JA, Scrivanti R, Sota E, Simon JE. 2004. The essential oil of *Anemia tomentosa* (Savigny) Sw. var. *anthriscifolia* (Schrad.) Mickel. *FlavourFragr. J.*, 19: 541-543.
- Klohs WD, Fry DW, Kraker AJ. 2012. Inhibitors of Tyrosine Kinase. *Curr Opin Oncol*. 9:562-568.
- Kurniawati N. 2010. *Sehat & Cantik Alami Berkat Khasiat Bumbu Dapur*. Bandung: Qanita. p. 104 - 106.
- Kusuma A. 2009. Penyakit Menular Lewat Hubungan Seksual. [http://www.afand.cybermq.com/post/detail/1932/penyakitmenular-lewat-Hubungan -seksual-pms- penyakit menular lewat hubunganseksual](http://www.afand.cybermq.com/post/detail/1932/penyakitmenular-lewat-Hubungan-seksual-pms- penyakit menular lewat hubunganseksual). Diunduh tanggal 8 September 2016
- Lansida, 2010. Proses Penyulingan Minyak Atsiri. <http://Lansida.blogspot.com/2010/12/Proses-Penyulingan-Minyak-Atsiri.html>. Diakses pada 28 Agustus 2016
- Lay WB. 1994. *Analisa Mikroba di Laboratorium* Edisi I. Jakarta: PT. Raja Grafindo Persada



- Lestari T, Harjanti. 2015. Tinjauan Pelaksanaan Sistem penjajaran Dokumen Rekam Medis Pada Bagian Filing di Rumah Sakit Ken Saras Ungaran. *Jurnal Manajemen Informasi Kesehatan Indonesia*.
- Mcnair HM. 2009. *Basic Gas Chromatography*, Second Edition, New Jersey , A John Wiley & Sons, Inc Publicaation
- Pramono GH, Suryanto H, Ambarwulan W. 2005. *Norma, Prosedur, Pedoman, Spesifikasi dan Standar*. Pusat Survey Sumberdaya Alam.
- Prastowo, Andi. 2013. *Pengembangan Bahan Ajar Tematik*. Diva PRESS. Yogyakarta
- Pratiwi ST. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Penerbit Airlangga
- Radji M. 2011. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. Penerbit buku kedokteran EKG. Jakarta.
- Raharjo L, Gunardi. 2009. Profil Kromatogram dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Rimpang Bengle (*Zingiber cassumunar Roxb.*) terhadap Bakteri *Escherichia coli* In Vitro. Universitas Diponegoro, Semarang.
- Rialita T, Rahayu WP, Nuraida L, Nurtama B. 2015. Aktivitas antimikroba minyak esensial jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) dan lengkuas merah (*Alpinia purpurata* K.) terhadap bakteri patogen dan perusak pangan.
- Sayuti AI, Ulfa EU, Puspitasari E. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Minyak Atsiri Lempuyang Wangi (*Zingiber aromaticum* Val.) dan Bangle (*Zingiber cassumunar Roxb.*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.
- Sinaga E. 2009. *Alpinia galanga* (L.) Willd. [http://free.vlsm.org/v12/artikel/ttg\\_tanaman\\_obat/unas/Lengkuas.pdf](http://free.vlsm.org/v12/artikel/ttg_tanaman_obat/unas/Lengkuas.pdf)
- Solihah A. 2008. Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Umbi Teki (*Cyperus rotundus* L.) dari Daerah Kartasura Sukoharjo [Skripsi]. FMIPA UNS.
- Standar Nasional Indonesia. 2001. *Badan Standarisasi Nasional*. Jakarta.
- Sulistyaningsih E. 2007. *Polymerase Chain Reaction (PCR): Era Baru Diagnosis dan Managemen Penyakit Infeksi*. Biomedis, Vol. 1 No.2.
- Sumitra. 2010. Beyond Individual Classrooms : How Valid Are Concept Maps For Large Scale Assessment?. *Proc. of Fourth International Conference on Concept Mapping*.

- Suriawiria U. 2005. *Mikrobiologi Dasar*. Papas Sinar Sinanti, Jakarta.
- Sutton S. 2011. *Determination of Inoculum for Microbiological Testing*. Summer Vol. 15 Number 3
- Syukur, Cheppy, Hernani. 2001. *Budi Daya Tanaman Obat Komersial*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- USDA. 2014. Classification of *Zingiber montanum* (J. Koenig) Link. Ex A. Dietr. Cassumunar ginger. <http://plants.usda.gov/core/profile?symbol=ZIMO2>. Diakses 16 Oktober 2016.
- Vankar PS, Tiwari V, Singh LW, Swapana N. 2006. Antioxidant properties of some exclusive species of zingiberaceae family of manipur, *Electronic Journal of Environmental Agriculture*.
- Yuwono, Biomed M. 2010. Pandemi Resistensi Antimikroba: *Belajar dari MRSA*. Departemen Mikrobiologi FK Unsri.
- Zulnely. 2012. *Pengaruh Cara Penyulingan Terhadap Sifat Minyak Pohon Wangi*. Jakarta: Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik Halaman 6.

L

A

M

P

I

R

A

N

## Lampiran 1. Hasil determinasi tanaman bangle



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS SEBELAS MARET  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
**LAB. PROGRAM STUDI BIOLOGI**  
Jl. Ir. Sutami 36A Kentingan Surakarta 57126 Telp. (0271) 663375 Fax (0271) 663375  
http://www.biology.mipa.uns.ac.id, E-mail biologi @ mipa.uns.ac.id

Nomor : 048/UN27.9.6.4/Lab/2017  
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan  
Lampiran : -  
Nama Pemesan : M. Aulia Putra Tawakal  
NIM : 19133823A  
Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

**HASIL DETERMINASI TUMBUHAN**

Nama Sampel : *Zingiber montanum* (J. Koenig) Link ex A. Dietr.  
Synonym : *Zingiber cassumunar* Roxb.  
*Zingiber purpureum* Roscoe  
Familia : Zingiberaceae

Hasil Determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963, 1968) :  
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-76b-333b-334b-335b-336a-337b-338a-339b-340a \_\_\_\_\_ 207. Zingiberaceae  
1a-2b-6a \_\_\_\_\_ 1. Zingiber  
1a-2a-3b-4b \_\_\_\_\_ *Zingiber montanum* (J. Koenig) Link ex A. Dietr.

**Deskripsi Tumbuhan :**

Habitus : terna menahun, tinggi 1-1.5 m. Rimpang : menjalar, tebal dan berdaging, berbentuk silindris sampai jorong atau tidak beraturan, diameter 2-5 cm, bercabang-cabang, bagian luar permukaannya tidak rata, berkerut, warnanya coklat muda kekuningan, bagian dalamnya berwarna kuning muda sampai kuning kecoklatan, rasanya tidak enak, pedas dan pahit. Akar : melekat pada rimpang, serabut, berwarna putih hingga kuning kotor atau coklat kekuningan. Batang : batang sejati pendek, di dalam tanah, membentuk rimpang yang bercabang-cabang; batang semu berada di atas tanah, tumbuh tegak, lunak, dibentuk oleh kumpulan pelepah daun, berwarna hijau. Daun : tunggal, tersusun berseling, helaian berbentuk lanset memanjang hingga garis, panjang 23-35 cm, lebar 20-37 cm, berwarna hijau permanen, menggulung memanjang ketika masih kuncup, ujung runcing, tepi rata, pangkal tumpul, pertulangan daun menyirip, permukaan daun berambut jarang hingga gundul; ujung dan tepi pelepah daunnya berambut tipis sampai gundul, berwarna hijau. Bunga : bunga majemuk, terdiri dari kumpulan bunga yang rapat berupa tandan, panjang 6-16 cm, diameter 3-5 cm, terletak di ujung batang (terminal), berwarna merah kekuningan; panjang tangkai bunga sampai 23 cm; kelopak berbentuk tabung, panjang tabung kelopak 1.25 cm, ujung bergerigi tiga, berwarna merah terang; panjang tabung mahkota bunga 1.25 cm, cuping mahkota bunga berbentuk bulat telur, panjang 2.5 cm, berwarna kuning pucat; kepala sari berbentuk lanset memanjang, panjang 1 cm; bibir bunga (*labellum*) berbentuk bulat telur hingga memanjang, panjang 2-4 cm, lebar 1.75-2.5 cm, warnanya putih atau pucat. Buah : berupa buah buni, berbentuk bulat, keras, diameter 1 cm. Biji : bijinya kecil-kecil, berbentuk lonjong, dan berwarna hitam ketika masak.

Kepala Lab. Program Studi Biologi

Dr. Tetri Widiyani, M.Si.  
NIP. 19711224 200003 2 001

Surakarta, 1 Februari 2017  
Penanggungjawab  
Determinasi Tumbuhan

Suratman, S.Si., M.Si.  
NIP. 19800705 200212 1 002

Mengetahui  
Kepala Program Studi Biologi FMIPA UNS

Dr. Ratna Setyaningsih, M.Si.  
NIP. 19660714 199903 2 001

## Lampiran 2. Hasil determinasi tanaman lengkuas merah



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS SEBELAS MARET  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
**LAB. PROGRAM STUDI BIOLOGI**  
Jl. Ir. Sutami 36A Kentingan Surakarta 57126 Telp. (0271) 663375 Fax (0271) 663375  
http://www.biology.mipa.uns.ac.id, E-mail biologi @ mipa.uns.ac.id

Nomor : 050/UN27.9.6.4/Lab/2017  
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan  
Lampiran : -  
Nama Pemesan : M.Aulia Putra Tawakal  
NIM : 19133823A  
Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

### HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

Nama Sampel : *Alpinia purpurata* (Vieill.) K.Schum.  
Familia : Zingiberaceae

Hasil Determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963, 1968) :  
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-76b-333b-334b-335b-336a-337b-338a-339b-340a 207. Zingiberaceae  
1a-2a-3b-4b 2. Alpinia  
1 *Alpinia purpurata* (Vieill.) K.Schum.

#### Deskripsi Tumbuhan :

Habitus : terna, menahun, tumbuh tegak, tinggi 1-3.5 m. Rimpang : rimpang besar dan tebal, berdaging, berbentuk silindris, diameter 2-4 cm, bercabang-cabang, bagian luar berwarna putih kemerahan atau kuning kemerahan, mempunyai sisik-sisik berwarna kemerahan, mengkilap, bagian dalamnya berwarna putih kemerahan, rasanya tajam pedas, menggigit, dan berbau harum. Akar : melekat pada rimpang, serabut, berwarna putih hingga kuning kotor atau coklat kekuningan. Batang : batang sejati pendek, di dalam tanah, membentuk rimpang yang bercabang-cabang; batang semu berada di atas tanah, tumbuh tegak, lunak, dibentuk oleh kumpulan pelepah daun, berwarna hijau. Daun : tunggal, tersusun berseling, duduk tanpa tangkai daun, helaian berbentuk lanset memanjang, panjang 30-80 cm, lebar 10-22 cm, berwarna hijau permanen, menggulung memanjang ketika masih kuncup, ujung runcing atau meruncing, tepi rata, pangkal runcing hingga tumpul, pertulangan daun menyirip, permukaan atas daun hijau tua, permukaan bawah daun hijau muda; panjang pelepah daunnya 15-30 cm, permukaan beralur, berwarna hijau. Bunga : terletak di ujung batang (terminal), terdiri dari kumpulan bunga yang rapat berupa bunga majemuk tipe tandan berbentuk piramida memanjang, panjang 15-30 cm, dilindungi daun pelindung (braktea); braktea berbentuk bulat telur atau bulat telur terbalik melebar, merah atau merah muda atau merah-ungu; kelopak bunga berbentuk lonceng, berwarna putih kehijauan; mahkota bunganya berwarna putih; bibir bunga (*labellum*) sempit, berwarna putih. Buah : berupa buah kapsul, berbentuk bulat, keras, panjang 10-15 cm, diameter 1-3 cm, ketika muda berwarna hijau-kuning, setelah tua berubah menjadi hitam kecoklatan, kering hingga basah. Biji : bijinya kecil-kecil, berbentuk lonjong, panjang 2 mm, sedikit berminyak, berwarna hitam ketika masak.

Kepala Lab. Program Studi Biologi

Dr. Tetri Widiyani, M.Si.  
NIP. 19711224 200003 2 001



Surakarta, 1 Februari 2017  
Penanggungjawab  
Determinasi Tumbuhan

Suratman, S.Si., M.Si.  
NIP. 19800705 200212 1 002

Mengetahui  
Kepala Program Studi Biologi FMIPA UNS





Dr. Ratna Setyaningsih, M.Si.  
NIP. 19660714 199903 2 001

**Lampiran 3. Tanaman bangle dan lengkuas merah**

<b>Tanaman</b>	<b>Gambar</b>
Bangle	
Lengkuas merah	



**Lampiran 4. Autoklaf, Oven, Inkubator, Inkas**

Nama alat	Gambar
Autoklaf	
Oven	
Inkubator	
Inkas	

## Lampiran 5. Penetapan sifat fisikakimia

### Indeks bias

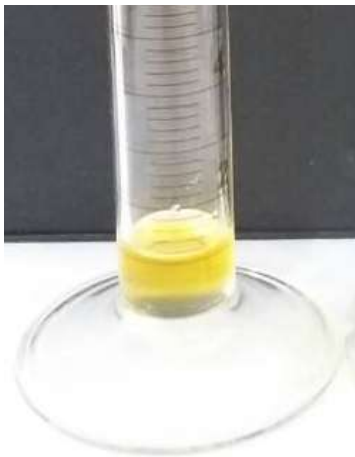


Indeks bias minyak atsiri bangle



Indeks bias minyak atsiri lengkuas merah

### Kelarutan minyak atsiri dalam etanol









Minyak atsiri lengkuas merah



Minyak atsiri bangle












**Lampiran 6. Minyak atsri bangle, lengkuas merah, dan kombinasi****Minyak atsiri tunggal**

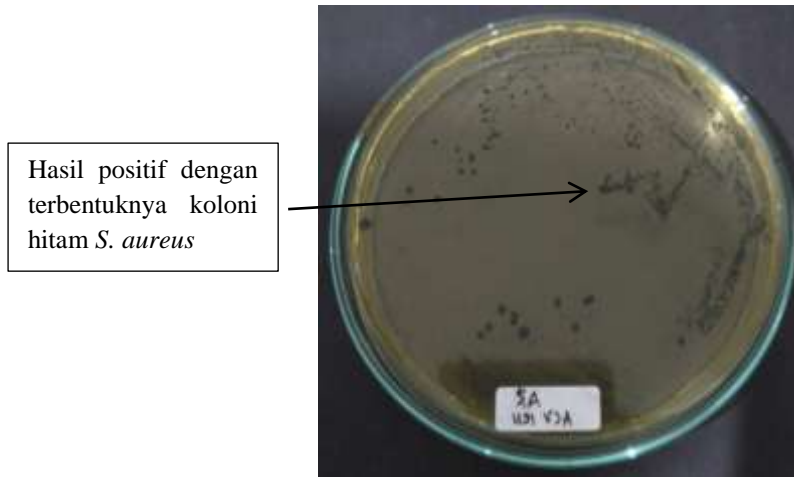
<b>Konsentrasi</b>	<b>Minyak atsiri bangle</b>	<b>Minyak atsiri lengkuas merah</b>
50%		
25%		
12,5%		

Keterangan : konsentrasi 50%, 25%, dan 12,5% larut dalam pelarut N-heksan

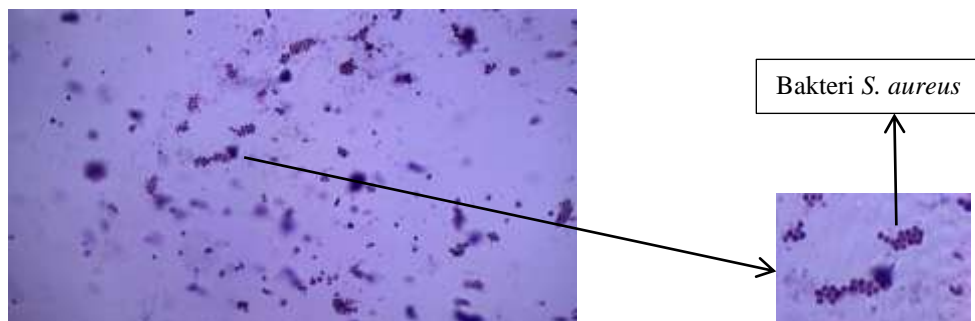
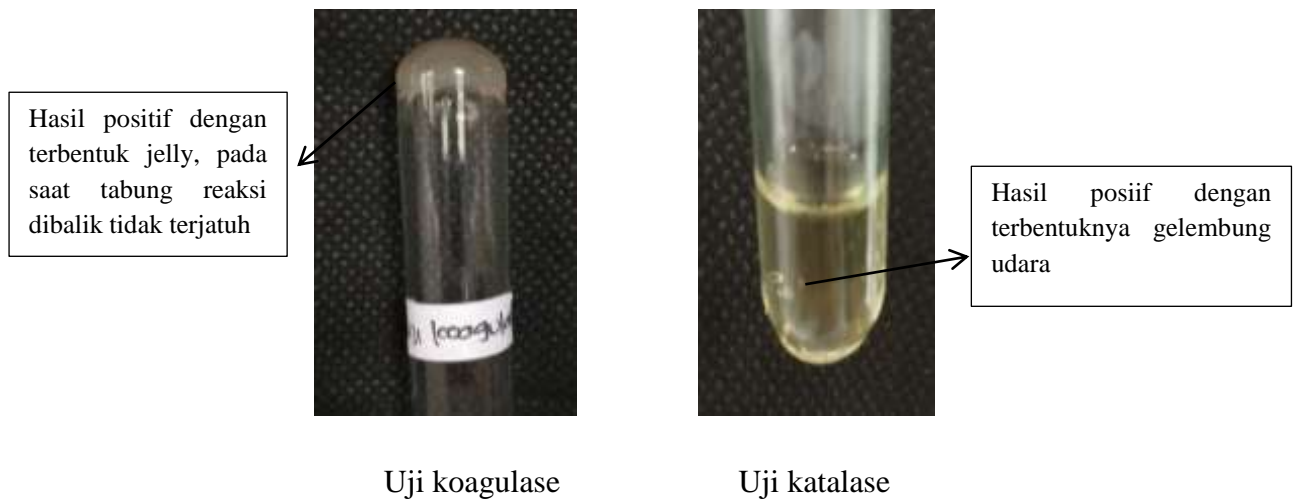
### Kombinasi minyak atsiri

Konsentrasi	Perbandingan		
	1:1 (minyak atsiri lengkuas merah : minyak atsiri bangle	1:3 (minyak atsiri lengkuas merah : minyak atsiri bangle	3:1 (minyak atsiri lengkuas merah : minyak atsiri bangle
50%			
25%			
12,5%			

### Lampiran 7. Hasil identifikasi bakteri

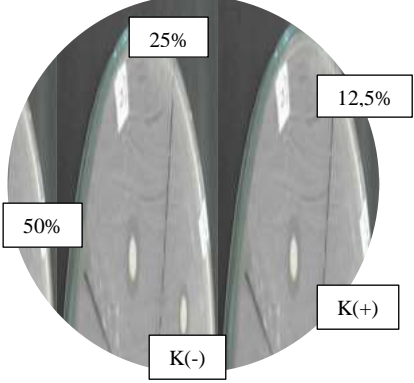
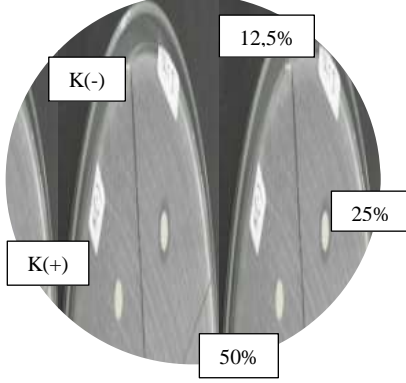
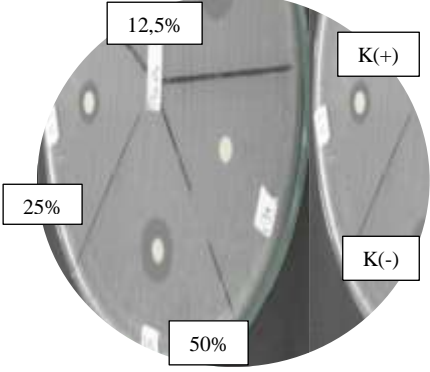
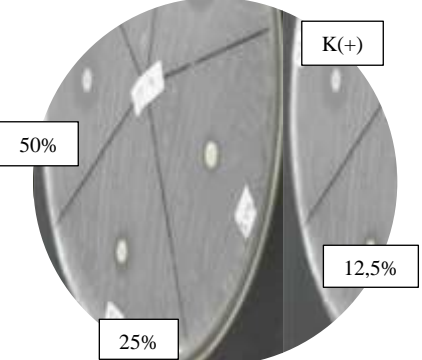
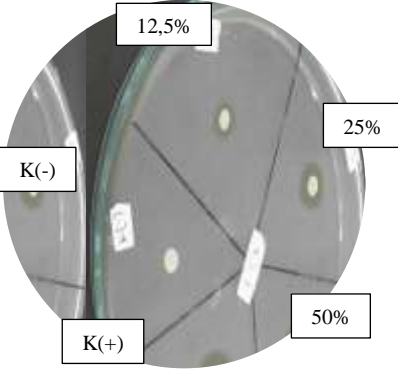


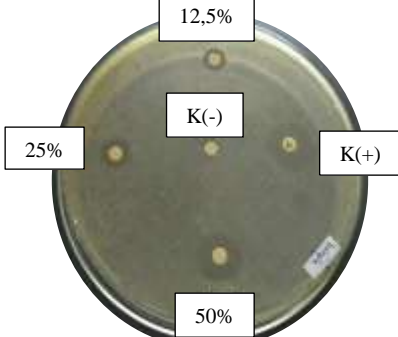
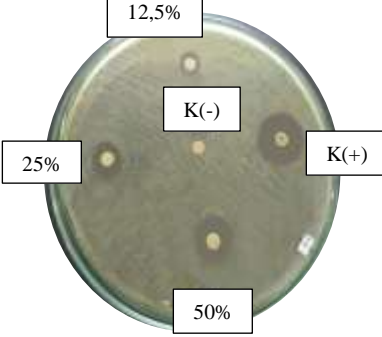
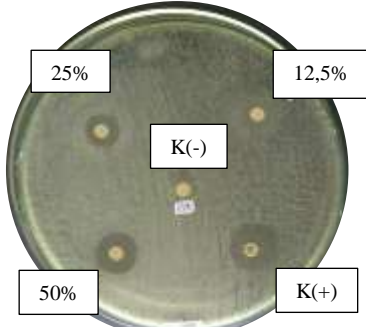
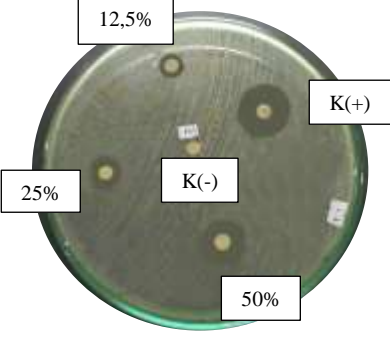
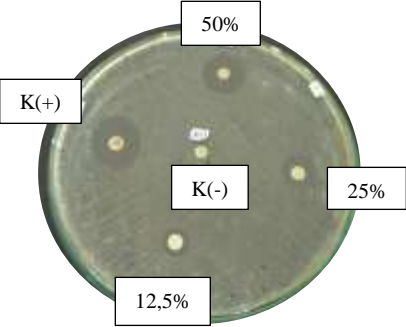
### Identifikasi bakteri *S. aureus* dengan medium VJA

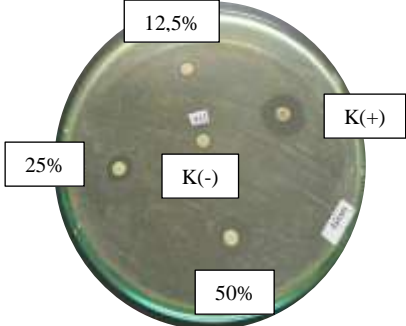
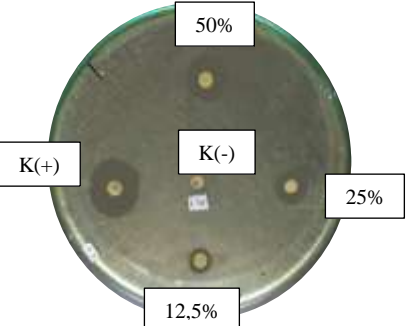
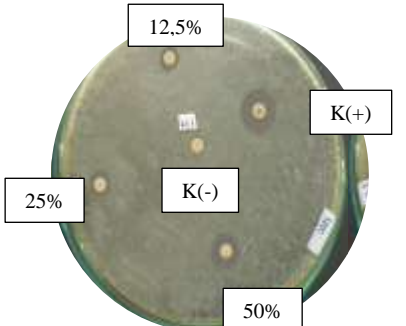
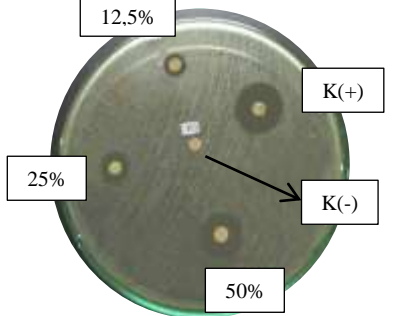
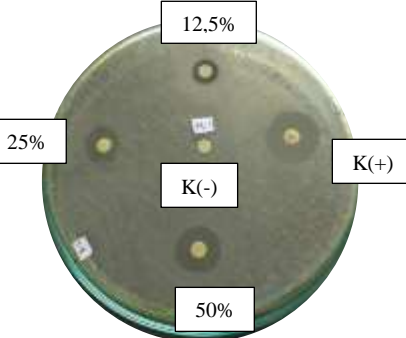


Hasil pewarnaan Gram *S. aureus*

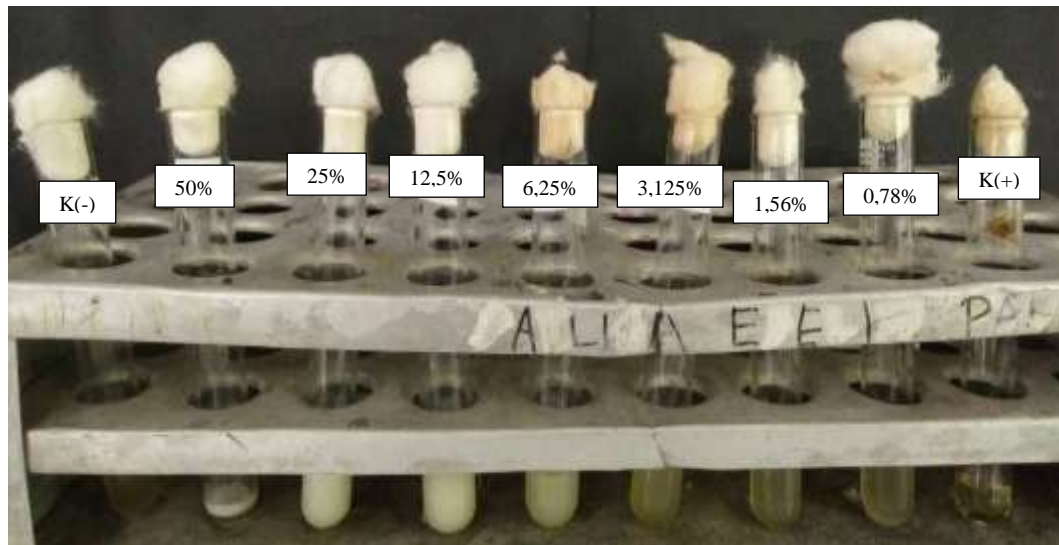
**Lampiran 8. Hasil uji difusi dan dilusi**

Replikasi	Uji tunggal	Uji kombinasi
I	 <p data-bbox="478 851 941 884">Uji difusi minyak atsiri tunggal bangle</p>	 <p data-bbox="981 840 1412 929">Perbandingan 1:1 (minyak atsiri lengkuas merah : minyak atsiri bangle)</p>
	 <p data-bbox="470 1310 949 1377">Uji difusi minyak atsiri tunggal lengkuas merah</p>	 <p data-bbox="981 1355 1412 1444">Perbandingan 1:3 (minyak atsiri lengkuas merah : minyak atsiri bangle)</p>
		 <p data-bbox="981 1870 1412 1960">Perbandingan 3:1 (minyak atsiri lengkuas merah : minyak atsiri bangle)</p>

Replikasi	Uji tunggal	Uji kombinasi
II	 <p data-bbox="478 750 941 795">Uji difusi minyak atsiri tunggal bangle</p>	 <p data-bbox="981 750 1412 840">Perbandingan 1:1 (minyak atsiri lengkuas merah : minyak atsiri bangle)</p>
	 <p data-bbox="470 1265 949 1344">Uji difusi minyak atsiri tunggal lengkuas merah</p>	 <p data-bbox="981 1243 1412 1332">Perbandingan 1:3 (minyak atsiri lengkuas merah : minyak atsiri bangle)</p>
		 <p data-bbox="981 1758 1412 1848">Perbandingan 3:1 (minyak atsiri lengkuas merah : minyak atsiri bangle)</p>

Replikasi	Uji tunggal	Uji kombinasi
III	 <p data-bbox="478 750 941 795">Uji difusi minyak atsiri tunggal bangle</p>	 <p data-bbox="981 750 1412 840">Perbandingan 1:1 (minyak atsiri lengkuas merah : minyak atsiri bangle)</p>
	 <p data-bbox="470 1187 957 1265">Uji difusi minyak atsiri tunggal lengkuas merah</p>	 <p data-bbox="981 1198 1412 1288">Perbandingan 1:3 (minyak atsiri lengkuas merah : minyak atsiri bangle)</p>
		 <p data-bbox="981 1668 1412 1758">Perbandingan 3:1 (minyak atsiri lengkuas merah : minyak atsiri bangle)</p>

### Hasil uji dilusi



Uji dilusi dengan seri konsentrasi menggunakan media cair

Replikasi	Penggoresan pada media VJA
I	
II	

Penentuan nilai KBM dengan menggunakan media VJA

### Lampiran 9. Perhitungan kadar minyak atsiri Bangle dan Lengkuas merah

Proses destilasi	Bobot basah (gram)	Volume minyak atsiri (ml)	Rendemen (% v/b)
Destilasi 1	2000	4	0,2 %
Destilasi 2	3000	6	0,2 %
<b>Total</b>	<b>5000</b>	<b>10</b>	<b>0,2 %</b>

Perhitungan % Rendemen bangle:

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

$$\text{Destilasi I} = \frac{4 \text{ ml}}{2000 \text{ gram}} \times 100 \% = 0,2 \%$$

$$\text{Destilasi II} = \frac{6 \text{ ml}}{3000 \text{ gram}} \times 100 \% = 0,2 \%$$

$$\text{Total Rendemen} = \frac{10 \text{ ml}}{5000 \text{ gram}} \times 100 \% = 0,2 \%$$

Jadi, total kadar minyak atsiri bangle (*Zingiber cassumunar*) adalah 0,2 %

Proses destilasi	Bobot basah (gram)	Volume minyak atsiri (ml)	Rendemen (% v/b)
Destilasi 1	2000	1	0,05%
Destilasi 2	5000	3	0,06%
Destilasi 3	5000	3	0,06%
Total	5000	7	0,057%

Perhitungan % Rendemen Lengkuas merah:

$$\% \text{ Rendemen lengkuas merah} = \frac{\text{volume minyak}}{\text{bobot sampel}} \times 100 \%$$

$$\text{Destilasi I} = \frac{1 \text{ ml}}{2000 \text{ gram}} \times 100 \% = 0,05 \%$$

$$\text{Destilasi II} = \frac{3 \text{ ml}}{5000 \text{ gram}} \times 100 \% = 0,06 \%$$



Destilasi II =

$$\frac{3 \text{ ml}}{5000 \text{ gram}} \times 100 \% = 0,06 \%$$

Total Rendemen III =

$$\frac{7 \text{ ml}}{12000 \text{ gram}} \times 100 \% = 0,057 \%$$

Jadi, total kadar minyak atsiri lengkuas merah (*Alpinia purpurata* K.) adalah 0,057%

### Lampiran 10. Perhitungan bobot jenis minyak atsiri

Bobot timbang kosong (g)	Bobot timbang + air (g)	Bobot timbang + minyak (g)		Bobot minyak (g)	
		Bangle	Lengkuas merah	Bangle	Lengkuas merah
18,85	19,48	19,37	19,34	0,52	0,49
18,85	19,50	19,29	19,36	0,53	0,51
18,85	19,46	19,35	19,31	0,50	0,43
<b>Rata -Rata</b>				<b>0,52</b>	<b>0,48</b>

#### Perhitungan bobot jenis :

##### I. Bobot jenis bangle :

$$\begin{aligned}
 \text{Bobot timbang + air} &= 19,48 \\
 \text{Bobot timbang kosong} &= \underline{18,85} - \\
 \text{Bobot air} &= 0,63 \\
 \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{bobot minyak}}{\text{bobot air}} \\
 &= \frac{0,52}{0,63} = 0,8254
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Bobot timbang + air} &= 19,50 \\
 \text{Bobot timbang kosong} &= \underline{18,85} - \\
 \text{Bobot air} &= 0,65 \\
 \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{bobot minyak}}{\text{bobot air}} \\
 &= \frac{0,53}{0,65} = 0,8154
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Bobot timbang + air} &= 19,46 \\
 \text{Bobot timbang kosong} &= \underline{18,85} - \\
 \text{Bobot air} &= 0,61 \\
 \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{bobot minyak}}{\text{bobot air}} \\
 &= \frac{0,50}{0,61} = 0,8197
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Rata-rata bobot jenis minyak atsiri bangle} &= \frac{0,8254+0,8154+0,8197}{3} \\
 &= 0,8201
 \end{aligned}$$

## II. Bobot jenis Lengkuas merah :

Bobot timbang + air	= 19,48
Bobot timbang kosong	= <u>18,85</u> -
Bobot air	= 0,63
Bobot jenis minyak atsiri	= $\frac{\text{bobot minyak}}{\text{bobot air}}$ $= \frac{0,49}{0,63} = 0,7778$
Bobot timbang + air	= 19,50
Bobot timbang kosong	= <u>18,85</u> -
Bobot air	= 0,65
Bobot jenis minyak atsiri	= $\frac{\text{bobot minyak}}{\text{bobot air}}$ $= \frac{0,51}{0,65} = 0,7846$
Bobot timbang + air	= 19,46
Bobot timbang kosong	= <u>18,85</u> -
Bobot air	= 0,61
Bobot jenis minyak atsiri	= $\frac{\text{bobot minyak}}{\text{bobot air}}$ $= \frac{0,46}{0,61} = 0,7541$

$$\text{Rata-rata bobot jenis minyak lengkuas merah} = \frac{0,7778+0,7846+0,7541}{3}$$

$$= 0,7721$$

Konversi suhu ruang 25°C menjadi 31°C :

$$\text{Faktor konversi pada suhu setiap kenaikan } 1^{\circ}\text{C} = 0,0007$$

$$\text{Berat jenis minyak atsiri bangle teoritis suhu } 25^{\circ}\text{C} = 0,8788$$

$$\text{Suhu ruang praktek} = 31^{\circ}\text{C}$$

Perhitungan :

$$(31-25) \times 0,0007 = 0,0042$$

$$\text{Jadi, bobot teoritis pada suhu } 31^{\circ}\text{C} = 0,0042 + 0,8788$$

$$= 0,883$$

Berat jenis minyak lengkuas merah teoritis suhu  $25^{\circ}\text{C} = 0,8950$

Perhitungan :

$$(31-25) \times 0,0007 = 0,0042$$

$$\begin{aligned} \text{Jadi, bobot teoritis pada suhu } 31^{\circ}\text{C} &= 0,0042 + 0,8950 \\ &= 0,8992 \end{aligned}$$

Bobot jenis minyak atsiri bangle menurut praktek adalah 0,8201

Bobot jenis minyak atsiri lengkuas merah menurut praktek adalah 0,7721

### Lampiran 11. Hasil perhitungan indeks bias minyak atsiri

Sampel	Indeks bias praktek (31°C)	Indeks bias pustaka (25°C)
Bangle	1,495	1.4750 (Balitro, 2006)
Lengkuas merah	1,487	1,3-1,7 (Guenther, 1987)

Perhitungan konversi suhu ruang dalam pemeriksaan indeks bias :

Faktor konversi suhu pada setiap kenaikan 1°C = 0,0004

Indeks bias minyak atsiri bangle teoritis suhu 25°C = 1,4750

Indeks bias minyak atsiri lengkuas merah teoritis suhu 25°C = 1,3-1,7

Suhu ruang praktek 31°C

Perhitungan :

Konversi = ((31-25) x 0,0004) = 0,0024

Indeks bias pada suhu 31°C = 1,475 + 0,0024  
= 1,4774

Jadi, indeks bias teoritis pada bangle adalah = 1,4774

Konversi = ((31-25) x 0,0004) = 0,0024

Indeks bias pada suhu 31°C = (1,3 + 0,0024) – (1,7 + 0,0024)

Jadi, indeks bias teoritis pada lengkuas merah adalah = 1,3024 – 1,7024

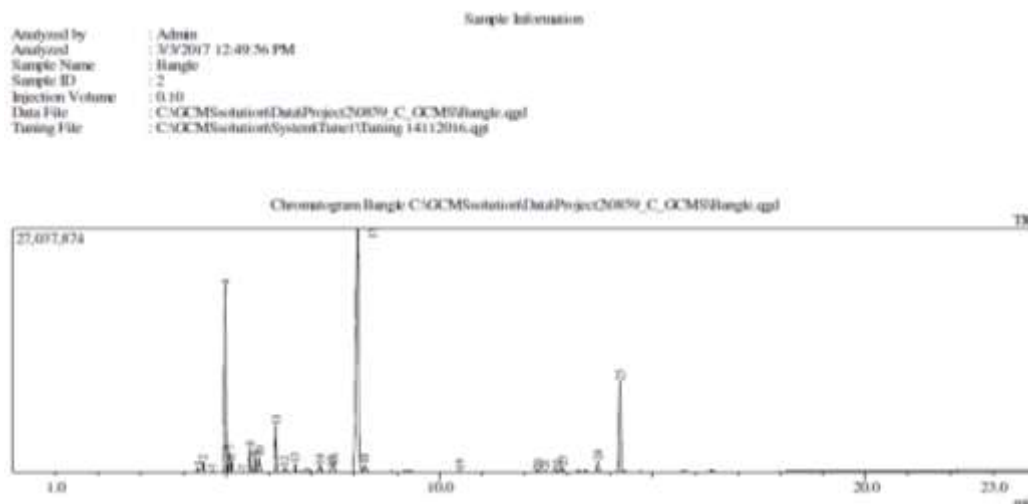
Indeks bias minyak atsiri bangle menurut praktek adalah 1,495

Indeks bias minyak atsiri lengkuas merah menurut praktek adalah 1,487

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

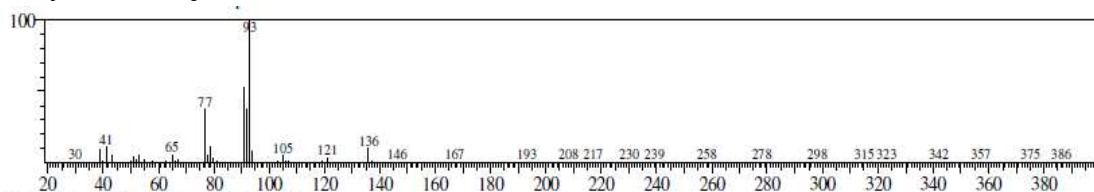
## Lampiran 12. Hasil analisis GCMS minyak atsiri

### Kromatogram minyak atsiri bangle



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

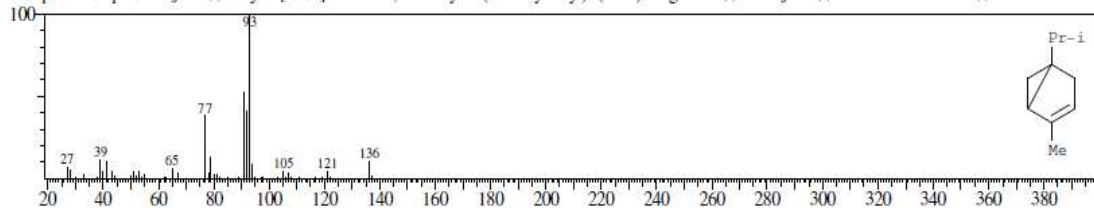
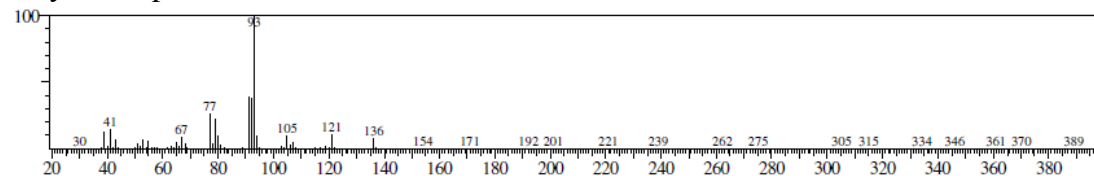
Peak	Senyawa	RT (min)	BM	Kadar (%)
1	$\alpha$ -thujene	4.344	136	0.44
2	$\alpha$ -pinene	4.464	136	0.84
3	Camphene	4.680	136	0.17
4	Sabinen	4.982	136	17.36
5	1- $\beta$ -pinene	5.059	136	1.59
6	$\beta$ -myrcene	5.128	136	0.90
7	1-phellandrene	5.394	136	0.12
8	$\alpha$ -terpinene	5.563	136	2.23
9	benzene, methyl (1-methylethyl)	5.675	134	1.28
10	Sabinen	5.769	136	2.18
11	$\gamma$ -terpinene	6.170	136	4.29
12	trans Sabinene hydrate	6.373	154	0.99
13	$\alpha$ -terpinolene	6.621	136	0.73
14	p-menth-2-en-1-ol	7.192	154	1.18
15	p-menth-2-en-1-ol	7.467	154	0.72
16	Citronella	7.523	154	0.81
17	Terpinene-4-ol	8.088	154	48.65
18	3-Cyclohexene-1-methanol, alpha 4-trimethyl-(CAS)cyclohexene, 1-methyl-4-(2-propanol-2-yl)	8.258	154	1.03
19	$\alpha$ -terpinenyl acetate	10.484	196	0.19
20	methyl eugenol	12.300	178	0.34
21	Zingiberene	12.483	204	0.14
22	2-allyl-1,4-dimethoxy-3-methyl-benzene	12.765	192	0.20
23	$\beta$ -sesquiphellandrene	12.894	204	0.43
24	3-(2-methoxy-5-methyl-phenyl)-acrylic acid	13.719	192	1.25
25	triquinacen, 1,4-bis(methoxy)	14.238	190	11.93

Senyawa  $\alpha$ -thujene

Hit#:1 Entry:26414 Library:WILEY7.LIB

SE:97 Formula:C10 H16 CAS:2867-05-2 MolWeight:136 RetIndex:0

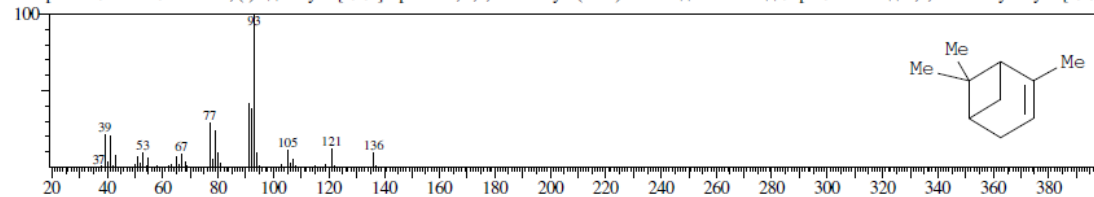
CompName:alpha-Thujene \$\$ Bicyclo[3.1.0]hex-2-ene, 2-methyl-5-(1-methylethyl)- (CAS) Origanene \$\$ 3-Thujene \$\$ ALPHA-THUJENE \$\$ ALFA-THUJEN

Senyawa  $\alpha$ -pinene

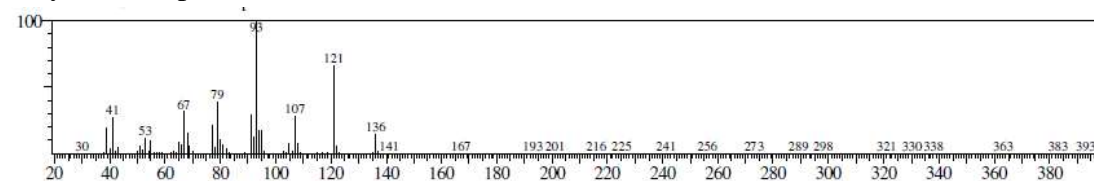
Hit#:1 Entry:26447 Library:WILEY7.LIB

SE:98 Formula:C10 H16 CAS:80-56-8 MolWeight:136 RetIndex:0

CompName:ALPHA-PINENE, (-) \$\$ Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene, 2,6,6-trimethyl- (CAS) Pinene \$\$ 2-Pinene \$\$ alpha-Pinene \$\$ 2,6,6-Trimethylbicyclo[3.1.1]



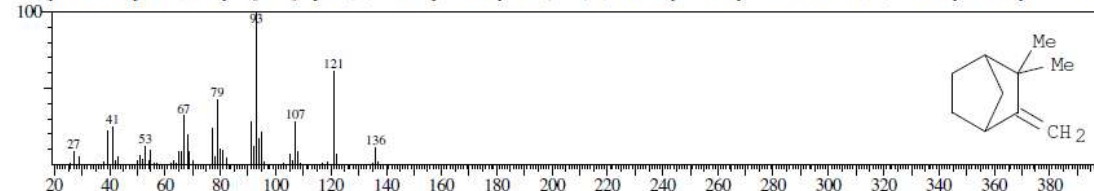
## Senyawa camphene



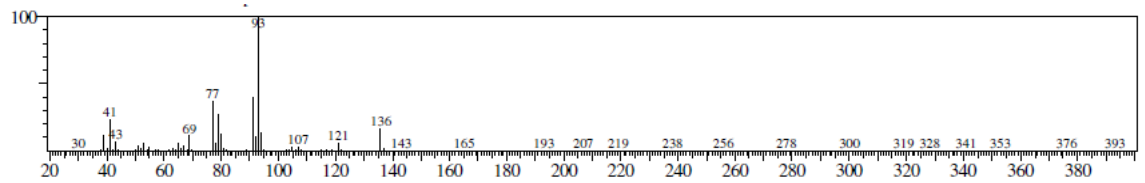
Hit#:1 Entry:26396 Library:WILEY7.LIB

SE:97 Formula:C10 H16 CAS:79-92-5 MolWeight:136 RetIndex:0

CompName:Camphene \$\$ Bicyclo[2.2.1]heptane, 2,2-dimethyl-3-methylene- (CAS) 3,3-Dimethyl-2-methylenenorbornane \$\$ 2,2-Dimethyl-3-methylenenorbornane



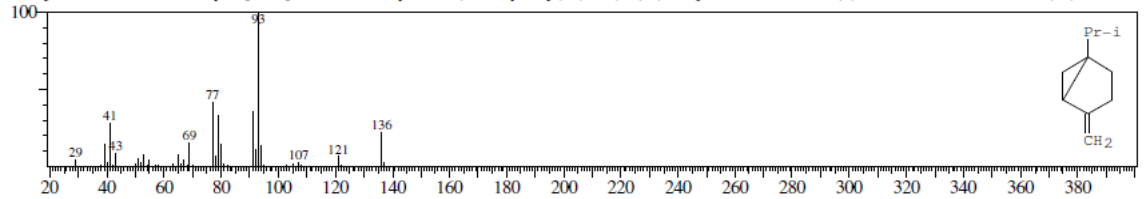
## Senyawa sabinen



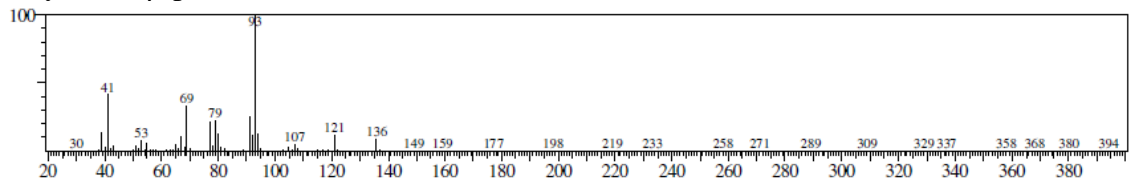
Hit#:1 Entry:26425 Library:WILEY7.LIB

SI:97 Formula:C10 H16 CAS:3387-41-5 MolWeight:136 RetIndex:0

CompName:Sabinene \$\$ Bicyclo[3.1.0]hexane, 4-methylene-1-(1-methylethyl)- (CAS) 4(10)-Thujene \$\$ Sabinen \$\$ (+)-Sabinene \$\$ THUJENE, 4(10)- \$\$ 1-Is



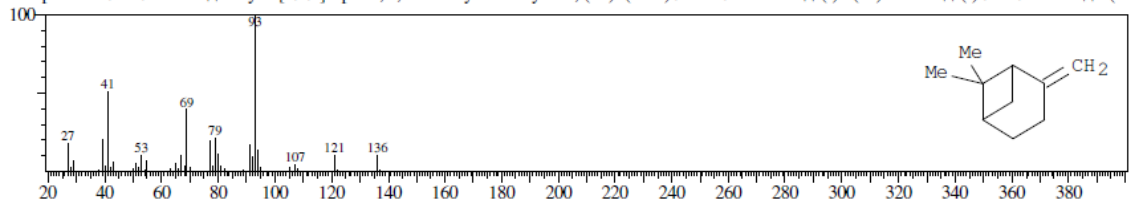
## Senyawa 1-β-pinene



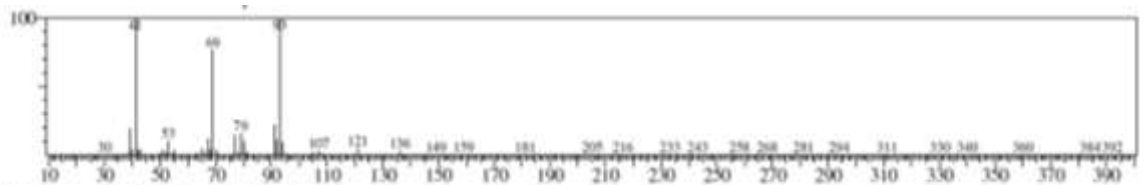
Hit#:1 Entry:26459 Library:WILEY7.LIB

SI:96 Formula:C10 H16 CAS:18172-67-3 MolWeight:136 RetIndex:0

CompName:1-.beta.-Pinene \$\$ Bicyclo[3.1.1]heptane, 6,6-dimethyl-2-methylene-, (1S)- (CAS) .BETA.-PINENE \$\$ (-)-2(10)-Pinene \$\$ (-)-.beta.-Pinene \$\$ 2(10



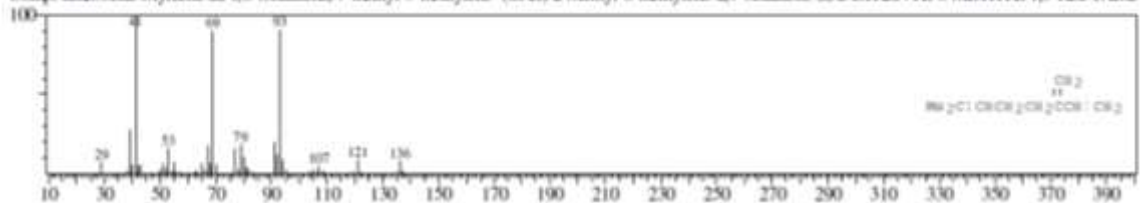
## Senyawa β-myrcene



Hit#:1 Entry:26198 Library:WILEY7.LIB

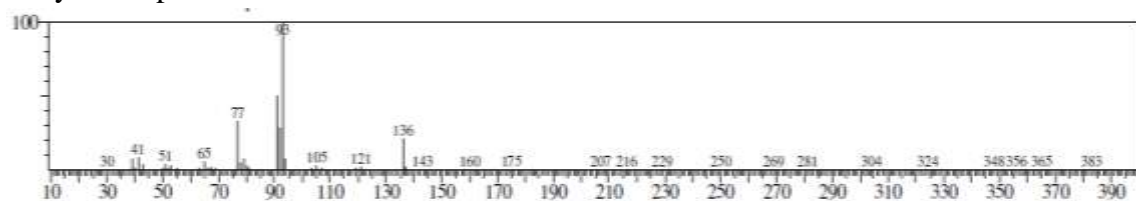
SI:96 Formula:C10 H16 CAS:123-35-3 MolWeight:136 RetIndex:0

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





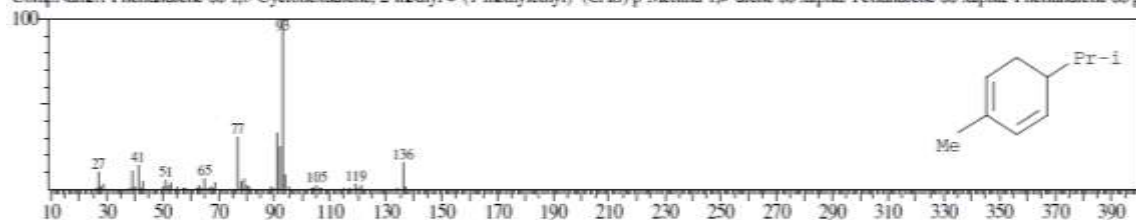
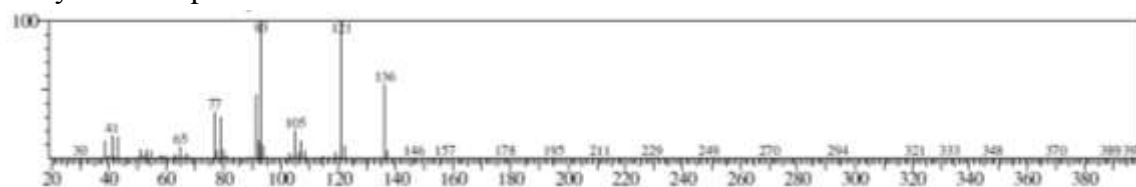
## Senyawa 1-phellandrene



Hit# 1 Entry: 26247 Library: WILEY7.LIB

SE95 Formula: C<sub>10</sub>H<sub>16</sub> CAS: 99-83-2 MolWeight: 136 RetIndex: 0

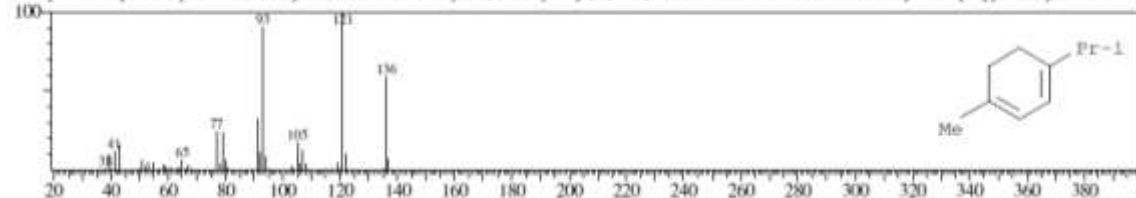
CompName: 1-Phellandrene SS 1,3-Cyclohexadiene, 2-methyl-5-(1-methylethyl)- (CAS) p-Mentha-1,5-diene SS alpha-Fellandrene SS alpha-Phellandrene SS p

Senyawa  $\alpha$ -terpinene

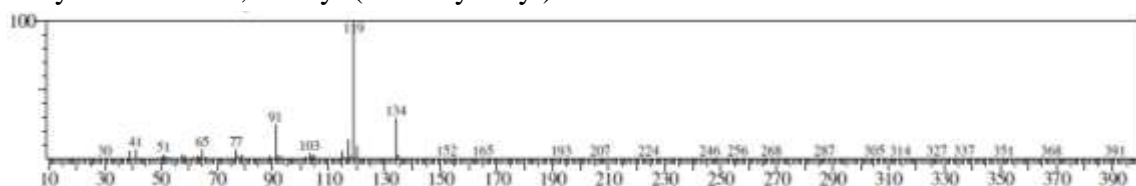
Hit# 2 Entry: 26227 Library: WILEY7.LIB

SE96 Formula: C<sub>10</sub>H<sub>16</sub> CAS: 99-86-5 MolWeight: 136 RetIndex: 0

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



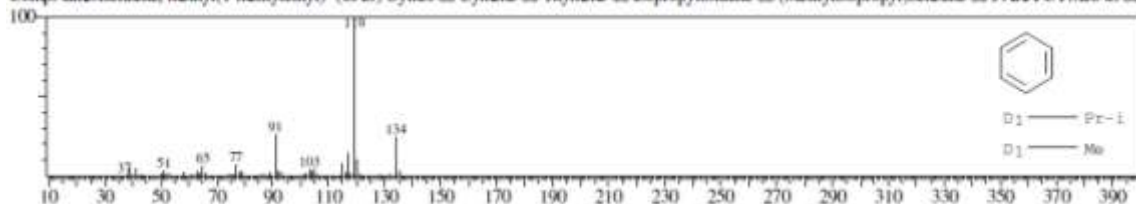
## Senyawa Benzene, methyl (1-methylethyl)



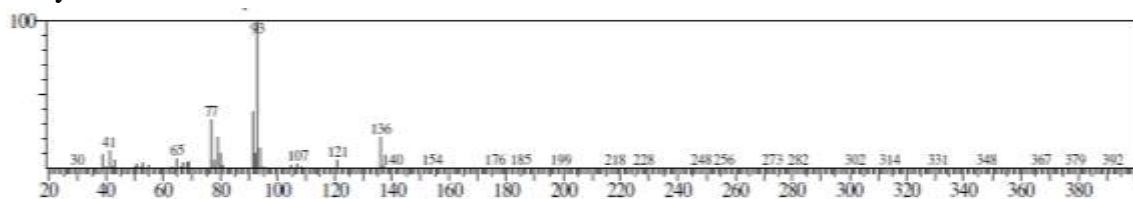
Hit# 1 Entry: 24425 Library: WILEY7.LIB

SE97 Formula: C<sub>10</sub>H<sub>14</sub> CAS: 25155-15-1 MolWeight: 134 RetIndex: 0

CompName: Benzene, methyl(1-methylethyl)- (CAS) Cymol SS Cymene SS Thymene SS Isopropyltoluene SS (Methylisopropyl)benzene SS PARA CYMENE SS



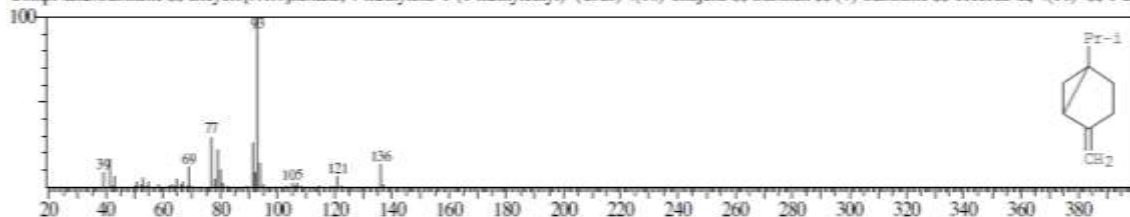
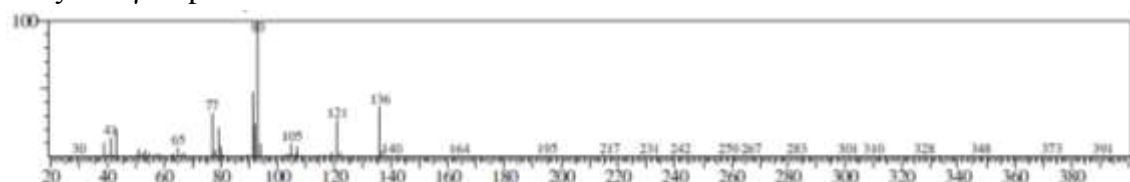
## Senyawa sabinen



Hit# 1 Entry: 26424 Library: WILEY7.LIB

SI: 96 Formula: C<sub>10</sub>H<sub>16</sub> CAS: 3387-41-5 MolWeight: 136 RetIndex: 0

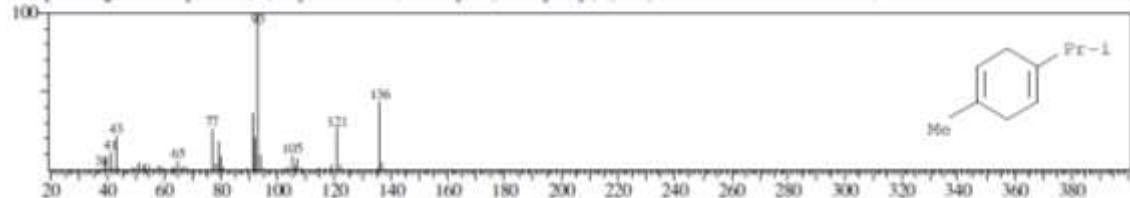
CompName: Sabinene SS Bicyclo[3.1.0]hexane, 4-methylene-1-(1-methylethyl)- (CAS) 4(10)-Thujene SS Sabinene SS (+)-Sabinene SS THUJENE, 4(10)- SS 1-Is

Senyawa  $\gamma$ -terpinene

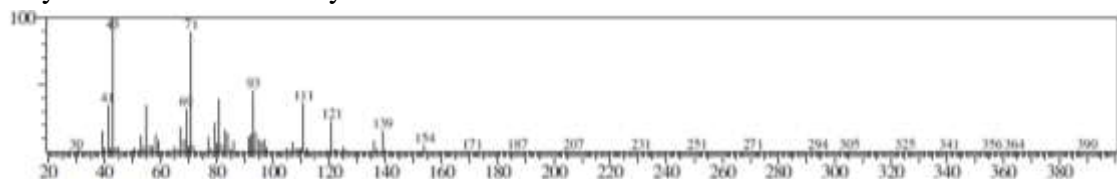
Hit# 1 Entry: 26276 Library: WILEY7.LIB

SI: 96 Formula: C<sub>10</sub>H<sub>16</sub> CAS: 99-85-4 MolWeight: 136 RetIndex: 0

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



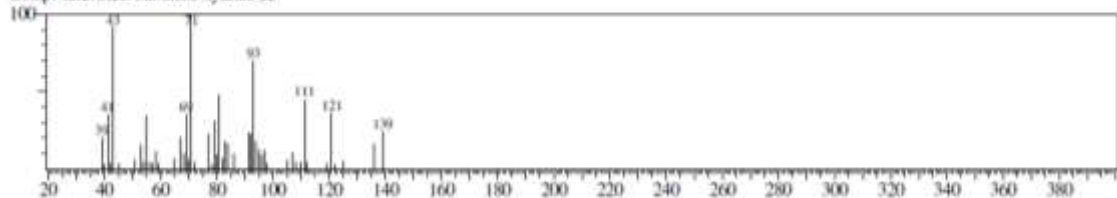
## Senyawa trans Sabinene hydrate

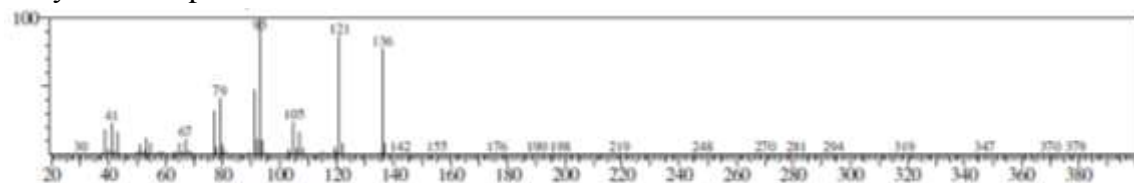


Hit# 1 Entry: 44050 Library: WILEY7.LIB

SI: 93 Formula: C<sub>10</sub>H<sub>18</sub>O CAS: 17699-16-0 MolWeight: 154 RetIndex: 0

CompName: trans Sabinene hydrate SS

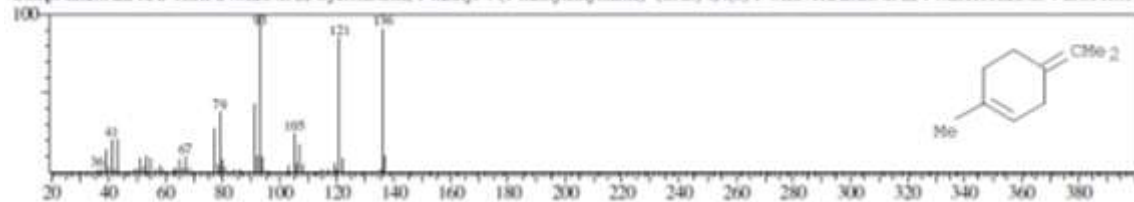


Senyawa  $\alpha$ -terpinolene

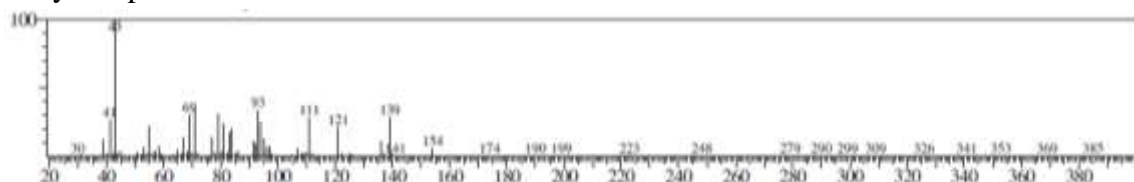
Hit# 1 Entry: 26336 Library: WILEY7.LIB

SE97 Formula: C<sub>10</sub>H<sub>16</sub> CAS: 586-62-9 MolWeight: 136 RetIndex: 0

CompName: ALPHA-TERPINOLENE SS Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethylidene)- (CAS) 1,4(8)-P-MENTHADENE SS 1-METHYLENE-4-ISOPROP



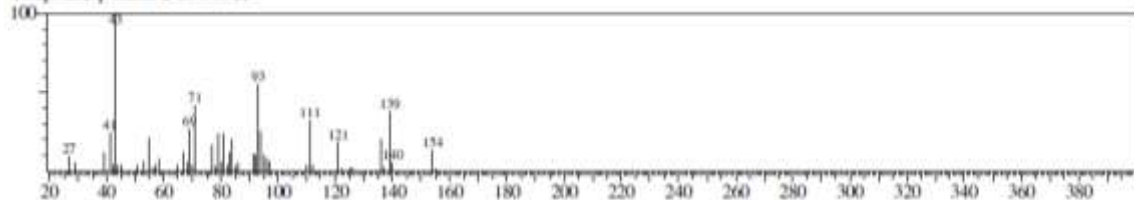
## Senyawa p-menth-2-en-1-ol



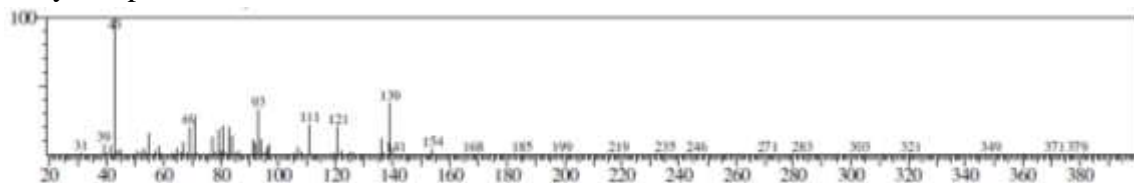
Hit# 1 Entry: 44042 Library: WILEY7.LIB

SE94 Formula: C<sub>10</sub>H<sub>18</sub>O CAS: 0-00-0 MolWeight: 154 RetIndex: 0

CompName: p-menth-2-en-1-ol SS



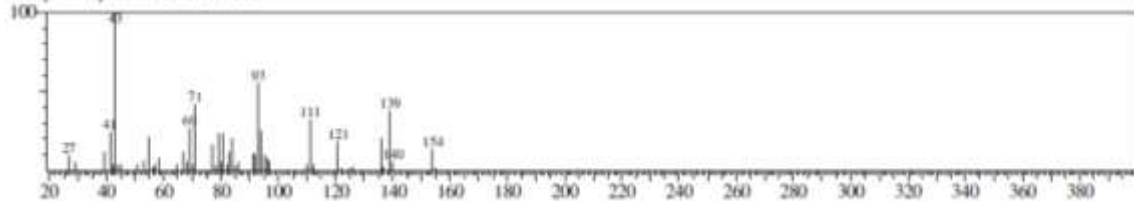
## Senyawa p-menth-2-en-1-ol



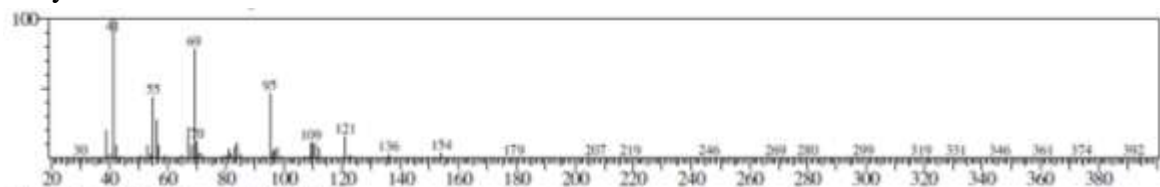
Hit# 1 Entry: 44042 Library: WILEY7.LIB

SE89 Formula: C<sub>10</sub>H<sub>18</sub>O CAS: 0-00-0 MolWeight: 154 RetIndex: 0

CompName: p-menth-2-en-1-ol SS



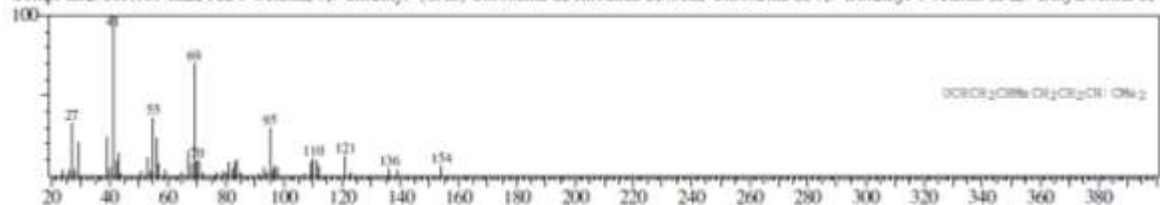
## Senyawa citronella



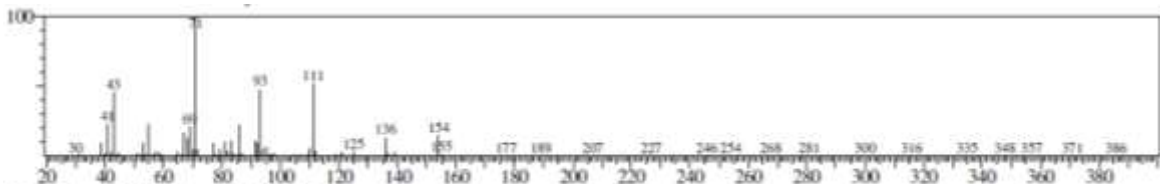
Hit# 1 Entry:43601 Library:WILEY7.LIB

SI93 Formula:C10H18O CAS:106-23-0 MolWeight:154 RetIndex:0

CompName:CITRONELLA SS 6-Octenal, 3,7-dimethyl- (CAS) Citronellal SS Rhodinol SS beta-Citronellal SS 3,7-Dimethyl-6-octenal SS 2,3-Dihydrocitra



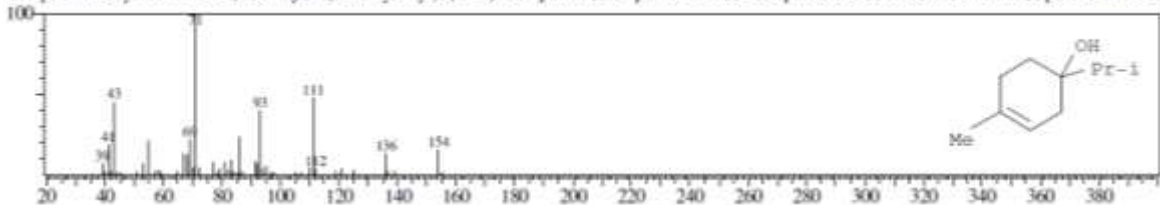
## Senyawa terpinene-4-ol



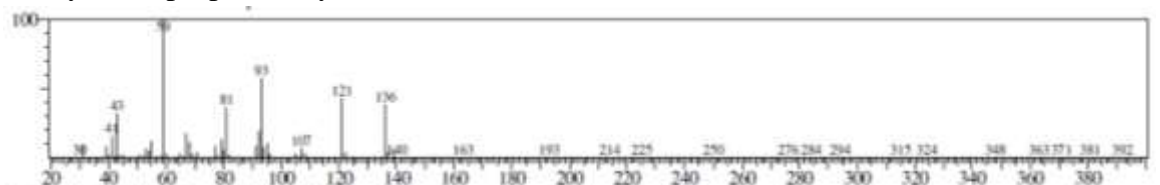
Hit# 1 Entry:43755 Library:WILEY7.LIB

SI97 Formula:C10H18O CAS:562-74-3 MolWeight:154 RetIndex:0

CompName:3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)- (CAS) 4-Terpinol SS Terpinene-4-ol SS 1-Terpinen-4-ol SS 4-Carvomenthenol SS p-Menth-1-en-4



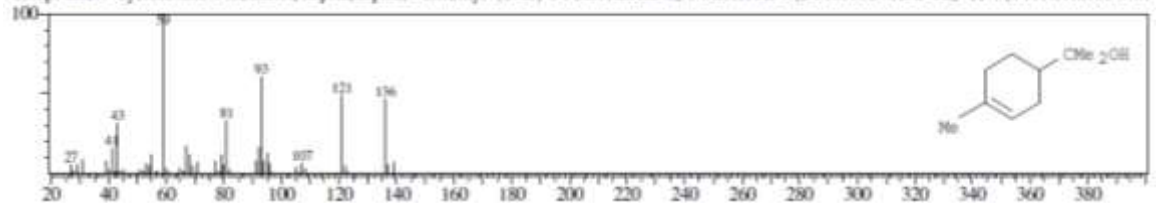
## Senyawa 3-Cyclohexene-1-methanol, alpha 4-trimethyl-(CAS)cyclohexene, 1-methyl-4-(2-propanol-2-yl)

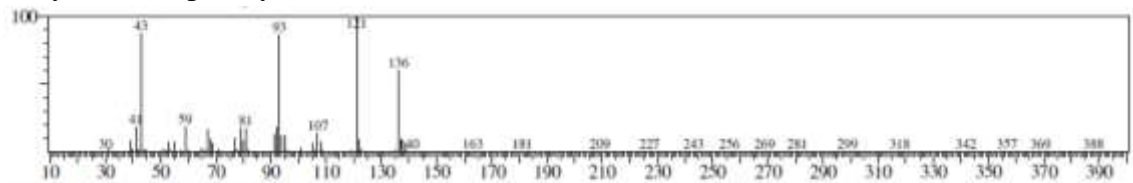


Hit# 1 Entry:43777 Library:WILEY7.LIB

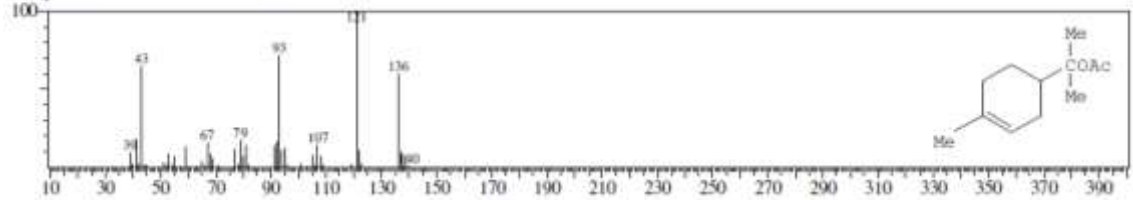
SI98 Formula:C10H18O CAS:98-55-5 MolWeight:154 RetIndex:0

CompName:3-Cyclohexene-1-methanol, alpha\_alpha,4-trimethyl- (CAS) CYCLOHEXENE, 1-METHYL-4-(2-PROPANOL-2-YL)- SS 4-(1-HYDROXY-1-M

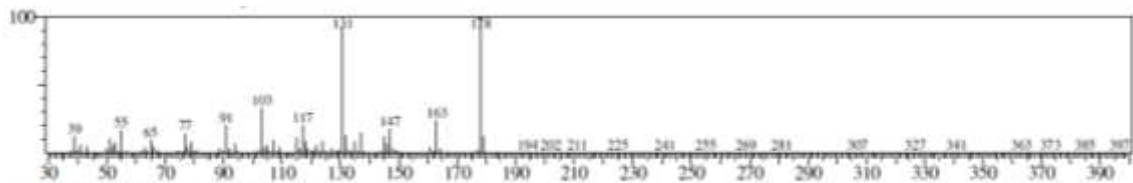


Senyawa  $\alpha$ -terpinenyl acetate

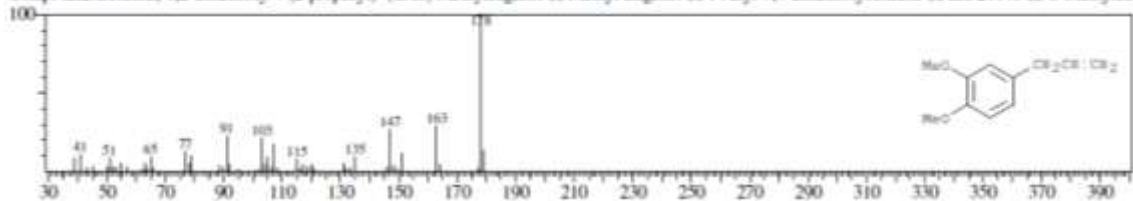
Hit# 1 Entry:90186 Library:WILEY7.LIB  
 SE97 Formula:C12H20O2 CAS:80-26-2 MolWeight:196 RetIndex:0  
 CompName:ALPHA-TERPINENYL ACETATE SS



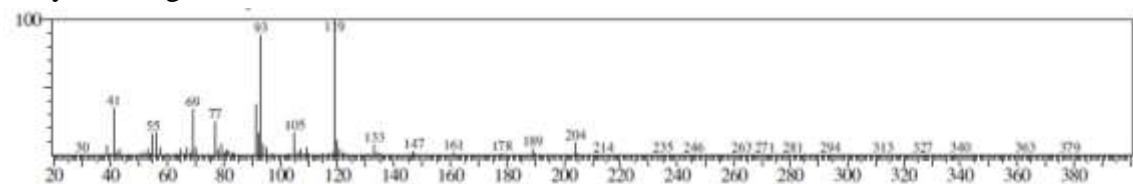
## Senyawa methyl eugenol



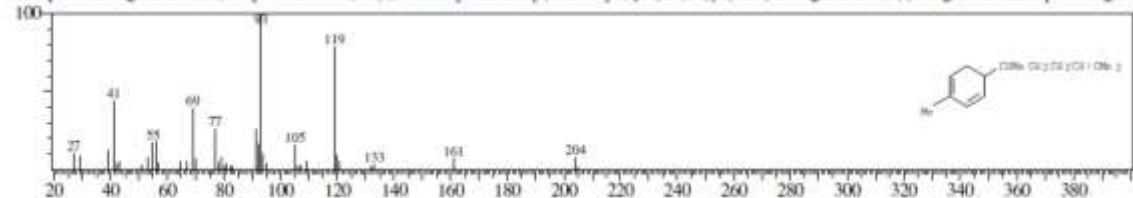
Hit# 1 Entry:69409 Library:WILEY7.LIB  
 SE70 Formula:C11H14O2 CAS:93-15-2 MolWeight:178 RetIndex:0  
 CompName:Benzene, 1,2-dimethoxy-4-(2-propenyl)- (CAS) Methyl Eugenol SS Methyl Eugenol SS 1-Allyl-3,4-dimethoxybenzene SS Est 21040 SS O-Methyleu



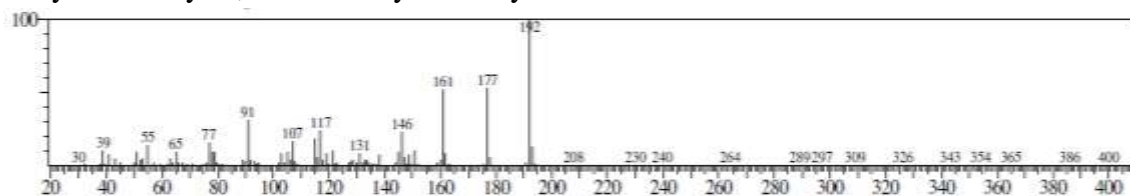
## Senyawa zingiberene



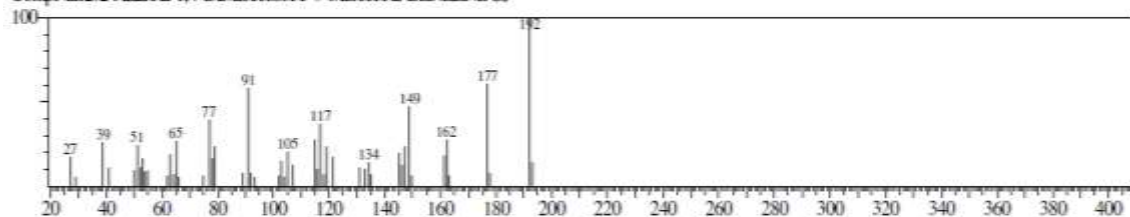
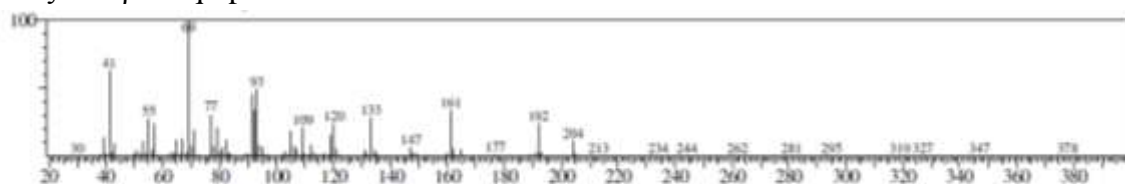
Hit# 1 Entry:100701 Library:WILEY7.LIB  
 SE93 Formula:C15H24 CAS:495-60-3 MolWeight:204 RetIndex:0  
 CompName:Zingiberene SS 1,3-Cyclohexadiene, 5-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-2-methyl-, [S-(R\*,S\*)]- (CAS) 1-Zingiberene SS (-)-Zingiberene SS alpha-Zingibe



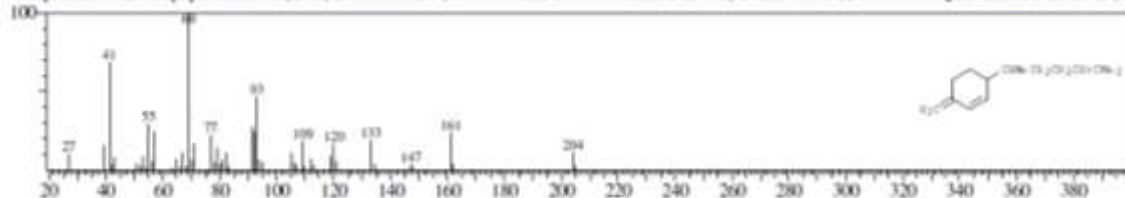
## Senyawa 2-allyl-1,4-dimethoxy-3-methyl-benzene



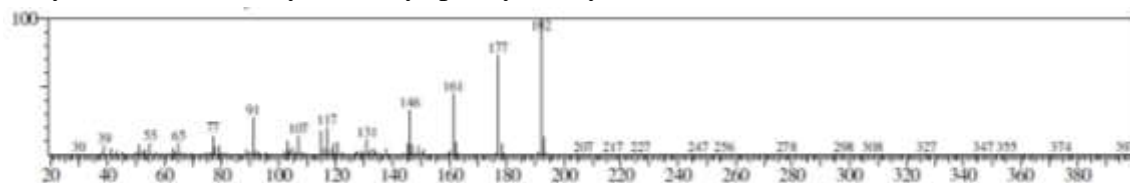
Hit# 1 Entry: 84921 Library: WILEY7.LIB  
 SE 79 Formula: C<sub>12</sub>H<sub>16</sub>O<sub>2</sub> CAS: 0-00-0 MolWeight: 192 RetIndex: 0  
 CompName: 2-ALLYL-1,4-DIMETHOXY-3-METHYL-BENZENE SS

Senyawa  $\beta$ -sesquiphellandrene

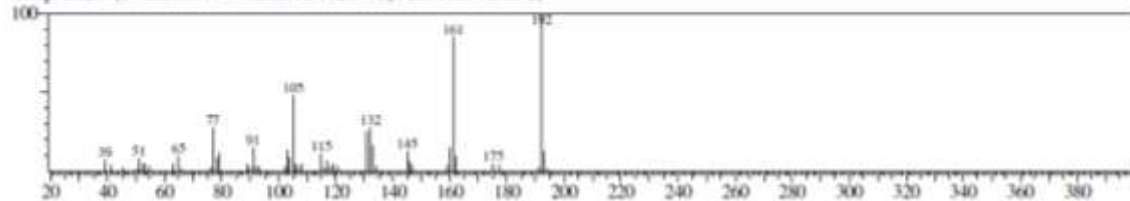
Hit# 1 Entry: 100703 Library: WILEY7.LIB  
 SE 91 Formula: C<sub>15</sub>H<sub>24</sub> CAS: 20307-83-9 MolWeight: 204 RetIndex: 0  
 CompName: beta-Sesquiphellandrene (CAS) 2-METHYL-6-(4-METHYLENOCYCLOHEX-2-ENYL)-2-HEPTENE SS BETA-SESQUIPHELLANDRENE SS



## Senyawa 3-(2-methoxy-5-methyl-phenyl)-acrylic acid

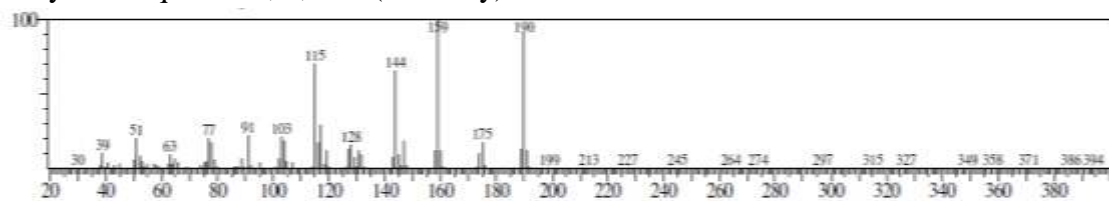


Hit# 1 Entry: 84591 Library: WILEY7.LIB  
 SE 80 Formula: C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>O<sub>3</sub> CAS: 103986-76-1 MolWeight: 192 RetIndex: 0  
 CompName: 3-(2-METHOXY-5-METHYL-PHENYL)-ACRYLIC ACID SS





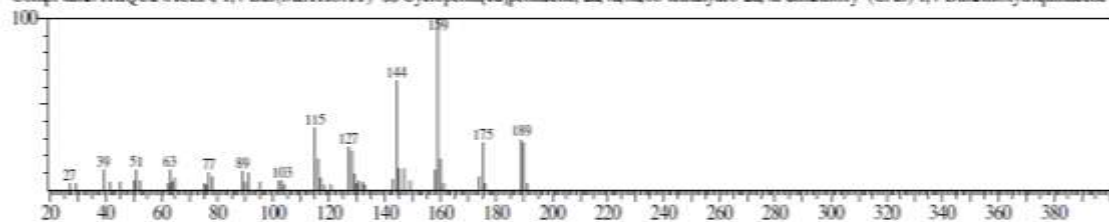
## Senyawa triquinacen, 1,4-bis(methoxy)



Hit# 1 Entry: 82703 Library: WILEY7.LIB

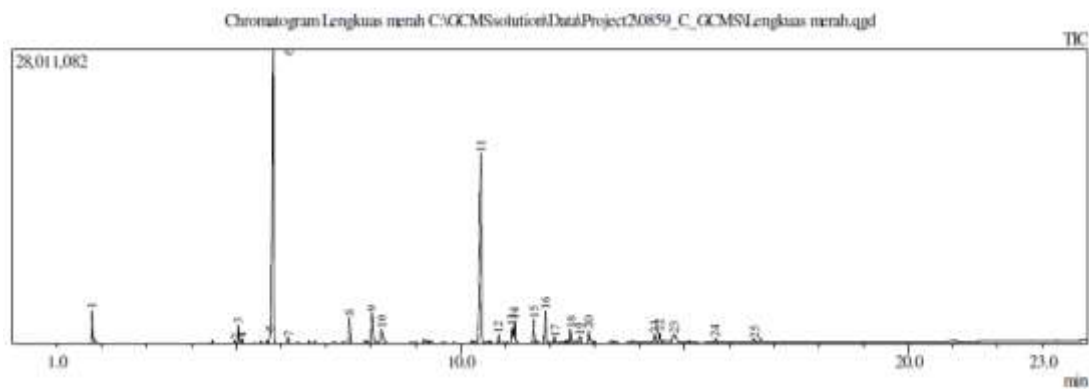
SE84 Formula: C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>O<sub>2</sub> CAS: 60958-96-5 MolWeight: 190 RetIndex: 0

CompName: TRIQUINACEN, 1,4-BIS(METHOXY)- 5S-Cyclopenta[cd]pentalene, 2a,4a,6a,6b-tetrahydro-2a,4a-dimethoxy- (CAS) 1,4-Dimethoxytriquinacene



## Kromatogram minyak atsiri lengkuas merah

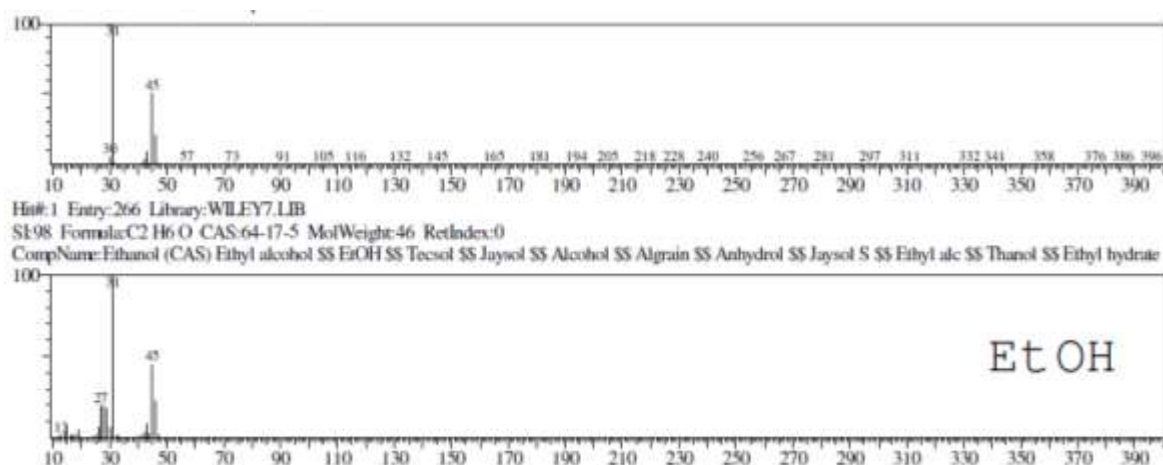
Sample Information	
Analyzed by	: Admin
Analyzed	: 3/3/2017 12:21:34 PM
Sample Name	: Lengkuas merah
Sample ID	: 1
Injection Volume	: 0.10
Data File	: C:\GCMSolution\Data\Project20859_C_GCMS\Lengkuas merah.qgd
Tuning File	: C:\GCMSolution\SystemTune1\Tuning 14112016.qgt



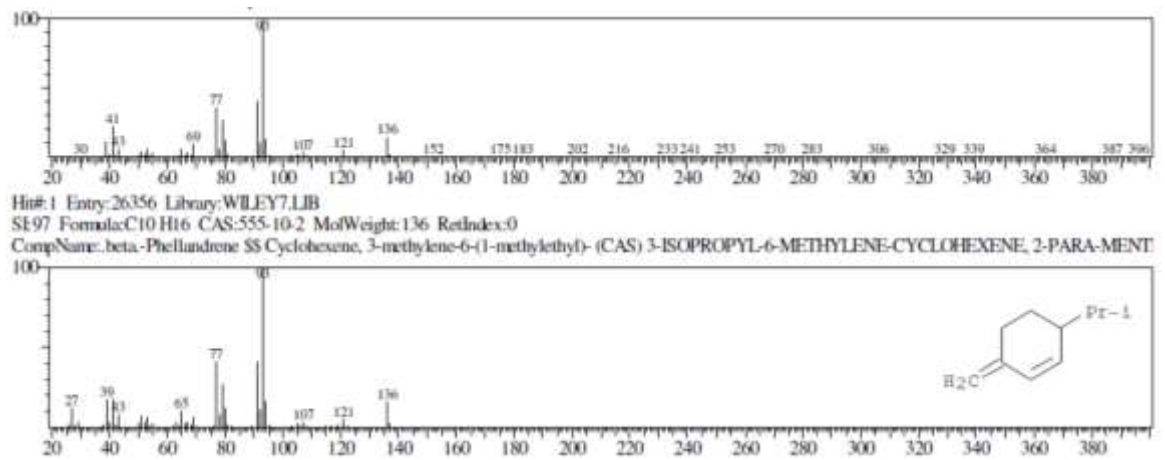
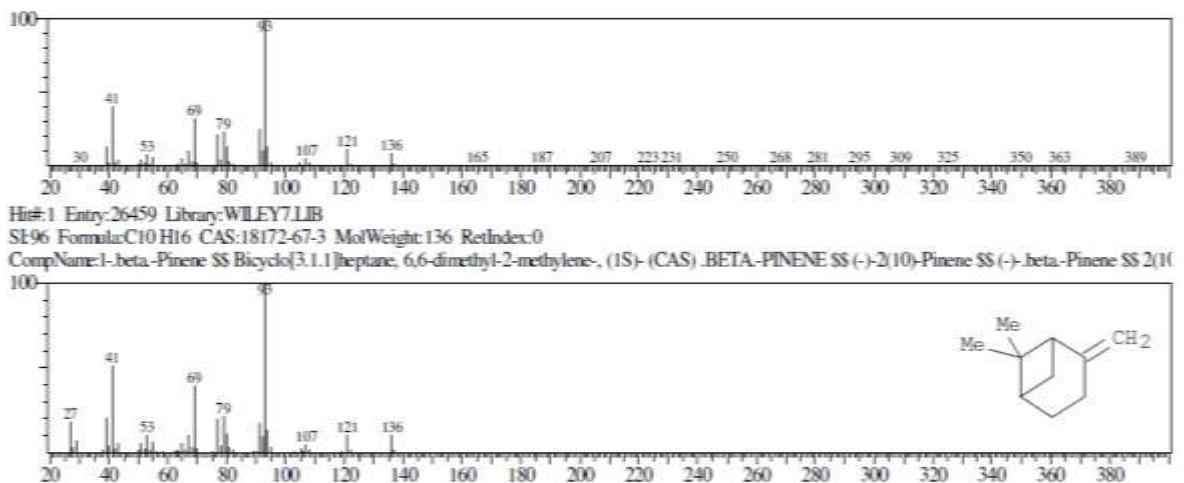
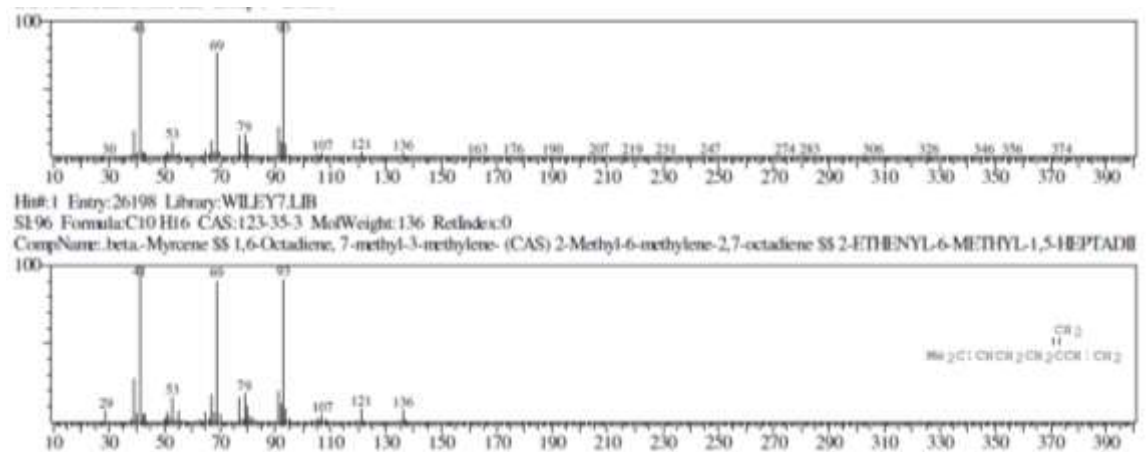
**Tabel Hasil analisis komponen minyak atsiri bangle dengan GC-MS**

Peak	Senyawa	RT (min)	BM	Kadar (%)
1	Tecsol	1.782	46	2.60
2	$\beta$ -Phellandrene	4.969	136	0.27
3	$\beta$ -pinene	5.053	136	1.61
4	$\beta$ -Myrcene	5.128	136	0.33
5	Bornylene	5.750	136	1.10
6	eucalyptol (1,8-cineole)	5.824	154	35.65
7	$\gamma$ -terpinene	6.166	136	0.50
8	Citronella	7.524	154	2.36
9	Terpinen-4-ol	8.029	154	4.35
10	linalyl propionate	8.242	210	2.45
11	Chavicol acetate	10.463	176	29.91
12	geranyl acetate	10.856	196	0.80
13	$\beta$ -elemene	11.159	204	1.58
14	methyl eugenol	11.211	178	2.29
15	trans- $\beta$ -caryophyllene	11.640	204	2.43
16	$\beta$ -farnesene	11.898	204	3.17
17	$\alpha$ -humulene	12.105	204	0.61
18	germacrene-d	12.459	204	1.30
19	cis-caryophyllene	12.666	204	0.67
20	acetyl eugenol	12.867	206	1.40
21	4-Carboxy-1,3-dimethylbenzene	14.338	150	0.99
22	trans- $\beta$ -ionon-5,6-epoxide	14.443	208	1.03
23	Juniper camphor	14.782	222	1.79
24	Zerumbone	15.693	218	0.42
25	farnesyl acetate	16.563	264	0.40

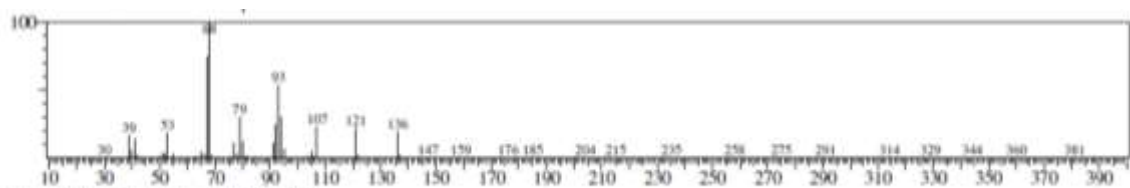
## Senyawa Tecsol





Senyawa  $\beta$ -PhellandreneSenyawa  $\beta$ -pineneSenyawa  $\beta$ -Myrcene

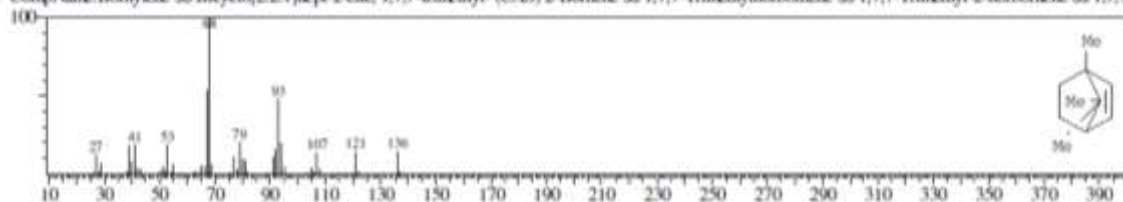
## Senyawa bornylene



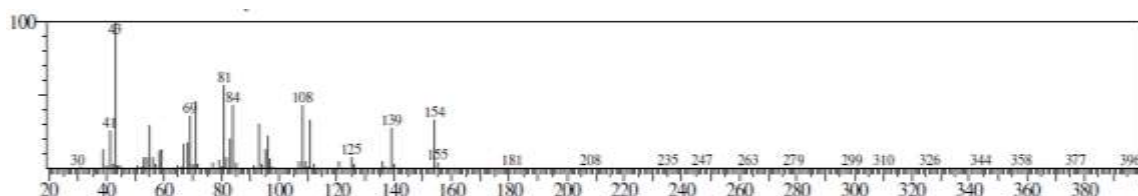
Hit# 1 Entry: 26384 Library: WILEY7.LIB

SE 93 Formula: C<sub>10</sub>H<sub>16</sub> CAS: 464-17-5 MolWeight: 136 RetIndex: 0

CompName: Bornylene SS Bicyclo[2.2.1]hept-2-ene, 1,7,7-trimethyl- (CAS) 2-Bornene SS 1,7,7-Trimethylnorbornene SS 1,7,7-Trimethyl-2-norbornene SS 1,7,7-



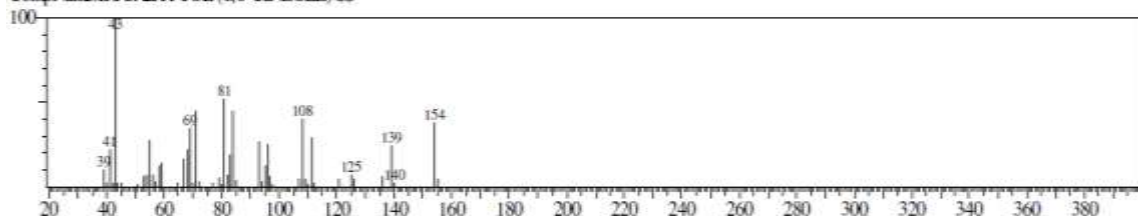
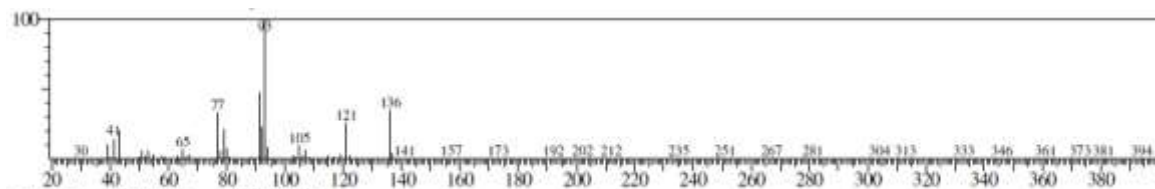
## Senyawa eucalyptol (1,8-cineole)



Hit# 1 Entry: 43026 Library: WILEY7.LIB

SE 98 Formula: C<sub>10</sub>H<sub>18</sub>O CAS: 0-00-0 MolWeight: 154 RetIndex: 0

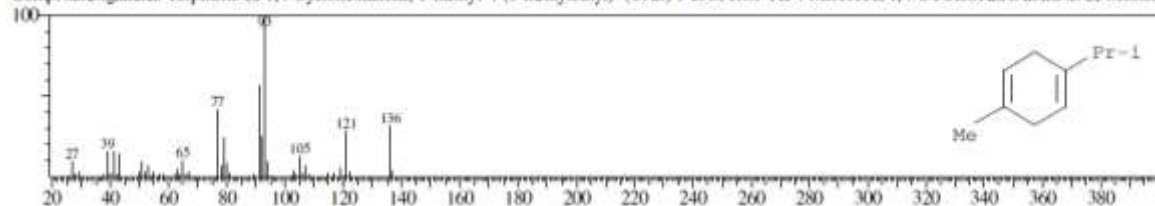
CompName: EUCALYPTOL (1,8-CINEOLE) SS

Senyawa  $\gamma$ -terpinene

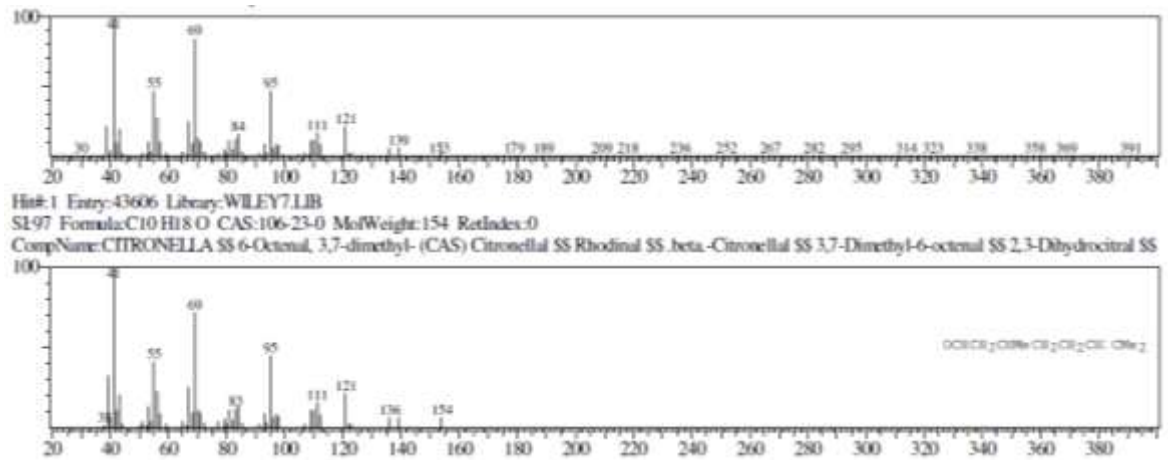
Hit# 1 Entry: 26280 Library: WILEY7.LIB

SE 96 Formula: C<sub>10</sub>H<sub>16</sub> CAS: 99-85-4 MolWeight: 136 RetIndex: 0

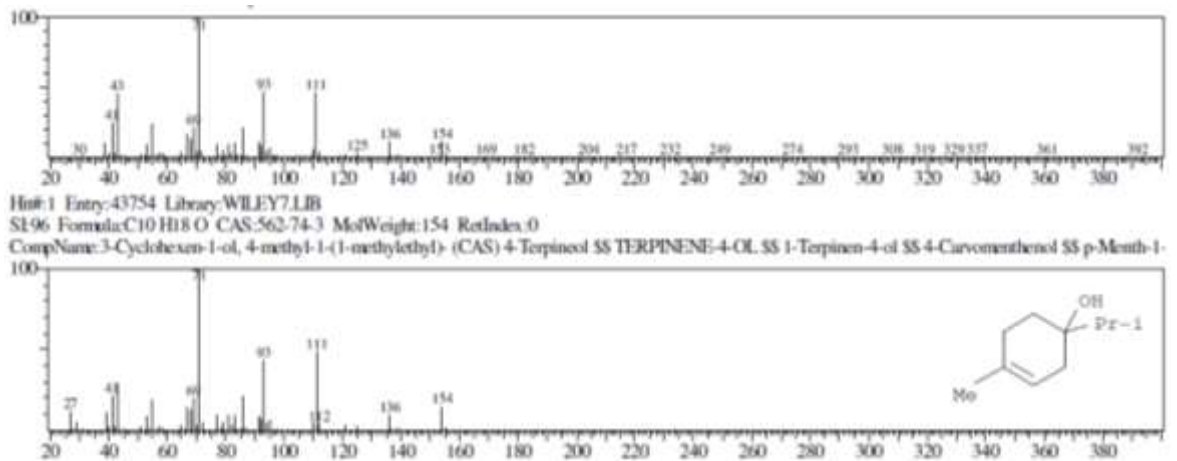
CompName: gamma-Terpinene SS 1,4-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)- (CAS) 1-ISOPROPYL-4-METHYL-1,4-CYCLOHEXADIENE SS Moslen



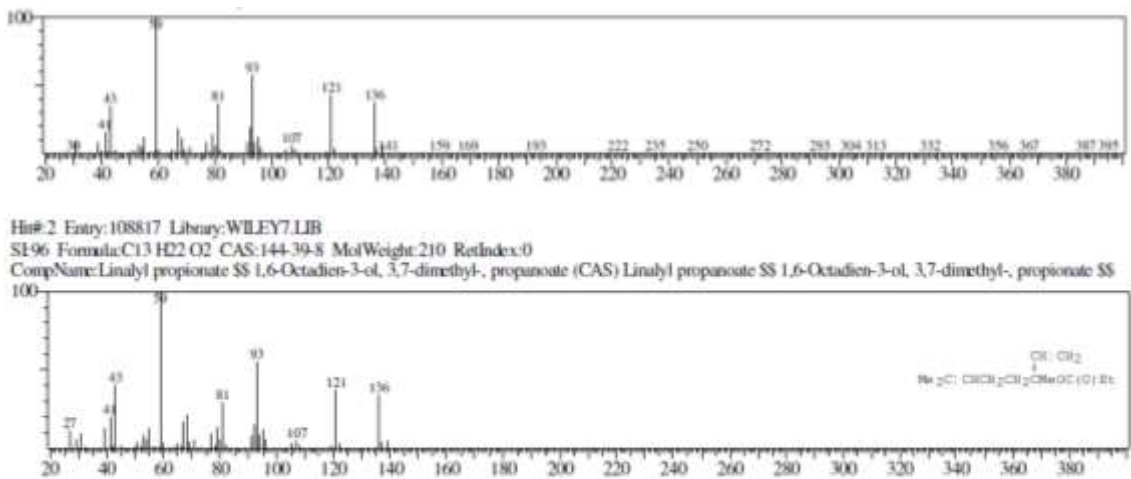
## Senyawa citronella



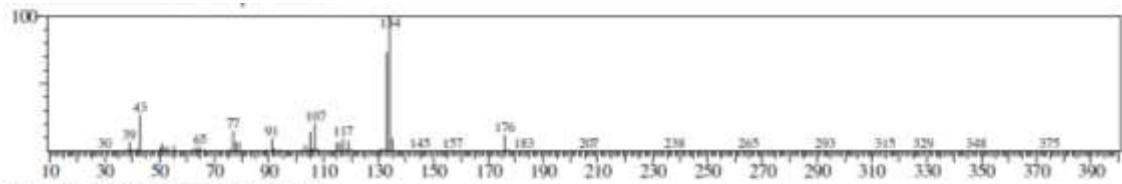
## Senyawa Terpinen-4-ol



## Senyawa linalyl propionate



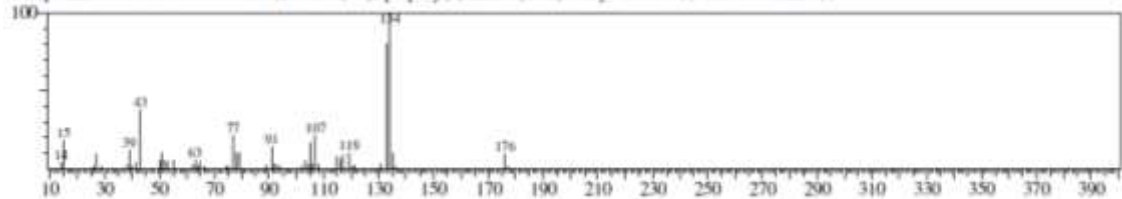
## Senyawa Chavicol acetate



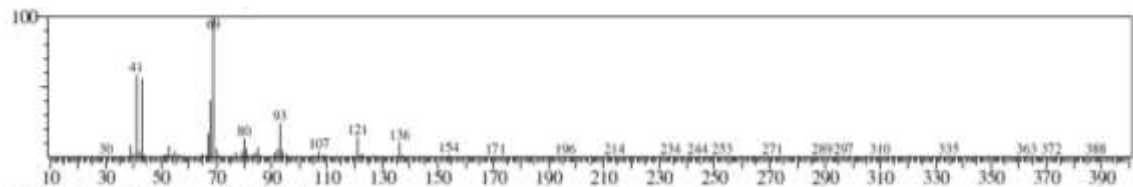
Hit# 1 Entry: 66547 Library: WILEY7.LIB

SE: 94 Formula: C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>O<sub>2</sub> CAS: 61499-22-7 MolWeight: 176 RetIndex: 0

CompName: CHAVICYL ACETATE SS Phenol, 4-(2-propenyl)-, acetate (CAS) Acetyl chavicol SS Chavicol acetate SS



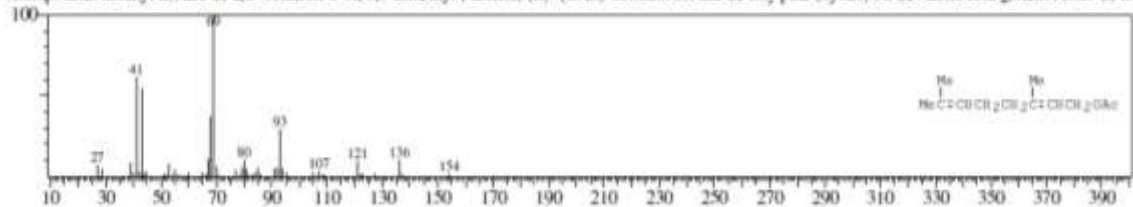
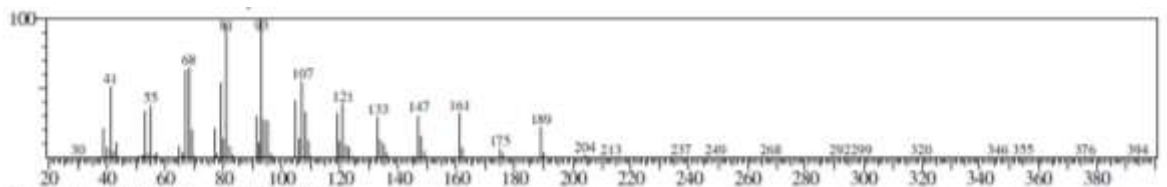
## Senyawa geranyl acetate



Hit# 1 Entry: 91009 Library: WILEY7.LIB

SE: 97 Formula: C<sub>12</sub>H<sub>20</sub>O<sub>2</sub> CAS: 105-87-3 MolWeight: 196 RetIndex: 0

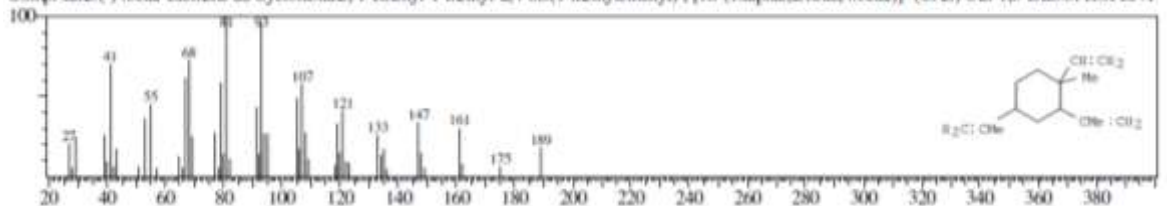
CompName: Geranyl acetate SS 2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl-, acetate, (E)- (CAS) Geraniol acetate SS Bay pine (oyster) oil SS Acetic acid geraniol ester SS tr

Senyawa  $\beta$ -elemene

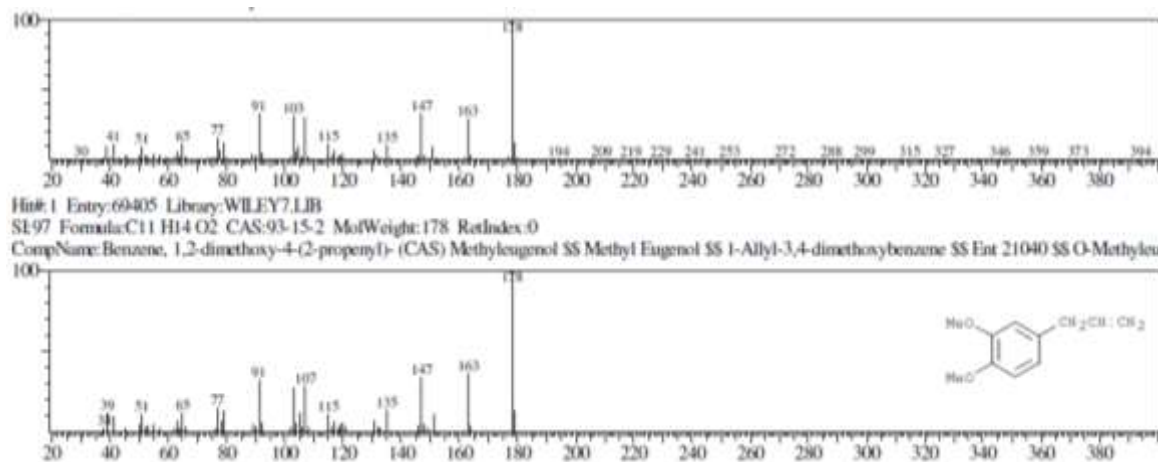
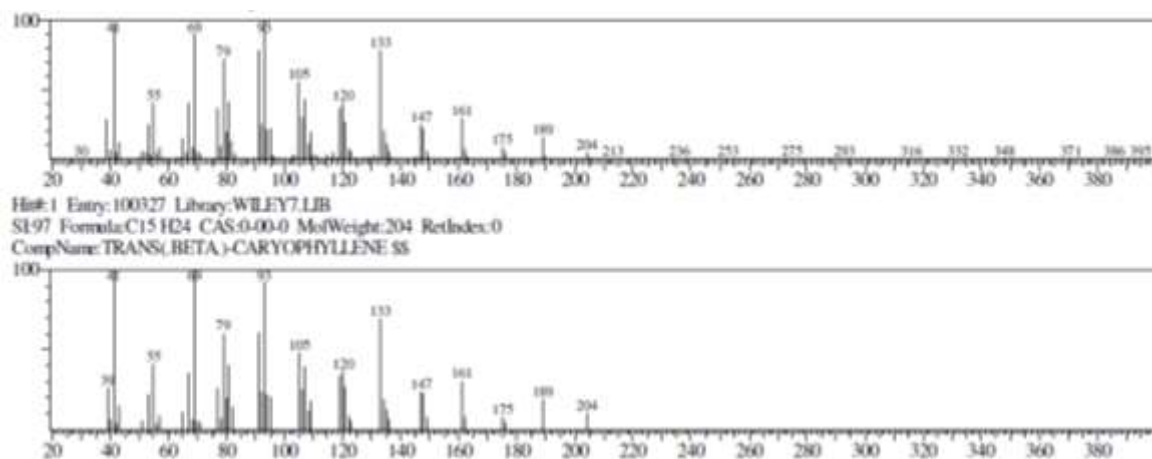
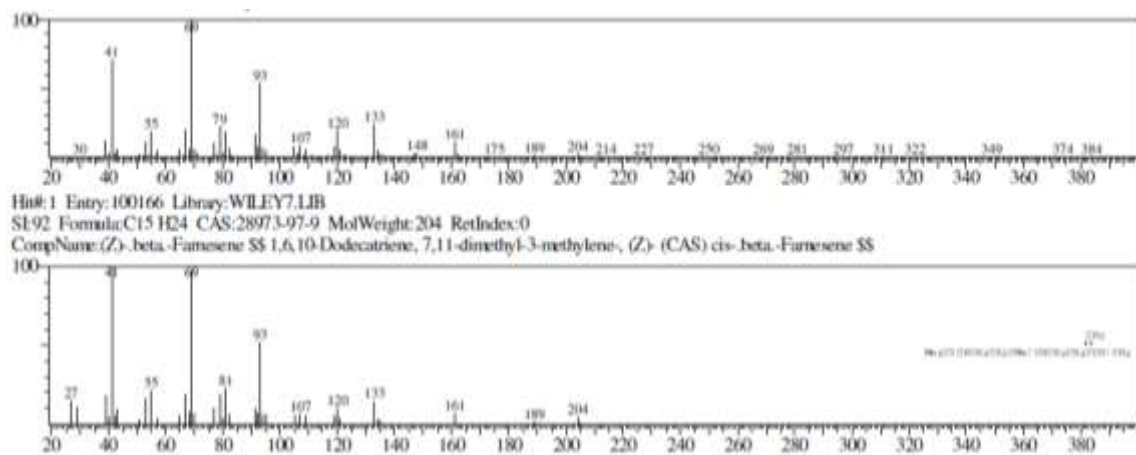
Hit# 1 Entry: 100726 Library: WILEY7.LIB

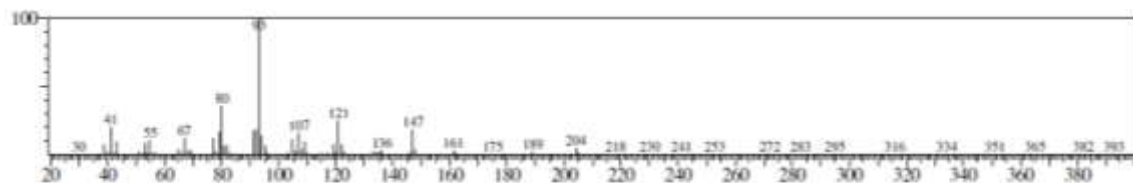
SE: 96 Formula: C<sub>15</sub>H<sub>24</sub> CAS: 515-13-9 MolWeight: 204 RetIndex: 0

CompName: (-)-beta-Elemene SS Cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2,4-bis(1-methylethenyl)-, [1S-(1.alpha.,2.beta.,4.beta.)]- (CAS) CIS-1,3-DISOPROPENY



## Senyawa methyl eugenol

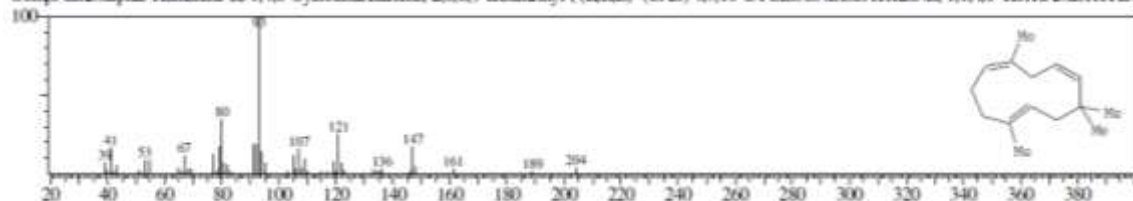
Senyawa trans- $\beta$ -caryophylleneSenyawa  $\beta$ -farnesene

Senyawa  $\alpha$ -humulene

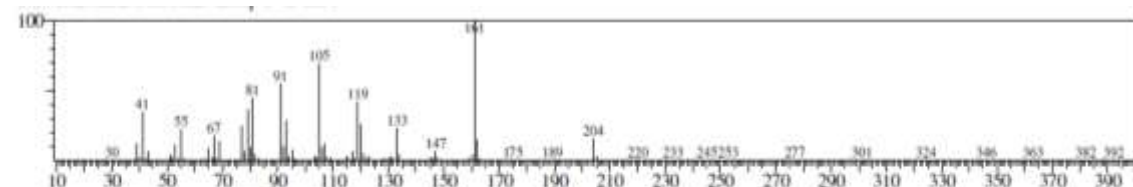
Hit#1 Entry:100734 Library:WILEY7.LIB

SE98 Formula:C15 H24 CAS:6753-98-6 MolWeight:204 RetIndex:0

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



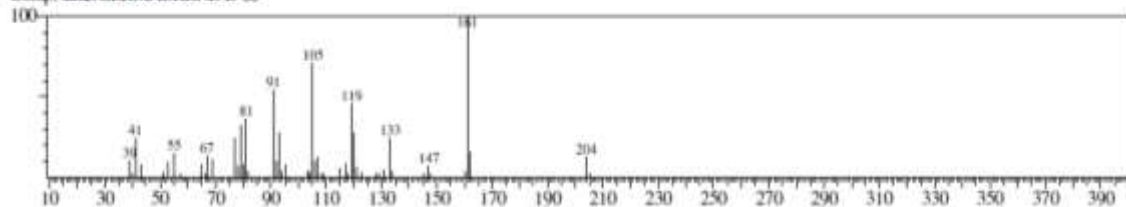
## Senyawa germacrene-d



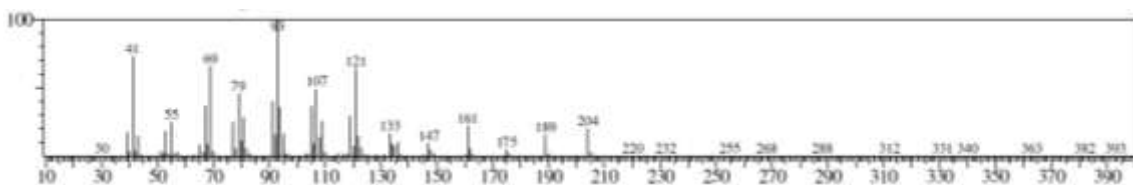
Hit#1 Entry:100272 Library:WILEY7.LIB

SE97 Formula:C15 H24 CAS:23986-74-5 MolWeight:204 RetIndex:0

CompName:GERMACRENE-D SS



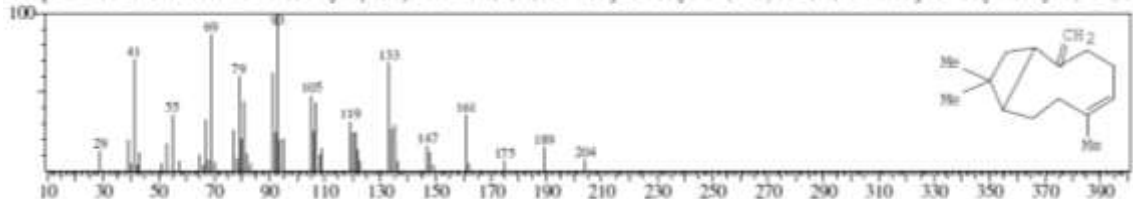
## Senyawa cis-caryophyllene



Hit#2 Entry:100771 Library:WILEY7.LIB

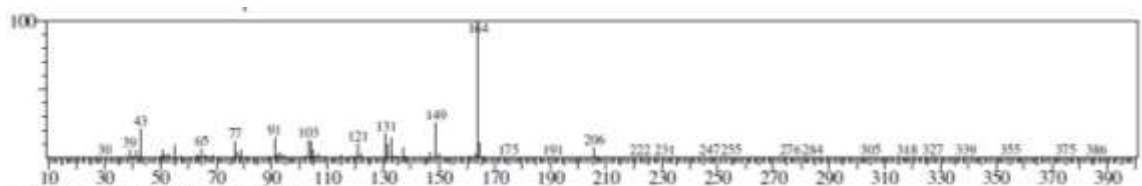
SE91 Formula:C15 H24 CAS:13877-93-5 MolWeight:204 RetIndex:0

CompName: CIS-CARYOPHYLLENE SS Bicyclo[7.2.0]undec-4-ene, 4,11,11-trimethyl-8-methylene-, (CAS) cis-4,11,11-Trimethyl-8-methylenebicyclo[7.2.0]non-





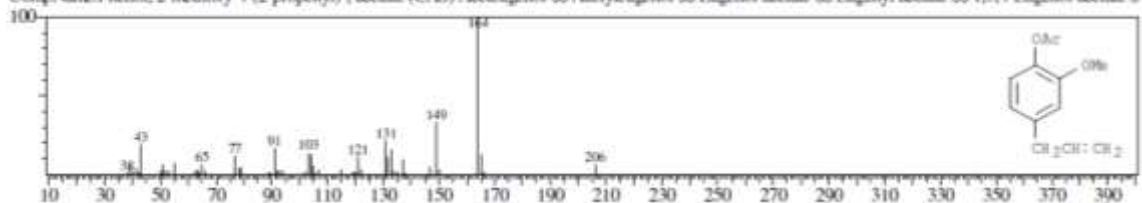
## Senyawa acetyl eugenol



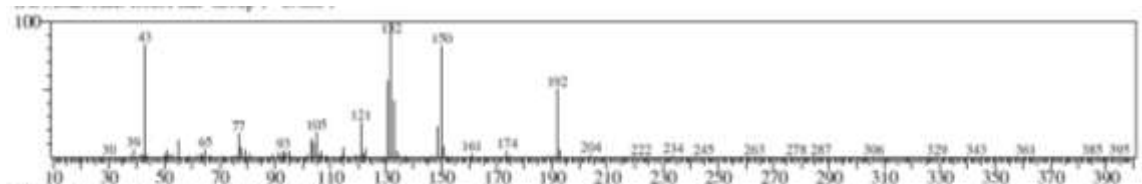
Hit# 1 Entry: 103535 Library: WILEY7.LIB

SI:96 Formula: C<sub>12</sub> H<sub>14</sub> O<sub>3</sub> CAS: 93-28-7 MolWeight: 206 RetIndex: 0

CompName: Phenol, 2-methoxy-4-(2-propenyl)-, acetate (CAS) Acetyleneugenol SS Acetyleneugenol SS Eugenyl acetate SS 1,3,4-Eugenol acetate S



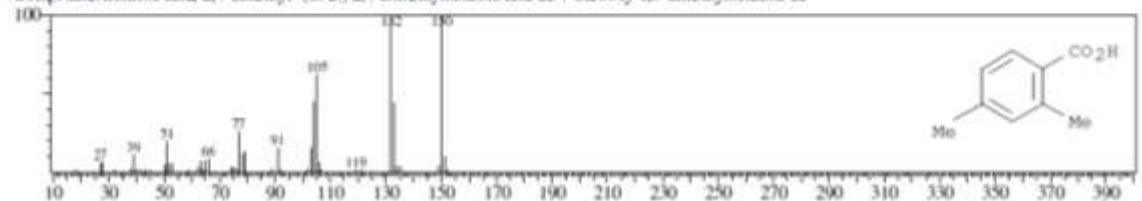
## Senyawa 4-Carboxy-1,3-dimethylbenzene



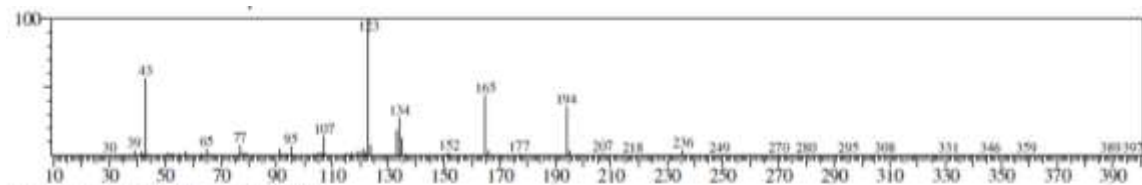
Hit# 1 Entry: 38372 Library: WILEY7.LIB

SI:71 Formula: C<sub>9</sub> H<sub>10</sub> O<sub>2</sub> CAS: 611-01-8 MolWeight: 150 RetIndex: 0

CompName: Benzoic acid, 2,4-dimethyl- (CAS) 2,4-Dimethylbenzoic acid SS 4-Carboxy-1,3-dimethylbenzene SS



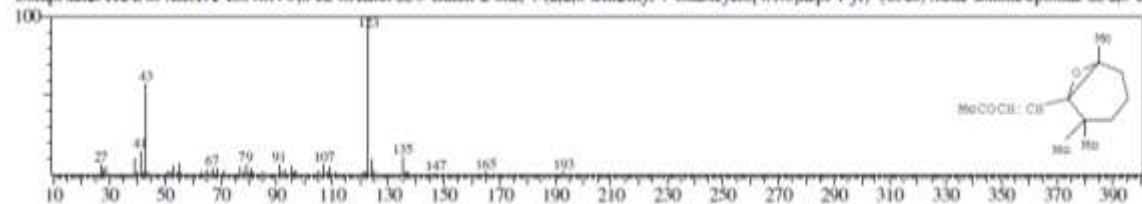
## Senyawa trans-β-ionon-5,6-epoxide



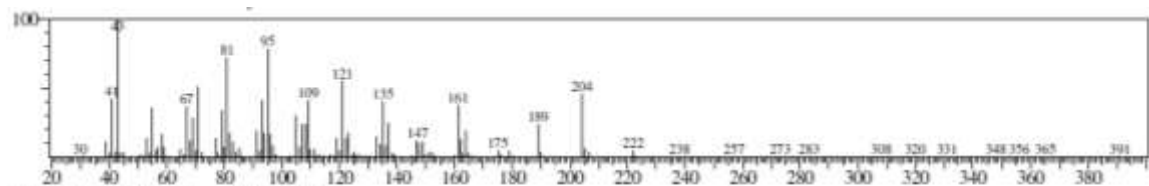
Hit# 1 Entry: 106262 Library: WILEY7.LIB

SI:72 Formula: C<sub>13</sub> H<sub>20</sub> O<sub>2</sub> CAS: 23267-57-4 MolWeight: 208 RetIndex: 0

CompName: TRANS-, BETA- IONON-5,6-EPOXIDE SS 3-Buten-2-one, 4-(2,2,6-trimethyl-7-oxabicyclo[4.1.0]hept-1-yl)- (CAS) .beta.-ionone epoxide SS 2,3-E



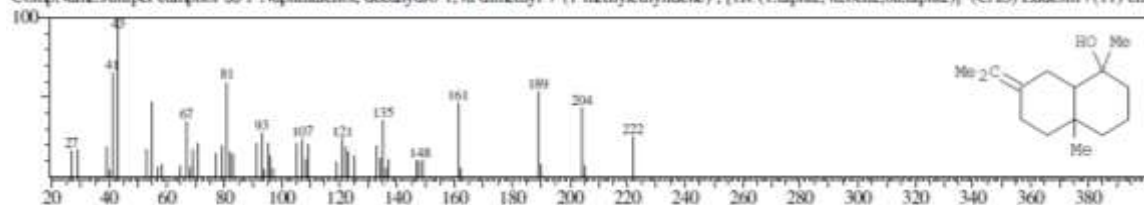
## Senyawa Juniper camphor



Hit# 1 Entry: 124034 Library: WILEY7.LIB

SI:87 Formula: C<sub>15</sub>H<sub>26</sub>O CAS: 473-04-1 MolWeight: 222 RetIndex: 0

CompName: Juniper camphor SS 1-Naphthalenol, decahydro-1,4a-dimethyl-7-(1-methylethylidene)-, [1R-(1.alpha.,4a.beta.,8a.alpha.)]- (CAS) Eudesm-7(11)-en-



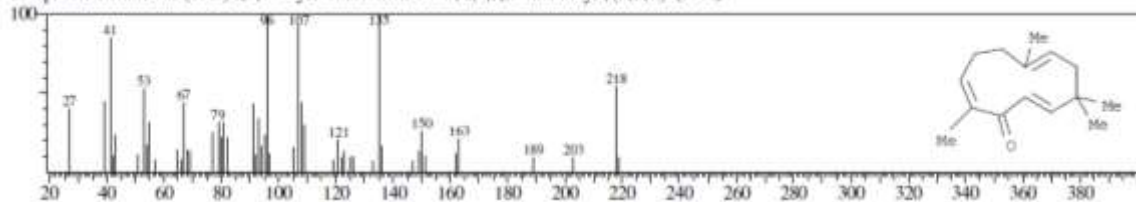
## Senyawa Zerumbone



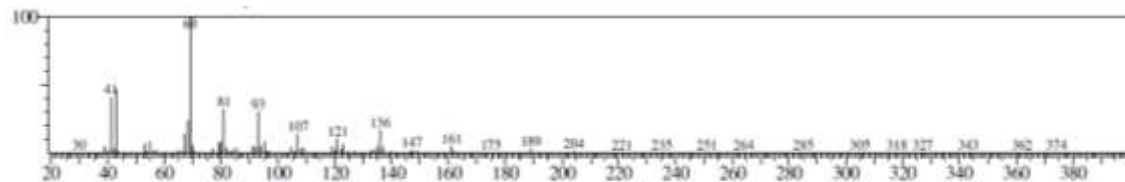
Hit# 1 Entry: 118285 Library: WILEY7.LIB

SI:93 Formula: C<sub>15</sub>H<sub>22</sub>O CAS: 471-05-6 MolWeight: 218 RetIndex: 0

CompName: Zerumbone (CAS) 2,6,10-Cycloundecatrien-1-one, 2,6,9,9-tetramethyl-, (E,E,E)- (CAS)



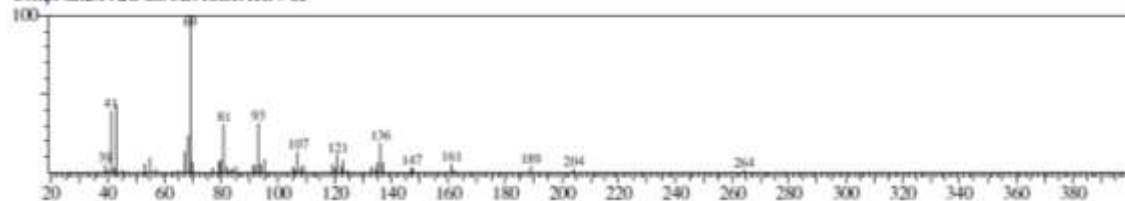
## Senyawa farnesyl acetate



Hit# 1 Entry: 173145 Library: WILEY7.LIB

SI:98 Formula: C<sub>17</sub>H<sub>28</sub>O<sub>2</sub> CAS: 0-00-0 MolWeight: 264 RetIndex: 0

CompName: FARNESYL ACETATE 3 SS





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

Sampel	Konsentrasi (%)	Diameter zona hambat (mm)			Rata-rata±SD
		I	II	III	
amoksisilin	50	19,00	18,30	18,60	18,63±0,35
	25	18,00	17,60	18,60	18,07±0,50
	12,5	20,30	19,30	20,00	19,87±0,51
Minyak atsiri bangle	50	17,00	18,00	17,30	17,43±0,51
	25	16,00	15,30	15,60	15,63±0,35
	12,5	16,00	15,00	15,30	15,43±0,51
Minyak atsiri lengkuas merah	50	26,00	25,30	24,60	25,30±0,70
	25	22,60	21,60	22,00	22,07±0,50
	12,5	20,30	21,30	19,60	22,07±2,50

Sampel uji	Konsentrasi (%)	Diameter zona hambat (mm)			Rata-rata±SD
		I	II	III	
Kombinasi 1:1	50	19,60	18,00	19,00	18,87±0,81
	25	17,00	17,30	18,00	17,43±0,51
	12,5	16,30	16,00	15,60	15,97±0,35
Kombinasi 1:3	50	25,30	24,60	24,00	24,63±0,65
	25	22,60	22,00	21,30	21,97±0,65
	12,5	20,00	19,00	19,60	19,53±0,50
Kombinasi 3:1	50	31,30	30,00	29,30	30,20±1,01
	25	27,60	28,00	28,30	27,97±0,35
	12,5	24,30	23,00	23,60	23,63±0,65
Kontrol (+)	-	19,00	18,00	20,30	18,63±0,35
Kontrol (-)	-	0	0	0	00,00±00,00

**Perhitungan rata-rata diameter hambatan :**

**✚ Diameter tunggal :**

➤ Amoksisilin (+) :

$$\text{Replikasi I} = \frac{1,9 + 1,9 + 1,9}{3} = 1,9 \text{ cm} = 19 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,8 + 1,8 + 1,9}{3} = 1,83 \text{ cm} = 18,30 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,9 + 1,8 + 1,9}{3} = 1,86 \text{ cm} = 18,60 \text{ mm.}$$

➤ Bangle (50%) :

$$\text{Replikasi I} = \frac{1,7 + 1,7 + 1,7}{3} = 1,7 \text{ cm} = 17 \text{ mm.}$$

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

$$\begin{aligned} \text{Replikasi III} &= \frac{1,7 + 1,8 + 1,7}{3} = 1,73 \text{ cm} = 17,30 \text{ mm.} \\ \text{➤ Bangle (25\%)} &: \\ \text{Replikasi I} &= \frac{1,6 + 1,5 + 1,7}{3} = 1,6 \text{ cm} = 16 \text{ mm.} \\ \text{Replikasi II} &= \frac{1,5 + 1,6 + 1,5}{3} = 1,53 \text{ cm} = 15,30 \text{ mm.} \\ \text{Replikasi III} &= \frac{1,5 + 1,6 + 1,6}{3} = 1,56 \text{ cm} = 15,60 \text{ mm.} \\ \text{➤ Bangle (12,5\%)} &: \\ \text{Replikasi I} &= \frac{1,6 + 1,6 + 1,6}{3} = 1,6 \text{ cm} = 16 \text{ mm.} \\ \text{Replikasi II} &= \frac{1,5 + 1,5 + 1,5}{3} = 1,5 \text{ cm} = 15 \text{ mm.} \\ \text{Replikasi III} &= \frac{1,5 + 1,6 + 1,5}{3} = 1,53 \text{ cm} = 15,30 \text{ mm.} \\ \text{➤ Lengkuas merah (50\%)} &: \\ \text{Replikasi I} &= \frac{2,6 + 2,6 + 2,6}{3} = 2,6 \text{ cm} = 26 \text{ mm.} \\ \text{Replikasi II} &= \frac{2,5 + 2,5 + 2,6}{3} = 2,53 \text{ cm} = 25,30 \text{ mm.} \\ \text{Replikasi III} &= \frac{2,5 + 2,4 + 2,5}{3} = 2,46 \text{ cm} = 24,60 \text{ mm.} \\ \text{➤ Lengkuas merah (25\%)} &: \\ \text{Replikasi I} &= \frac{2,2 + 2,3 + 2,3}{3} = 2,26 \text{ cm} = 22,60 \text{ mm.} \\ \text{Replikasi II} &= \frac{2,1 + 2,2 + 2,2}{3} = 2,16 \text{ cm} = 21,60 \text{ mm.} \\ \text{Replikasi III} &= \frac{2,2 + 2,2 + 2,2}{3} = 2,2 \text{ cm} = 22 \text{ mm.} \\ \text{➤ Lengkuas merah (12,5\%)} &: \\ \text{Replikasi I} &= \frac{2 + 2 + 2,1}{3} = 2,03 \text{ cm} = 20,30 \text{ mm.} \\ \text{Replikasi II} &= \frac{2,1 + 2,2 + 2,1}{3} = 2,13 \text{ cm} = 21,30 \text{ mm.} \\ \text{Replikasi III} &= \frac{1,9 + 2 + 2}{3} = 1,96 \text{ cm} = 19,60 \text{ mm.} \end{aligned}$$

#### ✚ **Diameter kombinasi :**

$$\begin{aligned} \text{➤ Kombinasi 1:1 (50\%)} &: \\ \text{Replikasi I} &= \frac{2 + 2 + 1,9}{3} = 1,96 \text{ cm} = 19,60 \text{ mm.} \\ \text{Replikasi II} &= \frac{1,8 + 1,8 + 1,8}{3} = 1,8 \text{ cm} = 18 \text{ mm.} \end{aligned}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,9 + 1,9 + 1,9}{3} = 1,9 \text{ cm} = 19 \text{ mm.}$$

➤ Kombinasi 1:1 (25%):

$$\text{Replikasi I} = \frac{1,7 + 1,6 + 1,8}{3} = 1,7 \text{ cm} = 17 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,7 + 1,7 + 1,8}{3} = 1,73 \text{ cm} = 17,30 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,8 + 1,8 + 1,8}{3} = 1,8 \text{ cm} = 18 \text{ mm.}$$

➤ Kombinasi 1:1 (12,5%) :

$$\text{Replikasi I} = \frac{1,7 + 1,6 + 1,6}{3} = 1,63 \text{ cm} = 16,30 \text{ mm.}$$

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

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,5 + 1,6 + 1,6}{3} = 1,56 \text{ cm} = 15,60 \text{ mm.}$$

➤ Kombinasi 1:3 (50%):

$$\text{Replikasi I} = \frac{2,5 + 2,5 + 2,6}{3} = 2,53 \text{ cm} = 25,30 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{2,5 + 2,5 + 2,4}{3} = 2,46 \text{ cm} = 24,60 \text{ mm.}$$

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

➤ Kombinasi 1:3 (25%):

$$\text{Replikasi I} = \frac{2,2 + 2,1 + 2,2}{3} = 2,26 \text{ cm} = 22,60 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{2,2 + 2,2 + 2,2}{3} = 2,2 \text{ cm} = 22 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{2,1 + 2,1 + 2,2}{3} = 2,13 \text{ cm} = 21,30 \text{ mm.}$$

➤ Kombinasi 1:3 (12,5%) :

$$\text{Replikasi I} = \frac{2 + 2 + 2}{3} = 2 \text{ cm} = 20 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,9 + 1,9 + 1,9}{3} = 1,9 \text{ cm} = 19 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{2 + 2 + 1,9}{3} = 1,96 \text{ cm} = 19,60 \text{ mm.}$$

➤ Kombinasi 3:1 (50%):

$$\text{Replikasi I} = \frac{3,1 + 3,1 + 3,2}{3} = 3,13 \text{ cm} = 31,30 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{3 + 3 + 3}{3} = 3 \text{ cm} = 30 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{2,9 + 2,9 + 3}{3} = 2,93 \text{ cm} = 29,30 \text{ mm.}$$

## ➤ Kombinasi 3:1 (25%):

$$\text{Replikasi I} = \frac{2,8 + 2,7 + 2,8}{3} = 2,76 \text{ cm} = 27,60 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{2,8 + 2,8 + 2,8}{3} = 2,8 \text{ cm} = 28 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{2,8 + 2,8 + 2,9}{3} = 2,83 \text{ cm} = 28,30 \text{ mm.}$$

## ➤ Kombinasi 3:1 (12,5%) :

$$\text{Replikasi I} = \frac{2,4 + 2,5 + 2,5}{3} = 2,43 \text{ cm} = 24,30 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{2,3 + 2,3 + 2,3}{3} = 2,3 \text{ cm} = 23 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{2,4 + 2,4 + 2,3}{3} = 2,36 \text{ cm} = 23,60 \text{ mm.}$$

## Lampiran 14. Data SPSS

### Tests of Normality

	bahan uji	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
diameter zona hambat	kontrol positif	,168	9	,200*	,962	9	,821
	minyak atsiri bangle	,231	9	,184	,907	9	,295
	minyak atsiri lengkuas merah	,165	9	,200*	,937	9	,555
	kombinasi 1:1	,129	9	,200*	,962	9	,817
	kombinasi 1:3	,149	9	,200*	,946	9	,647
	kombinasi 3:1	,212	9	,200*	,918	9	,376

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

a. Lilliefors Significance Correction

### Descriptive Statistics

Dependent Variable: diameter zona hambat

bahan uji	konsentrasi	Mean	Std. Deviation	N
kontrol positif	50%	18,6333	,35119	3
	25%	18,0667	,50332	3
	12,5%	19,8667	,51316	3
	Total	18,8556	,89178	9
minyak atsiri bangle	50%	17,4333	,51316	3
	25%	15,6333	,35119	3
	12,5%	15,4333	,51316	3
	Total	16,1667	1,03562	9
minyak atsiri lengkuas merah	50%	25,3000	,70000	3
	25%	22,0667	,50332	3
	12,5%	20,4000	,85440	3
	Total	22,5889	2,24134	9
kombinasi 1:1	50%	18,8667	,80829	3
	25%	17,4333	,51316	3
	12,5%	15,9667	,35119	3
	Total	17,4222	1,35534	9
kombinasi 1:3	50%	24,6333	,65064	3
	25%	21,9667	,65064	3
	12,5%	19,5333	,50332	3
	Total	22,0444	2,27052	9
kombinasi 3:1	50%	30,2000	1,01489	3
	25%	27,9667	,35119	3
	12,5%	23,6333	,65064	3
	Total	27,2667	2,95888	9
Total	50%	22,5111	4,74328	18
	25%	20,5222	4,20763	18
	12,5%	19,1389	2,89952	18
	Total	20,7241	4,18853	54

### Levene's Test of Equality of Error Variances<sup>a</sup>

Dependent Variable: diameter zona hambat

F	df1	df2	Sig.
,579	17	36	,886

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

a. Design: Intercept + bhn\_uji + konsentrasi + bhn\_uji \* konsentrasi

### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: diameter zona hambat

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Intercept	23192,311	1	23192,311	448,390	,002
	103,447	2	51,724 <sup>a</sup>		
bhn_uji	748,710	5	149,742	23,143	,000
	64,702	10	6,470 <sup>b</sup>		
konsentrasi	103,447	2	51,724	7,994	,008
	64,702	10	6,470 <sup>b</sup>		
bhn_uji * konsentrasi	64,702	10	6,470	17,973	,000
	12,960	36	,360 <sup>c</sup>		

a. MS(konsentrasi)

b. MS(bhn\_uji \* konsentrasi)

c. MS(Error)

## Post Hoc Tests

### bahan uji

#### Multiple Comparisons

Dependent Variable: diameter zona hambat

Tukey HSD

(I) bahan uji	(J) bahan uji	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol positif	minyak atsiri bangle	2,6889 <sup>*</sup>	,28284	,000	1,8379	3,5398
	minyak atsiri lengkuas merah	-3,7333 <sup>*</sup>	,28284	,000	-4,5843	-2,8824
	kombinasi 1:1	1,4333 <sup>*</sup>	,28284	,000	,5824	2,2843
	kombinasi 1:3	-3,1889 <sup>*</sup>	,28284	,000	-4,0398	-2,3379
	kombinasi 3:1	-8,4111 <sup>*</sup>	,28284	,000	-9,2621	-7,5602
minyak atsiri bangle	kontrol positif	-2,6889 <sup>*</sup>	,28284	,000	-3,5398	-1,8379
	minyak atsiri lengkuas merah	-6,4222 <sup>*</sup>	,28284	,000	-7,2732	-5,5713
	kombinasi 1:1	-1,2556 <sup>*</sup>	,28284	,001	-2,1065	-,4046
	kombinasi 1:3	-5,8778 <sup>*</sup>	,28284	,000	-6,7287	-5,0268
	kombinasi 3:1	-11,1000 <sup>*</sup>	,28284	,000	-11,9510	-10,2490
minyak atsiri lengkuas merah	kontrol positif	3,7333 <sup>*</sup>	,28284	,000	2,8824	4,5843
	minyak atsiri bangle	6,4222 <sup>*</sup>	,28284	,000	5,5713	7,2732
	kombinasi 1:1	5,1667 <sup>*</sup>	,28284	,000	4,3157	6,0176
	kombinasi 1:3	,5444 <sup>*</sup>	,28284	,404	-,3065	1,3954
	kombinasi 3:1	-4,6778 <sup>*</sup>	,28284	,000	-5,5287	-3,8268
kombinasi 1:1	kontrol positif	-1,4333 <sup>*</sup>	,28284	,000	-2,2843	-,5824
	minyak atsiri bangle	1,2556 <sup>*</sup>	,28284	,001	,4046	2,1065
	minyak atsiri lengkuas merah	-5,1667 <sup>*</sup>	,28284	,000	-6,0176	-4,3157
	kombinasi 1:3	-4,6222 <sup>*</sup>	,28284	,000	-5,4732	-3,7713
	kombinasi 3:1	-9,8444 <sup>*</sup>	,28284	,000	-10,6954	-8,9935
kombinasi 1:3	kontrol positif	3,1889 <sup>*</sup>	,28284	,000	2,3379	4,0398
	minyak atsiri bangle	5,8778 <sup>*</sup>	,28284	,000	5,0268	6,7287
	minyak atsiri lengkuas merah	-,5444 <sup>*</sup>	,28284	,404	-1,3954	,3065
	kombinasi 1:1	4,6222 <sup>*</sup>	,28284	,000	3,7713	5,4732
	kombinasi 3:1	-5,2222 <sup>*</sup>	,28284	,000	-6,0732	-4,3713
kombinasi 3:1	kontrol positif	8,4111 <sup>*</sup>	,28284	,000	7,5602	9,2621
	minyak atsiri bangle	11,1000 <sup>*</sup>	,28284	,000	10,2490	11,9510
	minyak atsiri lengkuas merah	4,6778 <sup>*</sup>	,28284	,000	3,8268	5,5287
	kombinasi 1:1	9,8444 <sup>*</sup>	,28284	,000	8,9935	10,6954
	kombinasi 1:3	5,2222 <sup>*</sup>	,28284	,000	4,3713	6,0732

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,360.

\*. The mean difference is significant at the 0,05 level.

## Homogeneous Subsets

### diameter zona hambat

Tukey HSD<sup>a,b</sup>

bahan uji	N	Subset				
		1	2	3	4	5
minyak atsiri bangle	9	16,1667				
kombinasi 1:1	9		17,4222			
kontrol positif	9			18,8556		
kombinasi 1:3	9				22,0444	
minyak atsiri lengkuas merah	9				22,5889	
kombinasi 3:1	9					27,2667
Sig.		1,000	1,000	1,000	,404	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,360.

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

b. Alpha = 0,05.

## Konsentrasi

### Multiple Comparisons

Dependent Variable: diameter zona hambat

Tukey HSD

(I) konsentrasi	(J) konsentrasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
50%	25%	1,9889*	,20000	,000	1,5000	2,4777
	12,5%	3,3722*	,20000	,000	2,8834	3,8611
25%	50%	-1,9889*	,20000	,000	-2,4777	-1,5000
	12,5%	1,3833*	,20000	,000	,8945	1,8722
12,5%	50%	-3,3722*	,20000	,000	-3,8611	-2,8834
	25%	-1,3833*	,20000	,000	-1,8722	-,8945

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,360.

\*. The mean difference is significant at the 0,05 level.



## Homogeneous Subsets

diameter zona hambat

Tukey HSD<sup>a,b</sup>

konsentrasi	N	Subset		
		1	2	3
12,5%	18	19,1389		
25%	18		20,5222	
50%	18			22,5111
Sig.		1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,360.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 18,000.

b. Alpha = 0,05.

