

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI MINYAK ATSIRI DAUN
KEMANGI (*Ocimum basilicum* L.) dan BIJI PALA (*Myristica fragrans* H.)
TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**



oleh:

**Idyatulfitri Wulandari
19133914A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI MINYAK ATSIRI DAUN
KEMANGI (*Ocimum basilicum* L.) dan BIJI PALA (*Myristica fragrans* H.)
TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

SKRIPSI

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
Derajat Sarjana Farmasi (S. Farm)
Program Studi S1 Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi*

oleh:

**Idyatulfitri Wulandari
19133914A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI MINYAK ATSIRI DAUN KEMANGI (*Ocimum basilicum L.*) dan BIJI PALA (*Myristica fragrans H.*) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Oleh:
Idyatulfitri Wulandari
19133914A

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

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Univeritas Setia Budi

Dekan,

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

Pembimbing,

Vivin Nopiyanti, M.Sc., Apt

Pembimbing pendamping,

Ismi Rahmawati, M.Si., Apt

Penguji:

1. Dwi Ningsih, S.Si., M.Farm., Apt
2. Drs. Edy Prasetya
3. Destik Wulandari, S.Pd., M.Si
4. Vivin Nopiyanti, M.Sc., Apt



PERSEMBAHAN

“HALAMAN PERSEMBAHAN

“Dengan Bismillah aku memulainya dan dengan Alhamdulillah aku mengakhiriinya”

“Sesungguhnya sesudah ada kesulitan itu ada kemudahan”
(QS Al-Insyirah : 6)

“Allah menghendaki untukmu kemudahan dan tidak menhendaki untukmu kesukaran”
(QS Al-Baqarah : 185)

“Bukan seberapa besar mimpi itu buat kita tetapi seberapa besar usaha kita mewujudkan mimpi itu”

“Apapun yang terjadi hidup mesti jalan terus”

“Mimpi adalah kunci untuk kita menaklukkan dunia, berlarilah tanpa lelah sampai engkau meraihnya”

(Laskar Pelangi)

Skripsi ini kupersembahkan untuk:
Ayah dan Ibuku, Keluargaku,
Sahabat, Almamater, Bangsa dan Negaraku

PERNYATAAN

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

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

Surakarta, Juni 2017



Idyatulfitri Wulandari

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT Tuhan semesta alam Sang Pemberi Rizki dan kesempatan, atas magfirah dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI MINYAK ATSIRI KEMANGI (*Ocimum basilicum L.*) dan BIJI PALA (*Myristica fragrans H.*) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923”**

Skripsi ini disusun guna memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana pada Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.

Penelitian dan penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, baik secara moril maupun materiil. Penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. Dr. Djoni Taringan, MBA selaku Rektor Universitas Setia Budi.
2. Prof. DR. R.A. Oetari, SU., MM., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Vivin Nopiyanti, M.Sc., Apt. selaku Pembimbing Utama dan Ismi Rahmawati, M.Si., Apt. selaku Pembimbing Pendamping yang telah berkenan mengorbankan waktunya guna membimbing, memberi nasehat, dan mengarahkan penulis pada saat penelitian dan penyusunan skripsi.
4. Dosen penguji yang telah memberikan masukan demi kesempurnaan dalam skripsi ini.
5. Seluruh Dosen, Asisten Dosen, Staf Perpustakaan dan Staf Laboratorium Universitas Setia Budi.
6. Kedua Orang Tuaku, kakak serta seluruh keluarga besarku yang telah memberikan pengorbanan, nasehat, pengertian, dan dukungan moril maupun materiil, serta semangat untuk segera menyelesaikan skripsi ini.
7. Rekan penelitian sekaligus sahabatku Rina dan Yanti atas bantuan dan kerjasamanya dalam menyelesaikan penelitian skripsi ini.

8. Yulfi Ardianti, Yulfa Ardianti, Murniati, Maria sufiani, Dian Wahyu Putra, Sulhairi, Tri Shintya Dewi, Hanim Faudiyah, Jelita Istiana Putri, Farida, dan Khindyarti Rifki Azizah yang telah memberikan semangat kepadaku.
9. Teman-teman seperjuanganku FKK4, Teori 4, teman teman HIMALO, teman teman kost, teman teman KKN dan teman-teman S1 Farmasi yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu, serta semua pihak yang telah membantu kelancaran proses skripsi ini.

Akhir kata penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan oleh karena itu, penulis menerima kritikan atau saran yang bersifat membangun. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pengembangan di bidang ilmu farmasi khususnya obat tradisional Indonesia.

Surakarta, Juni 2017



Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
PENGESAHAN SKRIPSI	Error! Bookmark not defined.
PERSEMAWAHAN	iii
PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
INTISARI.....	xiii
 BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Perumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Masalah	4
D. Kegunaan Penelitian.....	4
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
A. Tanaman Kemangi.....	5
1. Sistematika Kemangi (<i>Ocimum basilicum L.</i>)	5
2. Nama Lain	5
3. Morfologi Kemangi	5
4. Manfaat dan Khasiat.....	6
5. Kandungan zat kimia.....	6
6. Aktivitas antibakteri minyak atsiri daun kemangi.....	6
B. Biji Pala	7
1. Sistematika Pala (<i>Myristica fragrans H.</i>).....	7
2. Nama lain	8
3. Morfologi Pala.....	8
4. Manfaat dan Khasiat.....	8
5. Kandungan zat kimia.....	9
6. Aktivitas antibakteri minyak atsiri biji pala	9
C. Minyak Atsiri.....	10
1. Pengertian minyak atsiri.....	10
2. Sifat minyak atsiri	10

3. Metode isolasi minyak atsiri.....	11
4. Identifikasi minyak atsiri.....	11
D. Simplisia.....	11
1. Pengertian Simplisia.....	11
2. Pengumpulan simplisia.....	12
3. Cara pembuatan simplisia	12
4. Pengemasan dan penyimpanan.....	12
E. Destilasi	12
F. Media.....	14
G. Sterilisasi	14
H. <i>Staphylococcus aureus</i>	15
1. Sistematika <i>Staphylococcus aureus</i>	15
2. Morfologi dan identifikasi.....	15
3. Patogenesis	15
I. Antibakteri.....	16
J. Antiseptik	17
K. Kombinasi Obat.....	18
L. Metode Difusi	18
M. Landasan Teori	19
N. Hipotesis	21
 BAB III METODE PENELITIAN	22
A. Populasi dan Sampel.....	22
1. Populasi	22
2. Sampel	22
B. Variabel Penelitian	22
1. Identifikasi variabel utama	22
2. Klasifikasi variabel utama	22
3. Definisi operasional variabel utama	23
C. Alat Dan Bahan	24
1. Alat	24
2. Bahan.....	24
D. Jalannya Penelitian	25
1. Identifikasi tanaman	25
2. Pengambilan Bahan	25
3. Isolasi minyak atsiri.....	25
4. Analisa minyak atsiri.....	26
4.1. Pengamatan organoleptik	26
4.2. Identifikasi minyak atsiri.....	26
4.3. Penetapan indeks bias minyak atsiri.....	26
4.4. Penetapan bobot jenis minyak atsiri	26
4.5. Penetapan kelarutan dalam alkohol	27
4.6. Karakterisasi komponen senyawa penyusun minyak atsiri dengan <i>Gas Chromatography - Mass Spectrometry (GC-MS)</i>	27
5. Sterilisasi	27

6.	Pembuatan suspensi bakteri uji <i>Staphylococcus aureus</i>	27
7.	Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	28
7.1.	Identifikasi berdasarkan koloni	28
7.2.	Identifikasi mikroskopis secara morfologi	28
7.3.	Identifikasi fisiologi <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	29
8.	Pembuatan larutan uji	29
9.	Pembuatan kombinasi bahan uji.....	29
10.	Pengujian aktivitas antibakteri	30
E.	Analisis Hasil.....	31
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN		35
A.	Hasil Penelitian.....	35
1.	Identifikasi tanaman	35
2.	Pengambilan Bahan.....	35
3.	Isolasi minyak atsiri.....	35
4.	Pengamatan organoleptik minyak atsiri	36
5.	Identifikasi minyak atsiri.....	37
6.	Penetapan indeks bias minyak atsiri.....	37
7.	Penetapan bobot jenis minyak atsiri	38
8.	Penetapan kelarutan dalam alkohol	39
9.	Karakterisasi komponen senyawa penyusun minyak atsiri dengan <i>Gas Chromatography-Mass Spectrometry</i> (GC-MS)	39
10.	Pembuatan suspensi bakteri uji	41
11.	Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 berdasarkan koloni	42
12.	Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 berdasarkan mikroskopis	42
13.	Hasil Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 berdasarkan fisiologi-katalase	42
14.	Hasil Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 berdasarkan fisiologi-koagulasi.....	43
15.	Hasil pengujian aktivitas antibakteri minyak atsiri daun kemangi dan biji pala secara difusi	43
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN		46
A.	Kesimpulan.....	46
B.	Saran	46
DAFTAR PUSTAKA		47
LAMPIRAN		53

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Kemangi (<i>Ocimum basilicum L.</i>).....	5
Gambar 2. Biji pala (<i>Myristica fragrans H.</i>)	8
Gambar 3. Skema isolasi minyak atsiri daun kemangi.....	31
Gambar 4. Skema isolasi minyak atsiri biji pala	32
Gambar 5. Skema pembuatan suspensi bakteri	42
Gambar 6. Skema pengujian aktivitas antibakteri secara difusi	34

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Kadar minyak atsiri daun kemangi dan biji pala	35
Tabel 2. Hasil pemeriksaan organoleptik minyak atsiri daun kemangi.....	36
Tabel 3. Hasil pemeriksaan organoleptik minyak atsiri biji pala	36
Tabel 4. Identifikasi minyak atsiri daun kemangi	37
Tabel 5. Identifikasi minyak atsiri biji pala.....	37
Tabel 6. Indeks bias minyak atsiri	37
Tabel 7. Hasil penetapan bobot jenis minyak atsiri daun kemangi	38
Tabel 8. Hasil penetapan bobot jenis minyak atsiri biji pala.....	38
Tabel 9. Hasil analisis komponen utama minyak atsiri daun kemangi dengan GC-MS	39
Tabel 10. Hasil analisis komponen utama minyak biji pala dengan GC-MS	40
Tabel 11. Diometer hambat tunggal dan kombinasi konsentrasi 12,5%.....	43
Tabel 12. Diometer hambat tunggal dan kombinasi konsentrasi 25%.....	44
Tabel 13. Diometer hambat tunggal dan kombinasi konsentrasi 50%.....	44

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Surat Keterangan Identifikasi daun kemangi dan biji pala.....	54
Lampiran 2. Daun kemangi dan biji pala.....	55
Lampiran 3. Minyak atsiri daun kemangi, biji pala dan alat.....	56
Lampiran 4. Alat sterilisasi	57
Lampiran 5. Bahan uji antibakteri.....	58
Lampiran 6. Identifikasi minyak atsiri dan kelarutan dalam alcohol.....	60
Lampiran 7. Identifikasi minyak atsiri indeks bias	61
Lampiran 8. Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	62
Lampiran 9. Hasil uji aktivitas antibakteri dengan difusi	63
Lampiran 10. Perhitungan kadar minyak atsiri daun kemangi dan biji pala.....	66
Lampiran 11. Hasil perhitungan indeks bias minyak atsiri.....	67
Lampiran 12. Perhitungan bobot jenis minyak atsiri	68
Lampiran 13. Hasil analisis GCMS minyak atsiri	71
Lampiran 14. Diameter daya hambat tunggal dan kombinasi dari uji difusi minyak atsiri.....	76
Lampiran 15. Hasil analisis dengan SPSS	83
Lampiran 16. Komposisi media	87

INTISARI

WULANDARI, I. 2017. UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI MINYAK ATSIRI DAUN KEMANGI (*Ocimum basilicum* L.) dan BIJI PALA (*Myristica fragrans* H.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Minyak atsiri kemangi memiliki komponen senyawa eugenol yang tergolong turunan senyawa fenol yang mempunyai efek antiseptik dan minyak atsiri biji pala memiliki senyawa fenolik dan terpenoid yang dapat menghambat pertumbuhan berbagai jenis bakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui minyak atsiri daun kemangi, biji pala dan kombinasi dari keduanya memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan metode difusi. Konsentrasi yang digunakan adalah 12,5%;25%;50% dengan perbandingan kombinasi yaitu 1:1;1:2;2:1;1:3;3:1. Data dari penelitian kemudian diolah menggunakan analisis statistik Analisis of Varians (ANOVA) dengan metode two-way, sehingga didapatkan hasil signifikasi dari data tersebut.

Hasil penelitian dengan metode difusi didapatkan daya hambat yang paling besar dari kombinasi pada konsentrasi 50% yaitu perbandingan kombinasi 3:1 dengan diameter hambat $25,25 \pm 0,901$ sedangkan hasil tunggal pada konsentrasi 50% yaitu daun kemangi $23,36 \pm 0,125$ dan biji pala $16,00 \pm 0,901$. Berdasarkan dari hasil penelitian kombinasi minyak atsiri kemangi dan biji pala memiliki aktivitas sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kata kunci : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, antibakteri, minyak atsiri, *Ocimum basilicum* L., *Myristica fragrans* H.

ABSTRACT

WULANDARI, I. 2017. ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST COMBINATION OF ESSENTIAL OIL BASIL LEAVES (*Ocimum basilicum*) AND NUTMEG SEEDS (*Myristica fragrans Houtt*) AGAINST *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, SKRIPSI, FACULTY OF PHARMACY, UNIVERSITY OF SETIA BUDI, Surakarta

The essential oil of basil leaves (*Ocimum basilicum*) have components of eugenol compound classified to phenol compound which has antiseptic effect and nutmeg seeds (*Myristica fragrans Houtt*) have phenolic and terpenoid compounds that can obstruct various bacterial growths. This study aims to determine whether the essential oil of basil leaves (*Ocimum basilicum*), nutmeg seeds (*Myristica fragrans Houtt*) and the combinations of both have antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

The method used in this study was diffusion method using the concentration of 12.5%, 25%, 50% with a combination of 1: 1, 1: 2, 2: 1, 1: 3, 3: 1. The data obtained from the research was then processed by using statistical analysis of varians (ANOVA) with two-way method, finally, it could be obtained significant results from the data.

After collecting and calculating the data with diffusion method, the Researcher found the biggest inhibitory power from the combination at a concentration of 50% that was a combination of 3: 1 with a resistor diameter of 25.25 +0.901. Whereas a single yield at 50% concentration of basil leaves (*Ocimum basilicum*) 23.36 + 0.125 and nutmeg (*Myristica fragrans Houtt*) 16.00 + 0.901. Based on the result, the combination of essential oil of basil leaves (*Ocimum basilicum*) and nutmeg seeds (*Myristica fragrans Houtt*) have activity as antibacterial against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Keywords: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, Antibacterial, Essential Oils, *Ocimum basilicum* L., *Myristica fragrans* H.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Kesehatan merupakan satu hal yang sangat penting dalam kehidupan manusia, namun untuk menjaganya perlu dilakukan tindakan pencegahan (preventif) dan pengobatan (kuratif). Tindakan pencegahan dan pengobatan ini dilakukan untuk menghindari resiko terjadinya infeksi. Penyakit infeksi disebabkan oleh bakteri seperti bakteri *Staphylococcus aureus*, infeksi *Staphylococcus aureus* pada manusia dapat ditularkan secara langsung melalui selaput mukosa yang bertemu dengan kulit. Bakteri ini dapat menyebabkan endokarditis, osteomielitis akut hematogen, meningitis, ataupun infeksi paru-paru (Trisnayanti 2003).

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

Pemakaian tanaman obat sebagai upaya penanggulangan masalah kesehatan telah banyak diterapkan masyarakat. Salah satu tanaman obat yang sering digunakan oleh masyarakat ialah daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.). Daun kemangi digunakan masyarakat sebagai sayur atau lalap. Daun kemangi selain sebagai lalapan, mempunyai khasiat mengatasi bau mulut dan badan, badan lesu, panas dalam, peluruh haid dan peluruh ASI (Permadi 2008). Kemangi merupakan tanaman yang memiliki banyak manfaat, antara lain sebagai obat, pestisida nabati, penghasil minyak atsiri, sayuran dan minuman penyegar (Hadipoentyanti 2008). Tanaman kemangi memiliki khasiat merangsang

penyerapan, peluruh keringat (*diaphoretic*), diuretik, pelancar peredaran darah, penghilang rasa sakit (analgesik), dan pembersih racun (Hariana 2008).

Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) species dari *Lamiaceae* yang tumbuh di beberapa daerah di dunia merupakan tanaman yang mempunyai kandungan utama minyak atsiri (Sajjadi 2006). Penelitian Hussain *et al* (2008) membuktikan bahwa minyak atsiri daun kemangi mempunyai komponen utama linalool (56,7-60,6%) dimana mampu melawan 9 mikroorganisme patogen diantaranya pada bakteri *Staphylococcus aureus* dengan diameter zona hambat sebesar 22,2-24,4 mm, rendemen yang dihasilkan dari minyak atsiri daun kemangi sekitar 0,4% (Feryanto 2007). Minyak atsiri daun kemangi tersusun atas senyawa hidrokarbon, alkohol, ester, phenol (eugenol 1-19 %, iso-eugenol), eter phenolat (metil clavicol 3-31%, metil eugenol 1-9%), oksida dan keton. Eugenol merupakan senyawa golongan fenol yang juga mempunyai efek sebagai antiseptik. mekanisme antibakteri kemungkinan karena pengikatan senyawa fenol dengan sel bakteri, kemudian akan mengganggu permeabilitas membran dan proses transportasi. (Maryati *et al.* 2007).

Pala (*Myristica fragrans* Houtt) termasuk salah satu tanaman famili Myristicaceae. Akibat nilainya yang tinggi sebagai rempah-rempah, buah dan biji pala telah menjadi komoditi perdagangan yang penting sejak masa Romawi. Minyak atsiri biji pala sering dimanfaatkan sebagai aromaterapi, obat tradisional dan dalam industri parfum (Nurdjannah 2007). Komponen minyak dalam biji pala yang diperoleh dengan menggunakan destilasi bervariasi antara 0,5-1,7% dengan kandungan senyawa miristin, hidrokarbon terpen, dan turunan fenilpropan diketahui memiliki aktivitas bakterisida (Kusumaningrum *et al.* 2003) Minyak atsiri biji pala diketahui memiliki senyawa fenolik dan terpenoid dapat menghambat pertumbuhan berbagai jenis bakteri. Mekanisme kerja senyawa terpenoid yaitu dapat merusak membra senyawa lipofilik (Rahmi *et al.* 2014).

Minyak pala dapat dihasilkan dari daun, biji dan fuli buah pala. Kandungan minyak dalam daun tidak lebih dari 1,7%, sedangkan fuli pala dapat menghasilkan 4-17% minyak (BSN 2006). Rendemen minyak biji pala berkisar antara 2–15% (rata-rata 12%), (Peter 2001). Minyak pala dicirikan sebagai

minyak yang berwarna jernih kekuningan atau kehijauan dengan aroma khas pala. Penelitian (Gupta 2008) minyak atsiri biji pala dapat menghambat bakteri Gram positif yaitu *Staphylococcus aureus* dengan daya hambat sebesar 14 mm pada konsentrasi 12,5%.

Minyak atsiri merupakan salah satu metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tanaman tingkat tinggi dan mempunyai peranan penting bagi tanaman itu sendiri maupun bagi kehidupan manusia. Minyak atsiri mempunyai aktivitas farmakologis yang beragam antara lain analgesik, antipiretik, antiseptik, dan banyak juga yang memiliki aktivitas antibakteri dan antijamur yang kuat (Mukhtar *et al.* 2007).

Kombinasi yang pernah dilakukan pada penelitian Pratiwi (2016) adalah kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan kulit kayu manis pada konsentrasi 100% memiliki daya hambat sebesar 17,6 mm dan nilai KBM sebesar 1,56% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Minyak atsiri biji pala menurut penelitian (Gupta 2008) terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dengan zona hambat sebesar 14 mm.

Penelitian kombinasi senyawa minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dan biji pala (*Myristica fragrans* H.) dilakukan untuk menguji aktivitas antibakteri kombinasi senyawa minyak atsiri daun kemangi dan biji pala terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, dan untuk mengetahui manakah dari kombinasi atau bahan tunggal yang paling optimal membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

B. Perumusan Masalah

Permasalahan dalam penelitian ini adalah :

1. Apakah minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dan biji pala (*Myristica fragrans* H.) atau kombinasi keduanya memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ?
2. Manakah dari minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dan biji pala (*Myristica fragrans* H.) atau kombinasi dari keduanya yang memiliki daya hambat paling besar terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ?

C. Tujuan Masalah

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Mengetahui apakah minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum basilicum L.*) dan biji pala (*Myristica fragrans H.*) atau kombinasi dari keduanya memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
2. Mengetahui dari minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum basilicum L.*) dan biji pala (*Myristica fragrans H.*) atau kombinasi dari keduanya yang memiliki daya hambat paling besar terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

D. Kegunaan Penelitian

Penelitian diharapkan dapat menjadi bukti ilmiah tentang manfaat kombinasi minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum basilicum L.*) dan biji pala (*Myristica fragrans H.*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Sebagai salah satu alternatif dalam pengobatan antibakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, serta memberikan informasi kepada masyarakat umum tentang manfaat kombinasi minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum basilicum L.*) dan biji pala (*Myristica fragrans H.*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Kemangi

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

Sistematika tumbuhan kemangi adalah sebagai berikut:

Divisio	: <i>Magnoliophyta</i>
Sub divisio	: <i>Spermatophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Ordo	: <i>Lamiales</i>
Famili	: <i>Lamiaceae</i>
Genus	: <i>Ocimum</i>
Spesies	: <i>Ocimum basilicum</i> L. (Bilal et al., 2012)



Gambar 1. Kemangi (*Ocimum basilicum* L.)

2. Nama Lain

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

3. Morfologi Kemangi

Kemangi merupakan tanaman semak semusim dengan tinggi 30-150 cm, batangnya berkayu, segi empat, beralur, bercabang, dan memiliki bulu berwarna

hijau. Daunnya tunggal dan berwarana hijau, bersilang, berbentuk bulat telur, ujungnya runcing, pangkal tumpul, tepi bergerigi, dan pertulangan daun menyirip. Bunga majemuk berbentuk tandan memiliki bulu tangkai pendek berwana hijau, mahkota bunga berbentuk bulat telur dengan warna keunguan. Buah berbentuk kotak dan berwarna coklat tua, bijinya berukuran kecil, tiap buah terdiri dari empat biji yang berwarna hitam, akarnya tunggang dan berwarna putih kotor (Depkes RI 2001).

4. Manfaat dan Khasiat

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

5. Kandungan zat kimia

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

6. Aktivitas antibakteri minyak atsiri daun kemangi

Penelitian yang telah dilakukan pada tanaman kemangi memang sudah banyak. Kebanyakan penelitian tersebut dilakukan untuk menguji efek antibakteri dari tanaman kemangi. Terdapat berbagai bagian tanaman dari kemangi yang bisa dimanfaatkan sebagai antibakteri salah satunya adalah daun kemangi. Penelitian (Hussain *et al.* 2008) dilaporkan bahwa minyak atsiri daun kemangi memiliki komponen utama linalool sebesar (56,7-60,6%) diketahui mempunyai diameter zona hambat sebesar 22,2-24,4 mm terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan penelitian (Maryati 2007) membuktikan bahwa minyak atsiri daun kemangi

mengandung eugenol yang tergolong turunan senyawa fenol yang mempunyai efek antiseptik dan bekerja dengan merusak membran sel. Mekanisme antibakteri kemungkinan karena pengikatan senyawa fenol dengan sel bakteri, kemudian akan mengganggu permeabilitas membran dan proses transportasi. Minyak atsiri kemangi mengandung senyawa fenol dan timol yang bertanggungjawab sebagai antibakteri. Perbedaan komponen kimia pada beberapa minyak atsiri kemangi menjadi pertimbangan bahwa mekanisme aksi antibakterinya tidak spesifik namun ada beberapa target di dalam sel (Adeola *et al.* 2012). Penelitian dari (Kiromah *et al.* 2014) kombinasi minyak atsiri kemangi dengan kloramfenikol dan gentamisin, membuktikan bahwa minyak atsiri kemangi berefek antagonis terhadap kloramfenikol dan gentamisin. Hasil kombinasi minyak atsiri kemangi dan kloramfenikol menunjukkan minyak atsiri menurunkan diameter zona hambat kloramfenikol. Diameter zona hambat kloramfenikol tunggal 20 mm dan zona hambat minyak atsiri tunggal 11 mm ketika dikombinasikan zona hambat kloramfenikol turun menjadi 15 mm. Hasil dari kombinasi minyak atsiri murni dengan gentamisin menghasilkan diameter zona hambat yang menurun. Minyak atsiri mempunyai efek menurunkan diameter zona hambat gentamisin, dimana zona hambat gentamisin sebelum dikombinasi mencapai 19 mm sedangkan ketika dikombinasi menurun menjadi 16 mm.

B. Biji Pala

1. Sistematika Pala (*Myristica fragrans* H.)

Berikut sistematika tumbuhan pala :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Magnoliales
Famili	: Myristiceae
Genus	: Myristica
Species	: <i>Myristic fragrans</i> H. (Harbie 2015)



Gambar 2. Biji pala (*Myristica fragrans* H.)

2. Nama lain

Nama daerah pala di Indonesia antara lain ; Pala (Melayu), Falo (Nias), Paala (Madura), Kapala (Bima), Bubula (Roti), Pal (Timor), Pala (Makasar), Pala (Bugis), Pahalo (Ambon), Gasara (Ternate), (Harbie 2015).

3. Morfologi Pala

Pala merupakan jenis tanaman yang dapat tumbuh baik didaerah tropis. Tanaman ini termasuk dalam Familia Myristicaceae, yang mempunyai sekitar 200 spesies. Tanaman ini jika pertumbuhannya baik dan tumbuh di lingkungan terbuka, tajuknya akan rindang dan ketinggiannya kurang lebih 10 meter. Tajuk pohon ini bentuknya meruncing ke atas dan puncak tajuknya tumpul (Harbie 2015).

Daun pala berbentuk bulat telur, pangkal dan pucuknya meruncing. Warna bagian bawah hijau kebiru-biruan muda. Bagian atasnya hijau tua. Jangka waktu pertumbuhan buah dari mulai persarian hingga masa petik tidak boleh lebih dari 9 bulan. Buah berbentuk bulat, lebar, ujungnya meruncing. Kulitnya licin, berwarna kuning, berdaging, dan cukup banyak mengandung air. Bijinya tunggal, berkeping dua, dilindungi oleh tempurung, walaupun tidak tebal namun cukup keras. Bentuk bijinya bulat telur lonjong, bila sudah tua warnanya coklat tua (Harbie 2015).

4. Manfaat dan Khasiat

Komoditas pala di Indonesia sebagian besar dihasilkan oleh perkebunan rakyat (98%) yang jarang dipelihara. Luas pertanaman pala di Indonesia pada tahun 1996 mencapai 60.735 ha, kemudian menurun menjadi 43.873 ha pada

tahun 2000 (Nurdjannah 2007). Hasil yang diambil dari pala diperdagangkan di pasaran dunia adalah biji, fuli minyak atsiri dan daging buah yang digunakan untuk industri makanan di dalam negeri. Industri makanan pengolahan daging buah pala antara lain adalah sebagai: manisan pala, asinan pala, sirup, marmelade, selai pala, dodol serta kristal daging buah pala (Nurdjannah 2007).

5. Kandungan zat kimia

Biji pala mengandung minyak atsiri sekitar 2-16% dengan rata-rata pada 10% dan fixed oil (minyak lemak) sekitar 25-40%, karbohidrat sekitar 30% dan protein sekitar 6%. Kandungan zat-zat pada biji pala yaitu Minyak atsiri sampai 10%, berisi miristin (yang bersifat membius) sekitar 4%, pinen, 80% kamfer, 8% dipente, safrol 0,6 %, egenol, ko-egenol dan alcohol 6%, Minyak lemak sekitar 40%, berupa gliserida dari asam miristinat, asam oleat dan azam linoleat, dan Abu 4%, zat putih telur 25% sampai 40%, pati dan gula. Minyak yang menguap (minyak atsiri) dengan komponen utama monoterpen hidrokarbon (61-88% seperti *alpha pinene*, *beta pinene*, *sabinene*), asam monoterpenes (5-15%), aromatik eter (2-18% seperti *myristicin*, *elemicin*, *safrole*). Senyawa aromatik *myristicin*, *elemicin*, dan *safrole* sebesar 2-18% yang terdapat pada biji dan bunga pala bersifat merangsang halusinasi (Samiran 2006).

6. Aktivitas antibakteri minyak atsiri biji pala

Penelitian (Gupta 2008) minyak atsiri pala dapat menghambat bakteri Gram positif yaitu *Staphylococcus aureus* dengan daya hambat sebesar 12,5%. Uji aktivitas antibakteri minyak atsiri biji pala menunjukkan minyak atsiri yang dihasilkan mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif *Bacillus subtilis*. Minyak atsiri biji pala melalui metode *microwave* menghasilkan kadar sebanyak 7,07% selama 60 menit sedangkan metode hidrodistilasi konvensional menghasilkan kadar lebih sedikit yaitu 4,30% selama 4 jam. Hasil analisis GC-MS, hidrodistilasi dengan metode konvensional menghasilkan 43 komponen senyawa, sedangkan metode *microwave* menghasilkan komponen senyawa lebih banyak yaitu 55 senyawa. Komponen senyawa utama yang teridentifikasi adalah sabinen, limonen, 4-terpineol, miristisin, 1R- α -pinen dan safrol. Kandungan senyawa fenolik dan terpenoid dalam biji pala diduga dapat menghambat pertumbuhan berbagai jenis bakteri (Rahmi *et al.* 2014).

C. Minyak Atsiri

1. Pengertian minyak atsiri

Minyak atsiri merupakan senyawa yang pada umumnya berwujud cairan, yang diperoleh dari bagian tanaman, akar, kulit, batang, daun, buah, dan biji maupun dari bunga dengan beberapa cara penyulingan minyak atsiri (Sastrohamidjojo 2004).

Minyak atsiri juga dikenal dengan minyak eteris atau minyak terbang (*essential oil* atau *volatile oil*) yang merupakan minyak mudah menguap pada suhu kamar tanpa mengalami perubahan komposisi, larut dalam pelarut organik, memiliki komposisi yang berbeda – beda sesuai dengan sumber penghasilnya. Minyak atsiri umumnya tidak berwarna dalam keadaan segar dan murni, namun pada penyimpanan yang lama warnanya berubah menjadi lebih gelap (Gunawan dan Mulyani 2004).

2. Sifat minyak atsiri

Beberapa sifat-sifat minyak atsiri antara lain Tersusun oleh bermacam-macam komponen senyawa, Memiliki bau 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 dalam keadaan murni (belum tercemar oleh senyawa lain) mudah menguap pada suhu kamar sehingga bila diteteskan pada selembar kertas maka ketika dibiarkan menguap, tidak meninggalkan bekas noda pada benda yang di tempel. Bersifat tidak bisa disabunkan dengan alkali dan tidak bisa berubah menjadi tengik dan Indeks bias umumnya tinggi (Gunawan dan Mulyani 2004).

Minyak atsiri ini berupa cairan jernih, tidak berwarna, selama penyimpanan akan mengental dan berwarna kekuningan atau kecoklatan. Hal tersebut terjadi karena adanya pengaruh oksidasi dan resinifikasi (berubah menjadi damar dan resin). Minyak atsiri harus dilindungi dari pengaruh sinar matahari yang dapat merangsang terjadinya oksidasi dan oksigen udara yang akan mengoksidasi minyak atsiri, untuk mencegah atau memperlambat proses oksidasi dan resinifikasi. Minyak atsiri tersebut sebaiknya disimpan dalam wadah berbahan dasar kaca yang berwarna gelap (misalnya, botol berwarna coklat atau biru gelap)

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

3. Metode isolasi minyak atsiri

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

4. Identifikasi minyak atsiri

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

D. Simplisia

1. Pengertian Simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga, kecuali dinyatakan lain berupa bahan yang telah dikeringkan (Depkes 2000). Simplisia merupakan sebutan untuk bahan alam yang dikeringkan dan digunakan untuk pengobatan. Suhu pengeringan simplisia maksimal 60°C untuk mencegah kerusakan kandungan senyawa dalam simplisia. Ada tiga jenis simplisia yaitu simplisia segar, simplisia nabati dan simplisia hewani. Simplisia segar yaitu tanaman segar yang belum dilakukan pengeringan. Simplisia nabati yaitu tumbuhan utuh, bagian tumbuhan atau eksudat tumbuhan. Eksudat tumbuhan adalah isi sel yang secara spontan keluar dari dalam tumbuhan

atau dengan cara tertentu dipisahkan dari tumbuhannya. Simplisia hewani merupakan berupa hewan utuh atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa bahan kimia murni (KEMENKES RI 2010).

2. Pengumpulan simplisia

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

3. Cara pembuatan simplisia

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

4. Pengemasan dan penyimpanan

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

E. Destilasi

Umumnya minyak atsiri diisolasi dengan menggunakan empat metode. Pertama, metode destilasi/penyulingan terhadap tanaman yang mengandung

minyak atsiri. Metode ini memanfaatkan perbedaan titik didih. Kedua, metode penyarian dengan menggunakan pelarut penyari yang cocok. Dasar metode ini adalah adanya perbedaan kelarutan. Minyak atsiri mudah sekali larut dalam pelarut organik tetapi tidak dapat larut di dalam air. Ketiga, metode pengepresan dan pemerasan. Metode ini hanya dapat dilakukan untuk simplisia yang banyak mengandung minyak atsiri dengan kadar yang cukup besar. Metode yang keempat, metode perlekatan bau dengan menggunakan media lilin. Metode ini memanfaatkan aktivitas enzim yang terus aktif selama kurang lebih 15 hari dihitung sejak bahan minyak atsiri dipanen (Gunawan dan Mulyani 2004).

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

Beberapa macam metode penyulingan dikenal dalam industri minyak atsiri. Penyulingan pertama dengan air, memiliki ciri khas yaitu bahan yang akan disulung kontak langsung dengan air mendidih. Beberapa jenis bahan misalnya bubuk buah badam, bunga mawar, orange blossoms harus disulung dengan metode ini. Jika digunakan metode uap langsung, bahan ini akan merekat dan membentuk gumpalan besar yang kompak, sehingga uap tidak dapat berpenetrasi ke dalam bahan (Guenther 2010). Penyulingan dengan air dan uap, bahan olah diletakkan di atas rak-rak atau saringan berlubang. Ketel suling diisi dengan air sampai permukaan air benda tidak jauh dibawah saringan. Air dapat dipanaskan dengan berbagai cara yaitu dengan uap jenuh yang basah dengan tekanan rendah. Ciri khas dari penyulingan ini adalah uap selalu dalam keadaan basah, jenuh dan tidak terlalu panas, bahan yang disulung hanya berhubungan dengan uap dan tidak dengan air panas (Guenther 2010). Penyulingan dengan uap, sering disebut penyulingan uap langsung, memiliki kesamaan prinsip dengan metode yang lain hanya dari penyulingan ini adalah air tidak diisikan dalam ketel.

F. Media

Media adalah tempat bagi sel (bakteri) untuk tumbuh dan mengambil nutrisi yang mendukung kehidupan jaringan. Media tumbuh menyediakan berbagai bahan yang diperlukan jaringan untuk hidup dan memperbanyak diri. Mikroba dapat tumbuh dan berkembang biak dengan baik didalam media, media diperlukan persyaratan tertentu, yaitu media harus mengandung semua unsur hara yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangan mikroba. Media harus mempunyai tekanan osmosa, tegangan permukaan dan pH yang sesuai dengan kebutuhan mikroba. Media harus dalam keadaan steril artinya sebelum ditanami mikroba yang dimaksud, tidak ditumbuhi mikroba lain. Terdapat tiga bentuk media yaitu media cair, padat, dan setengah padat. Media cair (*liquid media*) dapat digunakan pembiakan organisme dalam jumlah besar, fermentasi dan berbagai uji. Media padat (*solid media*) digunakan untuk mengamati bentuk dan morfologi koloni serta mengisolasi biakan murni. Media setengah padat (*semisolid media*) digunakan untuk menguji ada atau tidaknya motilitas dan kemampuan fermentasi (Sriyanti dan Wijayani 2008).

G. Sterilisasi

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

H. *Staphylococcus aureus*

1. Sistematika *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus adalah bakteri Gram-positif. Apabila diamati dibawah mikroskop terlihat berbentuk bulat tunggal atau berpasangan, atau berbentuk bergerombol seperti buah anggur (Radji 2011).

Klasifikasi *Staphylococcus aureus* sebagai berikut (Brooks *et al.* 2005):

Domain	: <i>Bacteria</i>
Kingdom	: <i>Eubacteria</i>
Divisi	: <i>Firmicutes</i>
Class	: <i>Cocci</i>
Ordo	: <i>Bacillales</i>
Family	: <i>Staphylococcaceae</i>
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>

2. Morfologi dan identifikasi

Ciri-ciri organisme *Staphylococcus aureus* adalah sel berbentuk bola dengan garis tengah kira-kira 1 μm tersusun dalam kelompok-kelompok tidak teratur dan pada biakan cair juga terlihat kokus yang tunggal, berpasangan, tetrad, dan berbentuk rantai. Kokus muda bersifat Gram-positif kuat; pada biakan tua, banyak sel menjadi Gram-negatif. *Staphylococcus aureus* tidak bergerak dan tidak membentuk spora (Jawetz *et al.* 2005).

Staphylococcus aureus mudah tumbuh pada kebanyakan perbenihan bakteriologik dalam keadaan aerobik atau mikro-aerobik. *Staphylococcus aureus* paling cepat pada 37°C tetapi paling baik membentuk pigmen pada suhu kamar (20°C). Koloni pada perbenihan padat berbentuk bulat, halus, menonjol dan berkilau-kilauan, membentuk berbagai pigmen. *Staphylococcus aureus* berwarna kuning emas (Jawetz *et al.* 2005).

3. Patogenesis

Sebagian bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan flora normal pada kulit, saluran pernafasan, dan saluran pencernaan makanan pada manusia. Bakteri *Staphylococcus aureus* juga ditemukan di udara dan lingkungan sekitar.

Staphylococcus aureus yang patogen bersifat invasiv, dapat menyebabkan hemolisis, membentuk koagulase (Warsa 1994).

Staphylococcus aureus memproduksi koagulasi yang mengkatalisis perubahan fibrinogen menjadi fibrin. Bakteri ini juga memiliki reseptor terhadap permukaan sel pejamu dan terhadap protein matrik (misalnya fibronektin, kolagen) yang membantu organisme tersebut untuk melekat. Bakteri ini memproduksi enzim litik ekstraseluler (misalnya lipase) yang memecah jaringan pejamu dan membantu invasi. Beberapa strain memproduksi eksotoksin poten, yang menyebabkan sindrom syok toksik. Enterotoksin juga dapat diproduksi yang dapat menyebabkan diare (Gillespie 2007).

Kontaminasi langsung *Staphylococcus aureus* dilihat 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 (Jawetz *et al.* 1995).

I. Antibakteri

Antibakteri adalah suatu senyawa yang dalam konsentrasi kecil mampu menghambat bahkan dapat membunuh proses kehidupan suatu mikroorganisme (Jawetz *et al.* 2005). Beberapa istilah yang digunakan untuk membasi mikroorganisme dengan mematikan sel-sel vegetatif, tetapi tidak selalu dapat mematikan bentuk sporanya. Bakterisid adalah bahan yang dapat dipakai untuk mematikan bentuk dari vegetatif bakteri. Bakteriostatik adalah suatu bahan yang mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri tanpa mematikannya.

Secara umum kemungkinan suatu zat antibakteri dapat diduga dengan mengenali struktur serta komposisi sel bakteri. Kerusakan pada salah satu jaringan dapat mengawali terjadinya perubahan-perubahan matinya sel. Perubahan-perubahan yang dimaksud adalah yang pertama, kerusakan pada dinding sel. Struktur dinding sel dapat rusak dengan cara menghambat pembentukannya atau setelah selesai terbentuk (Jawetz *et al.* 2001). Kedua, perubahan permeabilitas sel. Membran sitoplasma mempertahankan bagian-bagian tertentu dalam sel serta

mengatur aliran keluar masuknya bahan-bahan lain, kemudia memelihara integritas komponen-komponen seluler. Kerusakan pada membran ini akan mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel (Jawetz *et al.* 2001). Ketiga, perubahan molekul protein dan asam nukleat. Hidup suatu sel tergantung pada terpeliharanya molekul-molekul protein dan asam nukleat dalam keadaan alamiahnya. Suatu antibakteri dapat mengubah keadaan ini dengan mendenaturasikan protein dan asam-asam nukleat sehingga merusak sel tanpa dapat diperbaiki lagi (Jawetz *et al.* 2001). Keempat, penghambatan kerja enzim. Sulfonamid merupakan zat kemoterapi sintesis yang bekerja dengan cara bersaing dengan PABA, sehingga dapat menghalangi sintesis asam folat yang merupakan asam esensial yang berfungsi dalam sintesis purin dan pirimidin. Aktivitas seluler yang normal akan terganggu, karena tidak adanya enzim (Jawetz *et al.* 2001). Kelima, penghambatan sintesis asam nukleat dan protein. Protein memegang perubahan yang penting di dalam proses kehidupan sel normal. Hal ini berarti bahwa gangguan apapun yang terjadi pada pembentukan sel atau pada fungsi sel zat-zat tersebut mengakibatkan kerusakan total pada sel (Jawetz *et al.* 2001).

J. Antiseptik

Antiseptik adalah bahan kimia yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan dan membunuh mikroorganisme berbahaya yang terdapat pada permukaan tubuh luar makhluk hidup seperti pada permukaan kulit dan membran mukosa. Secara umum, antiseptik berbeda dengan obat-obatan maupun disinfektan. Disinfektan berfungsi sebagai zat untuk membunuh mikroorganisme yang terdapat pada benda yang tidak bernyawa seperti meja, lantai dan pisau bedah sedangkan antiseptik digunakan untuk menekan pertumbuhan mikroorganisme pada jaringan tubuh, misalnya kulit. Mekanisme kerja antiseptik terhadap mikroorganisme berbeda-beda, seperti dengan mendehidrasi (mengeringkan) bakteri, mengoksidasi sel bakteri, mengkoagulasi (menggumpalkan) cairan di sekitar bakteri, atau meracuni sel bakteri (Entjang 2003). Antiseptik digunakan sebagai kontrol positif, contoh antiseptik yang akan digunakan ialah dettol antiseptik cair yang mengandung zat aktif chloroxylenol

4,8 w/v. Penelitian (Rahayu, N.W.N 2016) membuktikan bahwa dalam penelitian yang telah dilakukan, hasil dari uji aktivitas mempunyai diameter hambat pada chloroxylenol 4,8% (20,57 mm) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

K. Kombinasi Obat

Kombinasi obat adalah campuran dua atau lebih obat dalam satu formulasi atau dua obat yang berbeda diminum dalam waktu yang sama. Kombinasi obat dapat menimbulkan interaksi, sehingga terjadi suatu peningkatan atau penurunan efek dari obat tersebut (Siswondono dan Soekardjo 2000).

Kombinasi obat-obat dengan efek-efek yang serupa diberikan bersamaan, biasanya tampak suatu respon aditif atau sinergis. Kedua obat tidak atau dapat bekerja pada reseptor yang sama untuk menimbulkan efek. Sebaliknya, obat-obat dengan efek yang berlawanan dapat menurunkan respon dari satu atau kedua obat tersebut (Katzung 2002).

Teori kombinasi dapat dibagi menjadi 3 jenis interaksi antara dua agen yaitu aditif, sinergisme dan antagonis, yang masing-masing memberikan efek kombinasi yang sama, lebih besar atau lebih kecil dari efek individu setiap agen. Interaksi antara dua obat dengan kerja yang serupa diberikan jumlah dari efek kedua obat dapat menjadi diinginkan disebut efek aditif. Efek sinergis adalah dua obat atau lebih diberikan bersama-sama, obat yang satu dapat memperkuat terhadap obat yang lain. Efek antagonis adalah interaksi dua obat apabila dikombinasikan mempunyai kerja yang berlawanan, maka efek obat-obat itu akan saling meniadakan atau kerja obat dari kedua obat itu akan hilang (Joyce dan Evelyn 2006).

L. Metode Difusi

Metode difusi adalah suatu uji aktifitas dengan menggunakan cakram yang berliang renik atau suatu silinder tidak beralas yang mengandung obat dalam jumlah tertentu ditempatkan pada pemberian padat yang telah ditanami dengan biakan bakteri yang akan diperiksa. Garis tengah daerah hambatan jernih yang

mengelilingi obat dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan terhadap bakteri yang diperiksa setelah inkubasi . Metode ini zat yang akan ditentukan aktivitas anti mikrobanya berdifusi pada lempeng agar *Muller Hinton* yang telah ditanami mikroba yang akan diuji. Dasar penggunaannya adalah terbentuk atau tidaknya zona hambatan pertumbuhan bakteri disekeliling cakram atau silinder yang berisi zat anti mikroba (Harminta 2004).

Metode yang paling sering digunakan adalah metode difusi agar/cakram. Cawan petri diisi dengan media MHA (*Mueler Hinton Agar*), menginokulasikan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada media tersebut, menunggu sampai bakteri menyerap pada media. Membuat sumuran dengan menggunakan boorprop, memasukkan larutan uji dengan konsentrasi yang berbeda-beda kedalam sumuran yang telah dibuat tadi, menginkubasi selama 24 jam, dan mengamati diameter hambatan. Diameter daerah hambatan ini tergantung pada daya resap larutan uji yang digunakan kedalam agar dan kepekaan kuman terhadap obat tersebut (Bonang dan Koeswardono 2004).

M. Landasan Teori

Sebagian besar masyarakat Indonesia masih menggunakan bahan-bahan alami untuk keperluan sehari-hari maupun dalam bidang kesehatan. Obat-obat tradisional itu dipercaya dapat mengobati berbagai penyakit. Pengobatan tradisional tanaman daun kemangi berkhasiat untuk merangsang penyerapan, peluruh keringat (*diaphoretic*), diuretik, pelancar peredaran darah, penghilang rasa sakit (analgesik), dan pembersih racun (Hariana 2008). Minyak atsiri daun kemangi mengandung eugenol yang tergolong turunan senyawa fenol yang mempunyai efek antiseptik dan bekerja dengan merusak membran sel. Mekanisme antibakteri kemungkinan karena pengikatan senyawa fenol dengan sel bakteri, kemudian akan mengganggu permeabilitas membran dan proses transportasi (Maryati 2007). Penelitian (Adeola *et al.* 2012) membuktikan bahwa minyak atsiri dari daun kemangi memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dengan nilai KBM 0,4% dan KHM sebesar 3,12-25,0% dengan metode difusi agar dan penelitian (Hussain *et al.* 2008) dilaporkan bahwa minyak atsiri

daun kemangi memiliki komponen utama linalool sebesar (56,7-60,6%) diketahui mempunyai diameter zona hambat sebesar 22,2-24,4 mm terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Pada konsentrasi 2% menunjukkan tidak adanya pertumbuhan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* (Maryati *et al.*).

Minyak atsiri pala dapat dihasilkan dari daun, biji dan fuli buah pala. Kandungan minyak dalam daun sebesar 1,7%, sedangkan fuli pala dapat menghasilkan 4-17% minyak (BSN 2006). Minyak atsiri dengan komponen utama monoterpen hidrokarbon (61-88% seperti *alpha pinene*, *beta pinene*, *sabinene*), asam monoterpenes (5-15%), aromatik eter (2-18% seperti *myristicin*, *elemicin*, *safrole*). Senyawa aromatik *myristicin*, *elemicin*, dan *safrole* sebesar 2-18% yang terdapat pada biji dan bunga pala bersifat merangsang halusinasi (Samiran 2006). Rendemen minyak atsiri biji pala berkisar antara 2–15% (rata-rata 12%), (Peter 2001). Ciri-ciri minyak atsiri pala berwarna jernih kekuningan atau kehijauan dengan aroma khas pala. Penelitian (Gupta 2008) minyak atsiri pala dapat menghambat bakteri Gram positif yaitu *Staphylococcus aureus* dengan daya hambat sebesar 12,5%.

Penelitian uji kombinasi dari minyak atsiri daun kemangi dan biji pala belum dilakukan penelitian sebelumnya, dari kombinasi keduanya diharapkan dapat meningkatkan efektivitas antibakteri. Kombinasi yang pernah dilakukan pada penelitian Pratiwi (2016) adalah kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan kulit kayu manis memiliki daya hambat sebesar 17,6 mm dan nilai KBM sebesar 1,56% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Penelitian minyak atsiri biji pala sebelumnya dilakukan secara tunggal pada penelitian (Gupta 2008) minyak atsiri pala dapat menghambat bakteri Gram positif yaitu *Staphylococcus aureus* dengan daya hambat sebesar 12,5%.

Staphylococcus 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, dan berbagai infeksi pirogen. *Staphylococcus aureus* mengandung polisakarida dan protein yang berfungsi sebagai antigen dan

merupakan substansi penting didalam struktur dinding sel, tidak membentuk spora, dan tidak membentuk flagel (Jawetz *et al.* 2005).

Metode penguji pada penelitian ini menggunakan metode difusi. Metode difusi digunakan untuk menentukan diameter zona hambatan. Metode difusi merupakan uji aktivitas dengan menggunakan cakram kertas yang berisi sejumlah tertentu obat yang kemudian ditempatkan pada permukaan medium padat yang sebelumnya telah diinokulasi bakteri uji pada permukaannya, setelah di inkubasi garis tengah daerah hambatan jernih yang mengelilingi larutan uji dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan terhadap bakteri uji (Jawetz *et al.* 2001).

Kombinasi obat merupakan campuran dua atau lebih obat dalam satu formulasi atau dua obat yang berbeda duiminum dalam waktu yang sama. Kombinasi obat dapat meenimbulkan interaksi, sehingga terjadi suatu peningkatan atau penurunan efek dari obat tersebut (Siswondono dan Soeksrdjo 2000). Penelitian ini menggunakan kombinasi karena kombinasi dapat dilakukan untuk mengatasi toleransi bakteri, mencegah resistensi, mengurangi toksisitas, dan dapat untuk mencegah inaktivasi oleh enzim (Mulyono dan Isman 2011).

N. Hipotesis

Berdasarkan uraian diatas, maka dapat disusun suatu hipotesis yaitu :

Pertama, minyak atsiri kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dan biji pala (*Myristica Fragrans* H.) maupun kombinasi dari keduanya memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kedua, kombinasi dari kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dan biji pala (*Myristica Fragrans* H.) memiliki daya hambat paling besar terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dari pada tunggalnya.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi adalah semua obyek yang menjadi sasaran penelitian. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah kemangi (*Ocimum basilicum* L.) yang diperoleh dari Karanganyar, Jawa Tengah dan biji pala (*Myristica Fragrans* H.) diperoleh dari Ngargosari, Samigaluh Kulon Progo Jogja, Jawa Tengah.

2. Sampel

Sampel adalah sebagian kecil dari populasi yang digunakan dalam melakukan penelitian. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kemangi diambil bagian daun berwarna hijau, dipilih yang segar, bebas dari penyakit, serta bersih yang diambil secara acak. Biji pala yang digunakan berasal dari buah pala yang sudah tua, berwarna hitam kecoklatan yang diambil secara acak.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama dalam penelitian ini adalah minyak atsiri dari daun kemangi dan biji pala.

Variabel utama kedua dalam penelitian ini adalah kombinasi minyak atsiri dari daun kemangi dan biji pala.

Variabel utama ketiga penelitian ini adalah aktivitas antibakteri minyak atsiri dari daun kemangi dan biji pala beserta kombinasinya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC25923.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama yang telah diidentifikasi dapat diklasifikasikan dalam berbagai macam variabel yaitu variabel bebas, variabel terkendali dan variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian adalah variabel yang direncanakan untuk diteliti pengaruhnya terhadap variabel tergantung sedang pengertian variabel tergantung dalam penelitian ini adalah pusat persoalan yang merupakan pengaruh selain variabel bebas.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi dari minyak atsiri daun kemangi, biji pala, dan kombinasi keduanya dengan perbandingan (1:1), (1:2), (1:3), (2:1), (3:1).

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

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

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, daun yang digunakan adalah daun kemangi yang berwarna hijau, segar, sehat, dan bebas dari hama. Daun kemangi diambil secara acak dari Karanganyar, Jawa Tengah.

Kedua, biji yang digunakan adalah biji pala dari buah pala yang sudah tua, berwarna hitam kecoklatan yang diambil secara acak dari Ngargosari, Samigaluh Kulon Progo Jogja, Jawa Tengah.

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

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

Kelima, kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan biji pala (1:1) adalah kombinasi dari minyak atsiri daun kemangi dan biji pala yaitu satu bagian minyak atsiri daun kemangi dan satu bagian minyak atsiri biji pala.

Keenam, kombinasi minyak atsiri dengan perbandingan (1:2) adalah kombinasi dari minyak atsiri daun kemangi dan biji pala yaitu satu bagian minyak atsiri daun kemangi dan dua bagian minyak atsiri biji pala.

Ketujuh, kombinasi minyak atsiri dengan perbandingan (2:1) adalah kombinasi dari minyak atsiri biji pala dan daun kemangi yaitu dua bagian minyak atsiri biji pala dan satu bagian minyak atsiri daun kemangi.

Kedelapan, kombinasi minyak atsiri dengan perbandingan (1:3) adalah kombinasi dari minyak atsiri daun kemangi dan biji pala yaitu satu bagian minyak atsiri daun kemangi dan tiga bagian minyak atsiri biji pala.

Kesembilan, kombinasi minyak atsiri dengan perbandingan (3:1) adalah kombinasi dari minyak atsiri daun kemangi dan biji pala yaitu tiga bagian minyak atsiri daun kemangi dan satu bagian minyak atsiri biji pala.

Kesepuluh, kontrol positif adalah antiseptik yang mengandung zat aktif chloroxylenol 4,8%.

Kesebelas, uji aktivitas antibakteri minyak atsiri daun kemangi, biji pala beserta kombinasinya adalah pengujian aktivitas dengan menggunakan metode difusi untuk melihat pertumbuhan bakteri dalam media uji dengan konsentrasi 12,5% ; 25% ; 50%.

C. Alat Dan Bahan

1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi alat untuk pembuatan minyak atsiri yaitu kondensor dan dandang besar. Peralatan untuk uji mikrobiologi yaitu lampu spiritus, jarum ose tangkai panjang, 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. Alat untuk analisis minyak atsiri yaitu refraktometer dan GCMC-QP2010S.

2. Bahan

Bahan sampel yang digunakan dalam uji mikrobiologi antibakteri adalah minyak atsiri dari daun kemangi dan biji pala dengan konsentrasi 12,5%, 25%, 50% untuk uji difusi.

Bahan kimia yang digunakan adalah Na sulfat eksikatus, Aseton, H₂O, darah kelinci dan antiseptik. Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Mueler Hilnton Agar* (MHA), *Vogel Johnson Agar* (VJA), *Nutrien Agar* (NA), *Brain Heart Infusion* (BHI), kalium tellurit dan plasma sitrat.

Penelitian ini menggunakan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi.

D. Jalannya Penelitian

1. Identifikasi tanaman

Tahap pertama penelitian ini adalah menetapkan kebenaran sampel kemangi dan biji pala yang berkaitan dengan ciri-ciri mikroskopis dan makroskopis, serta mencocokkan ciri-ciri morfologis yang ada pada tanaman daun kemangi dan biji pala terhadap kepustakaan yang dilakukan di Laboratorium Biologi, Fakultas Farmasi, Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.

2. Pengambilan Bahan

Daun kemangi diperoleh dari Karanganyar, Jawa Tengah, dan biji pala diperoleh dari Ngargosari, Samigaluh Kulon Progo Jogja, Jawa Tengah. Biji pala diambil dari buah pala yang sudah tua, berwarna hitam kecoklatan. Kemangi yang diambil adalah bagian daunnya yang berwarna hijau, lalu dibersihkan dari kotoran yang menempel. Sebelum diproses, dirajang dahulu menjadi potongan-potongan kecil.

3. Isolasi minyak atsiri

Metode isolasi yang digunakan adalah metode destilasi uap-air. Daun kemangi dan biji pala masing-masing yang telah dipotong dimasukkan ke dalam alat penyulingan minyak dan air yang menyerupai dandang dengan penyangga berlubang yang telah terisi air. Penyulingan dilakukan di atas api sampai air mendidih. Uap air yang dihasilkan dialirkan pada pipa kebagian kondensor dan mengalami proses kondensasi, bersama dengan uap air tersebut terbawa dengan minyak atsiri juga. Pemanasan dilakukan dengan api sampai penyulingan dihentikan setelah tidak ada penambahan minyak, kemudian tampung destilat dan ukur volume yang dihasilkan.

Minyak yang diperoleh kemudian dilakukan pemisahan fase air dan minyak menggunakan corong pisah dengan penambahan Na_2SO_4 eksikatus seberat 1% dari volume minyak atsiri sehingga didapat hasil sulingan minyak kemangi dan kemangi yang murni. Minyak yang diperoleh kemudian disimpan

dalam botol berwarna gelap (coklat), diisi penuh dan kemudian ditutup rapat serta simpan di ruangan yang terlindung dari cahaya (Depkes 2003).

4. Analisa minyak atsiri

4.1. Pengamatan organoleptik. Pengamatan organoleptik terhadap minyak atsiri meliputi warna, aroma, bentuk, dan rasa dari minyak. Warna minyak atsiri hasil destilasi masing-masing sampel diambil volume sama dan ditempatkan dalam sebuah wadah berbahan kaca yang bersih dan jernih. Bau dan rasa minyak atsiri memiliki bau dan rasa yang khas sesuai dari tanaman asalnya. Organoleptik minyak atsiri daun kemangi dan biji pala memiliki bau aromatik, mirip sinamaldehid dan eugonol. Warna coklat muda, rasa tidak berasa (Stahl 2008).

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

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

4.4. Penetapan bobot jenis minyak atsiri. Penetapan bobot jenis ditetapkan dengan cara botol timbang dikeringkan dengan cara di oven, kemudian ditimbang botol kosong dan dicatat hasilnya. Minyak atsiri daun kemangi dan biji pala ditimbang dalam botol timbang dan dicatat hasilnya, penimbangan diulang sebanyak tiga kali. Data hasil penimbangan botol ditimbang dan minyak atsiri daun kemangi dan biji pala dikurangkan bobot botol timbang kosong sehingga didapatkan bobot minyak atsiri. Dibandingkan bobot minyak dengan bobot air

sehingga didapatkan bobot jenis dari minyak atsiri. Bobot minyak atsiri = bobot botol timbang berisi minyak atsiri – bobot botol timbang kosong.

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

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

4.6. Karakterisasi komponen senyawa penyusun minyak atsiri dengan Gas Chromatography - Mass Spectrometry (GC-MS). Pengujian komponen senyawa penyusun minyak atsiri daun kemangi dan biji pala 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 fi lm 0.25 μm) dan detektor yang digunakan FID. Kondisi GC: suhu awal 60 °C dinaikkan sampai 250 °C (4 °C/menit) kemudian pada suhu 250 °C dipertahankan selama 20 menit, gas pembawa Helium dengan kecepatan aliran 20 ml/min. Senyawa diidentifikasi dengan membandingkan retention index dan membandingkan mass spectra dengan yang ada di database *wiley library* dan *NIST library* (Adams 2004).

5. Sterilisasi

Media yang digunakan dalam penelitian ini disterilkan terlebih dahulu dengan autoklaf pada suhu 121°C selam 15 menit. Gelas ukur dan beker glass disterilkan dengan oven pada suhu 170-180°C selama 2 jam, sedangkan alat seperti jarum ose disterilkan dengan pemanas api langsung dan inkas disterilkan dengan menggunakan formalin (Suriawiria 2005).

6. Pembuatan suspensi bakteri uji *Staphylococcus aureus*

Biakan murni bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ditanam pada media NA. Pembuatan suspensi dilakukan dengan mengambil biakan murni

kurang lebih 1 ose bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Suspensi dibuat dalam tabung yang berisi media *Brain Heart Infusion* (BHI) dan kekeruhannya disesuaikan dengan kekeruhan standar Mc Farland 0,5 setara dengan jumlah $1,5 \times 10^8$ cfu/mL. Tujuan disesuaikannya suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan standar Mc Farland 0,5 yaitu agar jumlah bakteri yang digunakan sama selama penelitian dan mengurangi kepadatan bakteri saat pengujian.

7. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

7.1. Identifikasi berdasarkan koloni. Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang telah dibuat suspensi bakteri kemudian diidentifikasi dengan pemeriksaan koloni. Pemeriksaan koloni dilakukan untuk mengamati koloni diduga bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada media differensial *Vogel Jhonson Agar* (VJA) yang telah ditetesi 3 tetes kalium telurit 1% dalam cawan petri kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil pengujian yaitu beberapa koloni dengan warna hitam, karena *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat mereduksi telurit menjadi metalik warna medium disekitar koloni berwarna kuning karena fermentasi manitol.

7.2. Identifikasi mikroskopis secara morfologi. Cara identifikasi secara mikroskopis dapat dilakukan dengan cara pengecatan Gram.

pertama siapkan obyek glass untuk membuat preparat. Pembuatan preparat dilakukan teknik smear, pilih koloni yang diduga koloni *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Tetesi sedikit aquadest pada obyek glass, ambil 1 ose bakteri dari koloni yang sudah dipilih, lakukan perataan, preparat yang sudah jadi diuiksasi diatas lampu spiritus. Kedua, tetesi bagian yang dismear tadi dengan cat Gram A (cat Kristal violet sebagai cat utama) diamkan beberapa menit. Ketiga, tetesi dengan cat Gram B (lugol iodine sebagai mordan) diamkan 1-2 menit, kemudian dibilas. Keempat,tetesi dengan cat Gram C (etanol aseton = 1 : 1 sebagai peluntur) diamkan 1-2 menit kemudian dibilas dan dikeringkan. Kelima, tetesi dengan cat Gram D (cat sarfanian sebagai cat lawan atau penutup) diamkan 1-2 menit kemudian dibilas dan ikeringkan. Terakhir amati dengan mikroskop. Hasilnya

menunjukkan positif apabila terlihat berwarna ungu, berbentuk bulat dan bergerombol seperti buah anggur.

7.3. Identifikasi fisiologi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Identifikasi secara fisiologi ada dua yaitu uji katalase dan koagulase, uji katalase menggunakan suspensi bakteri uji yang ditanam pada medium nutrient cair dengan H_2O_2 3%. Hasil positif ditandai dengan adanya gelembung udara sebab *Staphylococcus aureus* mempunyai katalase. Penambahan H_2O_2 akan terurai menjadi H_2 dan O_2 , hal ini ditandai dengan timbulnya gelembung udara. Uji koagulase menggunakan plasma darah kelinci yang diberi asam sitrat, diencerkan (1:5) ditambah 1 ose biakan bakteri, diinkubasi pada suhu 37°C. Tabung diperiksa dengan melihat pembentukan selama 1-4 jam. Hasilnya positif kuat jika tabung dibalik, gumpalan plasma tidak terlepas dan tetap melekat pada dinding tabung (Jawets *et al.* 2007).

8. Pembuatan larutan uji

Dibuat beberapa konsentrasi minyak atsiri yaitu 12,5%, 25%, 50%, dengan cara pengenceran minyak atsiri daun kemangi dan biji pala menggunakan pelarut aseton 100%.

9. Pembuatan kombinasi bahan uji

Kombinasi minyak atsiri kemangi dan biji pala dengan perbandingan (1:1) dibuat dengan mengambil 0,2 ml minyak atsiri daun kemangi dan 0,2 ml minyak atsiri biji pala, kombinasi minyak atsiri dengan perbandingan (1:2) dibuat dengan mengambil 0,13 ml minyak atsiri daun kemangi dan 0,27 ml minyak atsiri biji pala, kombinasi minyak atsiri dengan perbandingan (2:1) dibuat dengan mengambil 0,27 ml minyak atsiri daun kemangi dan 0,13 ml minyak atsiri biji pala, kombinasi minyak atsiri dengan perbandingan (1:3) dibuat dengan mengambil 0,1 ml minyak atsiri daun kemangi dan 0,3 ml minyak atsiri biji pala, kombinasi minyak atsiri dengan perbandingan (3:1) dibuat dengan mengambil 0,3 ml minyak atsiri daun kemangi dan 0,1 ml minyak atsiri biji pala. Jumlah volume masing-masing perbandingan minyak atsiri daun kemangi dan biji pala adalah 0,4 ml dan minyak atsiri dilarutkan menggunakan pelarut aseton 100%.

10. Pengujian aktivitas antibakteri

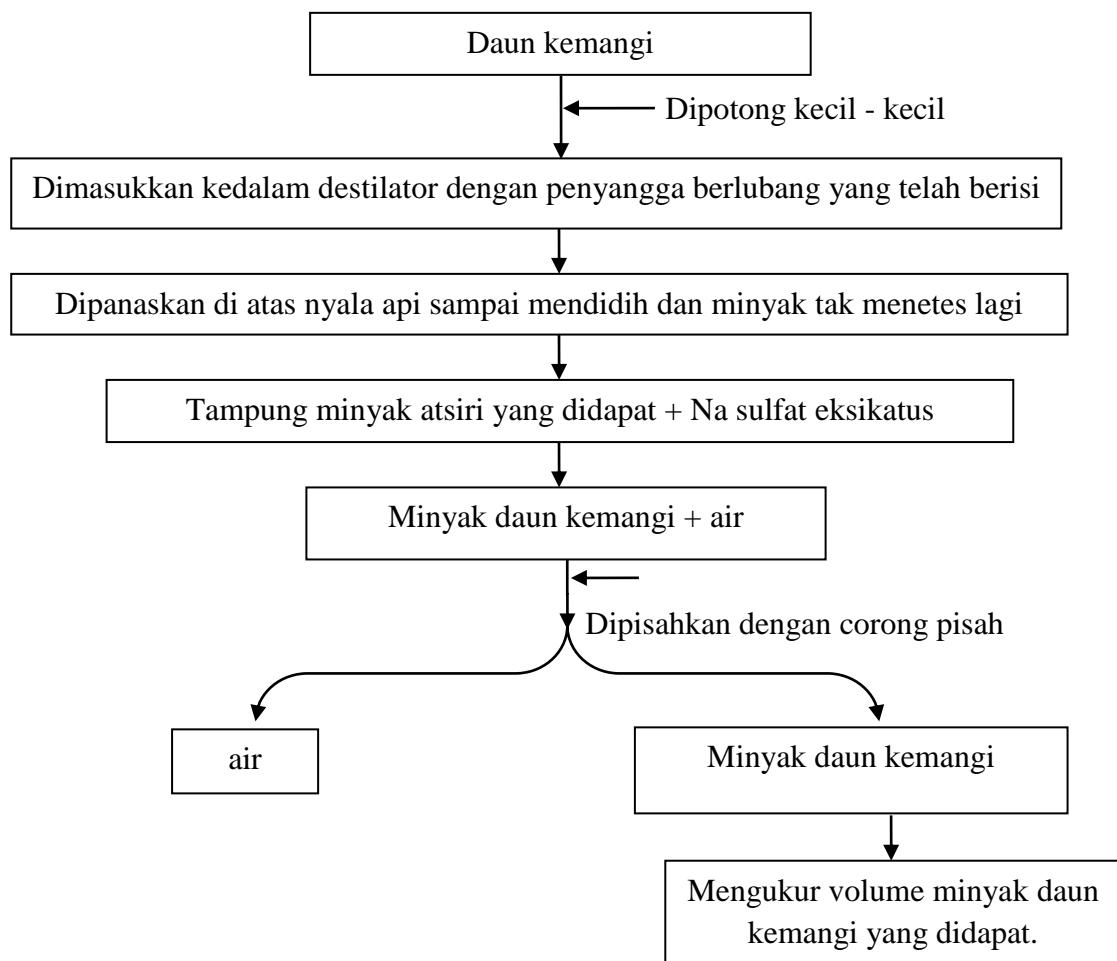
Metode yang digunakan untuk uji daya hambat antibakteri adalah metode difusi. Metode difusi digunakan untuk mengetahui adanya daya hambat terhadap bakteri uji dan untuk menentukan diameter daerah hambat dari minyak atsiri daun kemangi dan biji pala dengan konsentrasi 12,5%, 25%, 50%. Penelitian ini menggunakan cawan petri yang berisi MHA. Pertama bakteri diambil dari media BHI dengan menggunakan kapas lidi steril sebanyak satu kali kemudian dioleskan pada cawan petri yang berisi MHA tersebut dan tunggu sampai bakteri berdifusi pada media.

Setelah suspensi bakteri diratakan pada MHA, kemudian pada setiap cakram yang berukuran 6 mm ditetesi menggunakan mikropipet sebanyak 10 μm dengan larutan kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan biji pala. pada lubang pertama berisi kombinasi 1:1 yaitu 0,2 ml minyak atsiri daun kemangi dan 0,2 ml minyak atsiri biji pala, pada lubang kedua berisi kombinasi 1:2 yaitu 0,13 ml minyak atsiri daun kemangi dan 0,27 ml minyak atsiri biji pala, pada lubang ketiga berisi kombinasi 2:1 yaitu 0,27 ml minyak atsiri daun kemangi dan 0,13 ml minyak atsiri biji pala, pada lubang keempat berisi kombinasi 1:3 yaitu 0,1 ml minyak atsiri daun kemangi dan 0,3 ml minyak atsiri biji pala, pada lubang kelima berisi kombinasi 3:1 yaitu 0,3 ml minyak atsiri daun kemangi dan 0,1 ml minyak atsiri biji pala, dengan menggunakan mikropipet. Kontrol positif menggunakan antiseptik chloroxylenol. Langkah selanjutnya cakram diletakkan atau ditempelkan pada media MHA dengan menggunakan pinset, cawan petri diinkubasi di dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C. Kemudian setelah 24 jam dilakukan inkubasi, zona hambat yang terbentuk dapat diukur.

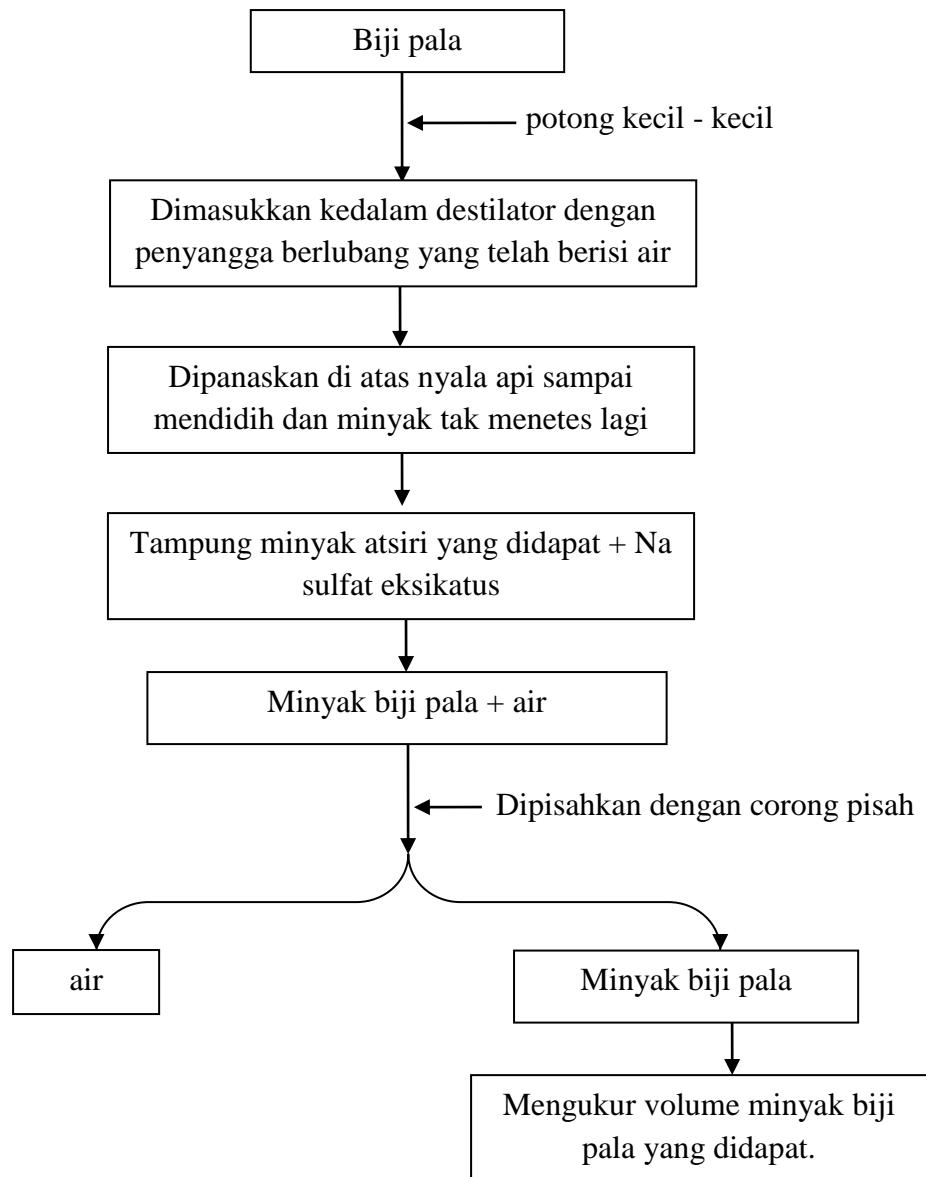
Pengukuran zona hambat yang terbentuk dilakukan setelah inkubasi selama 24 jam di sekitar cakram menggunakan penggaris dengan ketelitian 1 mm. Hasil dari pengukuran tersebut dijumlahkan dan dibagi dengan banyaknya pengukuran untuk mendapatkan besarnya zona hambat yang terbentuk.

E. Analisis Hasil

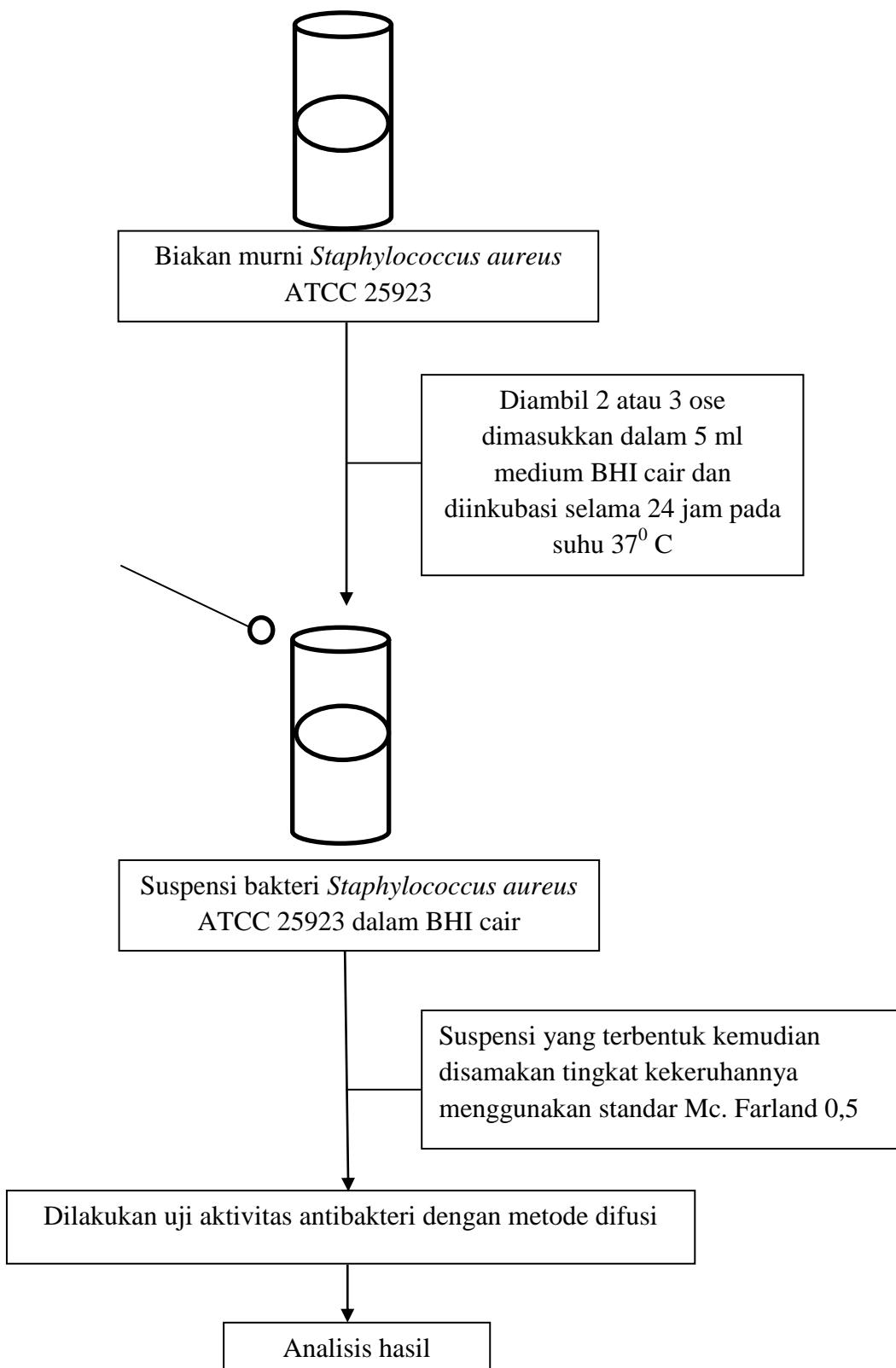
Data hasil penelitian diperoleh dengan mengukur daya sebar dilihat dari adanya daerah hambatan pertumbuhan bakteri uji yang ditunjukkan dengan adanya zona jernih disekeliling cakram yang tidak ditumbuhki bakteri, kemudian diukur diameter hambatan pertumbuhan bakterinya dari masing-masing lingkungan.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



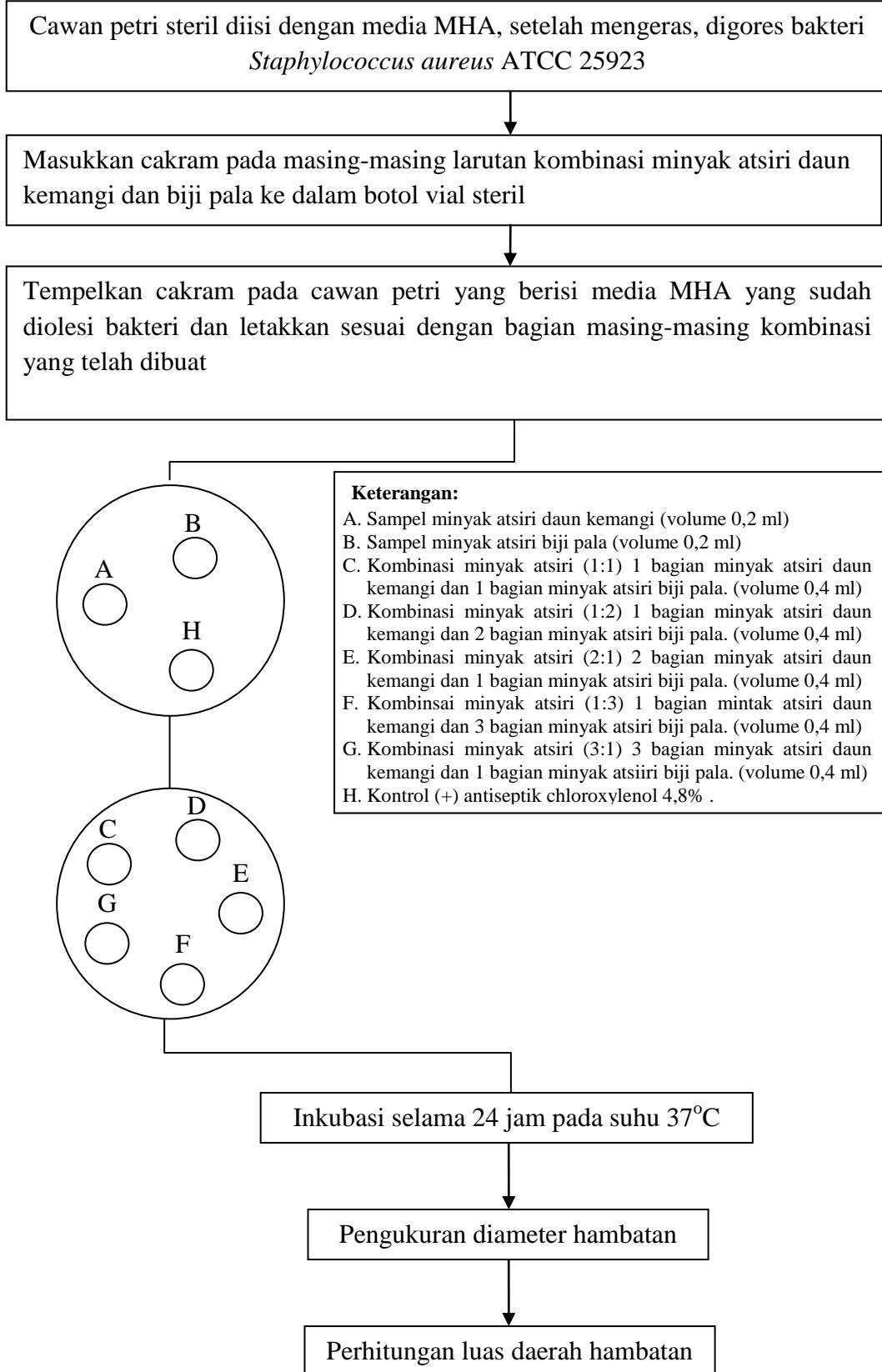
Gambar 3. Skema isolasi minyak atsiri daun kemang



Gambar 4. Skema isolasi minyak atsiri biji pala



Gambar 5. Skema pembuatan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



Gambar 6. Skema pengujian aktivitas antibakteri secara difusi

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Identifikasi tanaman

Identifikasi tanaman pada penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada. Identifikasi tanaman bertujuan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang diambil, menghindari terjadinya kesalahan dalam pengambilan bahan sampel dan menghindari tercampurnya bahan sampel dengan bahan tanaman lain serta mencocokkan ciri morfologi yang ada pada tanaman yang diteliti. Berdasarkan hasil identifikasi tanaman dapat dipastikan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman daun kemangi (*Ocimum basilicum L.*) dan biji pala (*Myristica fragrans H.*). Hasil identifikasi dapat dilihat pada Lampiran 1.

2. Pengambilan Bahan

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

3. Isolasi minyak atsiri

Isolasi minyak atsiri daun kemangi dan biji pala menggunakan metode destilasi uap dan air. Hasil destilasi dari percobaan didapat rendemen minyak atsiri.

Tabel 1. Kadar minyak atsiri daun kemangi dan biji pala

Sampel	Bobot sampel	Volume minyak	Kadar (%)
Kemangi	5000 gram	10 ml	0,20
Biji pala	3000 gram	10 ml	0,34

Penelitian Hussain *et al* (2008) membuktikan bahwa minyak atsiri kemangi mempunyai komponen utama yaitu linalool, rendemen yang dihasilkan

sekitar 0,4% (Feryanto 2007). Komponen minyak dalam biji pala yang diperoleh dengan menggunakan destilasi bervariasi antara 0,5-1,7% dengan kandungan senyawa miristin, hidrokarbon terpen, dan turunan fenilpropan (Kusumaningrum *et al.* 2003). Kadar minyak atsiri daun kemangi yang diperoleh dalam praktek dengan hasil rendemen adalah 0,2% sedangkan kadar minyak biji pala dalam praktek yang didapat dengan hasil rendemen adalah 0,34%. Data perhitungan lengkap dapat dilihat pada Lampiran 10.

4. Pengamatan organoleptik minyak atsiri

Hasil uji organoleptik dapat dilihat dengan pengamatan secara visual dan panca indra meliputi hidung, mata, dan lidah. Hasil pengamatan organoleptik pada minyak atsiri daun kemangi dan biji pala dapat dilihat pada Tabel 2 dan 3.

Tabel 2. Hasil pemeriksaan organoleptik minyak atsiri daun kemangi

Jenis pemeriksaan	Hasil	Pustaka
Warna	Kuning muda	Kuning muda-coklat muda (Depkes 2006)
Bau	Aromatik	Khas kemangi (Depkes 2006)
Bentuk	Cair	Cairan (Depkes 1979)
Rasa	Manis, seperti rempah	Manis, seperti rempah (Alfrida 2013)

Tabel 3. Hasil pemeriksaan organoleptik minyak atsiri biji pala

Jenis pemeriksaan	Hasil	Pustaka
Warna	Kuning muda	Jernih – kuning muda (BSN 2006)
Bau	Aroma khas pala	Khas pala (BSN 2006)
Bentuk	Cair	Cairan (Mollasalehi <i>et al.</i> 2013)
Rasa	Pedas	Pedas (Nurdjannah 2007)

Berdasarkan tabel diatas bentuk minyak atsiri daun kemangi dan biji pala berbentuk cair, warna pada kedua minyak atsiri juga berwarna kuning muda sesuai pustaka, kemuadian bau pada minyak atsiri daun kemangi terdapat bau yang aromatik dan bau pada minyak atsiri biji pala aroma khas pala. Rasa pada minyak atsiri pada masing-masing sampel memiliki rasa yang khas sesuai tanaman asalnya.

Biji pala terdiri dari endosperm berwarna cokelat muda, diliputi oleh perisperm tipis berwarna cokelat tua, perisperm menembus endosperm dengan banyak lipatan, embrio kecil, terbenam di dalam endosperm, terletak dekat mikropita. Biji bagian dalam yang memar akan mengeluarkan minyak. Menurut

(Raghavan 2007) komponen penentu rasa adalah senyawa myristicin, elimicin dan safrol. Sementara itu komponen senyawa yang digunakan sebagai syarat mutu minyak pala menurut Standar Nasional Indonesia (SNI 06-2388-2006) mensyaratkan myristicin dalam minyak pala 10%.

5. Identifikasi minyak atsiri

Hasil identifikasi daun kemangi dan biji pala seperti yang terlampir dalam penelitian dapat dilihat pada Tabel 4 dan 5.

Tabel 4. Identifikasi minyak atsiri daun kemangi

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

Tabel 5. Identifikasi minyak atsiri biji pala

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

Hasil identifikasi minyak atsiri daun kemangi dan biji pala menunjukkan bahwa hasil penelitian sesuai pustaka, bila 1 tetes minyak atsiri diteteskan pada permukaan air, maka minyak akan terlihat menyebar dipermukaan air dan air tidak keruh, jika diteteskan pada kertas saring, minyak tidak meninggalkan noda. Hasil gambar dapat dilihat pada Lampiran 6.

6. Penetapan indeks bias minyak atsiri

Hasil pemeriksaan indeks bias dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Indeks bias minyak atsiri

Minyak atsiri	Hasil indeks bias (31°C)	Pustaka
Daun kemangi	1,489	Indeks bias (20°C) 1,426 - 1,506 (Depkes 1979)
Biji pala	1,485	Indeks bias (20°C) 1,475 - 1,485 (BSN, 2006)

Pemeriksaan indeks bias minyak atsiri kemangi yaitu sebesar 1,489 menunjukkan hasil indeks bias yang diteliti sesuai dengan pustaka. Hasil indeks bias biji pala yaitu 1,485 menunjukkan bahwa hasil indeks bias yang diteliti sesuai dengan pustaka. Indeks bias pada minyak atsiri daun kemangi adalah 1,426 - 1,506 dan pada minyak atsiri biji pala yaitu 1,475 - 1,485 bilangan angka tersebut menunjukkan perbandingan antara sinus sudut datang dengan sinus sudut bias cahaya yang diukur dengan alat refraktometer, putaran optik menunjukkan besar sudut pemutaran bidang polarisasi yang terjadi jika sinar terpolasisasi dilewatkan melalui cairan pada suhu (-5°C) sampai dengan 0°C. Indeks bias minyak atsiri berhubungan erat dengan komponen-komponen yang tersusun dalam minyak atsiri yang dihasilkan. Komponen penyusun minyak atsiri dapat mempengaruhi nilai indeks biasnya. Semakin banyak komponen berantai panjang seperti sesquiterpen atau komponen bergugus oksigen tersuling, maka kerapatan medium minyak atsiri akan bertambah sehingga cahaya yang datang akan lebih sukar untuk dibiaskan. Hal ini yang menyebabkan indeks bias minyak lebih besar (Wiyono *et al* 2000). Hasil perhitungan indeks bias dapat dilihat pada Lampiran 11.

7. Penetapan bobot jenis minyak atsiri

Hasil pemeriksaan bobot jenis minyak atsiri daun kemangi dan biji pala pada penelitian dapat dilihat pada Tabel 7 dan 8.

Tabel 7. Hasil penetapan bobot jenis minyak atsiri daun kemangi

Percobaan	Bobot jenis minyak	Pustaka
I	0,6111	Bobot jenis minyak atsiri (20 °C)
II	0,6044	0,910 - 0,950
III	0,5934	(Depkes 1979)
Rata-rata	0,6029	

Tabel 8. Hasil penetapan bobot jenis minyak atsiri biji pala

Percobaan	Bobot jenis minyak	Pustaka
I	1,8888	Bobot jenis minyak atsiri
II	1,8791	(20°C) 0,885-0,907
III	1,8791	(BSN 2006)
Rata-rata	1,8823	

Hasil bobot jenis minyak atsiri daun kemangi menurut hasil penelitian adalah 0,6029 dan bobot jenis minyak atsiri pada biji pala adalah 1,8823.

Berdasarkan pustaka bobot jenis minyak atsiri daun kemangi pada suhu 20°C adalah 0,910 - 0,950 dan pada biji pala adalah 0,885-0,907. Bobot jenis ialah salah satu kriteria yang penting dalam menentukan mutu dan kemurnian minyak atsiri. Semakin rendah nilai bobot jenis suatu minyak atsiri maka tingkat kemurniannya juga semakin rendah. Besarnya bobot jenis suatu minyak bisa dipengaruhi oleh jenis dan jumlah komponen kimia dalam minyak atsiri, maka semakin banyak komponen kimia dalam minyak atsiri dengan begitu semakin tinggi pula bobot jenisnya (Wiyono *et al* 2000). Perhitungan konversi lebih lengkap dapat dilihat pada Lampiran 12.

8. Penetapan kelarutan dalam alkohol

Kelarutan dalam alkohol merupakan nilai perbandingan banyaknya minyak atsiri yang larut sempurna dengan pelarut alkohol, setiap minyak atsiri mempunyai nilai kelarutan dalam alkohol yang spesifik sehingga dapat berfungsi untuk menentukan suatu kemurnian minyak atsiri. Hasil kelarutan minyak atsiri daun kemangi dan biji pala dalam etanol 70% dengan perbandingan 1:1 (artinya 1 ml minyak atsiri larut dalam 1 ml etanol 70%) menurut hasil penelitian adalah larut dan jernih. Hasil gambar kelarutan dapat dilihat pada Lampiran 6.

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

Uji analisis dengan GC-MS dilakukan untuk mengetahui komponen senyawa yang terkandung didalam minyak atsiri. Analisis komponen senyawa minyak atsiri daun kemangi dan biji pala dilakukan dengan menggunakan *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS). Hasil analisis masing-masing komponen senyawa utama daun kemangi dan biji pala dapat dilihat pada Tabel 9 dan 10.

Tabel 9. Hasil analisis komponen utama minyak atsiri daun kemangi dengan GC-MS

Peak	Senyawa	RT(min)	BM	Kadar (%)
1	6-Methyl-5heptin-2-one	11.399	126	2,04
2	Linalool	15.829	136	3,54
3	Neral	20.387	137	32,79
4	Z-Citral	21.418	152	43,43
5	Eugenol	23.466	164	1,29
6	Kariofilene	25.768	204	2,39
7	Germacrene-D	27.317	204	1,51
8	Alpha-Charyophyllene	28.829	204	2,63

Tabel 10. Hasil analisis komponen utama minyak biji pala dengan GC-MS

Peak	Senyawa	RT(min)	BM	Kadar (%)
1	Sabinene	4.818	136	6,62
2	Myrcene	5.676	136	0,56
3	β – Phellandrene	6.238	136	5,21
4	γ - Terpinene	7.095	136	0,68
5	Cis-Sabinene hydrate	8.318	154	0,28
6	4-Terpineol	10.711	154	0,70
7	Safrole	14.120	162	4,85
8	Elemicin	21.216	208	0,52
9	Myristic acid	28.800	228	25,75
10	9-Hexadecanoic acid	34.983	264	5,83
11	Benzene	40.930	190	2,18
12	α – Hidroxy-4-methoxy-methyl ester	43.251	196	26,02

Hasil analisis minyak atsiri daun kemangi terdapat 23 senyawa, sedangkan pada minyak atsiri biji pala terdapat 24 senyawa. Komponen senyawa minyak atsiri daun kemangi dan biji pala dapat dilihat pada Lampiran 13. Berdasarkan pustaka (Lestarie N 2014) komponen senyawa yang terkandung pada minyak atsiri daun kemangi yaitu Z-Sitrat, Verbenol, Alpha-Humulene, Linalool, Trans-Caryophyllene, Benzofuran, Bicyclo[3.1.1] heptene, 6-Methyl-5-Hepten-2-one, d-Nerolidol. Pada komponen senyawa minyak atsiri biji pala dengan senyawa seperti β -Myrcene, α -Phellandrene, β -Phellandrene, p-Cymene, α -Terpinene, 1-Phellandrene, Cyclobutane, γ -Terpinene, trans-Sabinene hydrate, Terpinolene, cis-Sabinene hydrate, 1-Terpineol, Linalool, 2-cyclohexen-1-ol, 4-Terpineol, α -Terpineol, Safrole, Dihydro isosafrole, Eugenol, Methyl eugenol, Myristicin, α -Farnesene, Delta guaiene, Elemicin, Myristic acid, Patchouli alcohol (Hidayati N *et al.* 2015).

Hasil analisis komponen kimia minyak atsiri kemangi dengan GCMS menunjukkan komponen senyawa kimia dari minyak atsiri kemangi yaitu 6-Methyl-5heptin, Linalool, Z-Citral, Neral, Eugenol, Kariofilene, Germacrene-D, Alpha-Charyophyllene dan masih banyak lagi. Senyawa kimia yang paling dominan di antaranya yaitu Z-Citral (43,43%) dan Neral (32,79%). Kadar paling besar pada pustaka yaitu senyawa Z-Citral dengan kadar 32,08% dan yang tertinggi kedua yaitu senyawa Nerol dengan kadar sebesar 5,62% (Alfrida 2013). Minyak atsiri kemangi mengandung komponen utama yaitu senyawa citral yang merupakan golongan senyawa aldehid. Citral, atau 3,7-dimetil-2,6-octadienal atau

lemonal merupakan senyawa monoterpen dengan rumus molekul C₁₀H₁₆O (Ganjewala, et al., 2012).

Sedangkan pada hasil analisis senyawa minyak atsiri biji pala pada penelitian yaitu Sabinene, Myrcene, β -Phellandrene, γ -Terpinene, Cis-Sabinene hydrate, 4-Terpineol, Safrole, Elemicin, Myristic acid, 9-Hexadecanoic acid, Benzene, α -Hidroxy-4-methoxy. Senyawa kimia yang memiliki kadar paling besar yaitu α -Hidroxy-4-methoxy (26,02%), Myristic acid (25,75%) sedangkan kadar paling besar menurut pustaka yaitu Safrole (44,39%), 4-Terpineol (8,08%), β -Phellandrene (7,05%) (Hidayati N et al. 2015).

Komponen senyawa eugenol yang tergolong turunan senyawa fenol yang mempunyai efek antiseptik pada minyak atsiri daun kemangi (Maryati 2007). Minyak atsiri daun kemangi memiliki kandungan dominan berupa sitral sebagai antibakteri, dimana kandungan sitral pada minyak atsiri daun kemangi terbagi atas Cis-sitral dan trans-sitral (Rubiyanto 2012). Daun kemangi mengandung minyak atsiri yang tersusun atas senyawa hidrokarbon, alkohol, ester, phenol (eugenol 1-19%, iso-eugenol), eter phenolat (metil clavicol 3-31%, metil eugenol 1-9%), oksida dan keton (Maaryati et al. 2007). Minyak atsiri biji pala diketahui memiliki senyawa fenolik dan terpenoid dapat menghambat pertumbuhan berbagai jenis bakteri (Rahmi et al. 2014). Komponen minyak dalam biji pala yang diperoleh dengan menggunakan destilasi bervariasi antara 0,5-1,7% dengan kandungan senyawa miristin, hidrokarbon terpen, dan turunan fenilpropan diketahui memiliki aktivitas bakterisida (Kusumaningrum et al. 2003). Hasil masing-masing *peak* dapat dilihat pada Lampiran 13.

10. Pembuatan suspensi bakteri uji

Hasil dari pembuatan suspensi bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dalam biakan murni setelah diambil satu ose kemudian dimasukkan secara aseptis ke dalam tabung reaksi steril yang berisi BHI (*Brain Heart Infusion*) kemudian kekeruhannya disesuaikan dengan standar Mc Farland 0,5 setara dengan jumlah 1,5x10⁸ cfu/mL untuk difusi. Hasil pembuatan suspensi dapat dilihat pada Lampiran 5.

11. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 berdasarkan koloni

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

12. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 berdasarkan mikroskopis

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

13. Hasil Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 berdasarkan fisiologi-katalase

Uji katalase menggunakan suspensi bakteri uji yang ditanam pada medium nutrien cair dengan H₂O₂ 3%. Hasil positif ditandai dengan adanya

gelembung udara sebab *Staphylococcus aureus* mempunyai enzim katalase. Penambahan H₂O₂ akan terurai menjadi H₂O (air) dan O₂ (oksigen), hal ini ditandai dengan timbulnya gelembung udara. Uji ini dilakukan untuk membedakan antara *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus*. Hasil gambar identifikasi fisiologi berdasarkan katalase dapat dilihat pada Lampiran 8.

14. Hasil Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 berdasarkan fisiologi-koagulasi

Uji koagulase menggunakan plasma darah kelinci yang diberi nama asam sitrat, diencerkan (1:5) ditambah satu ose biakan bakteri, diinkubasi pada suhu 37°C. Hasil pengamatan tabung diperiksa dengan melihat pembentukan selama 1-4 jam. Hasil positif kuat jika tabung tes dibalik atau dimiringkan, gumpalan plasma tidak terlepas dan tetap melekat pada dinding tabung. *Staphylococcus aureus* yang bersifat koagulase positif akan menggumpalkan plasma dalam waktu 1 jam (Jawetz *et al* 2001). Hasil identifikasi pada penelitian ini menunjukkan positif terjadi perubahan plasma darah kelinci yang terdenaturasi oleh *Staphylococcus aureus* sehingga terjadi penggumpalan putih. Tes koagulasi ini digunakan untuk membedakan antara bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*, karena *Staphylococcus epidermidis* tidak membentuk gumpalan-gumpalan putih. Hasil gambar identifikasi secara koagulase atau biokimia dapat dilihat pada Lampiran 8.

15. Hasil pengujian aktivitas antibakteri minyak atsiri daun kemangi dan biji pala secara difusi

Metode difusi ini, dari kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan biji pala yang digunakan dalam pengujian daya hambat antibakteri menggunakan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan konsentrasi 12,5% ; 25% ; 50% pada kombinasi perbandingan 1:1, 1:2, 1:3, 2:1, 3:1. Masa inkubasi dilakukan selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil diameter hambat dari uji difusi minyak atsiri daun kemangi dan biji pala secara tunggal dan kombinasi dapat dilihat pada Tabel 11,12 dan 13.

Tabel 11. Diemeter hambat tunggal dan kombinasi konsentrasi 12,5%

Konsentrasi 12,5%	Diameter daerah hambatan (mm)			Rata –rata ± SD
	I	II	III	

Chloroxylenol (+)	22,50	20,00	21,50	21,33 ± 1,258
Daun kemangi	13,25	14,00	12,75	13,33 ± 0,629
Biji pala	9,25	8,75	11,00	9,66 ± 1,181
1:1	11,75	12,00	12,50	12,08 ± 0,308
1:2	9,50	10,25	11,00	10,25 ± 0,75
2:1	17,25	15,00	13,50	15,25 ± 1,887
1:3	11,00	12,75	9,50	11,08 ± 1,626
3:1	17,00	17,25	15,75	16,66 ± 0,803

Keterangan : Chloroxylenol (1,2%)

Tabel 12. Diometer hambat tunggal dan kombinasi konsentrasi 25%

Konsentrasi 25%	Diameter daerah hambatan (mm)			Rata –rata ± SD
	I	II	III	
Chloroxylenol (+)	23,75	22,00	23,25	23,00 ± 0,901
Daun kemangi	20,25	19,00	20,25	19,83 ± 0,721
Biji pala	13,75	11,00	12,50	12,41 ± 1,375
1:1	16,75	15,75	15,00	15,83 ± 0,877
1:2	13,25	13,00	13,50	13,25 ± 0,250
2:1	18,50	19,00	17,25	18,25 ± 0,901
1:3	12,50	13,00	13,00	12,83 ± 0,288
3:1	21,00	20,25	19,00	20,08 ± 1,010

Keterangan : Chloroxylenol (2,4%)

Tabel 13. Diometer hambat tunggal dan kombinasi konsentrasi 50%

Konsentrasi 50%	Diameter daerah hambatan (mm)			Rata –rata ± SD
	I	II	III	
Chloroxylenol (+)	27,50	26,75	26,00	26,75 ± 0,75
Daun kemangi	23,25	23,35	23,50	23,36 ± 0,125
Biji pala	16,75	16,25	15,00	16,00 ± 0,901
1:1	22,25	18,50	18,50	19,75 ± 2,165
1:2	18,50	17,00	16,50	17,33 ± 1,040
2:1	21,25	21,25	19,25	20,58 ± 1,154
1:3	17,00	17,00	18,00	17,33 ± 0,577
3:1	26,25	24,50	25,00	25,25 ± 0,901

Keterangan : Chloroxylenol (4,8%)

Hasil dari uji difusi adalah didapatkan daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yang paling besar adalah pada kontrol positif (Chloroxylenol) dengan konsentrasi 5% yang diameter daya hambatnya adalah $26,75 \pm 0,75$. Daya hambat paling besar pada minyak atsiri kombinasi adalah pada perbandingan 3:1 dengan konsentrasi 50% yang diameter daya hambatnya adalah $25,25 \pm 0,901$. Uji difusi dilakukan untuk mengetahui apakah kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan biji pala dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Berdasarkan data yang diperoleh dilakukan analisis

statistik, untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan daya hambat yang signifikan dari sampel minyak atsiri tunggal dan kombinasi yang diteliti. Hasil analisa statistik menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara tunggal daun kemangi, tunggal biji pala, kontrol positif, dan kombinasi (1:1;1:2;1:3;2:1;3:1). Daya hambat minyak atsiri kombinasi 3:1 mempunyai perbedaan yang signifikan dari minyak atsiri tunggal daun kemangi, tunggal biji pala, kontrol positif, dan kombinasi (1:1;1:2;2:1;1:3). Daya hambat kontrol positif mempunyai perbedaan yang signifikan dari minyak atsiri tunggal daun kemangi, tunggal biji pala dan kombinasi (1:1;1:2;1:3;2:1;3:1) pada uji ANOVA two-way. Berdasarkan hasil rata-rata diameter daya hambat pada kombinasi yang lebih besar yaitu pada kombinasi dengan perbandingan 3:1 dibandingkan dengan kombinasi 1:1; 1:2; 2:1; dan 1:3.

Hasil uji tunggal pada konsentrasi 50% daun kemangi $23,36 \pm 0,125$ dan biji pala $16,00 \pm 0,901$ daya hambat pada tunggal daun kemangi lebih besar dari tunggal biji pala, dan pada hasil GC-MS senyawa tertinggi pada minyak atsiri daun kemangi Z-Citral (43,43%) Minyak atsiri daun kemangi memiliki kandungan dominan berupa sitral sebagai antibakteri, dimana kandungan sitral pada minyak atsiri daun kemangi terbagi atas Cis-sitral dan trans-sitral (Rubiyanto 2012), eugenol (1,29%) eugenol merupakan senyawa golongan fenol yang juga mempunyai efek sebagai antiseptik. mekanisme antibakteri kemungkinan karena pengikatan senyawa fenol dengan sel bakteri, kemudian akan mengganggu permeabilitas membran dan proses transportasi kemangi (Maryati 2007). Sedangkan senyawa tertinggi pada minyak atsiri biji pala α -Hidroxy-4-methoxy-methyl ester (26,02%), sabinene (6,62%) senyawa ini diketahui memiliki aktivitas bakterisida yang mampu membunuh bentuk dari vegetatif bakteri (Kusumaningrum *et al.* 2003) Minyak atsiri biji pala diketahui memiliki senyawa fenolik dan terpenoid dapat menghambat pertumbuhan berbagai jenis bakteri. Mekanisme kerja senyawa terpenoid yaitu dapat merusak membra senyawa lipofilik (Rahmi *et al.* 2014). Hasil uji statistik dapat dilihat pada Lampiran 15.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

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

Pertama, minyak atsiri tunggal dan kombinasi (1:1,1:2,1:3,2:1,3:1) dari daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dan biji pala (*Myristica fragrans* H.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kedua, dari uji difusi daya hambat yang paling besar minyak atsiri kombinasi daun kemangi dan biji pala pada konsentrasi 50% adalah perbandingan 3:1 dengan diameter daya hambatnya adalah $25,25 \pm 0,901$.

B. Saran

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

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

DAFTAR PUSTAKA

- [Depkes] RI. 2006. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia* (1). Jilid 1. Jakarta: Departemen Kesehatan dan Kesejahteraan Sosial RI, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Hlm 67-68.
- [Depkes] RI. 2007. *Materi Medika Indonesia*. Jilid VI. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hlm 10.
- Adams, R.P. 2004. *Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/ Quadrupole Mass Spectrometry*. Carol stream,Allured.
- Adeola, S. A., Folorunso, O.S., dan Amisu, K.O., 2012, *Antimicrobial Activity of Ocimum basilicum and its Inhibition on the Characterized and Partially Purified Extracellular Protease of Salmonella typhimurium, In Scientific Journal*, 138-144.
- Alfrida T. 2013. *Formulasi Tablet Hisap Minyak Atsiri Kemangi (Ocimum americanum L.) Sebagai Antiplak Gigi [Skripsi]*. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. Universitas Islam Negri Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Amalina N. 2008. Uji Sitotoksik ekstrak etanol 70% jamerica hitam (piper nigrum L.) terhadap sel Hela [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, UMS.
- Bilal, Alia *et al*, 2012, Phytochemical and Pharmacological Studies on *Ocimum basilicum Linn*-A Review, *IJCRR*, 4 (23), 73-83.
- Bonang G, Koeswardono ES. 2004. *Mikrobiologi Kedokteran untuk Laboratorium dan Klinik*. Jakarta: Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Brooks GF, Butel JS, Morse SA. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Nani Widorini, Penerjemah; Jakarta: Salemba Medika. Terjemah dari: *medical Microbiology twenty second Ed.*
- BSN (Badan Standarsasi Nasional), (2006), SNI Minyak Pala, BSN Jakarta.
- Depkes RI, 2000. *Parameter Standart Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Hal 3-6.
- Depkes, 2011. Profil Departemen Kesehatan Indonesia. Jakarta 55-57.
- Depkes. 1979. *Farmakope Indonesia*. Edisi 3. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Depkes. 2001. *Materi Medika Indonesia* Jilid 1. Jakarta: Departemen Kesehatan

- Republik Indonesia.
- Depkes. 2003. *Pedoman Teknologi Pengolahan Cassiavera*. Jakarta: Departemen Pertanian.
- Entjang I. 2003. *Mikrobiologi dan Parasitologi Untuk Akademi Keperawatan Dan Sekolah Tenaga kesehatan Sederajad*. Bandung: PT. Citra Aditya Bakti.
- Feryanto, A.D.A. 2007. Minyak Kemangi (Basil Oil). <http://ferryatsiri.blogspot.com/2007/07/minyak-kemangi-basil-oil.html>. (13 Maret 2008).
- Ganjewala, Ashish K, Gupta. 2012. Lemongrass (*Cymbopogon flexuosus* Steud.) Wats Essential Oils Essential Oil. Recent Progress in Medicinal and Aromatic Plants, Vol. 35, Studium Press LLC, USA. pp. 233-274.
- GCNA. 2001. <http://www.grenadanutmeg.com/production.html> (dikunjungi 15 Februari 2005).
- Gillespie SH, Bamford KB. 2007. *At a Glance Microbiologi Medis dan Infeksi*. Ed.III. dr. Stella Tinia H, penerjemah; Rina A, Amalia S, editor. Jakarta: Erlangga Terjemahan dari: *Medical Microbiologi and Infection at a Glance*. Hlm 33.
- Guenther, E., (2010), "Minyak Atsiri Jilid I. Penerjemah Ketaren S. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Gunawan D, Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam (farmakognosi)*. Jilid I. Jakarta : Penebar Swadaya. Hal 106-107
- Gupta C., 2008. Anrimicrobial Activity of Some Herbal Oils Againts Common Food borne Pathogens, African Journal of Microbiology Research, 2(2), pp. 258-261.
- Hadipoentyanti, E., Wahyuni, S., 2008, Keragaman Selasih (*Ocimum Spp.*) Berdasarkan Karakter Morfologi, Produksi dan Mutu Herba, *Jurnal Littri* 14(4): 141 – 148.
- Hariana, A., 2008, Tumbuhan Obat dan Khasiatnya, Seri 2, *Penerbit Swadaya*, Depok, 26.
- Herbie T. 2015. *Kitab Tanaman Berkhasiat Obat*. Yogyakarta: Octopus Publishing House.
- Hidayati, N. et al (2015). Penyulingan minyak biji pala : pengaruh ukuran bahan, waktu dan tekanan penyulingan terhadap kualitas dan rendemen minyak : ISSN 1412-9612.

- Hussain, Al., Anwar, F., Sherazi, S. T. H., Przybyslki, R., 2008, Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oils depends on seasonal variations, *Food Chem*, 108, 986-995.
- Irawan, I. (2008) *Tanaman Lalap Berkhasiat Obat*. Cetakan IV Jakarta : Penerbit Penebar Swadaya. Hal 42-45.
- Irawan. 2009. *Farmakognosi dan Fitoterapi*. Jakarta: Penerbit EGC. Hal. 49-50, 235-238.
- Jawetz E, Melnick , J L, EA, 2005. *Medical Microbiology*. 23th. Ed. Elferia Nr. Penerjemah; Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Jawetz E Melnick JL, Adelberg EA. 1995. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi ke-20. Nugroho & RFM, Penerjemah; Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. Terjemahan dari: *Review of Medical Microbiology*.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Penerbit Salemba Medika.
- Jawetz, E, Melnick., J.L., E.A., 2007. *Medical Microbiologi*. 24th. Ed. Elferia Nr. Penerjemah: Jakarta.
- Jawetz, E, Melnick.,J.L., E.A., 2005. *Medical Mikrobiologi*. 23th. Ed. Elferia Nr. Penerjemah: Jakarta.
- Katzung BG. 2002. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Ed ke-3. Andrianto. Penerjemah; Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. Terjemahan dari: *Basic and Clinical Pharmacology*.
- KEMENKES RI. 2010. Suplemen I Farmakope Herbal Indonesia. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.
- Kiromah, N.Z.W Ika, T.D.K, dan Rima M. 2014. Akktivitas antibakteri kombinasi minyak atsiri kemangi (*Ocimum basilicum*) dengan kloramfenikol dan gentamisin terhadap *Salmonella typhi*. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Koensoemardiyyah S. 2010. A to Z *Minyak Atsiri Untuk Industri Makanan, Kosmetik dan Aroma terapi*. Yogyakarta: Penerbit ANDI
- Kusumaningrum, *et al.* 2003. Aktivitas Penghambatan Minyak Atsiri dan Ekstrak Kasar Biji Pala (*Myristica fragrans* Houtt dan *Myristica fattua* Houtt) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Xanthomonas campestris* Oammel asal Tanaman Brokoli (*Brassica oleracea var. italicica*). *Biofarmasi*. 1(1): 20-24.

- Lestarie, N (2014). Aktivitas antibakteri minyak atsiri dan kemangi (*Ocimum Cannum*) Secara In Vitro. [skripsi]. Bogor : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Pertanian Bogor.
- Maryati, Fauzia, R.T., Rahayu, T., 2007, Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Kemangi (*Ocimum Basilicum L.*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia Coli*, *Jurnal Penelitian Sains & Teknologi*, Vol. 8, No. 1, 2007: 30 – 38.
- Mollasalehi, S., Kashefi, B., dan Hashemi-moghaddam, H. 2013. Comparison of Microwafve Assisted and Hydrodistillation Methods for Extraction of Essential Oil from *Achillea millefolium*. *Journal of Chemical Health Risks*. 3(2): 39-46.
- Mukhtar, M.H., Adnan, A.Z., Pitra M.W., 2007, Uji Sitotoksisitas Minyak Atsiri Daun Kemangi (*Ocimum Basilicum L.*) dengan Metoda Brine Shrimp Lethality Bioassay, *J. Sains Tek Far.*, Vol. 12 (1): 1-4.
- Nurdjannah, N. 2007. *Teknologi Pengolahan Pala*. Balai Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Jakarta.
- Pelezer jr, M.j Chan E.CS. 2000. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Penerbit Swadaya.
- Permadi. 2008. *Infeksi Nosokomial: Problematika dan pengendaliannya*. Jakarta: Salemba Medika. Hlm. 80-81.
- Peter, K.V., (2001), “*Handbook of herb and spices*”, CRC Press, NY, pp. 45-62.
- Pitojo, S. (1996). *Kemangi dan Selasih*. Penerbit Tribus Agriwidya. Hal 2-40
- Pratiwi, I., (2016). Uji aktivitas antibakteri dari kombinasi minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum Basilicum L.*) dan kulit kayu manis (*Cinnamomum burmanni*) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi.
- Radji M, 2011. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi & Kedokteran*. Jakarta: EGC.
- Raghavan, U.S. (2007). *Handbook of Spices, Seasonings, and Flavorings*. 2 Edition. CRC Press. Boca Raton, Florida.
- Rahayu, N.W.N., (2016). Uji aktivitas antibakteri dari kombinasi minyak atsiri kulit kayu manis (*Cinnamomum burmanni*) dan sereh (*Cymbopogon nardus* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi.
- Rahmi, W. *et al* (2014). Perbandingan Isolasi Minyak Atsiri Biji Pala (Myristica

- fragrans Houtt) Cara Hidrodistilasi Microwave dan Konvensional serta Uji Aktivitas Antibakteri dan Antioksidan "JOM FMIPA. Vol.1, pp. 335-342.
- Rao, Sridar P.N. 2008. *Sterilization and Desinfection*. Davangere: Departemen Of Microbiology.
- Rubyanto, D., 2009, Isolasi dan Analisis Komponen Utama Minyak atsiri Daun Kemangi (*Ocimum Citriodorum*) serta pengujian Bioaktivitasnya terhadap Belalang, *Jurnal LOGIKA*, ISSN 1410-2315, Vol. 6, No. 2, Yogyakarta.
- Sajjadi, S. E., 2006, Analysis of the essensial oils of two cultivated basil (*Ocimum basilicum* L.) from Iran, *Daru*, 14 (3), 128-130.
- Sastrohamidjojo, H. (2004). *Kimia minyak atsiri*. Edisi ke-1. Yogyakarta: Liberty. Hal. 10
- Siswandono, Soekardjo B. 2000. *Kimia Medisinal*. Jilid I. Edisi 2. Surabaya: Airlangga University Press. 216-218.
- Sriyanti dan Wijayani. 2008. *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek*. Jakarta: Gramedia.
- Stahl. E. 2008. *Analisa Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopis*. Padmawinanto K, Sudiro L., Penerjemah: Bandung: Penerbit ITB.
- Standar Nasional Indonesia (2006). SNI 06-2388-2006. Minyak pala. Badan Standarisasi Nasional.
- Suriawiria, U., 2005. *Pengantar Mikrobiologi Umum*, Penerbit Angkasa, Bandung, 60-61, 57-58.
- Trisnayanti, K. A. 2003. Daya Hambat Ekstrak Temu Putri (*Curcuma petiolaris* Roxb.) pada Beberapa Bakteri Gram Negatif [Skripsi S-1], Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana.
- Waluyo L. 2004. *Mikrobiologi Umum*. Edisi Pertama. Malang. UMM Press. Hal 197-198.
- Wardani, A.K. 2008. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Residu Ekstrak Etanolik Daun Arbenan (*Duchesnea indica* (Andr.Facke.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* Multiresisten Antibiotik Beserta Profil Kromatografi Lapis Tipis [Skripsi S-1], Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah. Surakarta.
- Warsa UC. 1994. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*. edisi Revisi. Jakarta Penerbit Binarupa Aksara.

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

L
Ä
M
P
I
R
A
N

Lampiran 1. Surat Keterangan Identifikasi daun kemangi dan biji pala



UNIVERSITAS GADJAH MADA
FAKULTAS FARMASI
 Sekip Utara, Yogyakarta 55281 Telp./Fax. +62 274 543120
<http://farmasi.ugm.ac.id>, E-mail: farmasi@ugm.ac.id

SURAT KETERANGAN
 No. : UGM/FA/ /M/03/02
 2021

Kepada Yth. :
Sdr/Sdr. Idyatulfitri Wulandari
NIM.19133914 A
Fakultas Farmasi USB
Di Surakarta.

Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi sampel yang saudara kirimkan ke Departemen Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi UGM, adalah :

NO.Pendaftaran	Jenis	Suku
113	<i>Ocimum basilicum</i> L. forma <i>citratum</i> Back.	Lamiaceae
	<i>Myristica fragrans</i> Houtt.	Myristicaceae

Demikian, semoga dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Yogyakarta, 22 Mei 2017
 Ketua Departemen Biologi Farmasi

Mengetahui,
 Dekan



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

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

Lampiran 2. Daun kemangi dan biji pala

Kemangi



Biji pala

Lampiran 3. Minyak atsiri daun kemangi, biji pala dan alat



Minyak atsiri daun kemangi



Minyak atsiri biji pala



Refraktometer



Gas Chromatography



Vortex mixer



Neraca analitik

Lampiran 4. Alat sterilisasi

Autoklaf



Oven



Inkubator



Inkas

Lampiran 5. Bahan uji antibakteri



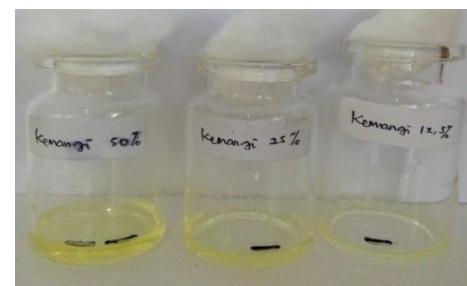
Kombinasi minyak atsiri (12,5%)



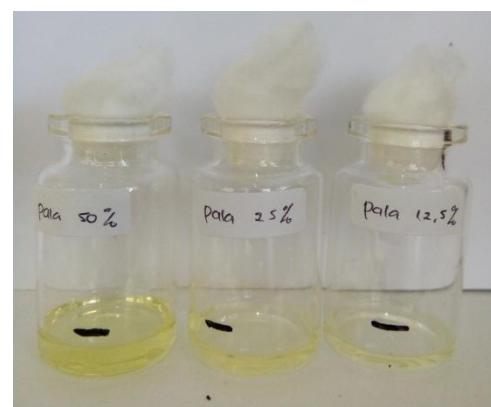
Kombinasi minyak atsiri (25%)



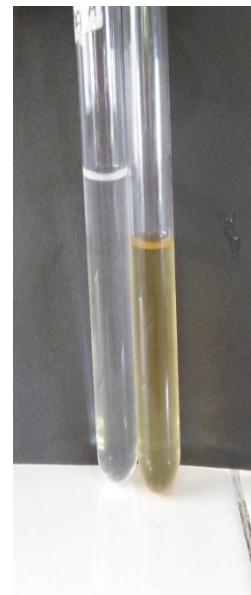
Kombinasi minyak atsiri (50%)



Tunggal daun kemangi (12,5%;25%;50%)



Tunggal biji pala (12,5%;25%;50%)



Suspensi bakteri difusi



Bakteri murni



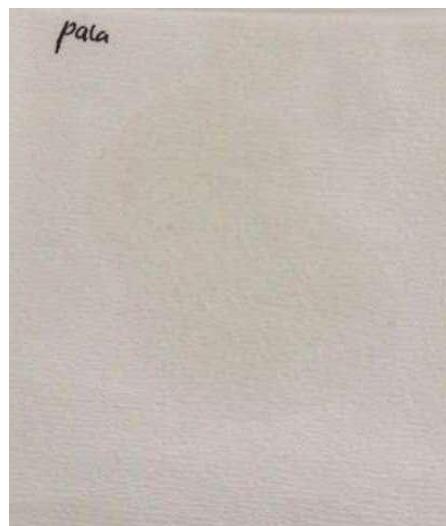
Cakram ukuran 6 mm



kontrol (+)

Lampiran 6. Identifikasi minyak atsiri dan kelarutan dalam alcohol

Minyak atsiri kemangi



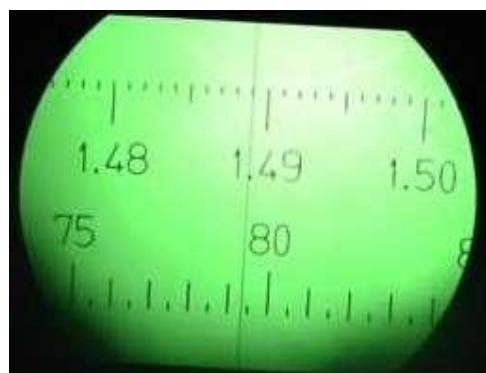
Minyak atsiri biji pala



Minyak atsiri daun kemangi



Minyak atsiri biji pala

Lampiran 7. Identifikasi minyak atsiri indeks bias

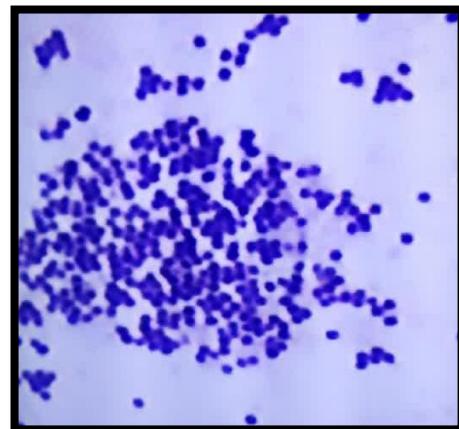
Indeks bias daun kemangi



Indeks bias biji pala

Lampiran 8. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus*

Uji berdasarkan koloni



Uji berdasarkan mikroskopis

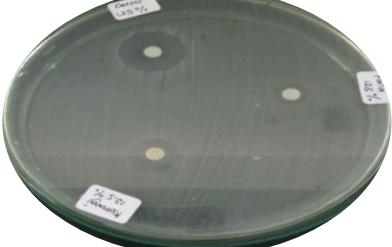
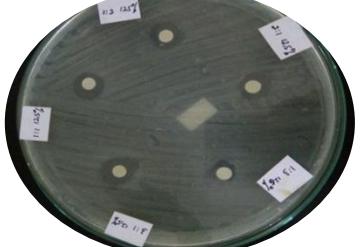
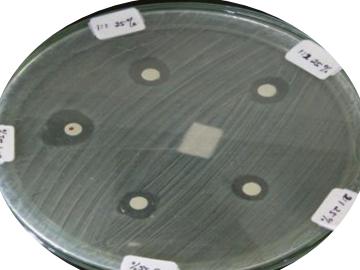
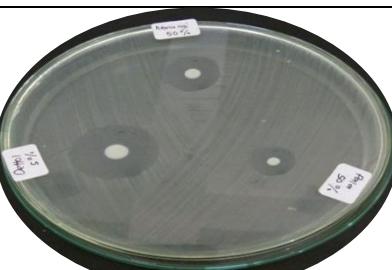
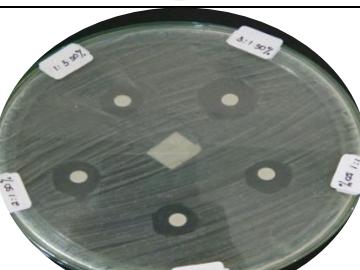
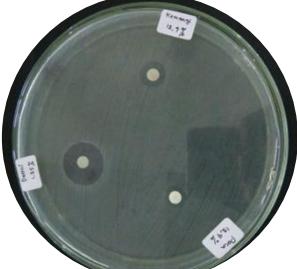
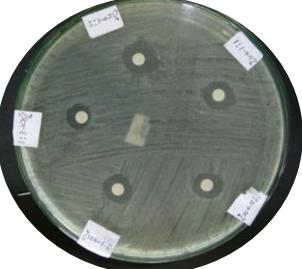


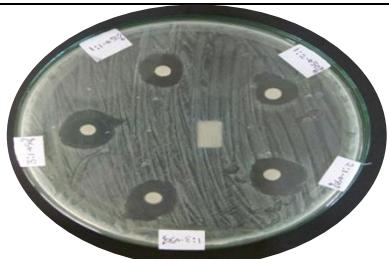
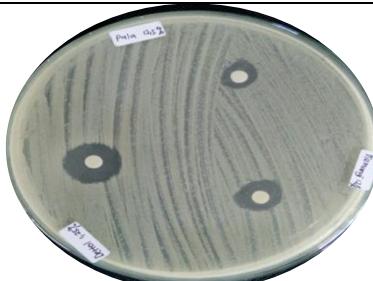
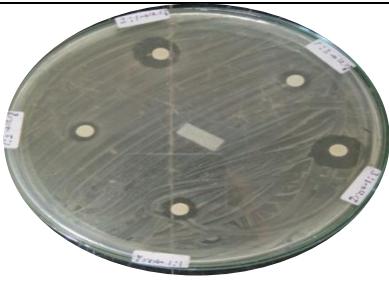
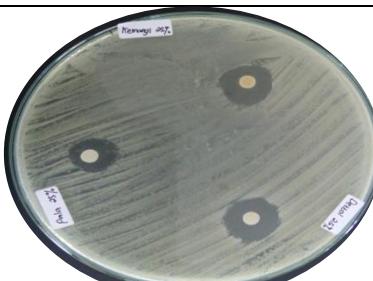
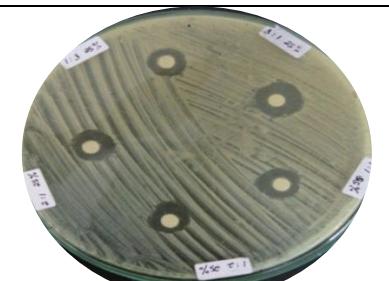
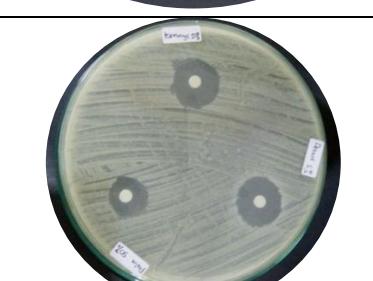
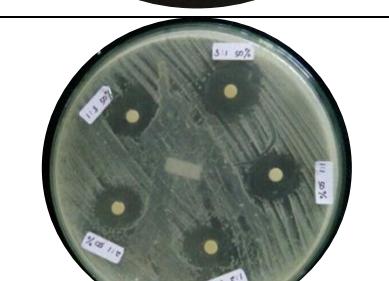
Uji berdasarkan katalase



Uji berdasarkan fisiologi-koagulase

Lampiran 9. Hasil uji aktivitas antibakteri dengan difusi

Replikasi	Uji difusi tunggal	Uji difusi kombinasi
1 (12,5%,25%,50%)		
		
		
2 (12,5%,25%,50%)		
		

Replikasi	Uji difusi tunggal	Uji difusi kombinasi
		
3 (12,5%,25%,50%)		
		
		

Perhitungan konsentrasi :

1. Konsentrasi 12,5%

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 \times 100\% = 3\text{ml} \times 12,5\%$$

$$V_1 = \frac{3\text{ml} \times 12,5\%}{100\%}$$

$$= 0,375 \text{ ml (ad 3ml aseton)}$$

2. Konsentrasi 25%

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 \times 100\% = 3\text{ml} \times 25\%$$

$$\begin{aligned} V_1 &= \frac{3\text{ml} \times 25\%}{100\%} \\ &= 0,75 \text{ ml (ad 3ml aseton)} \end{aligned}$$

3. Konsentrasi 50%

$$\begin{aligned} V_1 \times C_1 &= V_2 \times C_2 \\ V_1 \times 100\% &= 3\text{ml} \times 50\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} V_1 &= \frac{3\text{ml} \times 50\%}{100\%} \\ &= 1,5 \text{ ml (ad 3ml aseton)} \end{aligned}$$

Pembuatan kombinasi minyak atsiri daun kemangi dan biji pala

- 1:1 = 0,2ml (daun kemangi) dan 0,2ml (biji pala)
- 1:2 = 0,13ml (daun kemangi) dan 0,27ml (biji pala)
- 2:1 = 0,27ml (daun kemangi) dan 0,13ml (biji pala)
- 1:3 = 0,1ml (daun kemangi) dan 0,3ml (biji pala)
- 3:1 = 0,3ml (daun kemangi) dan 0,1ml (biji pala)

Lampiran 10. Perhitungan kadar minyak atsiri daun kemangi dan biji pala

Sampel	Bobot basah (gram)	Volume minyak atsiri (ml)	Randemen (% v/b)
Daun kemangi	5000	10	0,2 %
Biji pala	3000	10	0,34 %

Perhitungan % kadar :

$$\begin{aligned}\% \text{ Rendemen kemangi} &= \frac{\text{volume minyak}}{\text{bobot sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{10 \text{ ml}}{5000 \text{ gram}} \times 100\% = 0,2 \%\end{aligned}$$

Jadi, kadar minyak atsiri kemangi (*Ocimum basillikum* L.) adalah 0,2 %

$$\begin{aligned}\% \text{ Rendemen biji pala} &= \frac{\text{volume minyak}}{\text{bobot sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{10 \text{ ml}}{3000 \text{ gram}} \times 100\% = 0,34\%\end{aligned}$$

Jadi, kadar minyak atsiri biji pala (*Myristica fragrans* H.) adalah 0,34%

Lampiran 11. Hasil perhitungan indeks bias minyak atsiri

Minyak atsiri	Hasil indeks bias (31°C)	Pustaka
Daun kemangi	1,489	Indeks bias (20°C) 1,426 - 1,506 (Depkes 1979)
Biji pala	1,485	Indeks bias (20°C) 1,475 - 1,485 (BSN, 2006)

Perhitungan konversi suhu ruang dalam pemeriksaan indeks bias :

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

Indeks bias teoritis 20°C = 1,559-1,595

Suhu ruang praktek 31°C

Perhitungan :

$$= ((31-20) \times 0,0004) = 0,0044$$

Indeks bias pada suhu 31°C = $(1,426 + 0,0044) - (1,506 + 0,0044)$

Jadi, indeks bias teoritis pada daun kemangi adalah = 1,430 – 1,510

$$= ((31-20) \times 0,0004) = 0,0044$$

Indeks bias pada suhu 31°C = $(1,475 + 0,0044) - (1,485 + 0,0044)$

Jadi, indeks bias teoritis pada biji pala adalah = 1,479 – 1,489

Indeks bias minyak atsiri daun kemangi menurut praktek adalah 1,489

Indeks bias minyak atsiri biji pala menurut praktek adalah 1,485

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

Lampiran 12. Perhitungan bobot jenis minyak atsiri

Bobot timbang kosong (g)	Bobot timbang + air (g)	Bobot timbang + minyak (g)		Bobot minyak (g)	
		Daun kemangi	Biji pala	Daun kemangi	Biji pala
28,98	29,88	29,53	30,68	0,55	1,7
28,98	29,89	29,53	30,69	0,55	1,71
28,98	29,89	29,52	30,69	0,54	1,71
		Rata –Rata		0,5466	1,7066

Perhitungan bobot jenis :

I. Bobot jenis daun kemangi :

$$\begin{aligned}
 \text{Bobot timbang + air} &= 29,88 \\
 \text{Bobot tombang kosong} &= \underline{\underline{28,98}} - \\
 \text{Bobot air} &= 0,9 \\
 \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{berat minyak}}{\text{bobot air}} \\
 &= \frac{0,55}{0,9} = 0,6111 \\
 \\
 \text{Bobot timbang + air} &= 29,89 \\
 \text{Bobot tombang kosong} &= \underline{\underline{28,98}} - \\
 \text{Bobot air} &= 0,91 \\
 \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{berat minyak}}{\text{bobot air}} \\
 &= \frac{0,55}{0,91} = 0,6044 \\
 \\
 \text{Bobot timbang + air} &= 29,89 \\
 \text{Bobot tombang kosong} &= \underline{\underline{28,98}} - \\
 \text{Bobot air} &= 0,91 \\
 \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{berat minyak}}{\text{bobot air}} \\
 &= \frac{0,54}{0,91} = 0,5934
 \end{aligned}$$

$$\text{Rata-rata bobot jenis minyak atsiri kemangi} = \frac{0,6111 + 0,6044 + 0,5934}{3} = 0,6029$$

II. Bobot jenis biji pala :

Bobot timbang + air	= 29,88
Bobot tombang kosong	= <u>28,98</u> -
Bobot air	= 0,9
Bobot jenis minyak atsiri	= $\frac{\text{berat minyak}}{\text{bobot air}}$ = $\frac{1,7}{0,9} = 1,8888$
Bobot timbang + air	= 29,89
Bobot tombang kosong	= <u>28,98</u> -
Bobot air	= 0,91
Bobot jenis minyak atsiri	= $\frac{\text{berat minyak}}{\text{bobot air}}$ = $\frac{1,71}{0,91} = 1,8791$
Bobot timbang + air	= 29,89
Bobot tombang kosong	= <u>28,98</u> -
Bobot air	= 0,91
Bobot jenis minyak atsiri	= $\frac{\text{berat minyak}}{\text{bobot air}}$ = $\frac{1,71}{0,91} = 1,8791$

$$\text{Rata-rata bobot jenis minyak atsiri biji pala} = \frac{1,8888 + 1,8791 + 1,8791}{3} \\ = 1,8823$$

Jadi, bobot jenis minyak atsiri daun kemangi adalah 0,5466%

Jadi, bobot jenis minyak atsiri biji pala adalah 1,7066%

Perhitungan konversi suhu ruang dalam percobaan bobot jenis :

Faktor konversi pada suhu setiap kenaikan 1°C = 0,0007

Berat jenis minyak daun kemangi teoritis 20°C = 0,901 – 0,950

Suhu ruang praktek = 31°C

Perhitungan :

$$(31-20) \times 0,0007 = 0,0077$$

$$\text{Jadi, bobot teoritis pada suhu } 31^{\circ}\text{C} = (0,901 + 0,0077) - (0,950 + 0,0077) \\ = 0,9177 - 0,9577$$

Berat jenis minyak biji pala teoritis 20°C = 0,885 – 0,907

Suhu ruang praktek = 31°C

Perhitungan :

$$(31-20) \times 0,0007 = 0,0077$$

$$\begin{aligned} \text{Jadi, bobot teoritis pada suhu } 31^\circ\text{C} &= (0,885 + 0,0077) - (0,907 + 0,0077) \\ &= 0,8927 - 0,9147 \end{aligned}$$

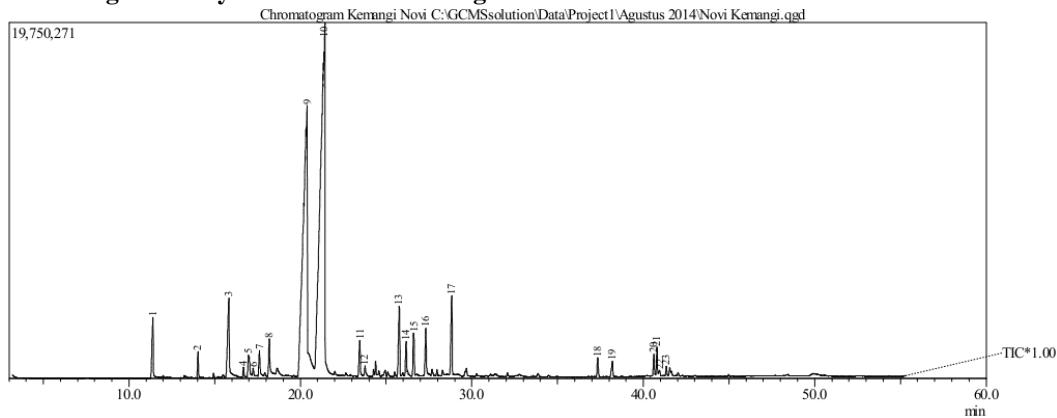
Bobot jenis minyak atsiri daun kemangi menurut praktek adalah 0,6029

Bobot jenis minyak atsiri biji pala menurut praktek adalah 1,8823

Jadi, bobot jenis praktek sesuai dengan bobot jenis menurut pustaka.

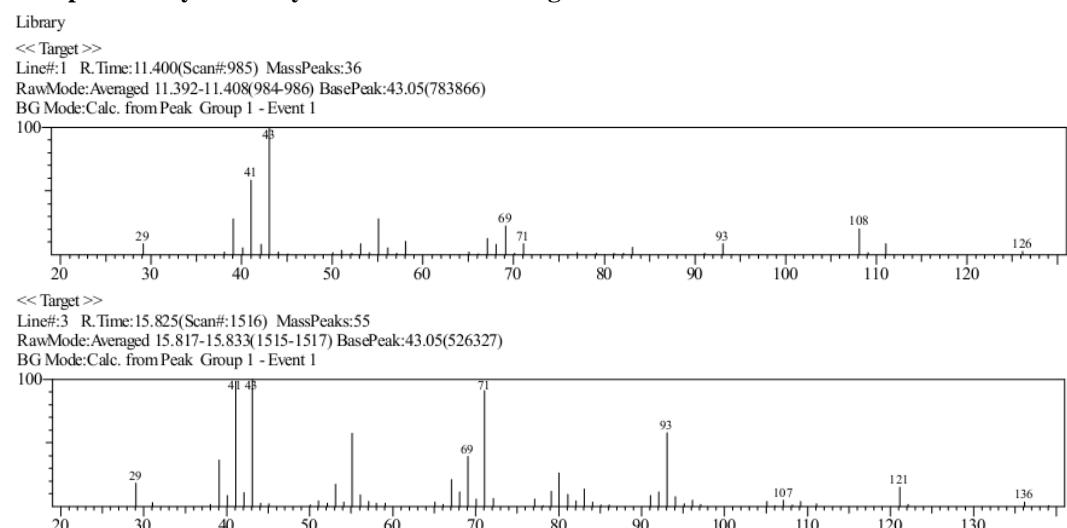
Lampiran 13. Hasil analisis GCMS minyak atsiri

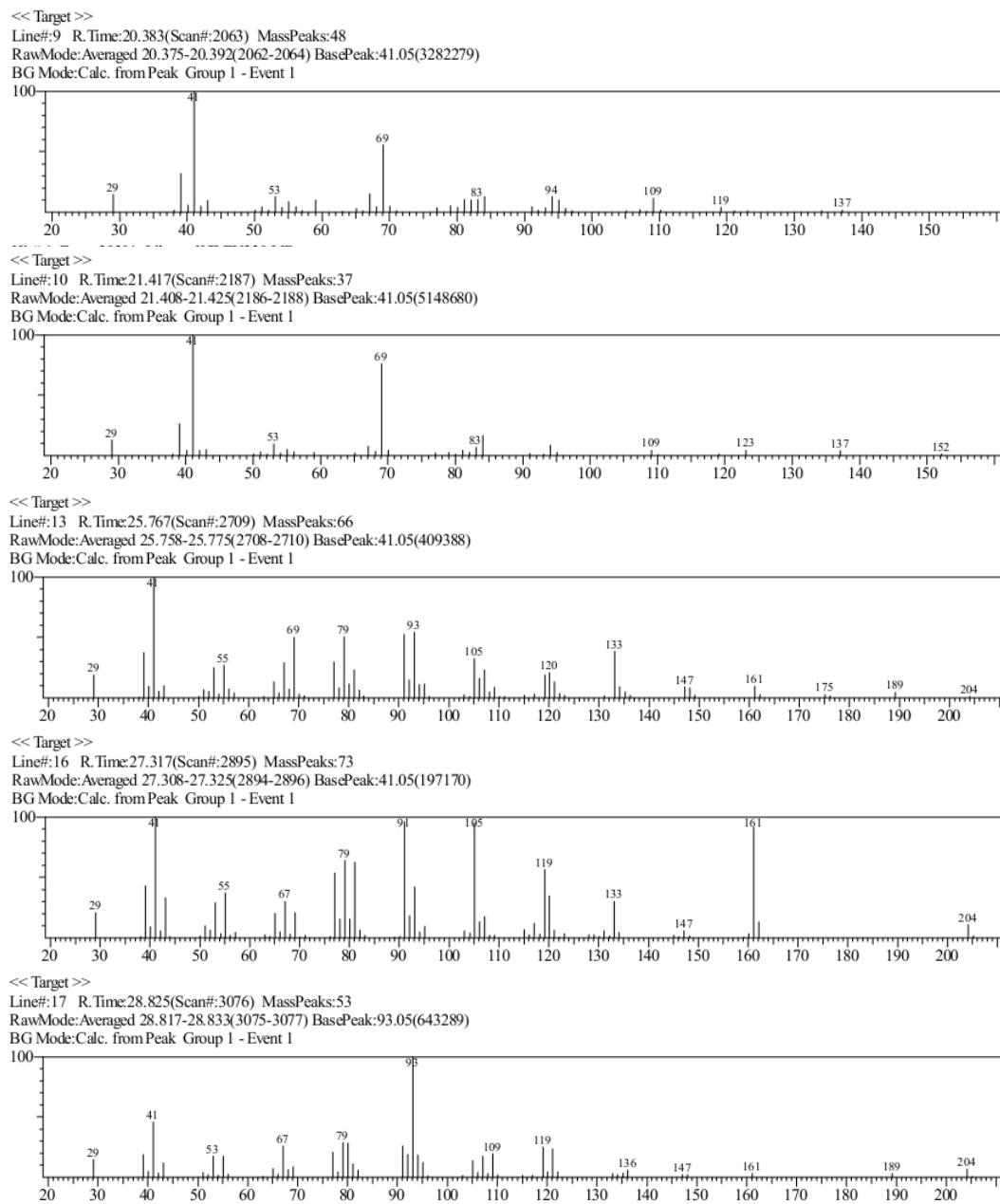
Kromatogram minyak atsiri daun kemangi



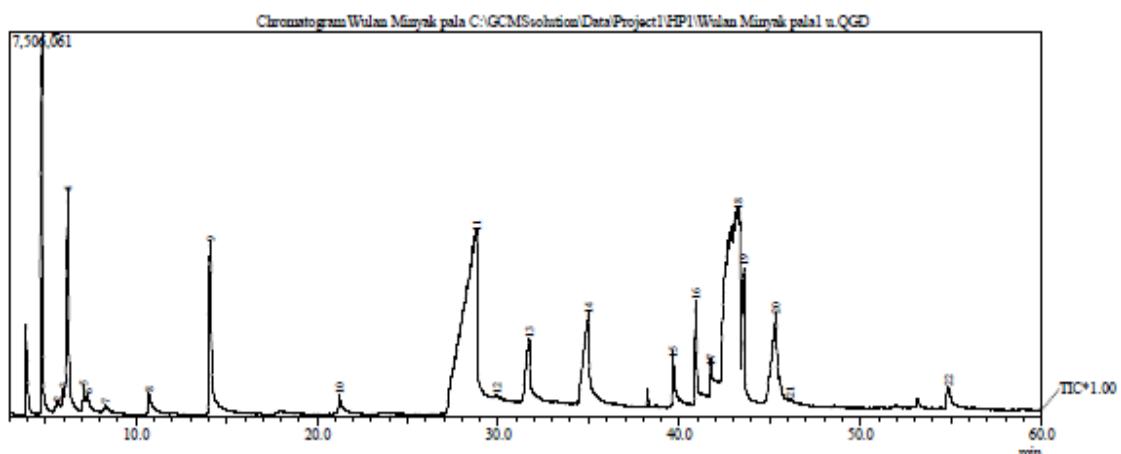
Senyawa	Konsentrasi (%)
Z-Sitral	16.65
Verbenol	13.14
Alpha-Humulene	7.54
Linalool	6.88
Trans-Caryophyllene	5.66
Benzofuran	4.68
Bicyclo[3.1.1]heptane	3.71
6-Methyl-5-Hepten-2-one	3.57
d-Nerolidol	3.40

Komponen senyawa minyak atsiri daun kemangi



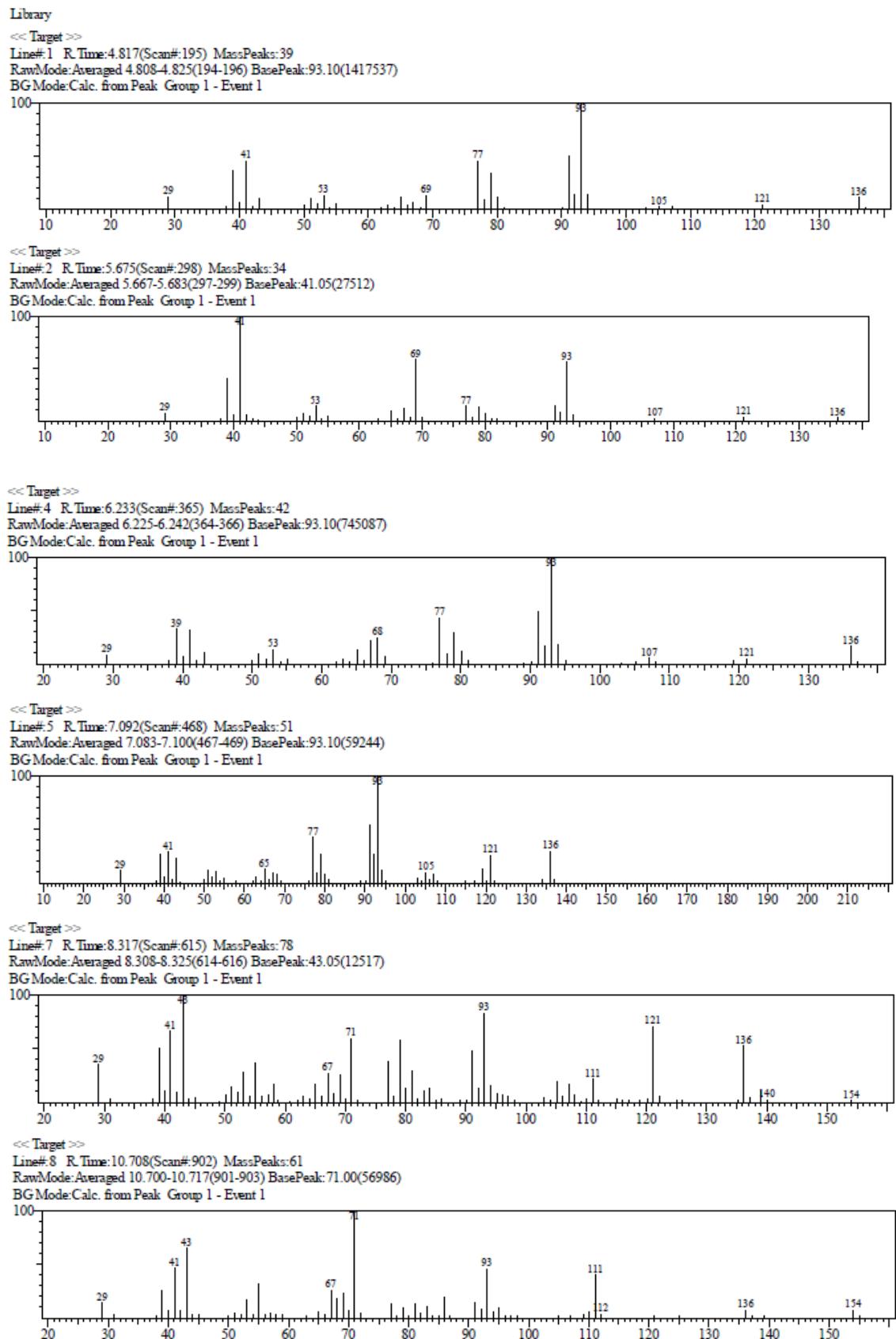


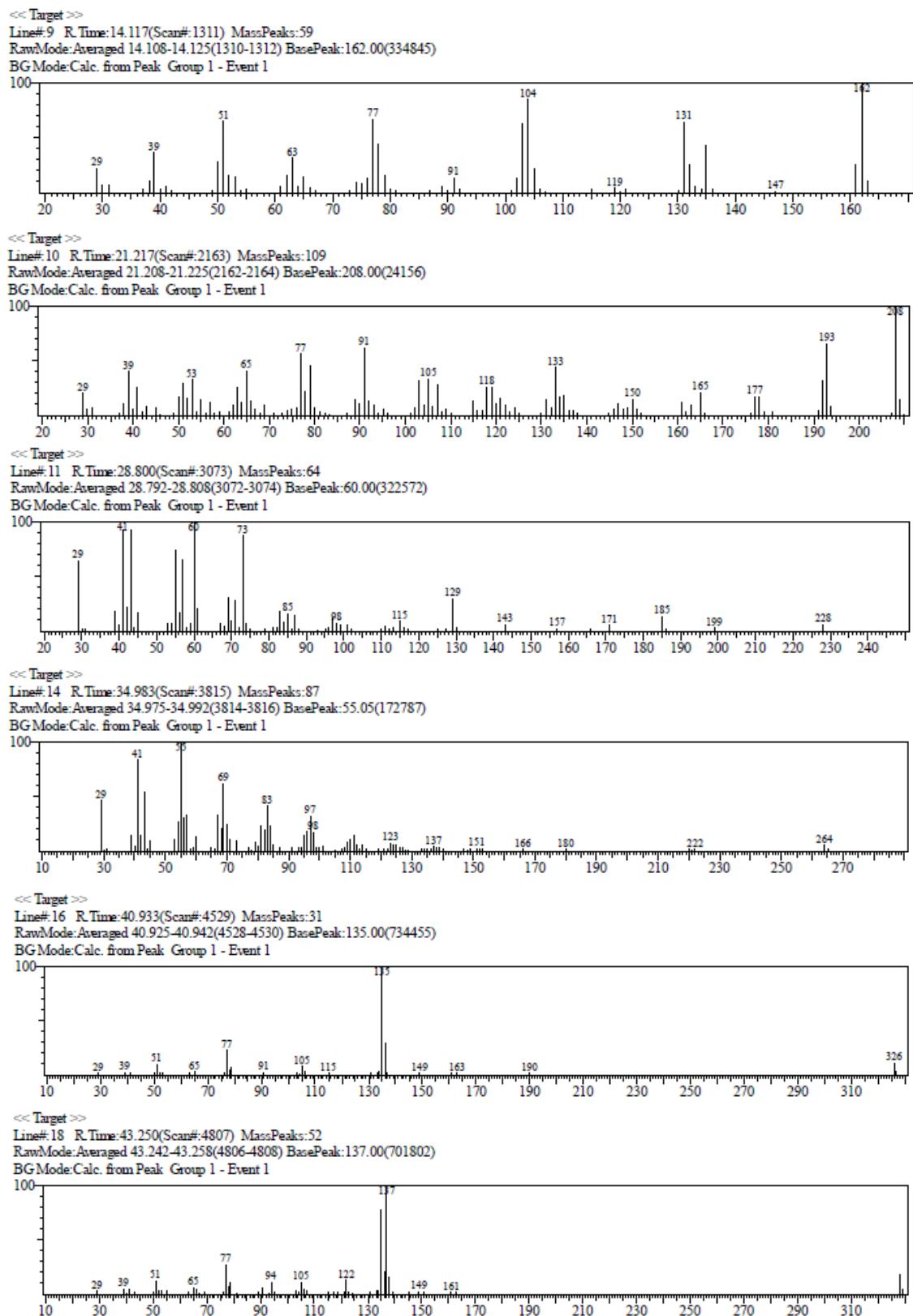
Kromatogram minyak atsiri biji pala



Komponen	Tekanan Atmosferik					Tekanan Vakum (40 mesh 4,5 jam)	
	4,5 jam		40 mesh				
	10 mesh	20 mesh	4,5 jam	3 jam	6 jam		
β -Myrcene	1,96%	2,89%	1,65%	1,11%	1,65%	0,86%	
α -Phellandrene	1,06%	0,90%	0,88%	0,61%	0,76%	0,50%	
β -phellandrene	0,23%	10,24%	17,23%	13,39%	9,50%	7,05%	
p-Cymene	1,93%	1,53%	1,74%	1,24%	1,37%	1,53%	
α -Terpinene	1,28%	1,06%	1,42%	1,10%	0,89%	1,38%	
1-Phellandrene	10,24%	-	-	-	-	-	
Cyclobutane	8,71%	7,71%	-	-	6,99%	4,29%	
γ -Terpinene	2,37%	2,02%	2,65%	2,32%	1,68%	3,07%	
trans-Sabinene hydrate	0,75%	-	2,29%	-	1,63%	1,76%	
Terpinolene	0,51%	0,42%	0,55%	0,41%	-	0,68%	
cis-Sabinene hydrate	1,58%	0,89%	1,21%	1,66%	-	0,83%	
1-Terpineol	-	2,05%	-	0,53%	-	-	
Linalool	0,47%	0,46%	0,50%	-	-	0,49%	
2-cyclohexen-1-ol	0,22%	0,23%	0,32%	-	-	0,30%	
4-Terpineol	5,52%	5,45%	6,59%	6,52%	4,50%	8,08%	
α -Terpineol	0,81%	0,73%	0,76%	0,46%	-	1,00%	
Safrole	28,21%	25,91%	30,68%	41,97%	34,73%	44,39%	
Dihydro isosafrole	-	-	-	-	-	0,02%	
Eugenol	0,59%	0,39%	0,54%	-	-	0,89%	
Methyl eugenol	1,66%	1,84%	2,05%	3,21%	2,34%	3,99%	
Myristicin	-	-	-	-	-	0,36%	
α -Farnesene	-	-	-	-	-	0,18%	
Delta guaiene	0,15%	-	-	-	-	-	
Elemicin	0,52%	0,51%	0,46%	1,00%	0,91%	1,11%	
Myristic acid	-	-	-	-	-	0,34%	
Patchouli alcohol	0,28%	-	-	-	-	-	
Total	100%	100%	100%	100%	100%	100%	

Komponen senyawa minyak atsiri biji pala





Lampiran 14. Diameter daya hambat tunggal dan kombinasi dari uji difusi minyak atsiri.

Diameter hambat tunggal dan kombinasi konsentrasi 12,5%

Konsentrasi 12,5%	Diameter daerah hambatan (mm)			Rata –rata ± SD
	I	II	III	
Chloroxylenol (+)	22,50	20,00	21,50	21,33 ± 1,258
Daun kemangi	13,25	14,00	12,75	13,33 ± 0,629
Biji pala	9,25	8,75	11,00	9,66 ± 1,181
1:1	11,75	12,00	12,50	12,08 ± 0,308
1:2	9,50	10,25	11,00	10,25 ± 0,75
2:1	17,25	15,00	13,50	15,25 ± 1,887
1:3	11,00	12,75	9,50	11,08 ± 1,626
3:1	17,00	17,25	15,75	16,66 ± 0,803

Keterangan : Chloroxylenol (1,2%)

Diameter hambat tunggal dan kombinasi konsentrasi 25%

Konsentrasi 25%	Diameter daerah hambatan (mm)			Rata –rata ± SD
	I	II	III	
Chloroxylenol (+)	23,75	22,00	23,25	23,00 ± 0,901
Daun kemangi	20,25	19,00	20,25	19,83 ± 0,721
Biji pala	13,75	11,00	12,50	12,41 ± 1,375
1:1	16,75	15,75	15,00	15,83 ± 0,877
1:2	13,25	13,00	13,50	13,25 ± 0,250
2:1	18,50	19,00	17,25	18,25 ± 0,901
1:3	12,50	13,00	13,00	12,83 ± 0,288
3:1	21,00	20,25	19,00	20,08 ± 1,010

Keterangan : Chloroxylenol (2,4%)

Diameter hambat tunggal dan kombinasi konsentrasi 50%

Konsentrasi 50%	Diameter daerah hambatan (mm)			Rata –rata ± SD
	I	II	III	
Chloroxylenol (+)	27,50	26,75	26,00	26,75 ± 0,75
Daun kemangi	23,25	23,35	23,50	23,36 ± 0,125
Biji pala	16,75	16,25	15,00	16,00 ± 0,901
1:1	22,25	18,50	18,50	19,75 ± 2,165
1:2	18,50	17,00	16,50	17,33 ± 1,040
2:1	21,25	21,25	19,25	20,58 ± 1,154
1:3	17,00	17,00	18,00	17,33 ± 0,577
3:1	26,25	24,50	25,00	25,25 ± 0,901

Keterangan : Chloroxylenol (4,8%)

Perhitungan rata-rata diameter hambatan :

⊕ **Diameter tunggal :**

Konsentrasi 12,5%

➤ Chloroxylenol (+) :

$$\text{Replikasi I} = \frac{2,2+2,2+2,3+2,3}{4} = 2,250 \text{ cm} = 22,50 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,9+1,9+2,1+2,1}{4} = 2 \text{ cm} = 20,00 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{2,1+2,1+2,2+2,2}{4} = 2,15 \text{ cm} = 21,50 \text{ mm.}$$

➤ Kemangi :

$$\text{Replikasi I} = \frac{1,3+1,3+1,3+1,4}{4} = 1,325 \text{ cm} = 13,25 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,4+1,3+1,4+1,5}{4} = 1,40 \text{ cm} = 14,00 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,4+1,3+1,2+1,2}{4} = 1,275 \text{ cm} = 12,75 \text{ mm.}$$

➤ Biji pala :

$$\text{Replikasi I} = \frac{0,9+0,9+1+0,9}{4} = 0,925 \text{ cm} = 9,25 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{0,8+0,9+0,9+0,9}{4} = 0,875 \text{ cm} = 8,75 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,1+1,1+1,2+1,0}{4} = 1,1 \text{ cm} = 11,00 \text{ mm.}$$

Konsentrasi 25%

➤ Chloroxylenol (+) :

$$\text{Replikasi I} = \frac{2,4+2,3+2,5+2,3}{4} = 2,375 \text{ cm} = 23,75 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{2,1+2,1+2,3+2,3}{4} = 2,2 \text{ cm} = 22,00 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{2,3+2,4+2,4+2,2}{4} = 2,325 \text{ cm} = 23,25 \text{ mm.}$$

➤ Kemangi :

$$\text{Replikasi I} = \frac{2,0+2,0+2,0+2,1}{4} = 2,025 \text{ cm} = 20,25 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,9+1,9+1,9+1,9}{4} = 1,9 \text{ cm} = 19,00 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{2,0+2,0+2,0+2,1}{4} = 2,025 \text{ cm} = 20,25 \text{ mm.}$$

➤ Biji pala :

$$\text{Replikasi I} = \frac{1,3+1,4+1,4+1,4}{4} = 1,375 \text{ cm} = 13,75 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,0+1,0+1,2+1,2}{4} = 1,1 \text{ cm} = 11,00 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,3+1,2+1,3+1,2}{4} = 1,250 \text{ cm} = 12,50 \text{ mm.}$$

Konsentrasi 50%

➤ Chloroxylenol (+) :

$$\text{Replikasi I} = \frac{2,8+2,8+2,7+2,7}{4} = 2,75 \text{ cm} = 27,50 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{2,8+2,5+2,6+2,8}{4} = 2,675 \text{ cm} = 26,75 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{2,6+2,6+2,6+2,6}{4} = 2,6 \text{ cm} = 26,00 \text{ mm.}$$

➤ Kemangi :

$$\text{Replikasi I} = \frac{2,4+2,3+2,3+2,3}{4} = 2,325 \text{ cm} = 23,25 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{2,3+2,3+2,3+2,4}{4} = 2,325 \text{ cm} = 23,25 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{2,3+2,3+2,4+2,4}{4} = 2,35 \text{ cm} = 23,50 \text{ mm.}$$

➤ Biji pala :

$$\text{Replikasi I} = \frac{1,6+1,6+1,7+1,8}{4} = 1,675 \text{ cm} = 16,75 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,6+1,6+1,7+1,6}{4} = 1,625 \text{ cm} = 16,25 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,6+1,6+1,3+1,5}{4} = 1,5 \text{ m} = 15,00 \text{ mm.}$$

Diameter kombinasi :

Konsentrasi 12,5%

➤ Kombinasi 1:1 :

$$\text{Replikasi I} = \frac{1,2+1,1+1,3+1,1}{4} = 1,175 \text{ cm} = 11,75 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,3+1,2+1,2+1,1}{4} = 1,2 \text{ cm} = 12,00 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,2+1,2+1,2+1,4}{4} = 1,25 \text{ cm} = 12,50 \text{ mm.}$$

➤ Kombinasi 1:2 :

$$\text{Replikasi I} = \frac{1+1+0,9+0,9}{4} = 0,95 \text{ cm} = 9,50 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,1+1,2+0,9+0,9}{4} = 1,025 \text{ cm} = 10,25 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,1+1,1+1,1+1,1}{4} = 1,1 \text{ cm} = 11,00 \text{ mm.}$$

➤ Kombinasi 2:1 :

$$\text{Replikasi I} = \frac{1,6+1,8+1,8+1,7}{4} = 1,725 \text{ cm} = 17,25 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,5+1,5+1,5+1,5}{4} = 1,5 \text{ cm} = 15,00 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,3+1,3+1,4+1,3}{4} = 1,35 \text{ cm} = 13,50 \text{ mm.}$$

➤ Kombinasi 1:3 :

$$\text{Replikasi I} = \frac{1,1+1,1+1,1+1,1}{4} = 1,1 \text{ cm} = 11,00 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,2+1,2+1,3+1,4}{4} = 1,275 \text{ cm} = 12,75 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{1+1+0,9+0,9}{4} = 0,95 \text{ cm} = 9,50 \text{ mm.}$$

➤ Kombinasi 3:1 :

$$\text{Replikasi I} = \frac{1,6+1,8+1,6+1,8}{4} = 1,7 \text{ cm} = 17,00 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,7+1,8+1,7+1,7}{4} = 1,725 \text{ cm} = 17,25 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,5+1,7+1,6+1,5}{4} = 1,575 \text{ cm} = 15,75 \text{ mm.}$$

Konsentrasi 25%

➤ Kombinasi 1:1 :

$$\text{Replikasi I} = \frac{1,7+1,7+1,6+1,7}{4} = 1,675 \text{ cm} = 16,75 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,5+1,6+1,6+1,6}{4} = 1,575 \text{ cm} = 15,75 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,5+1,5+1,5+1,5}{4} = 1,5 \text{ cm} = 15,00 \text{ mm.}$$

➤ Kombinasi 1:2 :

$$\text{Replikasi I} = \frac{1,4+1,3+1,3+1,3}{4} = 1,325 \text{ cm} = 13,25 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,3+1,3+1,3+1,3}{4} = 1,3 \text{ cm} = 13,00 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,4+1,3+1,3+1,4}{4} = 1,35 \text{ cm} = 13,50 \text{ mm.}$$

➤ Kombinasi 2:1 :

$$\text{Replikasi I} = \frac{1,8+1,9+1,8+1,9}{4} = 1,85 \text{ cm} = 18,50 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,8+1,9+1,9+2,0}{4} = 1,9 \text{ cm} = 19,00 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,7+1,7+1,7+1,8}{4} = 1,725 \text{ cm} = 17,25 \text{ mm.}$$

➤ Kombinasi 1:3 :

$$\text{Replikasi I} = \frac{1,3+1,3+1,2+1,2}{4} = 1,25 \text{ cm} = 12,50 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,2+1,4+1,4+1,2}{4} = 1,3 \text{ cm} = 13,00 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,2+1,2+1,4+1,4}{4} = 1,3 \text{ cm} = 13,00 \text{ mm.}$$

➤ Kombinasi 3:1 :

$$\text{Replikasi I} = \frac{1,1+1,1+1,1+1,1}{4} = 1,1 \text{ cm} = 11,00 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,3+1,3+1,5+1,1}{4} = 1,3 \text{ cm} = 13,00 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{2,1+2,1+2,1+2,1}{4} = 2,1 \text{ cm} = 21,00 \text{ mm.}$$

Konsentrasi 50%

➤ Kombinasi 1:1 :

$$\text{Replikasi I} = \frac{2,3+2,2+2,1+2,3}{4} = 2,225 \text{ cm} = 22,25 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,9+1,8+1,9+1,8}{4} = 1,85 \text{ cm} = 18,50 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,9+1,8+1,8+1,9}{4} = 1,85 \text{ cm} = 18,50 \text{ mm.}$$

➤ Kombinasi 1:2 :

$$\text{Replikasi I} = \frac{1,9+1,8+1,9+1,8}{4} = 1,85 \text{ cm} = 18,50 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,6+1,8+1,8+1,6}{4} = 1,7 \text{ cm} = 17,00 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,6+1,6+1,7+1,7}{4} = 1,65 \text{ cm} = 16,50 \text{ mm.}$$

➤ Kombinasi 2:1 :

$$\text{Replikasi I} = \frac{2,2+2,1+2,1+2,1}{4} = 2,125 \text{ cm} = 21,25 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{2,2+2,1+2,1+2,1}{4} = 2,125 \text{ cm} = 21,25 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,9+1,8+2,0+2,0}{4} = 1,925 \text{ cm} = 19,25 \text{ mm.}$$

➤ Kombinasi 1:3 :

$$\text{Replikasi I} = \frac{1,7+1,7+1,8+1,6}{4} = 1,7 \text{ cm} = 17,00 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,8+1,6+1,6+1,8}{4} = 1,7 \text{ cm} = 17,00 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,9+1,7+1,9+1,7}{4} = 1,8 \text{ cm} = 18,00 \text{ mm.}$$

➤ Kombinasi 3:1 :

$$\text{Replikasi I} = \frac{2,8+2,5+2,5+2,7}{4} = 2,625 \text{ cm} = 26,25 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{2,5+2,4+2,4+2,5}{4} = 2,45 \text{ cm} = 24,50 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{2,5+2,4+2,5+2,6}{4} = 2,5 \text{ cm} = 25,00 \text{ mm.}$$

Lampiran 15. Hasil analisis dengan SPSS

Tests of Normality

Bahan Uji	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Diameter Daya Kontrol positif	.158	9	.200	.948	9	.672
Hambat Daun kemangi	.196	9	.200	.849	9	.073
Biji pala	.163	9	.200	.939	9	.572
1:1	.165	9	.200	.936	9	.539
1:2	.181	9	.200	.938	9	.565
2:1	.160	9	.200	.942	9	.601
1:3	.268	9	.062	.903	9	.270
3:1	.175	9	.200	.925	9	.434

a. Lilliefors Significance Correction

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

Descriptive Statistics

Dependent Variable:Diameter Daya Hambat

Bahan Uji	Konsentrasi	Mean	Std. Deviation	N
Kontrol positif	12,5%	21.3333	1.25831	3
	25%	23.0000	.90139	3
	50%	26.7500	.75000	3
	Total	23.6944	2.55189	9
Daun kemangi	12,5%	13.3333	.62915	3
	25%	19.8333	.72169	3
	50%	23.3667	.12583	3
	Total	18.8444	4.43378	9
Biji pala	12,5%	9.6667	1.18145	3
	25%	12.4167	1.37689	3
	50%	16.0000	.90139	3
	Total	12.6944	2.93092	9
1:1	12,5%	12.0833	.38188	3
	25%	15.8333	.87797	3
	50%	19.7500	2.16506	3
	Total	15.8889	3.52471	9
1:2	12,5%	10.2500	.75000	3
	25%	13.2500	.25000	3
	50%	17.3333	1.04083	3
	Total	13.6111	3.14770	9
2:1	12,5%	15.2500	1.88746	3
	25%	18.2500	.90139	3
	50%	20.5833	1.15470	3
	Total	18.0278	2.60542	9

1:3	12,5%	11.0833	1.62660	3
	25%	12.8333	.28868	3
	50%	17.3333	.57735	3
	Total	13.7500	2.92617	9
3:1	12,5%	16.6667	.80364	3
	25%	20.0833	1.01036	3
	50%	25.2500	.90139	3
	Total	20.6667	3.82426	9
Total	12,5%	13.7083	3.86502	24
	25%	16.9375	3.83650	24
	50%	20.7958	3.89724	24
	Total	17.1472	4.79998	72

Levene's Test of Equality of Error Variances^a

Dependent Variable:Diameter Daya Hambat

F	df1	df2	Sig.
1.713	23	48	.058

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

a. Design: Intercept + Bauji + kons + Bauji * kons

Post hoc test**Multiple Comparisons**Diameter Daya 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	Daun kemangi	4.8500	.49589	.000	3.2789	6.4211
	Biji pala	11.0000	.49589	.000	9.4289	12.5711
	1:1	7.8056	.49589	.000	6.2344	9.3767
	1:2	10.0833	.49589	.000	8.5122	11.6544
	2:1	5.6667	.49589	.000	4.0956	7.2378
	1:3	9.9444	.49589	.000	8.3733	11.5156
	3:1	3.0278	.49589	.000	1.4567	4.5989
	Kontrol positif	-4.8500	.49589	.000	-6.4211	-3.2789
Daun kemangi	Biji pala	6.1500	.49589	.000	4.5789	7.7211
	1:1	2.9556	.49589	.000	1.3844	4.5267
	1:2	5.2333	.49589	.000	3.6622	6.8044
	2:1	.8167	.49589	.720	-.7544	2.3878
	1:3	5.0944	.49589	.000	3.5233	6.6656
	3:1	-1.8222	.49589	.013	-3.3933	-.2511
	Kontrol positif	-11.0000	.49589	.000	-12.5711	-9.4289
Biji pala	Daun kemangi	-6.1500	.49589	.000	-7.7211	-4.5789

	1:1	-3.1944	.49589	.000	-4.7656	-1.6233
	1:2	-.9167	.49589	.591	-2.4878	.6544
	2:1	-5.3333	.49589	.000	-6.9044	-3.7622
	1:3	-1.0556	.49589	.412	-2.6267	.5156
	3:1	-7.9722	.49589	.000	-9.5433	-6.4011
1:1	Kontrol positif	-7.8056	.49589	.000	-9.3767	-6.2344
	Daun kemangi	-2.9556	.49589	.000	-4.5267	-1.3844
	Biji pala	3.1944	.49589	.000	1.6233	4.7656
	1:2	2.2778	.49589	.001	.7067	3.8489
	2:1	-2.1389	.49589	.002	-3.7100	-.5678
	1:3	2.1389	.49589	.002	.5678	3.7100
	3:1	-4.7778	.49589	.000	-6.3489	-3.2067
1:2	Kontrol positif	-10.0833	.49589	.000	-11.6544	-8.5122
	Daun kemangi	-5.2333	.49589	.000	-6.8044	-3.6622
	Biji pala	.9167	.49589	.591	-.6544	2.4878
	1:1	-2.2778	.49589	.001	-3.8489	-.7067
	2:1	-4.4167	.49589	.000	-5.9878	-2.8456
	1:3	-.1389	.49589	1.000	-1.7100	1.4322
	3:1	-7.0556	.49589	.000	-8.6267	-5.4844
2:1	Kontrol positif	-5.6667	.49589	.000	-7.2378	-4.0956
	Daun kemangi	-.8167	.49589	.720	-2.3878	.7544
	Biji pala	5.3333	.49589	.000	3.7622	6.9044
	1:1	2.1389	.49589	.002	.5678	3.7100
	1:2	4.4167	.49589	.000	2.8456	5.9878
	1:3	4.2778	.49589	.000	2.7067	5.8489
	3:1	-2.6389	.49589	.000	-4.2100	-1.0678
1:3	Kontrol positif	-9.9444	.49589	.000	-11.5156	-8.3733
	Daun kemangi	-5.0944	.49589	.000	-6.6656	-3.5233
	Biji pala	1.0556	.49589	.412	-.5156	2.6267
	1:1	-2.1389	.49589	.002	-3.7100	-.5678
	1:2	.1389	.49589	1.000	-1.4322	1.7100
	2:1	-4.2778	.49589	.000	-5.8489	-2.7067
	3:1	-6.9167	.49589	.000	-8.4878	-5.3456
3:1	Kontrol positif	-3.0278	.49589	.000	-4.5989	-1.4567
	Daun kemangi	1.8222	.49589	.013	.2511	3.3933
	Biji pala	7.9722	.49589	.000	6.4011	9.5433
	1:1	4.7778	.49589	.000	3.2067	6.3489
	1:2	7.0556	.49589	.000	5.4844	8.6267
	2:1	2.6389	.49589	.000	1.0678	4.2100
	1:3	6.9167	.49589	.000	5.3456	8.4878

Based on observed means.

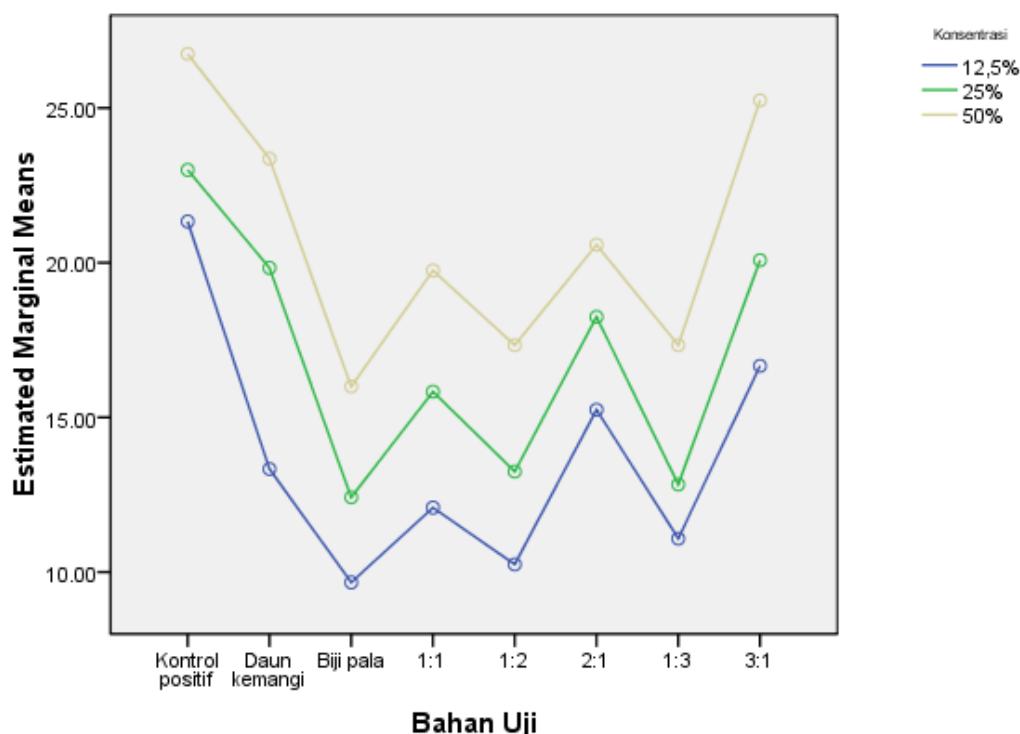
The error term is Mean Square(Error) = 1,107.

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

Diameter Daya Hambat						
Tukey HSD		N	Subset			
Bahan Uji			1	2	3	4
Biji pala		9	12.6944			
1:2		9	13.6111			
1:3		9	13.7500			
1:1		9		15.8889		
2:1		9			18.0278	
Daun kemangi		9			18.8444	
3:1		9				20.6667
Kontrol positif		9				23.6944
Sig.			.412	1.000	.720	1.000
						1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on observed means.
The error term is Mean Square(Error) = 1,107.

Estimated Marginal Means of Diameter Daya Hambat



Lampiran 16. Komposisi media

a. Formulasi dan pembuatan *Nutrien Agar* (NA)

Pepton from meat	5,0 gram
Meat extract	3,0 gram
Agar	15,0 gram

Reagen-reagen diatas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

b. Formulasi dan pembuatan *Muller Hinton Agar* (MHA)

Meat infusion	2,0 gram
Bacto asam kasamino	17,5 gram
Kanji	1,5 gram
Agar	17,0 gram

Reagen-reagen diatas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan dalam cawan petri pH 7,4.

c. Formulasi dan pembuatan *Brain Heart Infusion* (BHI)

Brain infusion	12,5 gram
Heart infusion	5,0 gram
Proteose peptone	10,0 gram
Glucose	2,0 gram
Sodium choride	5,0 gram
di-sodium hydrogen phosphate	2,5 gram

Reagen-reagen diatas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

d. Formulasi dan pembuatan *Vogel Jhonson Agar* (VJA)

Peptone from casein	10,0 gram
Yeast extract	5,0 gram
di-potassium hydrogen phosphate	10,0 gram
D(-)mannitol	10,0 gram
Lithium chloride	5,0 gram
Glycine	10,0 gram
Phenol red	0,025 gram
Agar	13,0 gram

Reagen-reagen diatas dilarutkan dalam aquadest sebanyak 1000 ml, dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituangkan dalam cawan petri pH 7,4.