

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI MINYAK ATSIRI BANGLE  
(*Zingiber cassumunar*) DAN LENGKUAS MERAH (*Alpinia purpurata* K.)  
TERHADAP *Salmonella typhi***



**oleh :**

**Jennida  
19133825 A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2017**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI MINYAK ATSIRI BANGLE  
(*Zingiber cassumunar*) DAN LENGKUAS MERAH (*Alpinia purpurata* K.)  
TERHADAP *Salmonella typhi***

*SKRIPSI*

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

**Oleh:**

**Jennida**

**19133825 A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2017**

## PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI MINYAK ATSIRI BANGLE  
(*Zingiber cassumunar*) DAN LENGKUAS MERAH (*Alpinia purpurata* K.)  
TERHADAP *Salmonella typhi***

Oleh

**Jennida  
19133825 A**

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



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

Pembimbing Utama,

Dr. Ana Indrayati M.Si

Pembimbing Pendamping,

Endang Sri Rejeki, M.Si., Apt

Penguji :

1. Dra. Kartinah Wiryoendjono, SU.
2. Samuel Budi Harsono, S.Farm., M.Si., Apt
3. Sunarti S.Farm, M.Sc., Apt
4. Dr. Ana Indrayati M.Si

1.

2.

3.

4.

## PERSEMBAHAN

Bismillahirrahmanirrahim.....

*Kupersembahkan skripsi ini untuk :*

### ♥ Bapa dan Mama Tercinta dan Tersayang

Terimakasih untuk dukungan yang selalu diberikan, untuk kasih sayang yang rasanya tidak pernah habis kudapatkan, untuk semua nasihat-nasihat penyemangat yang berhasil membawaku sampai pada tahap ini. Karya ini kupersembahkan untuk Bapa dan Mama, orang pertama yang mengajarkanku kehidupan, tanpa kalian aku tidak akan pernah bisa seperti ini. Ucapan terimakasihku tidak akan pernah cukup untuk kalian dapatkan. *I Love You Mom and Dad...*

### ♥ Kai dan Alm. Nenek Tercinta dan Tersayang

Terimakasih untuk kalian, dua orang terhebat yang pernah ada dihidupku yang juga selalu mendoakanku.. untuk Alm. Nenek ku tersayang yang biasanya selalu menunggu kepulanganku dari semester 1-7, maaf tidak bisa menyelesaikan kuliah ini lebih cepat hingga Nenek terlebih dulu dipanggil kembali oleh Allah SWT, untuk Kai ku tersayang yang semakin tua yang juga selalu menunggu kepulanganku.. semoga Allah selalu memberikan kesehatan kepada Beliau.. Amin.

### ♥ Adik-Adik dan Kaki Mungil Ku Tersayang

Untuk adik ku Dwi, Ica, Nining, Hafid, dan kesayanganku Gia.. waktu tanpa kalian selama kuliah ini sepi sekali.. terimakasih untuk selalu mendukung Kakak hingga bisa menyelesaikan sampai tahap ini. *Love you all....*

### ♥ Dosen Pembimbingku

Untuk ibu Dr. Ana Indrayati M,Si dan Endang Sri Rejeki M,Si., Apt terimakasih telah membimbing dan mengajari saya selama ini.

### ♥ Teman-Teman Terbaik Ku


Untuk kesayangan sahabat seperjuangan bakteri (Atul, Dina, Ope, Ica, Ipik), Hani ku tersayang, anak-anak kos perantauan (Mamu Irene, Ambu, Bobi, Marwin) dan semua teman-teman yang telah membantuku, dan *special thanks* untuk ***calon teman hidupku.***

## **PERNYATAAN**

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

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

Surakarta, 7 Juni 2017



Jennida

## KATA PENGANTAR

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

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

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

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

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

Surakarta, 7 Juni 2017

Jennida

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
PENGESAHAN SKRIPSI .....	ii
PERSEMBAHAN .....	iii
PERNYATAAN.....	iv
DAFTAR ISI.....	i
DAFTAR GAMBAR .....	iv
DAFTAR TABEL.....	v
DAFTAR LAMPIRAN.....	vi
INTISARI.....	vii
ABSTRACT.....	viii
BAB I    PENDAHULUAN .....	1
A. Latar Belakang .....	1
B. Rumusan Masalah .....	3
C. Tujuan Penelitian .....	3
D. Kegunaan Penelitian.....	4
BAB II    TINJAUAN PUSTAKA .....	5
A. Bangle .....	5
1. Sistematika bangle.....	5
2. Nama lain .....	5
3. Morfologi bangle .....	5
4. Kandungan kimia .....	6
5. Kegunaan tanaman .....	6
B. Lengkuas Merah.....	6
1. Sistematika lengkuas merah .....	6
2. Nama daerah.....	7
3. Morfologi lengkuas merah .....	7
4. Kandungan kimia .....	8
5. Kegunaan tanaman .....	8
C. Simplisia.....	9
1. Pengertian simplisia .....	9
2. Pengumpulan simplisia.....	9
3. Pengeringan simplisia.....	9



D.	Ekstraksi.....	9
1.	Pengertian ekstraksi.....	9
2.	Destilasi.....	10
2.1	Destilasi dengan air.....	10
2.2	Destilasi dengan uap dan air.....	10
2.3	Destilasi dengan uap langsung.....	11
E.	Minyak Atsiri.....	11
1.	Pengertian.....	11
2.	Sifat fisikokimia minyak atsiri.....	11
3.	Metode isolasi minyak atsiri.....	12
4.	Penyimpanan minyak atsiri.....	12
5.	Penetapan bobot jenis minyak atsiri.....	12
6.	Uji kelarutan dalam etanol.....	12
F.	GC-MS.....	13
G.	<i>Salmonella typhi</i> .....	13
1.	Klasifikasi <i>Salmonella typhi</i> .....	13
2.	Morfologi dan struktur bakteri.....	14
3.	Patogenitas.....	14
H.	Antibakteri.....	15
1.	Definisi antibakteri.....	15
2.	Uji aktivitas antibakteri.....	16
2.1	Difusi.....	16
2.2	Dilusi.....	16
I.	Kloramfenikol.....	16
J.	Media.....	18
1.	Pengertian media.....	18
2.	Klasifikasi media.....	18
2.1	Media padat.....	18
2.2	Media cair.....	18
2.3	Media semi cair atau padat.....	18
K.	Landasan Teori.....	18
L.	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.....	24
1.	Identifikasi tanaman.....	24

2.	Pengambilan bahan.....	24
3.	Isolasi minyak atsiri.....	24
4.	Penetapan sifat fisika.....	25
4.1	Penetapan bobot jenis.....	25
4.2	Pengamatan organoleptik .....	25
4.3	Identifikasi minyak atsiri.....	26
4.4	Penetapan indeks bias minyak atsiri.....	26
4.5	Penetapan kelarutan dalam etanol .....	26
5.	Sterilisasi .....	26
6.	Identifikasi bakteri uji .....	26
6.1	Identifikasi morfologi.....	26
6.2	Identifikasi secara biokimia .....	27
6.3	Uji pada media KIA .....	27
6.4	Uji pada media LIA.....	27
6.5	Uji pada media Citrat .....	27
7.	Pembuatan suspensi bakteri uji .....	27
8.	Pengujian aktivitas antibakteri secara difusi dan dilusi.....	28
E.	Analisa Hasil .....	29
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....		34
1.	Identifikasi dan deskripsi tanaman bangle ( <i>Z. cassumunar</i> ) dan lengkuas merah ( <i>A. purpurata</i> K.).....	34
2.	Isolasi minyak atsiri.....	34
3.	Penetapan sifat fisika.....	35
3.1	Penetapan bobot jenis.....	35
3.2	Pengamatan organoleptik. ....	35
3.3	Identifikasi minyak atsiri.....	36
3.4	Penetapan indeks bias.....	36
4.	Hasil analisa komponen kimia minyak atsiri dengan GC-MS	37
5.	Identifikasi bakteri.....	38
6.	Pembuatan suspensi bakteri uji .....	40
7.	Hasil uji aktivitas antibakteri.....	40
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....		46
A.	Kesimpulan .....	46
B.	Saran.....	46
DAFTAR PUSTAKA .....		48
LAMPIRAN.....		53

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Skema destilasi minyak atsiri bangle .....	29
Gambar 2. Skema destilasi minyak atsiri lengkuas merah.....	30
Gambar 3. Skema pembuatan suspensi bakteri <i>Salmonella typhi</i> .....	31
Gambar 4. Skema pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi .....	32
Gambar 5. Skema pengujian aktivitas antibakteri secara dilusi.....	33

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Hasil pengamatan organoleptis.....	35
Tabel 2. Hasil nilai indeks bias minyak atsiri.....	37
Tabel 3. Komponen utama minyak atsiri bangle .....	38
Tabel 4. Komponen utama minyak atsiri lengkuas merah .....	38
Tabel 5. Diameter zona hambat uji difusi.....	41
Tabel 6. Nilai rata-rata dan standar deviasi uji difusi.....	41
Tabel 7. Hasil uji dilusi kombinasi minyak atsiri bangle & lengkuas merah perbandingan 1:3 konsentrasi 50% pada bakteri <i>Salmonella typhi</i> . ....	44

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil determinasi tanaman bangle.....	54
Lampiran 2. Hasil determinasi tanaman lengkuas merah .....	55
Lampiran 3. Tanaman bangle dan lengkuas merah.....	56
Lampiran 4. Autoklaf, Inkubator, Oven, Inkas .....	57
Lampiran 5. Hasil pengamatan sifat fisika.....	58
Lampiran 6. Minyak atsri bangle, lengkuas merah, dan kombinasi .....	59
Lampiran 7. Identifikasi bakteri <i>Salmonella typhi</i> .....	61
Lampiran 8. Hasil uji difusi .....	62
Lampiran 9. Hasil uji dilusi.....	64
Lampiran 10. Perhitungan kadar minyak atsiri Bangle dan Lengkuas merah .....	65
Lampiran 11. Perhitungan bobot jenis minyak atsiri .....	67
Lampiran 12. Hasil perhitungan indeks bias minyak atsiri.....	70
Lampiran 13. Hasil analisis GCMS minyak atsiri .....	71
Lampiran 14. Diameter daya hambat tunggal dan kombinasi dari uji difusi minyak atsiri .....	90

## INTISARI

**JENNIDA, 2017, UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI MINYAK ATSIRI BANGLE (*Zingiber cassumunar*) DAN LENGKUAS MERAH (*Alpinia purpurata* K.) TERHADAP *Salmonella typhi*, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.**

Bakteri *Salmonella typhi* merupakan penyebab demam tifoid, manusia merupakan satu-satunya inang untuk infeksi yang disebabkan oleh *S. typhi*. Infeksi terjadi secara fekal-oral melalui makanan dan minuman yang terkontaminasi. Penggunaan antibiotik yang tidak tepat dapat menyebabkan resistensi dalam pengobatan infeksi *S. typhi*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri kombinasi minyak atsiri bangle dan lengkuas merah terhadap bakteri *S. typhi*. Pemilihan *S. typhi* sebagai bakteri uji karena tingginya angka kejadian demam tifoid di Indonesia.

Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode disk difusi dengan konsentrasi 50%, 25% dan 12,5% dan perbandingan (1:1,1:3,3:1), dan dilusi dengan seri pengenceran dengan konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,56%, dan 0,78%. Minyak atsiri bangle dan lengkuas merah diperoleh dengan cara destilasi uap-air. Tetapan sifat fisik dilakukan dengan pengujian bobot jenis, pengamatan organoleptik, identifikasi dan indeks bias minyak atsiri.

Parameter yang digunakan adalah mengetahui nilai diameter zona hambat pada uji difusi serta konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) pada uji dilusi. Rendemen minyak atsiri yang diperoleh adalah bangle 0,2% dan lengkuas merah 0,057%. Hasil berdasarkan uji difusi menunjukkan kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle pada perbandingan 1:1, 1:3, 3:1 masing-masing memiliki zona hambat sebesar 11 mm, 12,60 mm, 10 mm. Pada dilusi nilai KHM yang didapat yaitu pada konsentrasi 1,56% dan KBM 3,125%. Berdasarkan hasil dapat disimpulkan bahwa aktivitas antibakteri terbesar pada perbandingan 1:3 dengan zona hambat 12,60 mm.

---

Kata kunci: Aktivitas antibakteri, *Salmonella typhi*, Kombinasi, Minyak Atsiri, *Zingiber cassumunar*, *Alpinia purpurata* K.

## ABSTRACT

**JENNIDA, 2017. ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST COMBINATION OF ESSENTIAL OIL OF BANGLE (*Zingiber cassumunar*) AND RED GALANGA (*Alpinia purpurata* K.) TO *Salmonella typhi*, ESSAY, PHARMACY FACULTY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA**

*Salmonella typhi* is the cause of typhoid fever, humans are the only host for infection caused by itself. The infection occurs by faecal-oral transmission from contaminated food and drink. Inappropriate use of antibiotics can cause resistance in the treatment of *S. typhi* infections. This study aims to know antibacterial activity of essential oil of bangle and red galangal to *S. thypi* bacteria. Selection *S. typhi* as test bacteria due to the high prevalence of typhoid fever in Indonesia.

Antibacterial activity test used disk diffusion method with concentration of 50%, 25% dan 12,5% and their comparisons of 1:1; 1:3; 3:1 and diluted with concentration of serial dilution of 50%, 25%, 12.5%, 6.25%, 3.125%, 1.56%, and 0.78%. Essential oil of bangle and red galangal were obtained by steam-water distillation. The physical constants are carried out by testing the specific gravity, organoleptic, identification and refractive index of essential oil.

The parameters used were to know the inhibition zone diameter in diffusion test and Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) on dilution test. The rendement of bangle and red galanga were obtained 0,2% and 0.057%. Based on the result test, diffusion test showed that their comparisons of combination 1:1, 1:3, 3:1 had each inhibition diameter zone of 11 mm, 12.60 mm, 10 mm. On diffusion test, their MIC and MBC were obtained concentration at 1,56% and 3,125%. So, can be concluded that the highest antimicrobial potential is their comparisons of combination 1:3 with inhibition diameter xone of 12.60 mm.

---

**Key words:** Antibacterial activity, *Salmonella typhi*, Combination, Essential oil, *Zingiber cassumunar*, *Alpinia purpurata* K.

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **A. Latar Belakang**

Indonesia merupakan negara yang terkenal dengan keanekaragaman tanaman terutama hasil pertanian dan rempah-rempah. Hal ini didukung oleh keadaan geografis Indonesia yang beriklim tropis dengan curah hujan rata-rata tinggi sepanjang tahun. Sumber daya alam yang dimiliki telah memberikan manfaat dalam kehidupan sehari-hari sebagai bahan makanan dan juga dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Menurut Kainsa dan Reena (2012), tumbuhan sering dimanfaatkan sebagai obat herbal karena dapat mengurangi efek samping yang ditinggalkan dan mudah didapatkan.

Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai bahan obat-obatan herbal adalah lengkuas merah (*Alpinia purpurata* K.). Bagian dari tanaman lengkuas yang sering digunakan sebagai obat adalah rimpangnya. Rimpang lengkuas secara tradisional digunakan untuk mengobati penyakit seperti diare, disentri, panu, kudis, bercak-bercak kulit dan tahi lalat, menghilangkan bau mulut, dan obat kuat. Lengkuas juga memiliki khasiat sebagai antijamur dan antibakteri. Khasiat obat pada suatu tanaman umumnya disebabkan oleh kandungan metabolit sekunder, metabolit sekunder adalah senyawa yang tidak esensial bagi pertumbuhan organisme dan disintesis dalam jumlah sedikit, salah satu diantaranya adalah minyak atsiri (Anonim, 2007).

Salah satu tanaman lainnya yaitu bangle (*Zingiber cassumunar* K.) adalah spesies dari genus *Zingiber* yang termasuk dalam keluarga *Zingiberaceae*. Bangle merupakan tanaman yang sudah lama digunakan sebagai obat tradisional. Rimpang bangle berkhasiat sebagai obat demam, perut nyeri, sembelit, masuk angin, cacing, dan encok (Depkes RI 2001). Rimpang bangle secara ilmiah telah terbukti memiliki aktivitas sebagai antibakteri, laksatif, antioksidan, dan mampu menghambat lipase pankreas (Nuratmi *et al* 2005; Iswantini *et al* 2011; Marliani, 2012).

Melihat banyaknya khasiat yang dimiliki oleh rimpang bangle maka diduga terdapat bermacam-macam konstituen kimia yang terkandung di dalam



rimpang bangle. Kandungan kimia yang terdapat dalam tanaman dapat bervariasi tergantung pada genetik dan faktor lingkungan, metode budidaya, waktu pengumpulan, serta pengolahan paska panen. Variabilitas dari kandungan kimia ini dapat mempengaruhi khasiat dari tanaman obat (Biradar, 2010).

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan sebelumnya diketahui bahwa minyak atsiri dari rempah-rempah seperti oregano, thymi, sage, rosemary, jahe, kunyit, lengkuas dan rempah-rempah lainnya memiliki aktivitas sebagai antibakteri (Rahayu *et al* 2008). Antibakteri adalah zat atau senyawa kimia yang digunakan untuk membasmi bakteri, khususnya bakteri yang merugikan manusia. Definisi ini kemudian berkembang menjadi senyawa yang dalam konsentrasi tertentu mampu menghambat bahkan membunuh proses kehidupan suatu mikroorganisme. Berdasarkan sifat toksisitas selektif yaitu antibiotik yang berbahaya bagi parasit tetapi tidak membahayakan inangnya, ada antibakteri yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri tanpa mematikannya yang dikenal sebagai bakteriostatik, dan ada yang bersifat membunuh bakteri dikenal sebagai bakterisid (Jawetz *et al* 2001).

Bakteri *S. typhi* merupakan penyebab demam tifoid. Penyakit ini sampai sekarang masih merupakan problem epidemiologi terutama di daerah tropis, termasuk di Indonesia. Kasus demam tifoid secara global diperkirakan terjadi sebanyak 17-22 juta per tahun dan yang terkait dengan kematian sebesar 216.000-600.000 per tahun (Steele, 2008). Di Indonesia angka kejadian mencapai 358/100.000 penduduk/tahun di daerah pedesaan dan 760-810/100.000 penduduk/tahun di daerah perkotaan atau sekitar 600.000 dan 1,5 juta kasus per tahun dengan angka kematian kasus sebesar 1,6-3% (Parry *et al.*, 2002; Ochiai, *et al.*, 2008).

Manusia merupakan satu-satunya inang dan reservoir untuk infeksi yang disebabkan oleh *S. typhi*. Infeksi terjadi secara fekal-oral melalui makanan dan minuman yang terkontaminasi, secara umum tifoid dijumpai dalam suatu area dengan kondisi sanitasi buruk dan memiliki keterbatasan memperoleh air bersih. *S. typhi* dapat tetap terbawa dalam tubuh penderita dan secara terus-menerus keluar bersama feses. Bakteri yang keluar bersama feses dapat bertahan lama di alam dan menjadi sumber penularan bagi banyak orang. Demam tifoid dalam

suatu area masih bersifat endemis, maka air yang berasal dari sungai atau danau yang digunakan untuk konsumsi masyarakat dan sering terkontaminasi limbah merupakan sumber infeksi utama (Mastroeni dan Maskell, 2005).

Gejala klinis demam tifoid sangat bervariasi mulai dari keadaan sakit ringan disertai sedikit demam, badan terasa tidak enak, batuk sampai pada keadaan klinis yang berat seperti nyeri abdominal dan komplikasi. Kondisi ini sering dapat menyebabkan kesulitan dalam menegakkan diagnosis demam tifoid apabila hanya berdasarkan gambaran klinis (Muliawan dan Surjawidjaja, 1999).

Berdasarkan uraian tersebut, maka pada penelitian ini akan dilakukan penelitian mengenai kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle untuk mengetahui aktivitas dari minyak atsiri tanaman tersebut yang berhasiat sebagai antibakteri terhadap *S. typhi* dengan menggunakan metode difusi yang digunakan untuk mengukur zona hambat yang terbentuk dan metode dilusi untuk menentukan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM).

## **B. Rumusan Masalah**

Permasalahan dalam penelitian ini adalah :

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

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

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

## **C. Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian ini adalah untuk :

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

Kedua, mengetahui berbagai perbandingan dari minyak atsiri lengkuas merah dan bangle yang memiliki aktivitas paling besar terhadap *S. typhi*

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

#### **D. Kegunaan Penelitian**

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

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Bangle**

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

Menurut Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (2013), sistematika tanaman bangle dalam taksonomi sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Monocotyledoneae
Bangsa	: Zingiberales
Suku	: Zingiberaceae
Genus	: Zingiber
Species	: <i>Zingiber cassumunar</i> K.

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

*Z. cassumunar* tersebar di beberapa wilayah Indonesia yang pada umumnya *Z. cassumunar* dikenal dengan nama yang berbeda-beda pada tiap-tiap daerah yaitu seperti Sumatra: mogle (Aceh), bangle (Gayo), bungle (Batak Simelungun), baglai, banlai (Mentawai), banglai (Palembang), bunglai, bangle, kunit bolai, kunyit bolai (Melayu). Kalimantan: bangalai (Dayak-Ngaju). Jawa: panglai (Sunda), bangle (Jawa), pandiyang (Madura). Nusa Tenggara: banggele (Bali), banggulae (Bima), bangalae (Roti). Sulawesi: manglai, mangulai, bangerei, bangelei, wangelei, kekuniran, kukundiren, walegai (Minahasa), bale (Makassar), Panini (Bugis). Maluku: unin makei, unin pakei (Ambon), bangle (Ternate, Tidore) (Depkes RI 2001).

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

Bangle tumbuh di daerah Asia Tropis, dari India sampai Indonesia. Di Jawa dibudidayakan atau ditanam di pekarangan dan pada tempat-tempat yang cukup mendapatkan sinar matahari, mulai dari dataran rendah sampai 1.300 m d.p.l. Pada tanah yang tergenang atau becek, pertumbuhannya akan terganggu dan rimpang cepat membusuk (Agoes, 2010).

Bangle merupakan herba semusim, tumbuh tegak, tinggi 1–1,5 m, membentuk rumpun yang agak padat, berbatang semu, terdiri dari pelepah daun yang dipinggir ujungnya berambut sikat. Daun tunggal, letak berseling. Helaian daun lonjong, tipis, ujung runcing, pangkal tumpul, tepi rata, berambut halus, jarang, pertulangan menyirip, panjang 25-35 cm, lebar 20-40 mm, dan berwarna hijau (Depkes RI 2001).

#### 4. Kandungan kimia

*Z. cassumunar* mengandung bahan-bahan berupa minyak atsiri 1,8% atas dasar bahan kering, mengandung komponen antara lain sabinen, terpinen-4-ol, seskuifeladren, sineol, asam dan gom, asam-asam organik dan albuminoid serta kurkuminoid (Hanani, 2000). Kandungan senyawa organik lainnya adalah damar, lemak, gom, gula, mineral albuminoid dan asam-asam organik (Wonohadi *et al* 2000).

#### 5. Kegunaan tanaman

Rimpang bangle berkhasiat sebagai obat demam, perut nyeri, sembelit, masuk angin, cacing, dan encok (Depkes RI 2001). Rimpang bangle secara ilmiah telah terbukti memiliki aktivitas sebagai antibakteri, laksatif, antioksidan, dan mampu menghambat lipase pankreas (Nuratmi *et al* 2005; Iswantini *et al* 2011; Marliani, 2012).

### B. Lengkuas Merah

#### 1. Sistematika lengkuas merah

Sistematika tanaman lengkuas merah menurut USDA (2014), sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Monocotyledoneae
Ordo	: Zingiberales
Famili	: Zingiberaceae
Genus	: Alpinia
Spesies	: <i>Alpinia purpurata</i> (Vieill.) K. Sch

Sinonim : *Alpinia pyramidata*, *Alpinia galangal* (L.) Swartz., *Alpinia officinarum* Hance, *Languas galangal* (L.) Merr., *Languas galangal* (L.) Stunz., *Languas vulgare* Koenig, *Maranta galangal* L., *Amomum galangal* (L.) Lour, *Amomum medium* Lour.

## 2. Nama daerah

Nama daerah dari lengkuas merah adalah Lengkuueus (Gayo), Langkueueh (Aceh), Halawas (Simalungun), Halas (Batak Toba) Lengkuas, Puar (Malaysia), Langkauas, Palia (Filipina), Padagoji (Burma), Komdeng, Pras (Kamboja), Kha (Laos, Thailand), Hong dou ku (Cina), Galangal, Greater galangal, Java galangal, Siamese ginger (Inggris) (Sinaga, 2009).

## 3. Morfologi lengkuas merah

Lengkuas termasuk tumbuhan tegak yang tinggi batangnya mencapai 2 sampai 2,5 m. Lengkuas dapat hidup di daerah dataran rendah sampai dataran tinggi, lebih kurang 1200 m di atas permukaan laut. Lengkuas mempunyai batang pohon yang terdiri dari susunan pelepah-pelepah daun. Daunnya berbentuk bulat panjang dan antara daun yang terdapat pada bagian bawah terdiri dari pelepah-pelepah saja, sedangkan bagian atas batang terdiri dari pelepah-pelepah lengkap dengan helaian daun. Bunganya muncul pada bagian ujung tumbuhan. Rimpang (umbi) lengkuas selain berserat kasar juga mempunyai aroma yang khas. Rimpang lengkuas yang merupakan salah satu bahan obat alam yang telah banyak digunakan oleh masyarakat untuk pengobatan tradisional, terbagi menjadi dua jenis, yaitu lengkuas putih dan lengkuas merah. Varitas rimpang umbi merah atau dapat disebut sebagai lengkuas merah memiliki ukuran yang lebih besar daripada lengkuas putih dan khasiatnya untuk obat lebih banyak.

Rimpang kecil dan tebal, berdaging, berbentuk silindris, diameter sekitar 2-4 cm, dan bercabang-cabang. Bagian luar agak coklat berwarna kemerahan atau kuning kehijauan pucat, mempunyai sisik-sisik berwarna putih dan kemerahan, keras mengkilap, sedangkan bagian dalamnya berwarna putih. Daging rimpang yang sudah tua berserat kasar. Rimpang yang sudah dikeringkan berubah menjadi agak kehijauan dan seratnya menjadi keras dan liat, untuk mendapat rimpang yang

masih berserat halus, panen harus dilakukan sebelum tanaman berumur lebih kurang 3 bulan. Lengkuas merah memiliki rasa yang tajam pedas, menggigit dan berbau harum karena kandungan minyak atsirinya (Sinaga, 2009).

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

Kandungan kimia dari lengkuas merah yaitu 1% minyak atsiri berwarna kuning kehijauan yang terdiri atas metil-sinamat 48%, sineol 20-30%, eugenol, kamfer 1%, galangin, flavanoid, saponin, tanin dan lain-lain. Penelitian yang lebih intensif menemukan bahwa rimpang lengkuas mengandung zat-zat yang dapat bersifat sebagai antitumor atau antikanker, diantaranya Asetoksi Chavicol Asetat yang mampu menghambat enzim xantin oksidase (Anonim, 2008).

Lengkuas merah adalah salah satu sumber alamiah terbaik dari kuersetin, suatu bioflavanoid yang secara khusus baik untuk melawan radikal bebas, di samping kemampuan antioksidannya, kuersetin juga memiliki sifat mencegah kanker, antijamur, antibakteri, dan anti peradangan (Klohs, 2012).

Kuersetin yang terkandung di dalam lengkuas merah memiliki beberapa mekanisme kerja, antara lain menangkap radikal oksigen. Antioksidan yang mampu mencegah kerusakan oksidatif dan kematian sel, sifat antioksidan yang dimiliki ini membuat kuersetin mempunyai aktivitas sitoprotektif terhadap tukak lambung yang diinduksi oleh berbagai senyawa seperti etanol, asam asetat, dan obat-obat antiinflamasi non steroid (Coskun, dkk., 2004).

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

Lengkuas merah merupakan anggota keluarga Zingiberaceae. Rimpang lengkuas mudah diperoleh di Indonesia dan manjur sebagai obat-obatan tradisional, misalnya dipergunakan sebagai obat penyakit perut, kudis, panu, radang telinga, bronkitis, pereda kejang, bau mulut, dan penyakit karies gigi. Rimpang lengkuas juga digunakan sebagai salah satu bumbu masak selama bertahun-tahun dan tidak pernah menimbulkan masalah. Rimpang lengkuas memiliki berbagai khasiat di antaranya sebagai antijamur dan antibakteri. Penelitian Yuharmen *et al* (2014), menunjukkan adanya aktifitas penghambatan pertumbuhan mikroba oleh minyak atsiri dan fraksi metanol rimpang lengkuas pada beberapa spesies bakteri dan jamur.

## **C. Simplisia**

### **1. Pengertian simplisia**

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

### **2. Pengumpulan simplisia**

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

### **3. Pengeringan simplisia**

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

## **D. Ekstraksi**

### **1. Pengertian ekstraksi**

Ekstraksi adalah penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Simplisia yang diekstrak mengandung senyawa aktif yang dapat larut dan senyawa yang tidak dapat larut seperti serat, karbohidrat, protein dan lain-lain. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat digolongkan ke dalam golongan minyak



atsiri, alkaloid, flavonoid dan lain-lain. Struktur kimia yang berbeda-beda akan mempengaruhi kelarutan serta stabilitas senyawa-senyawa tersebut terhadap pemanasan, udara, cahaya, logam berat dan derajat keasaman. Senyawa aktif yang diketahui dikandung simplisia akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat. Simplisia yang lunak seperti rimpang dan daun mudah diserap oleh pelarut, karena itu pada proses ekstraksi tidak perlu diserbuk sampai halus. Simplisia yang keras seperti biji, kulit kayu dan kulit akar susah diserap oleh pelarut, karena itu perlu diserbuk sampai halus. Sifat fisik dan senyawa aktif dari simplisia perlu diperhatikan serta senyawa-senyawa lain yang terdapat dalam simplisia seperti protein, karbohidrat, lemak dan gula, karena senyawa ini akan mempengaruhi tingkat kejenuhan pelarut sehingga akan berpengaruh pula pada proses pelarutan senyawa aktif. Keajegan kadar senyawa aktif merupakan syarat mutlak mutu ekstrak yang diproduksi, oleh sebab itu setiap ekstrak harus distandarisasi (Depkes 2000).

## **2. Destilasi**

Menurut Sastrohamidjojo (2004), ada tiga metode destilasi yang digunakan dalam industri minyak atsiri, yaitu:

**2.1 Destilasi dengan air.** Pada metode ini, bahan tanaman yang akan disuling mengalami kontak langsung dengan air mendidih. Bahan dapat mengapung diatas air atau terendam secara sempurna, tergantung pada berat jenis dan jumlah bahan yang disuling. Ciri khas model ini yaitu adanya kontak langsung antara bahan dan air mendidih. Penyulingan ini sering disebut dengan penyulingan langsung. Kelebihannya adalah alatnya sederhana dan waktu yang dibutuhkan untuk mendapatkan minyak atsiri sebentar. Kekurangannya adalah destilasi air tidak cocok untuk bahan baku yang tidak tahan uap panas dan kualitas hasil penyulingan tidak sebaik destilasi uap-air. Penyulingan dengan cara langsung ini dapat menyebabkan banyaknya rendemen minyak yang hilang (tidak tersuling) dan terjadi pula penurunan mutu minyak yang diperoleh.

**2.2 Destilasi dengan uap dan air.** Model ini disebut juga penyulingan uap atau penyulingan tak langsung. Pada prinsipnya, model ini sama dengan penyulingan langsung. Hanya saja, air penghasil uap tidak diisikan bersama-sama

dalam ketel penyulingan. Uap yang digunakan berupa uap dengan tekanan lebih dari 1 atmosfer.

**2.3 Destilasi dengan uap langsung.** Pada model penyulingan ini, bahan tanaman yang akan disuling diletakkan di atas rak-rak atau saringan berlubang. Ketel penyulingan diisi dengan air sampai permukaannya tidak jauh dari bagian bawah saringan. Ciri khas model ini yaitu uap selalu dalam keadaan basah, jenuh dan tidak terlalu panas. Bahan tanaman yang akan disuling hanya berhubungan dengan uap dan tidak dengan air panas. Destilasi uap ini merupakan destilasi yang paling baik karena dapat menghasilkan minyak atsiri dengan kualitas yang tinggi karena tidak bercampur dengan air.

## **E. Minyak Atsiri**

### **1. Pengertian**

Minyak atsiri didefinisikan sebagai produk hasil penyulingan dengan uap dari bagian-bagian suatu tumbuhan. Minyak atsiri dapat mengandung puluhan atau ratusan bahan campuran yang mudah menguap (*volatile*) dan bahan campuran yang tidak mudah menguap (*non-volatile*), yang merupakan penyebab karakteristik aroma dan rasanya (Mac Tavish dan Haris, 2002).

Kata *volatile oil* adalah istilah kata yang lebih jelas dan akurat secara ateknis untuk mendeskripsikan *essential oil*. Pengertian *volatile oil* yang secara harfiah berarti minyak terbang atau minyak yang menguap, dapat dilepaskan dari bahannya, dengan dididihkan di dalam air atau dengan mentransmisikan uap melalui minyak yang terdapat di dalam bahan bakunya (Green, 2002).

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

Sifat-sifat fisika minyak atsiri yaitu bau yang khas, indeks bias, bobot jenis, bersifat optis aktif, mempunyai rasa getir, memberi rasa hangat sampai panas, atau terasa dingin ketika tersentuh di kulit, tergantung dari jenis komponen penyusunnya, mudah menguap pada suhu kamar, tidak stabil terhadap pengaruh lingkungan, baik pengaruh oksigen udara, sinar matahari dan panas, sangat mudah larut dalam pelarut organik (Gunawan dan Mulyani, 2004).

Minyak atsiri memiliki sifat kimia yang khas, dimana perubahan sifat kimia minyak atsiri merupakan ciri dari kerusakan minyak yang mengakibatkan

perubahan sifat kimia minyak, misalnya oleh proses oksidasi, hidrolisis dan polimerisasi (Guenther, 2006).

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

Isolasi minyak atsiri dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu penyulingan (*distillation*), pengepresan (*pressing*), ekstraksi dengan pelarut menguap (*solvent extraction*), ekstraksi dengan lemak (Yuliani dan Satuhu, 2012). Metode-metode isolasi yang paling lazim digunakan adalah metode destilasi. 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. Penyimpanan minyak atsiri**

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

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

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

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

Menurut Badan Standar Nasional Indonesia (2001), uji kelarutan minyak atsiri dalam etanol dilakukan dengan cara memipet minyak sebanyak 1 ml ke

dalam gelas ukur 10 ml, ditambahkan etanol 5 ml dengan cara bertahap. Pada setiap penambahan alkohol dikocok dan diamati kejernihannya.

## F. GC-MS

Analisa komponen kimia minyak atsiri dengan GC-MS, kromatografi adalah cara pemisahan campuran yang didasarkan atas perbedaan distribusi dari komponen campuran tersebut diantara dua fase, yaitu fase diam (stationary) dan fase bergerak (Yazid, 2005). Kromatografi gas, fase bergerak adalah gas dan zat terlarut terpisah sebagai uap. Pemisahan tercapai dengan partisi sampel antara fase gas bergerak dan fase diam berupa cairan dengan titik didih tinggi (tidak mudah menguap) yang terikat pada zat padat penunjangnya (Khopkar, 2003).

Prinsip kerja dari GC-MS yaitu sampel yang berupa cairan diinjeksikan kedalam injektor kemudian diuapkan. Sampel yang berbentuk uap akan dibawa oleh gas pembawa melalui kolom dan komponennya akan terpisah di dalam kolom. Setelah terpisah, masing-masing komponen akan keluar melalui kamar pengion dan dibombardir oleh elektron sehingga terjadi ionisasi. Fragmentasi ion yang dihasilkan akan ditangkap oleh detektor dan dihasilkan spectrum massa (McNair, 2009). Keuntungan dari kromatografi gas adalah hasil kuantitatif yang bagus dan harganya lebih murah. Kerugiannya adalah tidak dapat memberikan identitas atau struktur untuk setiap puncak yang dihasilkan (McNair, 2009).

## G. *Salmonella typhi*

### 1. Klasifikasi *Salmonella typhi*

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

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Proteobacteria
Ordo	: Gamma Proteobacteria
Class	: Enterobacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: Salmonella
Spesies	: <i>Salmonella typhi</i>

## 2. Morfologi dan struktur bakteri

*S. typhi* merupakan bakteri batang Gram negatif, tidak memiliki spora, bergerak dengan flagel peritrik. Ukurannya berkisar antara 0,7-1,5 X 2-5  $\mu\text{m}$ , memiliki antigen O (antigen somatik) merupakan bagian pada struktur pembentuk dinding sel bakteri, antigen H terdiri dari protein yang disebut flagellia dan bersifat termolabil, antigen Vi merupakan polisakarida yang terdapat pada permukaan bakteri.

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

## 3. Patogenitas

Bakteri menembus mukosa epitel usus, berkembang biak di lamina propina kemudian masuk ke dalam kelenjar getah bening mesenterium. Kemudian bakteri memasuki peredaran darah sehingga terjadi bakteremia pertama yang asimtomatis yaitu tidak menunjukkan adanya gejala, selanjutnya bakteri masuk ke organ-organ terutama hati dan sumsum tulang yang dilanjutkan dengan pelepasan bakteri dan endotoksin ke peredaran darah sehingga menyebabkan bakteremia kedua. Bakterimia yaitu adanya bakteri di dalam darah. Bakteri yang berada di hati akan masuk kembali ke dalam usus kecil, sehingga terjadi infeksi seperti semula dan sebagian bakteri dikeluarkan bersama feses.

Penyebaran penyakit ini terjadi sepanjang tahun dan banyak dijumpai di negara-negara sedang berkembang di daerah tropis. Hal ini disebabkan karena penyediaan air bersih, sanitasi lingkungan dan kebersihan individu yang masih kurang baik. Pencegahan penyakit demam tifoid mencakup sanitasi dasar dan kebersihan pribadi, yang meliputi pengolahan air bersih, penyaluran air dan

pengendalian limbah, pembangunan dan pemakaian WC, merebus air untuk keperluan minum dan pengawasan terhadap penyedia makanan (Ivanov, 1998)

## **H. Antibakteri**

### **1. Definisi antibakteri**

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

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

Kedua, merusak membran sel. Membran sel mempunyai peran penting dalam mengatur transportasi nutrisi dan metabolit yang keluar masuk sel. Membran sel juga berfungsi sebagai tempat berlangsungnya respirasi dan aktivitas biosintesis dalam sel. Antibiotik yang termasuk golongan ini adalah peptida seperti polimiksin, gramisidin, sirkulin, tirosidin, valinomisin dan antibiotik poliena seperti amphoteterisin, nistatin, filipin.

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

Keempat, menghambat sintesis protein sel bakteri. Bakteri perlu mensintesis berbagai protein untuk kelangsungan hidupnya. Sintesis protein berlangsung di ribosom dengan bantuan mRNA dan tRNA. Salah satu kerja antibakteri adalah menyebabkan kode pada mRNA salah dibaca oleh tRNA pada

waktu sintesis protein. Antibakteri yang termasuk dalam golongan ini antara lain aktinomisin, rifampisin, streptomisin, tetrasiklin, kloramfenikol, eritromisin, klindamisin dan gentamisin (Radji, 2011).

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

## **2. Uji aktivitas antibakteri**

Metode pengujian terhadap antibakteri :

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

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

## **I. Kloramfenikol**

Kloramfenikol pertama kali dipisahkan pada tahun 1947 dari pembiakan *Streptomyces venezuelae*. Antibiotik ini disintesis pada tahun 1949, kemudian

menjadi antibiotik penting pertama yang sepenuhnya disintesis dan diproduksi secara komersial (Katzung, 2004).

Kloramfenikol merupakan antibiotik spektrum luas yang berasal dari beberapa jenis *Streptomyces* misalnya *S. venezuelae*, *S. phaeochromogenes* dan *S. amiyamensis*. Setelah para ahli berhasil mengelusidasi strukturnya, maka sejak tahun 1950 kloramfenikol sudah dapat disintesis secara total. *S. venezuelae* pertama kali diisolasi oleh Burkholder pada tahun 1947 dari sampel tanah yang diambil di Venezuela. Filtrat kultur cair organisme menunjukkan aktivitas terhadap beberapa bakteri Gram negatif dan riketsia (Katzung, 2004).

Kloramfenikol masih merupakan jenis antibiotik yang digunakan dalam pengobatan demam tifoid (53,55%) dan merupakan antibiotika pilihan utama yang diberikan untuk demam tifoid. Penelitian yang lain menunjukkan bahwa angka relaps pada pengobatan demam tifoid dengan menggunakan kloramfenikol lebih tinggi dibandingkan dengan penggunaan kotrimoksazol, selain itu pada lima tahun terakhir ini para klinisi di beberapa negara mengamati adanya kasus demam tifoid anak yang berat bahkan fatal yang disebabkan oleh strain *S. typhi* yang resisten terhadap kloramfenikol. Angka kematian di Indonesia mencapai 12% akibat strain *S. typhi* ini. Penelitian yang dilakukan oleh Musnelina *et al* (2004) di RS Fatmawati menunjukkan adanya pemberian obat golongan sefalosporin generasi ketiga yang digunakan untuk pengobatan demam tifoid pada anak yakni seftriakson (26,92%) dan sefiksim (2,19%). Namun dari 2 jenis obat ini, seftriakson menjadi pilihan alternatif pengobatan demam tifoid pada anak.

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



## **J. Media**

### **1. Pengertian media**

Media adalah bahan yang digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme di atas atau di dalamnya. Keasaman (pH) media amat penting bagi pertumbuhan organisme terutama kerja enzim yang mana sangat dipengaruhi oleh pH (Hadioetomo 2005).

### **2. Klasifikasi media**

Media adalah suatu bahan yang digunakan untuk menumbuhkan dan mengembangkan bakteri. Media yang digunakan harus dalam keadaan steril artinya tidak ditumbuhi oleh mikroba lain yang tidak diharapkan. Bentuk media ditentukan oleh ada tidaknya penambahan zat pematat seperti agar-agar, gelatin, dan sebagainya, maka bentuk media dikenal ada tiga jenis.

**2.1 Media padat.** Media ditambah 12-15 gram tepung agar-agar per 1.000 mL media. Media yang memerlukan kadar air tinggi, maka jumlah tepung agar-agar harus rendah, tetapi untuk jenis media yang memerlukan kandungan air rendah penambahan tepung agar harus sedikit. Media padat umumnya diperlukan untuk bakteri, ragi, jamur, dan kadang-kadang mikro alga.

**2.2 Media cair.** Media tidak ditambahkan zat pematat, biasanya media cair dipergunakan untuk perbaikan mikro alga tetapi juga mikro lain, terutama bakteri dan ragi.

**2.3 Media semi cair atau padat.** Medium cair yang ditambah dengan agar solid yang disebut agar. Umumnya diperlukan untuk pertumbuhan mikroba yang banyak memerlukan kandungan air dan hidup aerobik atau fakultatif (Sriyanti dan Wijayani, 2008).

## **K. Landasan Teori**

Bangle merupakan herba semusim, tumbuh tegak, tinggi 1–1,5 m, membentuk rumpun yang agak padat, berbatang semu, terdiri dari pelepah daun yang dipinggir ujungnya berambut sikat (Depkes RI 2001). Kandungan kimia dari rimpang bangle adalah damar, pati, tanin, saponin, flavonoid. Kandungan minyak

atsiri rimpang bangle antara lain sabinen,  $\beta$ -pinen,  $\alpha$ -terpinen, osimen, terpinen-4-ol, karen,  $\alpha$ -zingiberen. Rimpang bangle secara ilmiah telah terbukti memiliki aktivitas sebagai antibakteri (Nuratmi dkk., 2005; Iswantini dkk., 2011; Marliani, 2012). Menurut penelitian Kamazeri *et al* (2012) kandungan zerumbon pada minyak atsiri bangle sebesar 60,77%. Zerumbon merupakan salah satu senyawa seskuiterpen yang terkandung dalam minyak atsiri rimpang bangle. Senyawa ini dapat digunakan sebagai antibakteri yang memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan mikroba. Pada penelitian sebelumnya Sayuti *et al* (2014) penggunaan minyak atsiri bangle sebagai antibakteri memberikan zona hambat sebesar 10,11 mm.

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

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Kochuthressia dkk (2010), sifat antibakteri ekstrak rimpang lengkuas merah yang dihasilkan pada beberapa bakteri uji yang digunakan ditemukan hasil yang baik pada bakteri yang bersifat Gram negatif dibandingkan dengan Gram positif (nilai hambat pada bakteri *Enterobacter aerogenes*, *Salmonella typhi*, dan *Escherichia coli* lebih baik dibandingkan *Bacillus cereus*, *Streptococcus faecalis*, dan *Staphylococcus aureus*). Pada penelitian sebelumnya (Sugiaman, 2015) penggunaan minyak atsiri lengkuas merah sebagai antibakteri memberikan zona hambat sebesar 6,67 mm.

Antibakteri adalah zat atau senyawa kimia yang digunakan untuk membasmi bakteri, khususnya bakteri yang merugikan manusia. Definisi ini kemudian berkembang menjadi senyawa yang dalam konsentrasi tertentu mampu menghambat bahkan membunuh proses kehidupan suatu mikroorganisme (Jawetz *et al* 2001).

Kloramfenikol dalam penelitian ini digunakan sebagai kontrol positif. Kloramfenikol merupakan antibiotik spektrum luas. Setelah para ahli berhasil mengelucidasi strukturnya, maka sejak tahun 1950 kloramfenikol sudah dapat disintesis secara total. *S. venezuelae* pertama kali diisolasi oleh Burkholder pada tahun 1947 dari contoh tanah yang diambil di Venezuela. Filtrat kultur cair organisme menunjukkan aktivitas terhadap beberapa bakteri Gram negatif dan riketsia (Katzung, 2004). Kloramfenikol masih merupakan jenis antibiotika yang digunakan dalam pengobatan demam tifoid (53,55%) dan merupakan antibiotik pilihan utama yang diberikan untuk demam tifoid.

Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah *S. typhi*. *S. typhi* merupakan bakteri batang Gram negatif, tidak memiliki spora, bergerak dengan flagel peritrik, bersifat intraseluler fakultatif dan anerob fakultatif. *S. typhi* adalah parasit intraseluler fakultatif, yang dapat hidup dalam makrofag dan menyebabkan gejala-gejala gastrointestinal, biasanya sesudah demam yang lama, bakteremia dan akhirnya lokalisasi infeksi dalam jaringan limfoid sub mukosa usus kecil.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah destilasi uap-air. Dimana bahan yang digunakan tidak kontak langsung dengan air namun diberi sekat antara air dan simplisia yang biasa disebut angsang. Prinsipnya air mendidih dan uap air akan membawa partikel minyak atsiri untuk dialirkan ke kondensor kemudian ke alat pemisah secara otomatis air dan minyak akan terpisah karena ada perbedaan berat jenis. Dimana berat jenis minyak lebih kecil dibandingkan berat jenis air sehingga minyak berada di atas dan air di bawah (Sastrohamidjojo, 2004).

Uji difusi adalah suatu uji aktivitas dengan menggunakan cakram yang berliang renik atau suatu silinder tidak beralas yang mengandung obat dalam jumlah tertentu ditempatkan pada pembenihan padat yang telah ditanami dengan

biakan bakteri yang akan diperiksa. Setelah inkubasi, garis tengah daerah hambatan jernih yang mengelilingi obat dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan terhadap bakteri yang diperiksa. Metode ini, zat yang akan ditentukan aktivitas antimikrobanya berdifusi pada lempeng agar yang digunakan yang telah ditanami mikroba yang akan diuji. Dasar penggunaannya adalah terbentuk atau tidaknya zona hambatan pertumbuhan bakteri di sekeliling cakram atau silinder yang berisi zat antimikroba (Harminta 2004).

Metode dilusi dilakukan untuk mengukur KHM dan KBM, cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri pengenceran antimikroba pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji. Larutan uji antimikroba pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai KHM. Larutan yang ditetapkan sebagai KHM tersebut selanjutnya diukur ulang pada media cair tanpa penambahan mikroba uji dan antimikroba, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Media cair yang tetap terlihat jernih setelah inkubasi ditetapkan sebagai KBM (Pratiwi, 2008).

## **L. Hipotesis**

Berdasarkan uraian diatas, maka dapat disusun suatu hipotesis yaitu :

Pertama, kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. typhi*.

Kedua, Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle yang memiliki aktivitas antibakteri paling optimal terhadap *S. typhi*.

Ketiga, pada perbandingan kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle memiliki aktivitas yang optimal terhadap *S. typhi*.

## **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 bangle dan lengkuas merah yang diperoleh di daerah Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah pada bulan Januari 2017.

##### **2. Sampel**

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

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

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

Variabel utama pertama dalam penelitian ini adalah aktivitas antibakteri kombinasi minyak atsiri bangle dan lengkuas merah terhadap bakteri *S. typhi*.

##### **2. Klasifikasi variabel utama**

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

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

Variabel terkendali dalam penelitian ini merupakan variabel yang dianggap dapat mempengaruhi hasil yang diperoleh dari suatu penelitian sehingga perlu diperhatikan. Variabel terkendali adalah minyak atsiri bangle, minyak atsiri

lengkuas merah, bakteri uji *S. typhi*, sterilisasi, suhu, kondisi peneliti, kondisi laboratorium, media dan metode penelitian.

Variabel tergantung dari penelitian ini adalah aktivitas antibakteri minyak atsiri bangle, minyak atsiri lengkuas merah, dan kombinasi keduanya dengan dilihat pertumbuhannya pada media uji.

### **3. Definisi operasional variabel utama**

Pertama, minyak atsiri bangle adalah minyak atsiri yang dihasilkan dari proses destilasi uap dan air dari bagian rimpang bangle yang diambil secara acak di daerah Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah, dengan ciri-ciri populasi dan sampel bangle yang sehat dan bebas dari penyakit.

Kedua, minyak atsiri lengkuas merah adalah minyak atsiri yang dihasilkan dari proses destilasi uap dan air dari bagian rimpang lengkuas merah yang diambil secara acak di daerah Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah, dengan ciri-ciri populasi dan sampel bangle yang sehat dan bebas dari penyakit.

Ketiga, bakteri uji *S. typhi* adalah bakteri yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi Surakarta.

Keempat, kombinasi minyak atsiri bangle dan lengkuas merah adalah campuran minyak atsiri bangle dan lengkuas merah dengan perbandingan (1:1) yaitu 1 bagian minyak atsiri lengkuas merah dan 1 bagian minyak atsiri bangle, (1:3) yaitu 1 bagian minyak atsiri lengkuas merah dan 3 bagian minyak atsiri bangle, (3:1) yaitu 3 bagian minyak atsiri lengkuas merah dan 1 bagian minyak atsiri bangle.

Kelima, uji aktivitas antibakteri adalah uji menggunakan metode difusi dengan cakram dengan konsentrasi 50%; 25%; 12,5%, aktivitas antibakteri dengan melihat diameter zona hambat pertumbuhan bakteri dalam media uji, kontrol positif adalah disk antibiotik kloramfenikol 30 µg dan kontrol negatif adalah larutan N-heksan.

Kkeenam, uji aktivitas antibakteri adalah uji menggunakan metode dilusi untuk mengukur Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM), kontrol positif menggunakan suspensi bakteri dan kontrol negatif larutan kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle.

### C. Alat dan Bahan

#### 1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian destilasi uap air, lampu spritus, jarum ose, tabung reaksi, rak tabung reaksi, cawan petri, kapas lidi, inkubator, kertas cakram ukuran 6 mm, mikropipet, autovortex mixer, gelas ukur, pipet volume, botol vial, inkas, autoklaf, oven, pinset, neraca analitik dan penggaris.

#### 2. Bahan

Bahan sampel yang digunakan adalah minyak atsiri dalam rimpang bangle dan minyak atsiri dalam lengkuas merah, bakteri *S. typhi*, *Mueller Hinton Agar* (MHA), *Kliger Iron Agar* (KIA), *Sulfida Indol Motilitas* (SIM), *Lysin Iron Agar* (LIA), Citrate, *Brain Heart Infusion* (BHI), *Salmonella Shigella Agar* (SSA), *Bismuth Sulfite Agar* (BSA), Na sulfat eksikatus, tween 80, N-heksan, dan antibiotik kloramfenikol.

### D. Jalannya Penelitian

#### 1. Identifikasi tanaman

Untuk mengetahui kebenaran simplisia yang digunakan dalam penelitian ini yaitu bangle dan lengkuas merah, maka dilakukan determinasi di bagian Laboratorium Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

#### 2. Pengambilan bahan

Bangle dan lengkuas merah diambil di daerah Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah. Sampel yang digunakan adalah rimpang bangle yang dipanen saat pagi hari, kemudian sampel rimpang bangle yang telah terkumpul dicuci dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Lengkuas merah yang diambil yang masih segar, lalu dibersihkan dari lumut dan kotoran lain yang menempel. Sebelum bangle dan lengkuas merah diproses, dirajang terlebih dahulu menjadi potongan-potongan kecil.

#### 3. Isolasi minyak atsiri

Rimpang bangle dan lengkuas merah masing-masing yang telah dipotong kecil-kecil 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 bagian kondensor dan mengalami proses kondensasi, bersama dengan uap air tersebut terbawa dengan minyak atsiri. Pemanasan dilakukan dengan api sampai penyulingan dihentikan setelah tidak ada penambahan minyak, kemudian tampung destilat dan ukur volume yang dihasilkan.

Hasil destilasi umumnya berupa minyak atsiri kasar yang mengandung air, diperlukan proses untuk penarikan air dari minyak atsiri agar kualitas minyak atsiri meningkat dan warna menjadi lebih jernih. Metode penarikan air menggunakan Natrium Sulfat ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) anhidrat, dimana air akan ditarik oleh  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidrat hingga dihasilkan minyak atsiri dengan kemurnian yang tinggi. Minyak diperoleh kemudian disimpan dalam botol coklat dan ditempat yang sejuk, hal ini dilakukan untuk menghindari minyak atsiri yang didapat tidak rusak atau teroksidasi.

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

**4.1 Penetapan bobot jenis.** Bobot jenis merupakan salah satu kriteria penting dalam menentukan mutu dan kemurnian minyak atsiri. Nilai berat jenis minyak atsiri berkisar antara 0,696-1,188 pada suhu  $15^\circ\text{C}$ . Penetapan bobot jenis dilakukan dengan membandingkan 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.

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

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



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

**4.4 Penetapan indeks bias minyak atsiri.** Minyak atsiri yang diperoleh ditetapkan indeks biasnya dengan alat refraktometer. Diperlukan 1-2 tetes minyak atsiri untuk menetapkan indeks bias, ditempatkan alat sedemikian rupa sehingga intensitas sinar matahari atau sinar buatan dapat ditangkap. Ke dalam prisma dialirkan air kemudian prisma tersebut dibersihkan dengan alkohol dan eter, kemudian meneteskan cairan yang diukur pada prisma dan menutup kembali. Digerakkan alidade mundur atau maju sampai bayangan bidang berubah dari terang menjadi gelap. Diatur garis pembatas dan nilai indeks bias dari bahan dapat dibaca secara langsung (Guenther, 2006).

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

## 5. Sterilisasi

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

## 6. Identifikasi bakteri uji

**6.1 Identifikasi morfologi.** Bakteri uji *S. typhi* dalam biakan murni diambil satu ose kemudian dimasukkan tabung yang berisi BHI, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Identifikasi bakteri uji *S. typhi*,

biakan *S. typhi* diinokulasi secara perataan pada media SSA, diinkubasi selama 18-24 jam suhu 37°C.

**6.2 Identifikasi secara biokimia.** Medium yang digunakan yaitu SIM, KIA, LIA dan Citrat. Uji pada media SIM biakan murni bakteri diinokulasi pada permukaan media dengan cara tusukan kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Identifikasi ini bertujuan untuk mengetahui terbentuknya sulfida, indol dan motilitas bakteri. Uji sulfida positif jika media berwarna hitam. Uji indol positif bila terbentuk warna merah setelah ditambah Reagen Ehrlich. Uji motilitas positif bila terjadi pertumbuhan pada seluruh media.

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

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

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

## **7. Pembuatan suspensi bakteri uji**

Bakteri *S. typhi* dalam biakan murni diambil 2 atau 3 ose steril kemudian dimasukkan secara aseptis ke dalam tabung reaksi steril yang sudah berisi 5 ml BHI (*Brain Heart Infussion*) kemudian tingkat kekeruhan disetarakan dengan

standar Mc Farland 0,5 yaitu  $1,5 \times 10^8$  CFU/ml dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 2-5 jam.

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

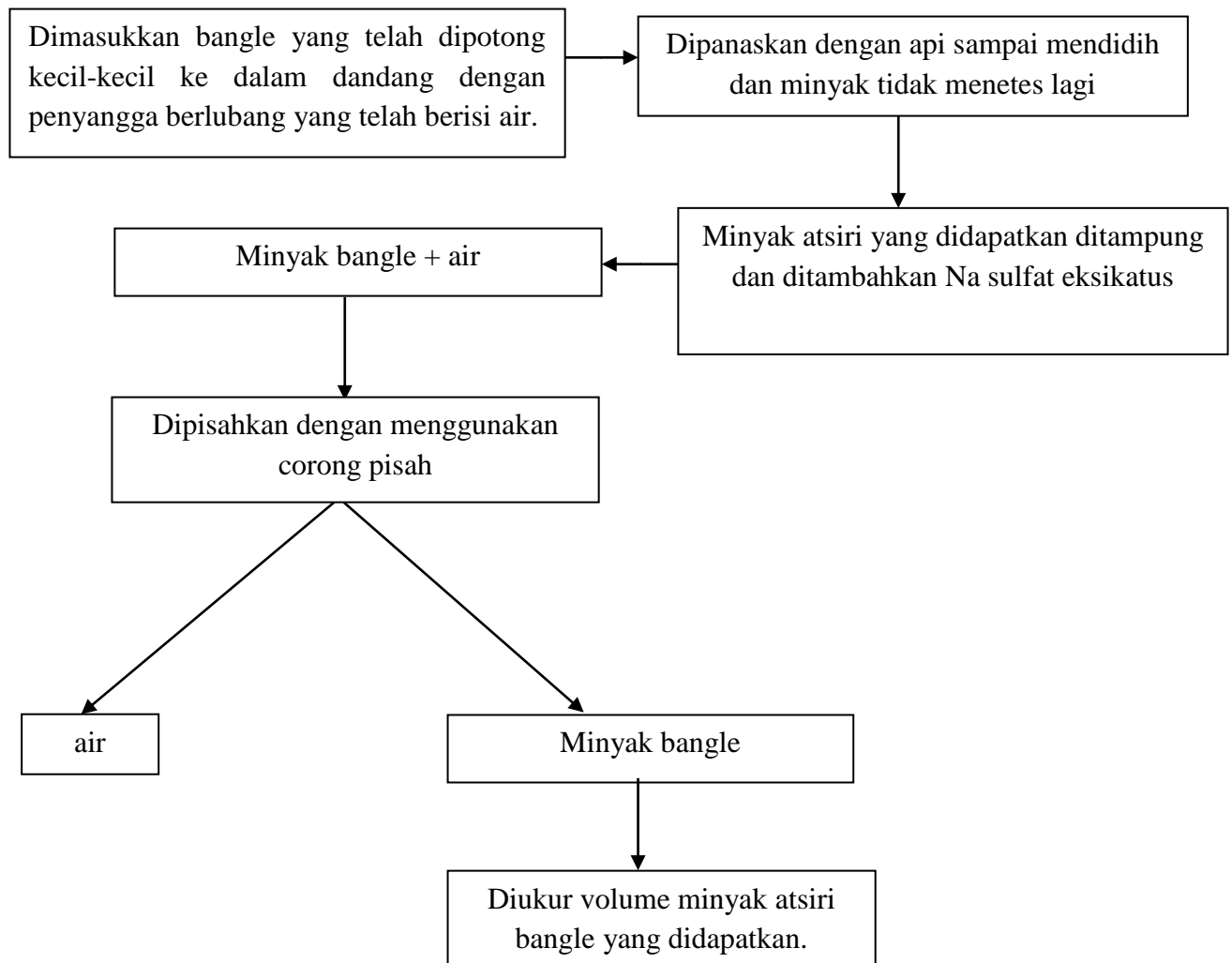
Minyak atsiri yang diperoleh dari rimpang bangle dan lengkuas merah secara destilasi diuji secara mikrobiologi dengan bakteri uji *S. typhi*. Metode yang digunakan adalah metode difusi agar dengan cakram yang mengandung larutan antibakteri. Kontrol positif digunakan disk antibiotik kloramfenikol. Metode ini dilakukan dengan menyelupkan kapas lidi steril pada suspensi yang telah dibuat dan ditekan-tekan pada ujung tabung, dioleskan pada media MHA sampai rata. Pada media MHA diletakkan cakram yang berukuran 6 mm ditetesi menggunakan mikropipet sebanyak 10 µl dengan larutan kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle dengan konsentrasi 50%; 25%; 12,5%. Kombinasi yang pertama berisi kombinasi 1:1 yaitu minyak atsiri lengkuas merah 1 bagian sebanyak 0,5 ml dan minyak atsiri bangle 1 bagian 0,5 ml, yang kedua berisi kombinasi 1:3 yaitu minyak atsiri lengkuas merah 1 bagian sebanyak 0,25 ml dan minyak atsiri bangle 3 bagian 0,75 ml, yang ketiga berisi kombinasi 3:1 yaitu minyak atsiri lengkuas merah 3 bagian sebanyak 0,75 ml dan minyak atsiri bangle 1 bagian 0,25 ml. Kontrol positif menggunakan disk antibiotik kloramfenikol dan kontrol negatif menggunakan N-heksan, sehingga antimikroba dapat berdifusi dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Hasil dapat dilihat dengan adanya area jernih yang mengidentifikasi adanya penghambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba (Pratiwi, 2008).

Metode dilusi yaitu melarutkan antibiotik dan bakteri uji dalam media cair. Parameter sensitivitasnya dapat dilihat dari tingkat kejernihan. Metode ini dapat digunakan untuk mengukur KHM dan KBM. Metode dilusi menggunakan 1 seri tabung reaksi yang diisi media cair dan jumlah zat tertentu sel mikroba yang di uji. Kemudian masing-masing tabung diisi dengan bahan yang telah diencerkan secara serial yaitu suspensi bakteri yang setara dengan standar Mc Farland 0,5 kecuali tabung nomor 1 sebagai kontrol negatif. Selanjutnya seri tabung di inkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam dan diamati terjadinya kekeruhan pada tabung. Konsentrasi yang rendah pada tabung yang ditunjukkan dengan hasil

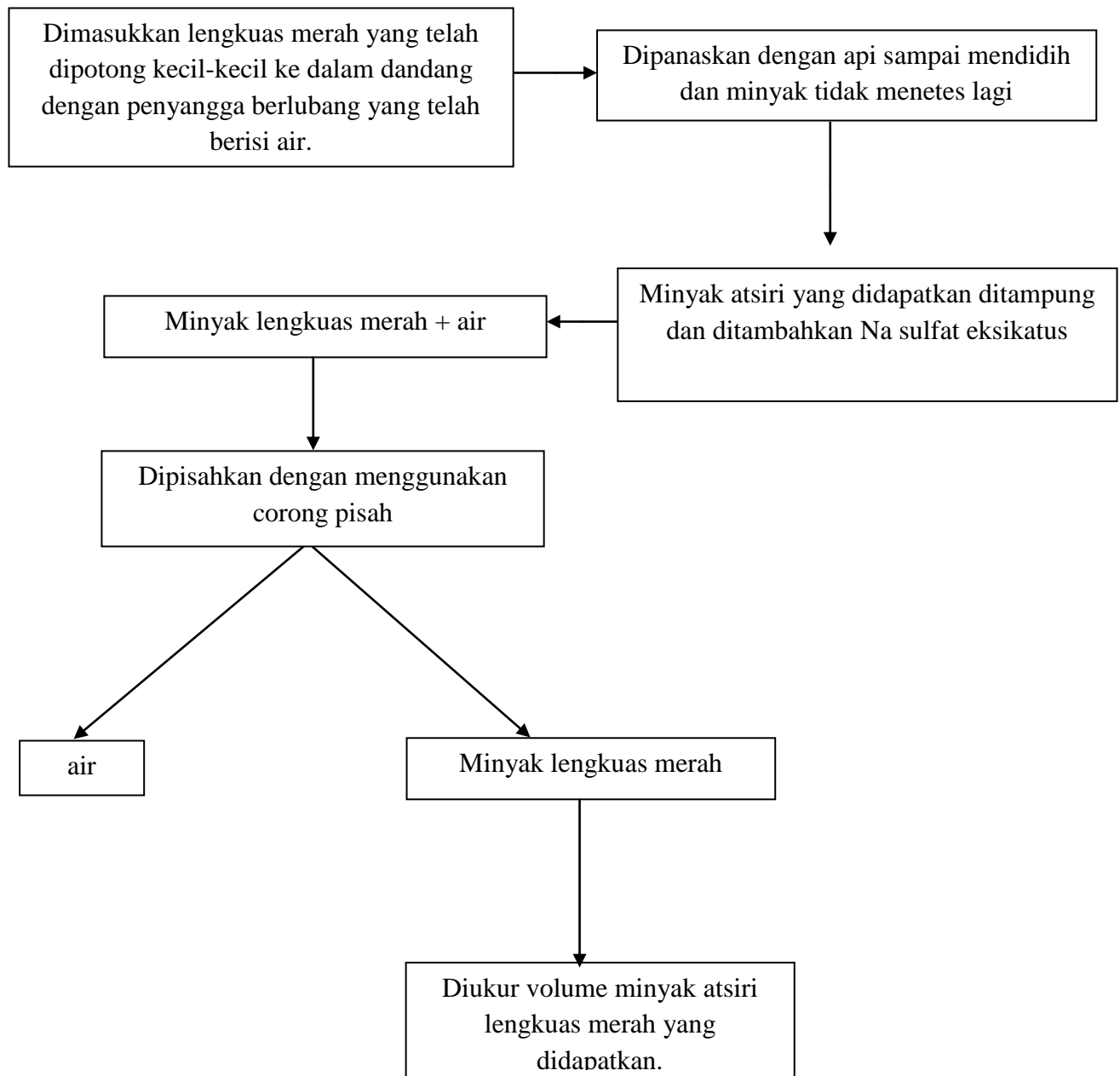
biakan yang mulai tampak jernih (tidak ada pertumbuhan mikroba) adalah KHM dari bahan uji. Konsentrasi terendah yang ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni mikroba adalah KBM dari bahan terhadap bakteri uji.

### E. Analisa Hasil

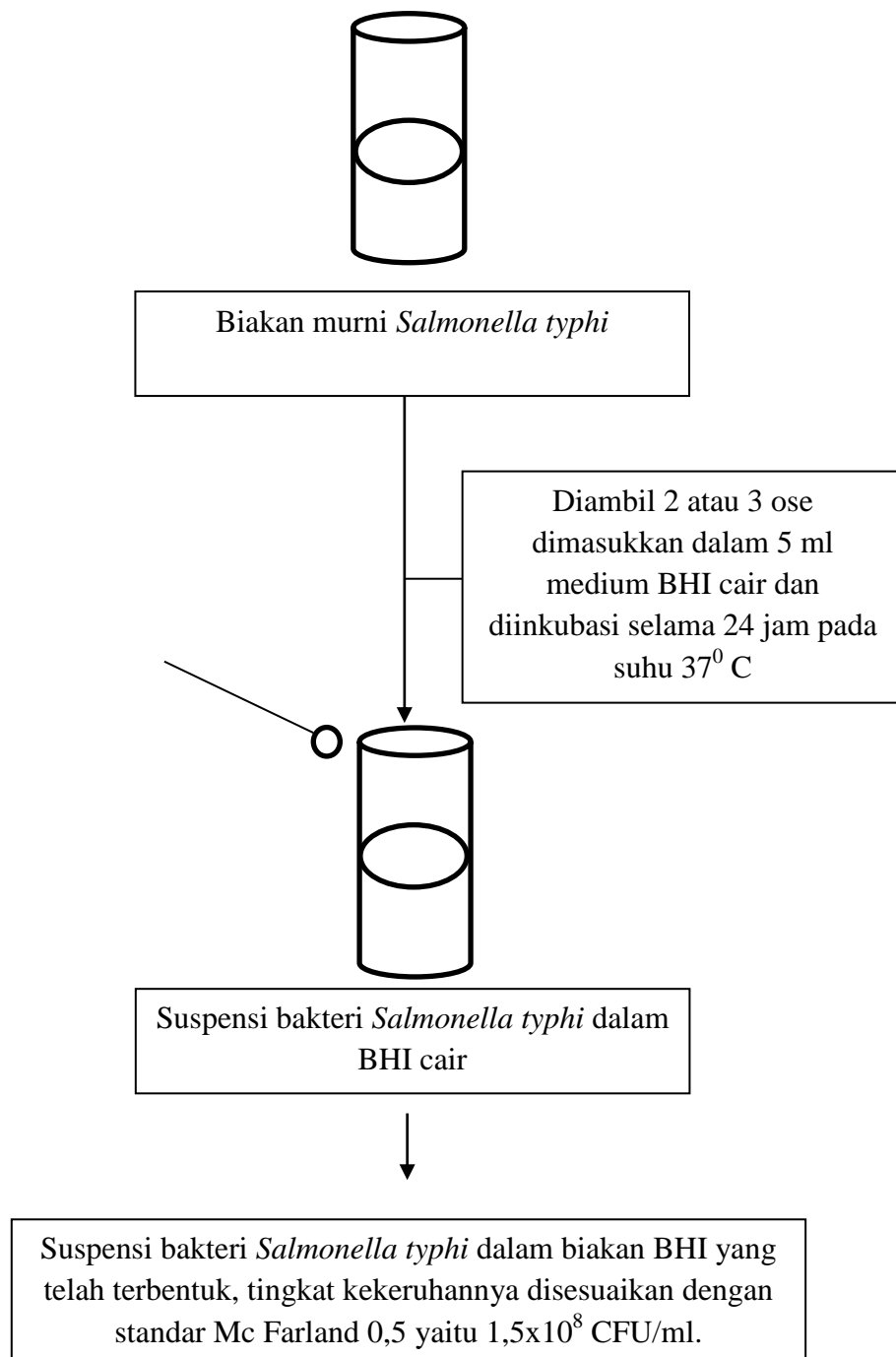
Data yang diperoleh dari metode ini berupa nilai besarnya zona hambat atau zona bening dari minyak atsiri dalam millimeter. Besarnya nilai zona hambat atau zona bening yang dihasilkan dari kontrol positif dan perlakuan pada bakteri yang sama dianalisis dengan uji *Shapiro-Wilk*, jika terdistribusi secara normal kemudian dilanjutkan dengan *Two Way analysis of varian* (ANOVA).



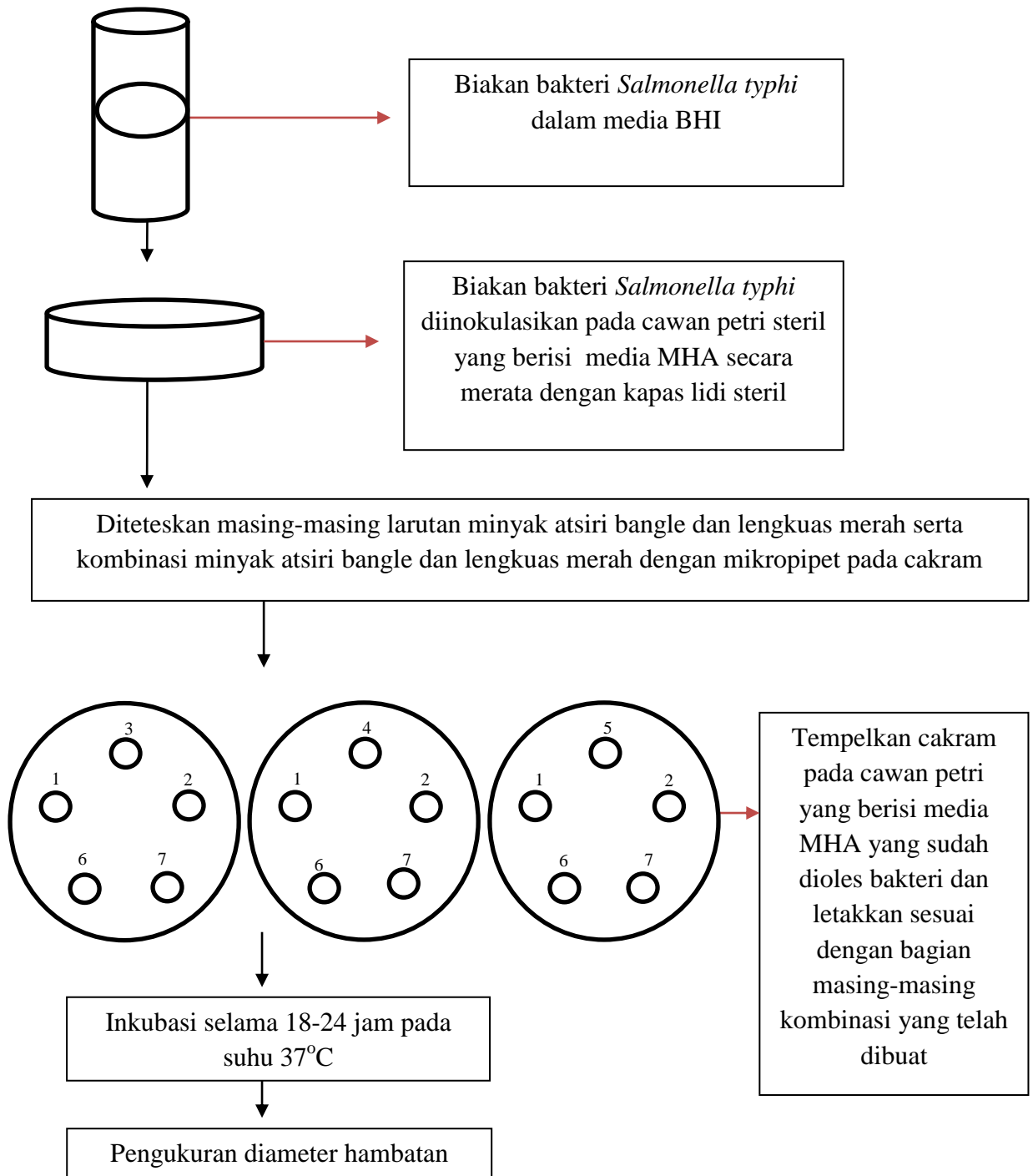
Gambar 1. Skema destilasi minyak atsiri bangle



**Gambar 2. Skema destilasi minyak atsiri lengkuas merah**



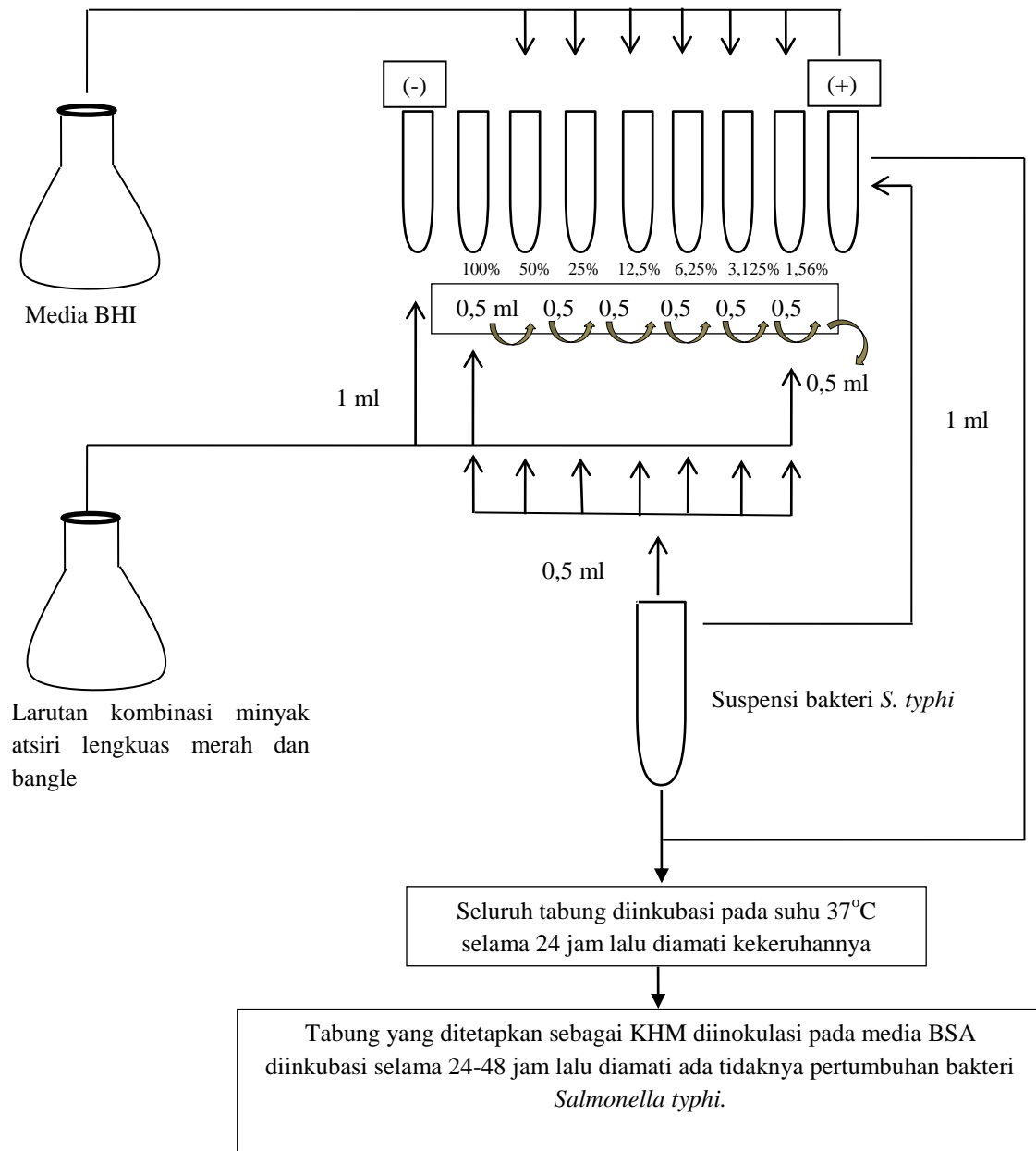
**Gambar 3.** Skema pembuatan suspensi bakteri *Salmonella typhi*



**Keterangan:**

(1) Sampel minyak atsiri bangle, (2) Sampel minyak atsiri lengkuas merah, (3) Kombinasi minyak atsiri bangle dan lengkuas merah (1:1), (4) Kombinasi minyak atsiri bangle dan lengkuas merah (1:3), (5) Kombinasi minyak atsiri bangle dan lengkuas merah (3:1), (6) Kontrol positif disk antibiotik kloramfenikol, (7) Kontrol negatif larutan N-heksan

**Gambar 4. Skema pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi**



**Gambar 5. Skema pengujian aktivitas antibakteri secara dilusi**



## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

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

Identifikasi dilakukan di bagian Laboratorium Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret, Surakarta. Tujuan identifikasi ini adalah untuk memastikan bahwa tanaman yang digunakan sudah tepat dan sesuai, sehingga menghindari kesalahan dalam pengambilan tanaman yang digunakan sebagai sampel dalam penelitian. Hasil identifikasi tanaman dapat dilihat pada Lampiran 1 dan 2.

Berdasarkan hasil identifikasi diketahui bahwa tanaman yang digunakan untuk penelitian ini adalah benar tanaman bangle dan lengkuas merah. Hasil identifikasi dapat dilihat pada Lampiran 3.

#### **2. Isolasi minyak atsiri**

Isolasi dilakukan dengan metode destilasi uap-air, keuntungan dari penggunaan metode ini adalah alat yang digunakan sederhana dan dapat menghasilkan minyak atsiri dalam jumlah yang cukup besar, sedangkan kerugian dari metode ini adalah waktu yang dibutuhkan lebih lama untuk mendapatkan minyak atsiri yang lebih banyak.

Hasil destilasi uap-air tanaman bangle diperoleh rendemen 0,2% dan lengkuas merah 0,057%. Minyak atsiri yang terkandung dalam rimpang bangle sebesar 0,95% (Bhuiyan *et al* 2008) dan 1,96% (Sukatta *et al* 2009). Rendemen ditentukan untuk mengetahui perbandingan antara jumlah minyak yang diperoleh dengan jumlah tanaman yang digunakan. Perbedaan hasil rendemen minyak atsiri yang diperoleh dapat dipengaruhi oleh usia simplisia saat dipanen dan musim saat memanen tanaman tersebut, suhu, tekanan yang digunakan, semakin tinggi tekanan yang digunakan maka akan meningkatkan rendemen minyak, dan perbedaan proses destilasi (Guenther, 2006). Perhitungan lengkap dapat dilihat pada Lampiran 10.

### 3. Penetapan sifat fisika

**3.1 Penetapan bobot jenis.** Botol kosong yang telah diketahui bobotnya diisi minyak atsiri kemudian ditimbang, kemudian diukur bobot botol berisi air. Perbandingan bobot minyak dan air menunjukkan nilai bobot jenisnya. Penetapan bobot jenis dilakukan untuk menentukan mutu dan kemurnian minyak atsiri, bobot jenis minyak atsiri bangle secara teoritis adalah 0,88 dan bobot jenis minyak atsiri lengkuas merah secara teoritis adalah 0,89 pada suhu 25°C. Suhu kemudian dikonversikan menjadi 31°C yaitu suhu ruangan dan didapatkan hasil bobot jenis minyak atsiri bangle secara teoritis adalah 0,88 dan bobot jenis minyak atsiri lengkuas merah 0,89. Hasil bobot jenis yang didapatkan dalam penelitian adalah minyak atsiri bangle sebesar 0,80 dan minyak atsiri lengkuas merah sebesar 0,77. Perbedaan bobot jenis ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor seperti perbedaan tanaman, umur panen tanaman, kondisi tempat tumbuh dan metode penyulingan yang digunakan. Perhitungan lengkap dapat dilihat pada Lampiran 11.

**3.2 Pengamatan organoleptik.** Minyak atsiri yang telah didapatkan diuji organoleptiknya dengan uji makroskopis yang bertujuan untuk mengetahui standar minyak atsirinya. Berdasarkan uji organoleptik diperoleh hasil seperti pada Tabel 1.

**Tabel 1. Hasil pengamatan organoleptis**

Minyak atsiri	Warna	Bau	Bentuk
Bangle	Kuning muda	Khas bangle	Cair
Lengkuas merah	Kuning kehijauan	Khas lengkuas merah	Cair

Minyak atsiri dapat berubah warna menjadi lebih gelap karena pada saat penyimpanan minyak atsiri dapat teroksidasi dan membentuk resin yang merubah warna minyak menjadi lebih gelap. Perubahan warna pada minyak atsiri dapat dicegah dengan menyimpan minyak atsiri didalam botol berwarna gelap dan harus terlindung dari cahaya matahari. Minyak atsiri dapat disimpan selama 0,5-1 tahun, penyimpanan minyak atsiri yang lama dapat mempengaruhi perubahan warna pada minyak atsiri (Saifudin *et al* 2011). Proses pengeringan simplisia yang

terlalu kering juga dapat mempengaruhi warna minyak atsiri, pada dasarnya minyak atsiri tidak berwarna dalam keadaan segar dan murni tanpa pencemaran.

Bau minyak atsiri bangle dan lengkuas merah memiliki bau yang khas dari asal tanamannya, hal ini telah sesuai dengan teori karena minyak atsiri memiliki bau yang sesuai dengan zat berbau yang terkandung dalam tanaman asalnya. Sifat yang menonjol dari minyak atsiri diantaranya adalah mempunyai rasa yang getir, kadang berasa tajam, menggigit dan memberi kesan hangat sampai panas atau dingin saat menempel dikulit, tergantung dari komponen penyusunnya (Gunawan & Mulyani, 2004).

Bentuk minyak atsiri yang didapat dari hasil destilasi uap-air berbentuk cairan, dalam *Encyclopedia of Chemical Technology* menyebutkan bahwa minyak atsiri merupakan senyawa, yang pada umumnya berwujud cairan yang diperoleh dari bagian tanaman dengan cara penyulingan (Sastrohamidjojo, 2004). Hasil pengujian secara organoleptik dapat dilihat pada Lampiran 5.

**3.3 Identifikasi minyak atsiri.** Hasil identifikasi minyak atsiri bangle dan lengkuas merah telah sesuai dengan pustaka yaitu saat minyak atsiri ditetaskan pada kertas saring maka minyak atsiri akan menguap karena memiliki titik uap yang rendah sehingga tidak meninggalkan noda pada kertas saring (Gunawan dan Mulyadi, 2004). Gambar hasil identifikasi minyak atsiri dapat dilihat pada Lampiran 5.

**3.4 Penetapan indeks bias.** Penetapan indeks bias bertujuan untuk melihat banyaknya komponen yang terkandung didalam minyak atsiri. Nilai indeks bias yang semakin tinggi pada suatu zat menunjukkan zat tersebut memiliki banyak komponen didalamnya, semakin banyak komponen yang terkandung pada suatu zat maka semakin sulit untuk membiaskan cahaya. Semakin panjang rantai karbon menyebabkan tingkat kerapatan minyak semakin tinggi, sehingga lebih sukar untuk membiaskan cahaya yang datang, dan menyebabkan nilai indeks bias menjadi lebih tinggi (Rubiarto, 1993) Nilai indeks bias minyak atsiri dapat dilihat pada Tabel 2.

**Tabel 2. Hasil nilai indeks bias minyak atsiri.**

Minyak atsiri	Nilai indeks bias	
	Hasil	Teoritis
Bangle	1,495	1,4750 (Balittro, 2006)
Lengkuas merah	1,487	1,3-1,7 (Guenther, 2006)

Nilai indeks bias minyak atsiri lengkuas merah adalah 1,487 telah sesuai dengan pustaka yaitu 1,3-1,7, sedangkan nilai indeks bias minyak atsiri bangle yang diperoleh adalah 1,495 berbeda dari pustaka yaitu 1,475 hal ini dapat disebabkan karena kerapatan minyak yang lebih tinggi sehingga lebih sulit membiaskan cahaya dan meningkatkan nilai indeks bias minyak tersebut. Hasil perhitungan lengkap dapat dilihat pada Lampiran 12.

**3.5 Penetapan kelarutan dalam etanol.** Pengujian kelarutan dalam etanol dilakukan untuk mengetahui jumlah etanol yang dibutuhkan untuk melarutkan secara sempurna minyak atsiri. Minyak atsiri bangle dan lengkuas merah masing-masing dimasukkan ke dalam gelas ukur 10 mL, kemudian ditambahkan etanol sedikit demi sedikit sambil dikocok untuk melihat kelarutan minyak atsiri. Minyak atsiri bangle dan lengkuas merah yang dihasilkan dalam penelitian ini dapat larut dengan sempurna dalam etanol dengan perbandingan kelarutan 1:1, yang artinya 1 mL minyak atsiri larut secara sempurna dalam 1 mL etanol. Menurut Guenther (2006), minyak atsiri yang banyak mengandung komponen teroksigenasi lebih mudah larut dalam etanol daripada yang banyak mengandung komponen terpen. Komponen teroksigenasi atau terpenoid merupakan komponen penting dalam minyak atsiri karena umumnya memiliki aroma yang lebih wangi dan mempunyai kelarutan yang tinggi dalam etanol encer, serta lebih tahan dan stabil terhadap proses oksidasi dan polimerisasi. Kandungan utama minyak atsiri lengkuas merah adalah eucalyptol (1,8-cineole) dimana senyawa tersebut adalah terpenoid sehingga mudah larut dalam etanol. Hasil kelarutan dapat dilihat pada Lampiran 5.

#### **4. Hasil analisa komponen kimia minyak atsiri dengan GC-MS**

Analisis GC-MS minyak atsiri bangle memiliki 5 komponen utama dengan presentase komponen dapat dilihat pada Tabel 5.

**Tabel 3. Komponen utama minyak atsiri bangle**

Senyawa	RT (min)	Kadar (%)
Sabinen	4,982	17,36
$\beta$ -pinen	5,059	1,59
$\alpha$ -terpinen	5,563	2,23
terpinen-4-ol	8,088	48,65
$\alpha$ -zingiberen	12,483	0,14

Kandungan minyak atsiri rimpang bangle antara lain sabinen,  $\beta$ -pinen,  $\alpha$ -terpinen, osimen, terpinen-4-ol, karen,  $\alpha$ -zingiberen yang secara ilmiah telah terbukti memiliki aktivitas sebagai antibakteri (Nuratmi dkk., 2005; Iswantini dkk., 2011; Marliani, 2012).

Analisis GC-MS minyak atsiri lengkuas merah memiliki 6 komponen utama dengan presentase komponen dapat dilihat pada Tabel 6.

**Tabel 4. Komponen utama minyak atsiri lengkuas merah**

Senyawa	RT (min)	Kadar (%)
eucalyptol (1,8-cineole)	5,824	35,65
Citronella	7,524	2,36
Terpinen-4-ol	8,029	4,35
Linalyl propionate	8,242	2,45
Chavicol acetate	10,463	29,91
Methyl eugenol	11,211	2,29

Kandungan kimia dari lengkuas merah terdiri atas metil-sinamat 48%, sineol 20-30%, eugenol, kamfer 1%, galangin, flavanoid, saponin, tanin dan lain-lain. Penelitian yang lebih intensif menemukan bahwa rimpang lengkuas mengandung zat-zat yang dapat bersifat sebagai antitumor atau antikanker, diantaranya Asetoksi Chavikol Asetat yang mampu menghambat enzim xhantin oksidase (Anonim, 2008).

## 5. Identifikasi bakteri

Identifikasi bakteri bertujuan untuk mengetahui golongan bakteri, yaitu melalui identifikasi secara morfologi dan biokimia. Hasil yang didapatkan pada identifikasi bakteri secara morfologi adalah terbentuk koloni berwarna hitam. Hal ini terjadi karena media SSA mengandung laktosa dan bakteri *S. typhi* tidak memecah laktosa sehingga terbentuk koloni hitam atau putih keabu-abuan, ini

membuktikan bahwa benar bakteri yang tumbuh pada media SSA adalah *S. typhi*. Hasil identifikasi secara morfologi dapat dilihat pada Lampiran 7.

Identifikasi secara biokimia yang dilakukan terhadap *S. typhi* menggunakan media SIM, KIA, LIA dan Sitrat. Hal ini dilakukan bertujuan untuk menentukan jenis bakteri, bakteri memiliki sifat biokimia yang berbeda-beda sehingga tahapan uji ini dapat membantu proses identifikasi. Uji pada media SIM, hasil yang didapatkan adalah *S. typhi* menghasilkan sulfur sehingga membentuk warna hitam pada media, hal ini terjadi karena media mengandung sodium thiosulfat yang digunakan *S. typhi* sebagai sumber sulfur sehingga menghasilkan hidrogen sulfida ( $H_2S$ ). Hidrogen sulfida akan bereaksi dengan ferri sitrat sehingga menghasilkan ferrous sulfida yang menyebabkan warna hitam pada media. Pada indol memberikan hasil negatif hal ini sesuai dengan indikator dimana *S. typhi* tidak menghasilkan enzim triptonase sehingga tidak dapat memecah asam amino triptopan menjadi senyawa indol, dan motilitas memberikan hasil positif (Cappucino dan Sherman, 2005).

Uji pada media KIA, hasil yang didapatkan pada media KIA adalah bagian atas media berwarna merah dan bagian bawah berwarna kuning, kemudian pada media KIA terjadi pembentukan  $H_2S$  sehingga media berwarna hitam, pembentukan warna hitam pada media ini sama seperti pembentukan yang terjadi pada media SIM. Uji pada media LIA dilakukan untuk mengetahui kemampuan *S. typhi* dalam mendegradasi asam amino lain, pada uji ini dikatakan positif jika media yang berwarna ungu muda berubah menjadi ungu tua dan negatif jika warna ungu menjadi kuning. Hasil yang didapatkan adalah media berwarna ungu tua dan koloni bakteri yang terbentuk berwarna hitam, hal ini membuktikan *S. typhi* mampu memproduksi dekarboksilasi lisin (LCD).

Uji pada media Sitrat bertujuan untuk mengetahui apakah bakteri menggunakan sitrat sebagai sumber karbon, pada media sitrat berisi indikator Brom Tymol Blue (BTB) jika bakteri menggunakan sitrat sebagai sumber karbon maka media berubah warna menjadi biru, perubahan warna media menjadi biru disebabkan oleh peningkatan pH karena hilangnya asam. Hasil yang didapatkan

adalah positif karena media berubah warna menjadi biru yang artinya *S. typhi* mampu menggunakan sitrat sebagai sumber karbon. Hasil uji biokimia dengan menggunakan media SIM, KIA, LIA, dan Sitrat dapat dilihat pada Lampiran 7.

## **6. Pembuatan suspensi bakteri uji**

Suspensi bakteri uji dibuat bertujuan untuk mengurangi kepadatan bakteri, kemudian suspensi bakteri disetarakan kekeruhannya dengan standar Mc Farland. Mc Farland adalah penyetaraan konsentrasi bakteri dengan menggunakan larutan  $\text{BaCl}_2$  1% dan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  1%, standar kekeruhan Mc Farland ini bertujuan untuk memperkirakan kepadatan bakteri yang digunakan pada penelitian.

## **7. Hasil uji aktivitas antibakteri**

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi dan dilusi dengan pengenceran berseri. Metode difusi dilakukan dengan menggunakan minyak atsiri lengkuas merah dan bangle serta kombinasi keduanya sebagai sampel uji, kombinasi minyak atsiri ini dibuat dengan berbagai konsentrasi dan perbandingan. Konsentrasi yang digunakan adalah 50%, 25%, 12,5%, adapun perbandingan yang digunakan adalah 1:1, 1:3, dan 3:1. Bakteri yang digunakan adalah *S. typhi*. Kontrol negatif yang digunakan adalah N-heksan, pemilihan pelarut ini dikarenakan setelah dilakukan uji tidak memberikan zona hambat dan berfungsi sebagai pelarut minyak atsiri, selain itu dipilih pelarut N-heksan dikarenakan minyak atsiri terdiri dari senyawa-senyawa terpenoid yang bersifat nonpolar dan N-heksan merupakan pelarut yang bersifat nonpolar sehingga kedua senyawa tersebut dapat terlarut dengan baik. N-heksan ini telah digunakan sebagai pelarut minyak atsiri umbi teki (*Cyperus rotundus* L.) (Solihah, 2008). Kontrol positif yang digunakan adalah antibiotik kloramfenikol 30 $\mu\text{g}$ . Kemampuan minyak atsiri berdifusi ditandai dengan terbentuknya zona hambat pada sampel uji, dan tidak terbentuknya zona hambat pada kontrol negatif. Gambar hasil uji difusi dapat dilihat pada Lampiran 8.

Zona hambat paling besar pada minyak atsiri tunggal adalah minyak atsiri bangle dengan konsentrasi 50% terbentuk diameter zona hambat 14,60 mm

terhadap *S. typhi*, kemudian pada kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle yang memberikan hasil paling besar adalah pada perbandingan 1:3 konsentrasi 50% dengan zona hambat yang terbentuk 12,60 mm terhadap *S. typhi*. Hasil keseluruhan zona hambat yang didapatkan dapat dilihat pada Tabel 5.

**Tabel 5. Diameter zona hambat uji difusi**

Replikasi	Konsentrasi (%)	Minyak atsiri tunggal (mm)		Kombinasi minyak atsiri (mm) Laos : Bangle		
		Bangle	Laos	1:1	1:3	3:1
I	50	14,60	12,00	10,60	12,00	10,00
	25	13,60	10,00	9,30	11,60	8,60
	12,5	11,60	9,60	7,60	11,00	7,60
	K(+)	22,60	21,30	22,00	22,60	21,30
	K(-)	0	0	0	0	0
II	50	13,30	11,30	11,00	12,60	9,60
	25	13,00	10,60	9,00	10,60	9,00
	12,5	11,00	9,00	8,00	10,60	8,30
	K(+)	23,00	21,60	22,60	21,60	23,00
	K(-)	0	0	0	0	0
III	50	13,60	11,60	10,00	11,30	9,00
	25	12,30	11,00	8,60	11,00	8,30
	12,5	10,60	8,60	8,30	10,00	8,00
	K(+)	24,00	22,60	23,00	22,60	23,00
	K(-)	0	0	0	0	0

**Tabel 6. Nilai rata-rata dan standar deviasi uji difusi**

Sampel	Rata-rata $\pm$ SD		
	50%	25%	12,5%
Bangle	13,73 $\pm$ 0,75	12,97 $\pm$ 0,65	11,07 $\pm$ 0,50
Lengkuas merah	11,63 $\pm$ 0,35	10,53 $\pm$ 0,50	9,07 $\pm$ 0,50
Kombinasi 1:1	10,53 $\pm$ 0,50	8,97 $\pm$ 0,35	7,97 $\pm$ 0,35
Kombinasi 1:3	11,97 $\pm$ 0,65	11,07 $\pm$ 0,50	10,53 $\pm$ 0,50
Kombinasi 3:1	9,53 $\pm$ 0,50	8,63 $\pm$ 0,35	7,97 $\pm$ 0,35
K(+)	21,97 $\pm$ 0,65	22,40 $\pm$ 0,72	23,20 $\pm$ 0,72
K(-)	00,00 $\pm$ 00,00	00,00 $\pm$ 00,00	00,00 $\pm$ 00,00

Berdasarkan hasil pengujian kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle diketahui memiliki aktivitas antibakteri, terbukti dengan terbentuknya diameter zona bening yang menghambat pertumbuhan bakteri *S. typhi*. Pada kombinasi dengan perbandingan 1:1, 1:3, 3:1 dengan konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, dan antibiotik kloramfenikol sebagai kontrol positif masing-masing mampu membentuk diameter zona hambat, sedangkan N-heksan sebagai kontrol negatif tidak menunjukkan adanya zona hambat yang terbentuk. Berdasarkan hasil uji difusi diketahui zona hambat paling besar terbentuk pada kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle pada perbandingan 1:3 dengan konsentrasi 50%



yaitu  $11,97 \pm 0,65$ . Hasil uji minyak atsiri lengkuas merah tunggal adalah  $11,63 \pm 0,35$  lebih kecil dibandingkan hasil uji minyak atsiri bangle tunggal yaitu  $13,73 \pm 0,75$ , sehingga pada kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle pada perbandingan 1:3 memiliki aktivitas yang paling besar karena kandungan minyak atsiri bangle tunggal yang lebih banyak terkandung pada perbandingan tersebut.

Dalam penelitian ini diketahui bahwa minyak atsiri lengkuas merah dan bangle mengandung senyawa terpinen-4-ol yang bersifat sebagai antibakteri, minyak atsiri bangle mengandung 48,65% terpinen-4-ol sebagai komponen utama dan minyak atsiri lengkuas merah mengandung 4,35% terpinen-4-ol. Minyak atsiri juga mengandung senyawa-senyawa monoterpen dan seskuiterpen lain yang mempunyai aktivitas antibakteri, minyak atsiri bangle mengandung senyawa sabinen,  $\beta$ -pinen,  $\alpha$ -terpinen dan kariofilena yang mempunyai aktivitas antibakteri, sedangkan minyak atsiri lengkuas merah mengandung eucalyptol (1,8-cineole), zerumbone, dan cis-kariofilena yang mempunyai aktivitas sebagai antibakteri (Kamazeri *et al* 2012).

Minyak atsiri bekerja dengan menembus membran sehingga dapat mengkoagulasi sitoplasma, merusak lemak dan protein (Dorman *et al* 2000), selain itu minyak atsiri dapat melarutkan fosfolipid yang merupakan penyusun dinding sel bakteri, hal ini dikarenakan komponen minyak atsiri mempunyai percabangan gugus fenol maupun alkohol (Gustafson *et al* 1998). Fosfolipid yang rusak atau larut menyebabkan kebocoran sel sehingga komponen-komponen penting seperti protein, asam nukleat dan nukleotida akan keluar dari sel bakteri yang menyebabkan bakteri tidak dapat melakukan aktivitas kehidupannya dan pertumbuhan bakteri tersebut dapat terhambat atau mati (Rupilu *et al* 2008).

Data zona hambat yang didapatkan kemudian dilakukan analisis hasil secara statistik. Analisis hasil secara statistik bertujuan untuk melihat adanya potensi antibakteri kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle terhadap *S. typhi*. Data dianalisis normalitas distribusi menggunakan uji *Shapiro-Wilk*, dari uji tersebut didapatkan hasil data terdistribusi secara normal. Variasi homogenitas data dilakukan dengan uji *Levene's Test of Equality of Error Variances*, hasil uji didapatkan data homogen yaitu ( $p > 0,05$ ) sehingga dilanjutkan uji ANOVA *two*

way untuk mengetahui perbedaan yang signifikan. Data statistik secara lengkap dapat dilihat pada Lampiran 14.

Dari hasil uji statistik maka diketahui bahwa minyak atsiri tunggal lengkuas merah dan bangle memiliki perbedaan yang signifikan dengan kombinasi minyak atsiri (1:1, 1:3, 3:1) yang ditunjukkan dengan perbedaan letak mean pada kolom subset, kombinasi minyak atsiri pada perbandingan 1:3 memiliki perbedaan yang signifikan dengan perbandingan 1:1 dan 3:1, dan kombinasi minyak atsiri 1:1 tidak memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kombinasi minyak atsiri dengan perbandingan 1:3. Hal ini menunjukkan adanya perbedaan daya hambat yang nyata dari sampel uji tunggal minyak atsiri lengkuas merah dan bangle dan kombinasinya. Tabel homogeneous subsets konsentrasi 50%, 25%, 12,5% menunjukkan nilai variabel ketiganya berada pada kolom subset yang berbeda, hal ini menunjukkan konsentrasi 50%, 25%, dan 12,5% memiliki perbedaan yang signifikan.

Kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle pada perbandingan 1:3 merupakan kombinasi yang mempunyai aktivitas antibakteri yang paling besar terhadap *S. typhi* dengan diameter zona hambat yang terbentuk adalah 12,60 mm, Hal ini juga dijelaskan oleh Elgayyar *et al* (2001) bahwa ekstrak tumbuh-tumbuhan dapat dikelompokkan berdasarkan diameter penghambatan menjadi tiga kategori yaitu tinggi (>11 mm), sedang (>6 mm - <11 mm) dan rendah (<6 mm).

Pada uji dilusi dilakukan dengan menggunakan sederetan tabung reaksi yang diisi dengan suspensi bakteri *S. typhi* dan sampel uji berupa kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle perbandingan 1:3 dalam berbagai konsentrasi. Kombinasi minyak atsiri ini diencerkan sesuai serial dalam media cair yaitu BHI dan diinokulasikan dengan bakteri *S. typhi*, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Aktivitas zat ditentukan sebagai nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) (Pratiwi, 2008). Gambar hasil uji dilusi dapat dilihat pada Lampiran 9.

Hasil pengujian aktivitas antibakteri kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle dengan metode dilusi yang dilakukan dengan pengenceran berseri menunjukkan nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) kombinasi

minyak atsiri lengkuas merah dan bangle terhadap *S. typhi* adalah 3,125%. Hasil uji dilusi dapat dilihat pada Tabel 7.

**Tabel 7. Hasil uji dilusi kombinasi minyak atsiri bangle & lengkuas merah perbandingan 1:3 konsentrasi 50% pada bakteri *Salmonella typhi*.**

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

Keterangan :

(+) : tumbuh

(-) : tidak tumbuh

K(-) : berisi kombinasi minyak atsiri bangle dan lengkuas merah

K(+) : berisi suspensi bakteri *S. typhi*

Uji dilusi dilakukan dengan menggunakan media cair BHI dan sampel uji minyak atsiri lengkuas merah dan bangle perbandingan 1:3 dengan konsentrasi 50%. Sampel uji yang berupa minyak atsiri tidak dapat bercampur dengan media cair BHI, hal ini diatasi dengan menambahkan 1-2 tetes tween 80 sebagai emulgator sehingga media cair BHI dan sampel uji minyak dapat bercampur secara homogen. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dapat dilihat dari kejernihan tabung reaksi, kemudian Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dilihat dengan cara diinokulasikan semua tabung seri pengenceran uji dilusi pada media BSA, hal ini dilakukan karena tidak terlihatnya tabung dengan kekeruhan yang jernih pada penentuan KHM disebabkan pencampuran media cair BHI, sampel uji, dan emulgator yang digunakan. Hasil pengamatan pada konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,56%, dan 0,78% yang diteliti mendapatkan hasil yaitu konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, dan 3,125% tidak terlihat adanya pertumbuhan *S. typhi*. Hal ini menunjukkan kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. typhi* pada konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, dan 3,125%. Pada konsentrasi yang lebih kecil yaitu 1,56% dan 0,78% didapatkan pertumbuhan *S. typhi*, Hal ini menunjukkan nilai

KBM berada pada konsentrasi 3,125% karena merupakan konsentrasi terkecil yang tidak menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri. Menurut Radji (2010) konsentrasi lebih dari 1% merupakan nilai KBM yang kuat, karena pada kadar ini memiliki aktivitas antibakteri yang signifikan.

Dari hasil pengujian kombinasi minyak atsiri bangle dan lengkuas merah secara difusi dan dilusi dapat dipastikan bahwa kombinasi minyak atsiri bangle dan lengkuas merah memiliki aktivitas antibakteri. Senyawa terpinen-4-ol yang terkandung dalam minyak atsiri bangle dan lengkuas merah diduga merupakan senyawa aktif antibakteri, seperti yang telah teruji sebelumnya bahwa senyawa terpinen-4-ol memiliki aktivitas antifungi terhadap *Candida albicans* (Mondello *et al* 2006)

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Kesimpulan**

Berdasarkan penelitian ini maka dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Senyawa tunggal minyak atsiri bangle (*Z. cassumunar*) dan lengkuas merah (*A. Purpurata* K.) serta kombinasi keduanya dengan perbandingan 1:1, 1:3, 3:1 memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. typhi*.
2. Uji difusi menggunakan kombinasi minyak atsiri bangle (*Z. cassumunar*) dan lengkuas merah (*A. Purpurata* K.) pada perbandingan 1:3 konsentrasi 50% memberikan daya hambat yang paling besar yaitu dengan diameter zona hambat 12,60 mm terhadap *S. typhi*.
3. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) pada uji dilusi didapatkan pada konsentrasi 3,12% dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) pada konsentrasi 1,56% dari perbandingan 1:3 kombinasi minyak atsiri bangle (*Z. cassumunar*) dan lengkuas merah (*A. Purpurata* K.) terhadap *S. typhi*.

#### **B. Saran**

Berdasarkan kesimpulan dapat direkomendasikan :

1. Dapat dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai uji aktivitas antibakteri kombinasi minyak atsiri lengkuas merah (*A. Purpurata* K.) dan minyak atsiri bangle (*Z. cassumunar*) dengan berbagai perbandingan dan konsentrasi yang lain.
2. Dapat dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai uji aktivitas antibakteri kombinasi minyak atsiri lengkuas merah (*A. Purpurata* K.) dan minyak atsiri bangle (*Z. cassumunar*) terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif lainnya.
3. Dapat dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai uji aktivitas antibakteri kombinasi minyak atsiri lengkuas merah (*A. Purpurata* K.) dan minyak atsiri bangle (*Z. cassumunar*) dengan pembanding kontrol positif antibiotik lainnya.

yang sesuai dengan senyawa-senyawa yang terkandung di dalam minyak atsiri bangle dan lengkuas merah.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agoes A. 2010. *Tanaman Obat Indonesia*. Salemba Medica. Palembang
- Anonim. 2007. Kunyit. <http://www.id.online.org>
- Anonim. 2008. Lengkuas Merah. <http://www.plantamor.com/index.php?Plant>.
- Ansel HC, Prince SJ. 2006. *Kalkulasi Farmasetik*. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Biradar YS. 2010. TLC Densitometric Quantification of Vasicine, Vasicinone and Embelin from *Adhatoda zeylanica* Leaves and *Embelia ribes* Fruits [Tesis]. Halaman: 140.
- Badan Standardisasi Nasional. 2001. *Sistem Manajemen Mutu – Persyaratan*. Jakarta : BSN; (SNI 19-9001-2001)
- Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatika (Balittro). 2006. *Standar Prosedur Operasional (SPO) Tanaman Pegagan*. Badan Litbang Pertanian-Bogor.
- Cappucino JG, Sherman N. 2005. *Microbiology: A Laboratory Manual*, New York: *The Benjamin Cummings Publishing Company*. Inc.
- Chowdhury JU, Nandi NC, Bhuiyan MNI, Mobarok MH. 2008. Essential oil constituents of the rhizomes of two types of *Curcuma longa* of Bangladesh. *Bangladesh Journal Of Scientific And Industrial Research*. 43(2): 259-66.
- Coskun O, Kanter A, Korkaz, Oter S. 2004. Quercetin, a flavonoid antioxidant, prevents and protects streptozotocin induced oxidative stress and cell damage in rat pancreas. *Pharmacological research*. Academic press. Turkey.
- Depkes RI. 2000. *Parameter Standard Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta.
- Depkes RI. 2001. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (I)*. Jilid 2. Jakarta: Departemen Kesehatan dan Kesejahteraan Sosial RI Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan RI. Hal. 348-350.
- Depkes RI. 2007. *Riset Kesehatan Dasar*. Edisi III. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dorman HJD, Deans SG. 2000. Antimicrobial Agents from Plants: Antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*. 308-310.

- Elgayyar M, Draughon FA, Golden DA, Mount JR. 2001. Antimicrobial Activity of Essential Oils from Plants against Selected Pathogenic and Saprophytic Microorganism. *J. of Food Protection*. 64(7): 1019-1024.
- Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. 2007. *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology* 12<sup>th</sup> Edition. Missouri: Elsevier, 190-6.
- Green C. 2002. Export Development of Essential Oils and Spices by Cambodia. *C. L. Green Consultancy Services*.
- Guenther E. 2006. *Minyak Atsiri jilid I* (Terjemahan). Jakarta : UI Press. Hal. 44-484.
- Gunawan D, Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi) Jilid I*. Jakarta: Penerbit Penebar Swadaya.
- Gustafson JE *et al.* 1998. Effects of tea tree oil on Eschericia coli. *Letters in Applied Microbiology*. 26: 194-198.
- Hadioetomo RS. 2005. *Mikroiologi Terapan untuk Perawat*. Jakarta: EGC.
- Hanani E, Kawira JA, Dilanka C. 2000. Pola kromatogram lapis tipis dan gas cair rimpang dan akar *Zingiber cassumunar*. [Makalah pada Kongres Nasional Obat Tradisional Indonesia]. Surabaya 20-22 September 2000.
- Harminta. [2004]. Petunjuk pelaksanaan validasi metode dan cara perhitungannya, Majalah Ilmu kefarmasian, Vol I, No.3. Departemen Farmasi FMIPA-UI: Jakarta.
- Iswantini D, Silitonga RF, Martatilofa E, Darusman LK. 2011. Zingiber cassumunar, Guazuma ulmifolia, and Murraya paniculata Extracts as Antiobesity: In Vitro Inhibitory Effect on Pancreatic Lipase Activity. *J. Biosci.*, 18(1): 6-10.
- Ivanov. 1998. Typhoid fever: Current and future control approaches. *Medical Journal of Indonesia*, S 5-1, pp.81-2.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran*, edisi XXII, diterjemahkan oleh Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Jakarta, Penerbit Salemba Medika.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. diterjemahkan oleh Mudihardi E, Kuntaman, Wasito EB, Mertaniasih NM. Jakarta, Penerbit Salemba Medika.
- Kainsa S, Bhorla R. 2012. Medicinal plants as a source of anti-inflammatory agent: a review. *International Journal Of Ayurvedic And Herbal Medicine*. 2(3): 499-509.



- Kamazeri. 2012. Antimicrobial activity and essential oils of *Curcuma aeruginosa*, *Curcuma mangga*, and *Zinger cassumunar* from Malaysia. *Asian pacific journal of Tropical Medicine*.
- Katzung BG. 2004. *Farmakologi Dasar dan Klinik* Buku 3 Edisi 8. Penerjemah dan editor: Bagian Farmakologi FK UNAIR. Penerbit Salemba Medika, Surabaya. Hlm 37-41.
- Khopkar SM. 2003. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: UI-Press
- Klohs WD, Fry DW, Kraker AJ. 2012. Inhibitors of Tyrosine Kinase. *Curr Opin Oncol*. 9:562-568.
- Kochuthressia KP, Britto SJ, Jaseentha MO, Raj JM, Senthilkumar SR. 2010. Antimicrobial efficacy of extract from *alpinia purpurata* (vieill.) k. schum against human pathogenic bacteria and fungi. *Agriculture and Biology Journal of North America*; 1(6):1250-1
- Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI). 2013. *Identifikasi Senyawa dari Ekstrak Air Rimpang Bangle (Zingiber cassumunar Roxb.)*
- Mac TH, Harris D. 2002. An Economic Study of Essential Oil Production in The UK: A Case Study Comparing Non-UK Lavender/Lavandin Production and Peppermint/Spearmint Production with UK Production Techniques and Costs. *Report to Government-Industry Forum on Non Food Uses of Crops DEFRA*, London.
- Marliani L. 2012. *Aktivitas Antibakteri dan Telaah Senyawa Komponen Minyak Atsiri Rimpang Bangle (Zingiber cassumunar Roxb.)*. Prosiding Seminar Nasional Penelitian dan PKM: Sains, Teknologi, dan Kesehatan. Bandung. Hal. 1-6.
- Mastroeni P, Maskell D. 2005. *Salmonella Infections : Clinical, Immunological and Molecular Aspects*. London : *Cambridge University Press*.p 189-192
- McNair HM. 2009. *Basic Gas Chromatography*, Second Edition, New Jersey , A John Wiley & Sons, Inc Publication
- Mondello M, Rudd A. 2006. How do college coach define character? A qualitative study with division IA head coaches. *Journal of College and Character*. Vol 8, No 3, hal 1-10.
- Muliawan SY, Surjawidjaja JE. 1999. Tinjauan Ulang Peranan Uji Widal sebagai Alat Diagnostik Penyakit Demam Tifoid di Rumah Sakit. *Cermin Dunia Kedokteran* 124: 14-16.
- Mulyaningsih S. 1996. Uji daya anti fungi dan analisa kromatografi gas spektroskopi massa minyak atsiri laos merah. Famipa-UGM, Jogjakarta.

- Musnelina L, Afdhal AF, Gani A, Anda P. 2004. Pola pemberian antibiotika pengobatan demam tifoid anak di RS Fatmawati Jakarta tahun 2001-2002. *Makara Kesehatan* 1(8):27-31.
- Nuratmi B, Sundari D, Widowati L. 2005. Uji Aktivitas Seduhan Rimpang Bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.) sebagai Laksansia pada Tikus Putih. *Media Penelitian dan Pengembangan Kesehatan*, XV (3): 8-11.
- Ochiai RL *et al.* 2008. A Study of Typhoid Fever in five Asian countries: Disease Burden and Implications for Control. *Bulletin of the World Health Organization*. April, 86 (4).
- Parry CM, Hien TT, Dougan G, White NJ, Farrar JJ. 2002. Typhoid Fever. *The New Englan Journal of Medicine*, Vol. 347, No. 22, p. 1770-82.
- Pratiwi ST. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Penerbit Airlangga
- Radji M. 2011. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. Penerbit buku kedokteran EKG. Jakarta.
- Rahayu, Endarti S, Handayani S. 2008. “Keanekaragaman Morfologi dan Anatomi Pandanus (Pandanaceae) di Jawa Barat”. *Jurnal. Jurnal Vis Vitalis*, Vol. 01 No.2.
- Ronald AS, Richard A, Pherson MC. 2004. *Tinjauan klinis hasil pemeriksaan laboratorium*. Hal 12, 287 - 290, 293 – 295
- Rubiarto D. 1993. Mempelajari Pengaruh Ukuran Bahan dan Lama Penyulingan terhadap Rendemen dan Mutu Minyak Kemukus (*Piper cuceba* Linn.) [Skripsi]. Bogor: Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Rupilu NS, Lamapaha YF. 2008. Potensi lengkuas sebagai antimikroba (studi *in vitro* pada bakteri Gram negatif) [Skripsi]. Malang: Universitas Negeri Malang.
- Saifudin A. 2011. *Standardisasi Bahan Obat Alam*. Yogyakarta: Graha Ilmu. pp. 1-11.
- Sastrohamidjojo H. 2004. *Kimia Minyak Atsiri*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Sayuti AI, Ulfa EU, Puspitasari E. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Minyak Atsiri Lempuyang Wangi (*Zingiber aromaticum* Val.) dan Bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

- Shulman TS, Phair JP, Sommers HM. [2011]. *Dasar biologis dan klinis penyakit infeksi*, Edisi ke-4 (terjemahan), Yogyakarta, Gadjah Mada University Press, pp 300-305.
- Sinaga E. 2009. *Alpinia galanga* (L.) Willd. [http://free.vlsm.org/v12/artikel/ttg\\_tanaman\\_obat/unas/Lengkuas.pdf](http://free.vlsm.org/v12/artikel/ttg_tanaman_obat/unas/Lengkuas.pdf)
- Solihah A. 2008. Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Umbi Teki (*Cyperus rotundus* L.) dari Daerah Kartasura Sukoharjo [Skripsi]. FMIPA UNS.
- Sriyanti, Wijayani. 2008. *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek*. Jakarta: Gramedia.
- Standar Nasional Indonesia. 2001. *Badan Standarisasi Nasional*. Jakarta.
- Sugiaman LH, 2015. Daya antibakteri ekstrak rimpang lengkuas merah (*alpinia purpurata k. schum*) terhadap pertumbuhan bakteri *streptococcus mutans* secara *in vitro* [Skripsi]. Makasar: Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Hasanuddin.
- Sukandar D, Radiastuti N, Utami S. 2009. Aktivitas Minyak Atsiri Rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata*) Hasil Destilasi. *Jurnal Biologi Lingkungan*. 3(2): 94-100.
- USDA, 2014. Classification of *Zingiber montanum* (J. Koenig) Link. Ex A.Dietr. Cassumunar ginger. <http://plants.usda.gov/core/profile?symbol=ZIMO2>. Diakses 16 Oktober 2016.
- Wonohadi E, Sutarjadi. 2000. *Studi komponen dan komponen aktif minyak atsiri rimpang bengle (Zingiber purpureum Roxb.)*. Prosiding Seminar Nasional XVI Tumbuhan Obat Indonesia. Badan Penerbit Univ. Diponegoro Semarang. 113-115.
- Yazid E. 2005. *Kimia Fisika Untuk Paramedis*. Yogyakarta : Penerbit Andi.
- McNair, H.M. 2009. *Basic Gas Chromatography*. Second Edition. New Jersey : A John Wiley & Sons. Inc. Publication.
- Yuharmen, Yum Eryanti, Handayani. 2014. Nurbalatif ; Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Riau

L

A

M

P

J

R

A

R

## Lampiran 1. Hasil determinasi tanaman bangle



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

Nomor : 048/UN27.9.6.4/Lab/2017  
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan  
Lampiran : -  
Nama Pemesan : Jennida  
NIM : 19133825A  
Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

### HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

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

Hasil Determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963, 1968) :

1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31a-  
32a-33a-34a-35a-36d-37b-38b-39b-41b-42b-44b-45b-46e-50b-51b-53b-54b-56b-57b-58b-59d-  
72b-73b-74a-75b-76b-333b-334b-335b-336a-337b-338a-339b-340a **207. Zingiberaceae**  
1a-2b-6a **1. Zingiber**  
1a-2a-3b-4b ***Zingiber montanum* (J. Koenig) Link ex A. Dietr.**

### Deskripsi Tumbuhan :

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

Kepala Lab. Program Studi Biologi

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

Surakarta, 1 Februari 2017  
Penanggungjawab  
Determinasi Tumbuhan

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

Mengetahui  
Kepala Program Studi Biologi FMIPA UNS

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

## Lampiran 2. Hasil determinasi tanaman lengkuas merah



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

Nomor : 050/UN27.9.6.4/Lab/2017  
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan  
Lampiran : -  
Nama Pemesan : Jennida  
NIM : 19133825A  
Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

### HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

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

Hasil Determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963, 1968) :  
1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31a-32a-33a-34a-35a-36d-37b-38b-39b-41b-42b-44b-45b-46e-50b-51b-53b-54b-56b-57b-58b-59d-72b-73b-74a-75b-76b-333b-334b-335b-336a-337b-338a-339b-340a **207. Zingiberaceae**  
1a-2a-3b-4b **2. Alpinia**  
1 ***Alpinia purpurata* (Vieill.) K.Schum.**

### Deskripsi Tumbuhan :

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

Kepala Lab. Program Studi Biologi

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

Surakarta, 1 Februari 2017  
Penanggungjawab  
Determinasi Tumbuhan

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

Mengetahui  
Kepala Program Studi Biologi FMIPA UNS

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



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



Bangle (*Zingiber cassumunar*)



Lengkuas merah (*Alpinia purpurata* K.)

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



Autoklaf



Oven



Inkubator



Inkas



## Lampiran 5. Hasil pengamatan sifat fisika

### Hasil penetapan indeks bias



Indeks bias minyak atsiri bangle



Indeks bias minyak atsiri lengkuas merah

### Hasil kelarutan minyak atsiri dalam etanol




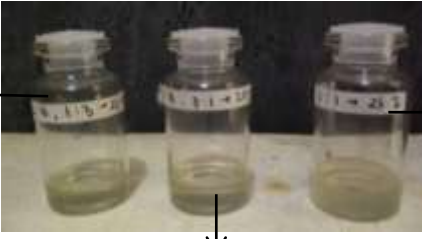

Minyak atsiri lengkuas merah



Minyak atsiri bangle

**Lampiran 6. Minyak atsiri bangle, lengkuas merah, dan kombinasi****Minyak atsiri bangle****Konsentrasi 50%****Konsentrasi 25%****Konsentrasi 12,5%****Minyak atsiri lengkuas merah****Konsentrasi 50%****Konsentrasi 25%****Konsentrasi 12,5%**

Kombinasi minyak atsiri lengkuas merah : bangle (1:1, 1:3, 3:1)

konsentrasi	gambar
50%	
25%	
12,5%	

## Lampiran 7. Identifikasi bakteri *Salmonella typhi*

### Morfologi



Bakteri *Salmonella typhi*

Identifikasi morfologi dengan menggunakan media SSA

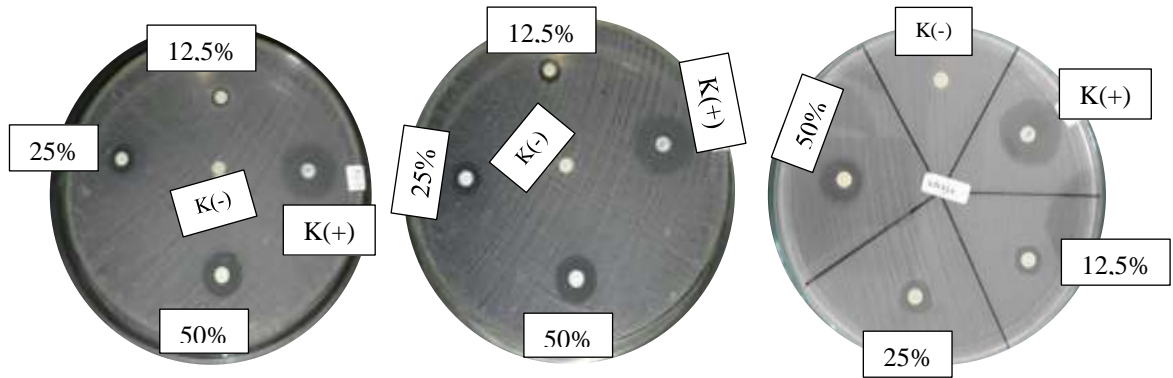
### Uji Biokimia



Uji biokimia menggunakan media SIM, KIA, LIA, Sitrat

## Lampiran 8. Hasil uji difusi

### Uji difusi minyak atsiri tunggal bangle

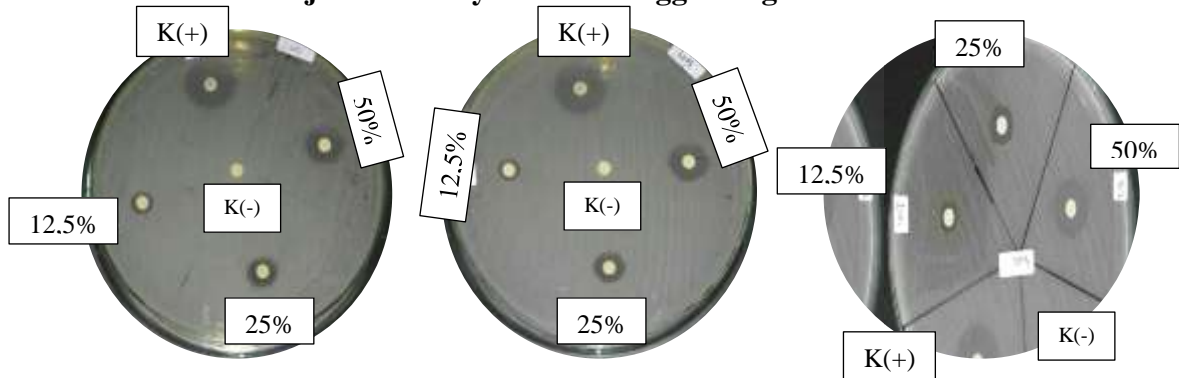


Replikasi I

Replikasi II

Replikasi III

### Uji difusi minyak atsiri tunggal lengkuas merah

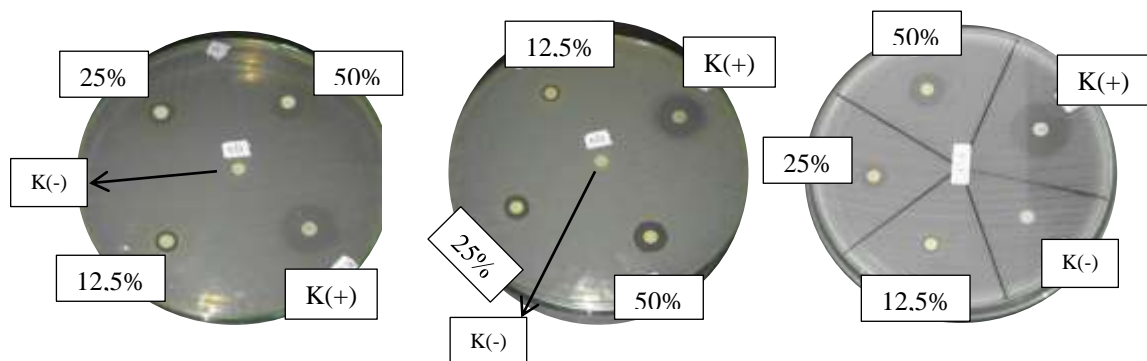


Replikasi I

Replikasi II

Replikasi III

### Kombinasi minyak atsiri lengkuas merah : bangle (perbandingan 1:1)

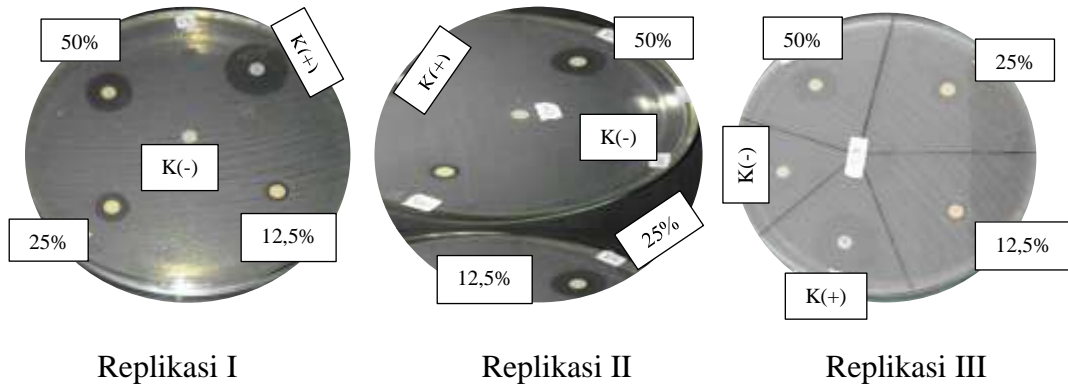


Replikasi I

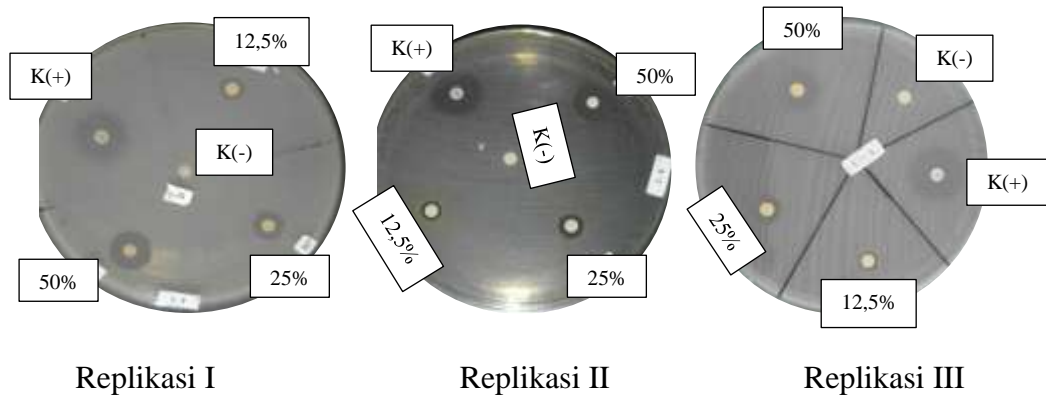
Replikasi II

Replikasi III

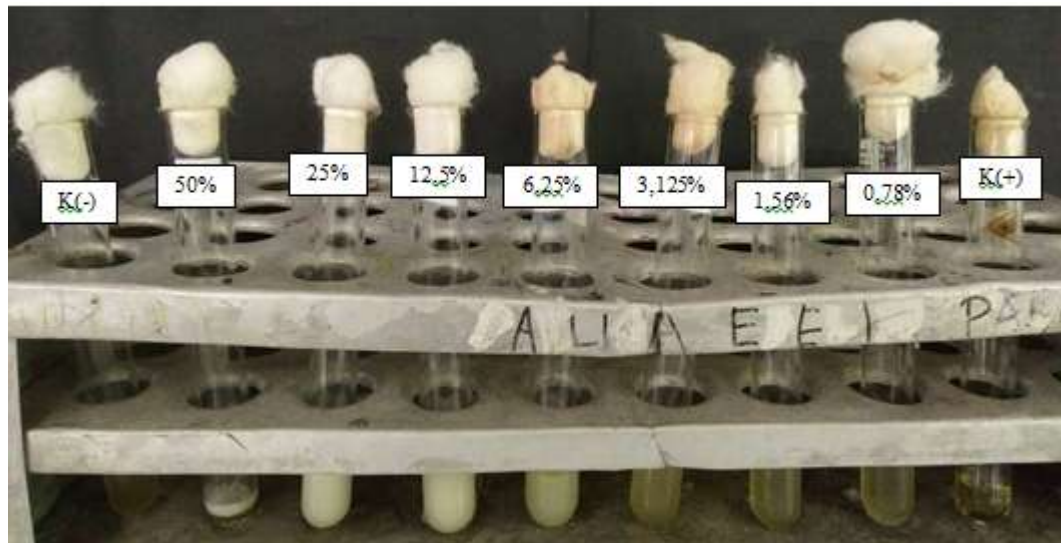
**Kombinasi minyak atsiri lengkuas merah : bangle (perbandingan 1:3)**



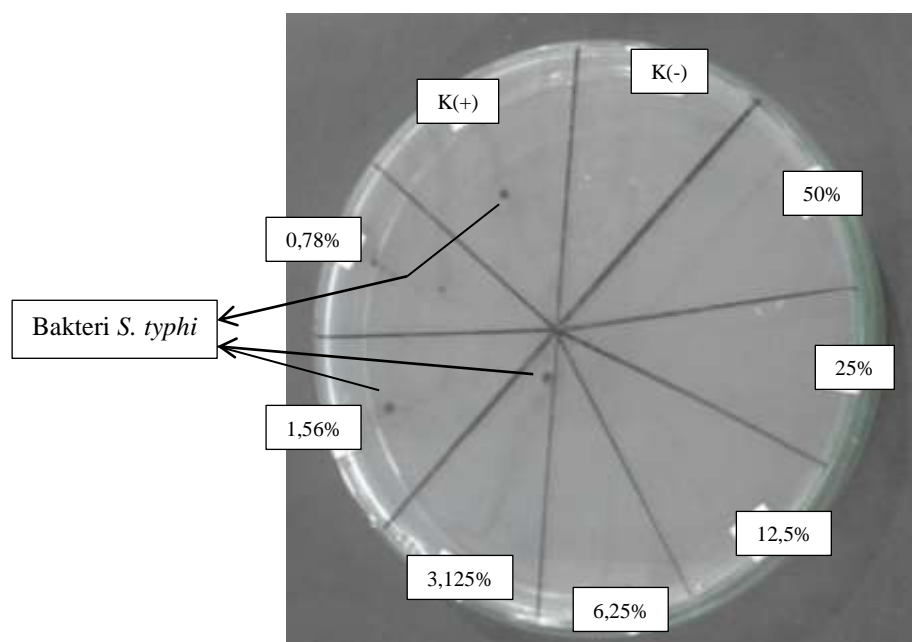
**Kombinasi minyak atsiri lengkuas merah : bangle (perbandingan 3:1)**



### Lampiran 9. Hasil uji dilusi



Uji dilusi dengan seri pengenceran konsentrasi menggunakan media cair



Penentuan nilai KBM dengan penggoresan menggunakan media BSA

### Lampiran 10. Perhitungan kadar minyak atsiri Bangle dan Lengkuas merah

Minyak atsiri bangle

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

Perhitungan % Rendemen :

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

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

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

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

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



Minyak atsiri lengkuas merah

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

Perhitungan % Rendemen :

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

Destilasi I =

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

Destilasi II =

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

Destilasi II =

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

Total Rendemen III =

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

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

### Lampiran 11. Perhitungan bobot jenis minyak atsiri

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

#### Perhitungan bobot jenis :

##### I. Bobot jenis bangle :

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

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

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

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

$$= 0,8201$$

## II. Bobot jenis Lengkuas merah :

$$\text{Bobot timbang + air} = 19,48$$

$$\text{Bobot timbang kosong} = \underline{18,85}$$

$$\text{Bobot air} = 0,63$$

$$\begin{aligned} \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{bobot minyak}}{\text{bobot air}} \\ &= \frac{0,49}{0,63} = 0,7778 \end{aligned}$$

$$\text{Bobot timbang + air} = 19,50$$

$$\text{Bobot timbang kosong} = \underline{18,85}$$

$$\text{Bobot air} = 0,65$$

$$\begin{aligned} \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{bobot minyak}}{\text{bobot air}} \\ &= \frac{0,51}{0,65} = 0,7846 \end{aligned}$$

$$\text{Bobot timbang + air} = 19,46$$

$$\text{Bobot timbang kosong} = \underline{18,85}$$

$$\text{Bobot air} = 0,61$$

$$\begin{aligned} \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{bobot minyak}}{\text{bobot air}} \\ &= \frac{0,46}{0,61} = 0,7541 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata bobot jenis minyak lengkuas merah} &= \frac{0,7778+0,7846+0,7541}{3} \\ &= 0,7721 \end{aligned}$$

Perhitungan konversi suhu ruang dalam percobaan bobot jenis :

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

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

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

Perhitungan :

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

$$\begin{aligned} \text{Jadi, bobot teoritis pada suhu } 31^{\circ}\text{C} &= 0,0042 + 0,8788 \\ &= 0,883 \end{aligned}$$

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

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

Perhitungan :

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

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

Bobot jenis minyak atsiri bangle menurut praktek adalah 0,8201

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

Jadi, bobot jenis praktek sudah sesuai dengan bobot jenis menurut pustaka karena nilainya telah mendekati.

### Lampiran 12. Hasil perhitungan indeks bias minyak atsiri

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

#### Perhitungan konversi suhu ruang dalam pemeriksaan indeks bias :

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

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

Suhu ruang praktek 31°C

Perhitungan :

$$\text{Konversi} = ((31-25) \times 0,0004) = 0,0024$$

$$\begin{aligned} \text{Indeks bias pada suhu 31°C} &= 1,475 + 0,0024 \\ &= 1,4774 \end{aligned}$$

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

$$\text{Konversi} = ((31-25) \times 0,0004) = 0,0024$$

$$\text{Indeks bias pada suhu 31°C} = (1,3 + 0,0024) - (1,7 + 0,0024)$$

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

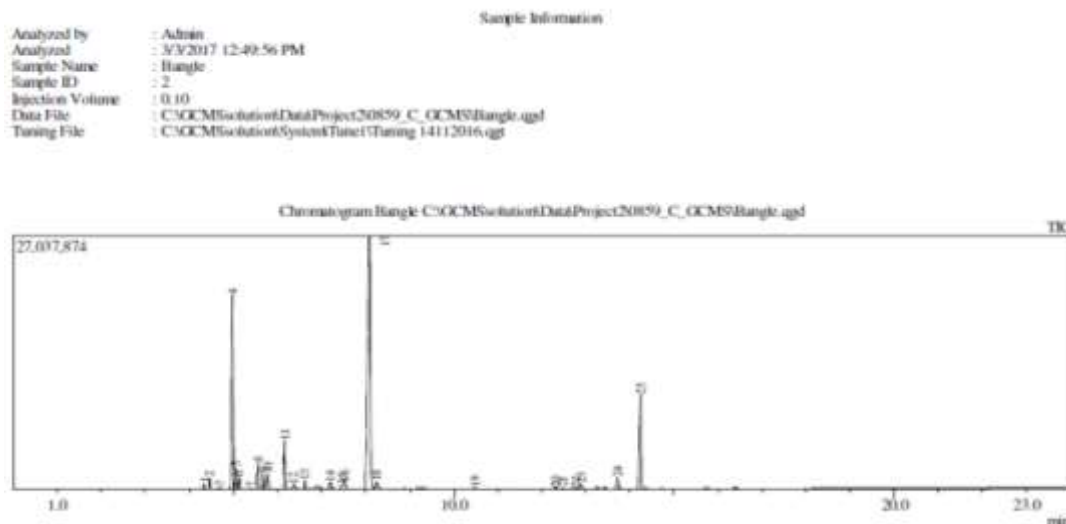
Indeks bias minyak atsiri bangle menurut praktek adalah 1,495

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

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

### Lampiran 13. Hasil analisis GCMS minyak atsiri

#### Kromatogram minyak atsiri bangle

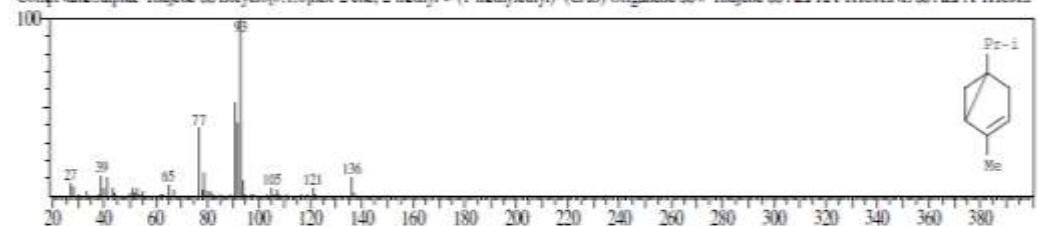
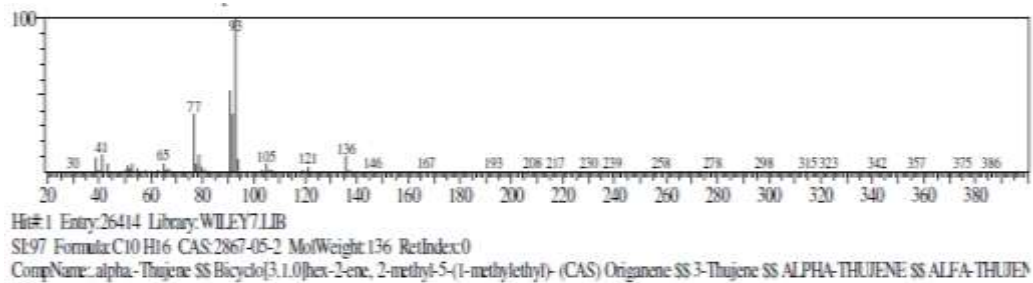


**Tabel Hasil analisis komponen minyak atsiri bangle dengan GC-MS**

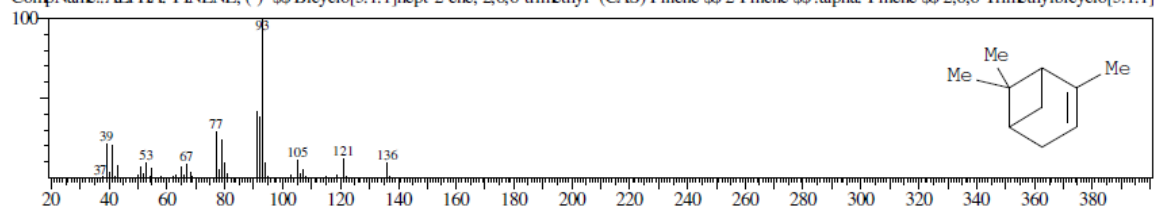
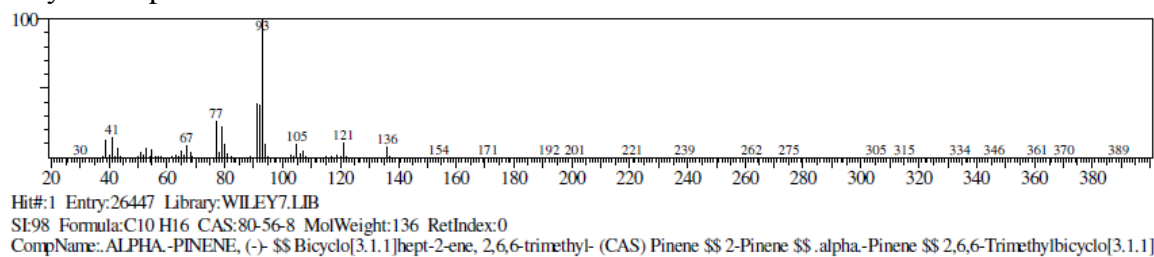
Peak	Senyawa	RT (min)	BM	Kadar (%)
1	$\alpha$ -thujene	4.344	136	0.44
2	$\alpha$ -pinene	4.464	136	0.84
3	Camphene	4.680	136	0.17
4	Sabinen	4.982	136	17.36
5	1- $\beta$ -pinene	5.059	136	1.59
6	$\beta$ -myrcene	5.128	136	0.90
7	1-phellandrene	5.394	136	0.12
8	$\alpha$ -terpinene	5.563	136	2.23
9	benzene,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

Komponen utama senyawa minyak atsiri bangle :

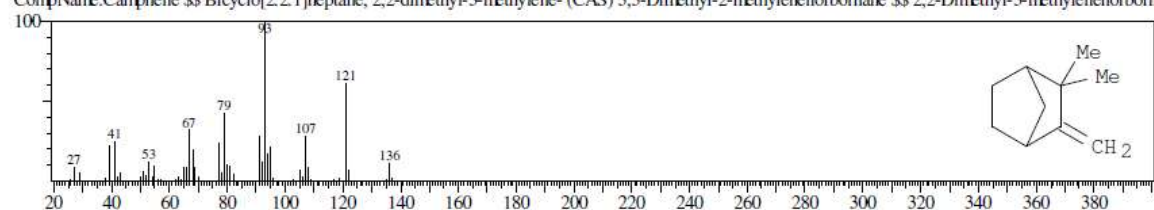
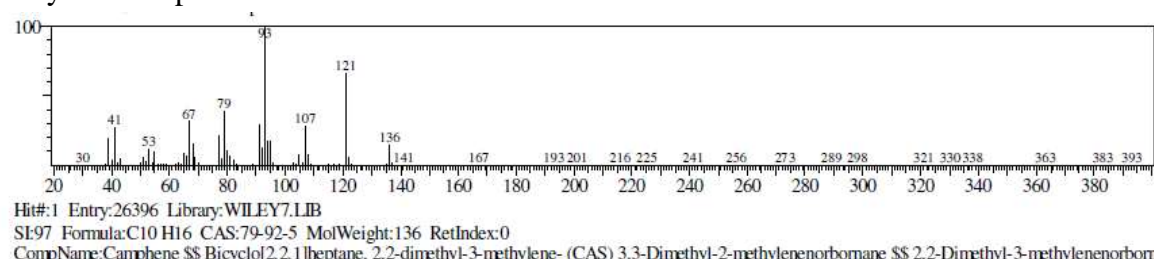
Senyawa  $\alpha$ -thujene



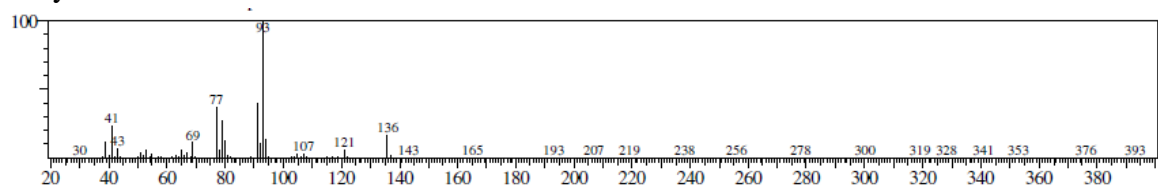
Senyawa  $\alpha$ -pinene



Senyawa camphene



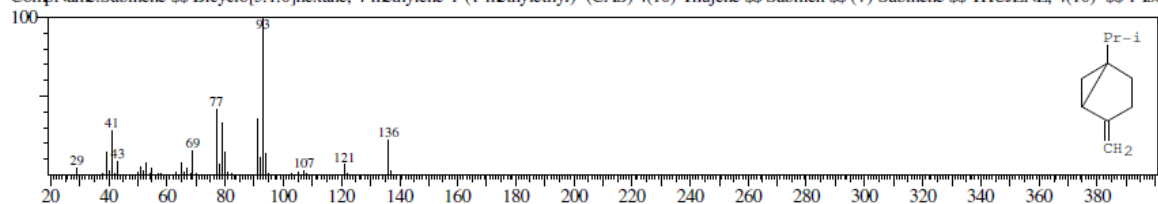
## Senyawa sabinen



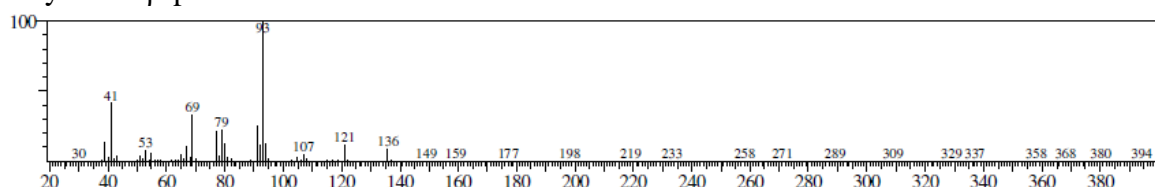
Hit#:1 Entry:26425 Library:WILEY7.LIB

SE:97 Formula:C<sub>10</sub>H<sub>16</sub> CAS:3387-41-5 MolWeight:136 RetIndex:0

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



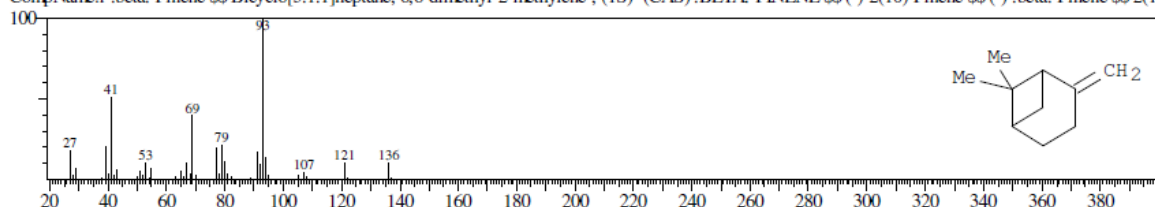
## Senyawa 1-β-pinene



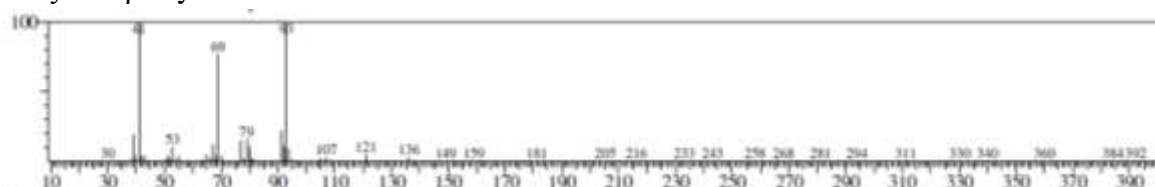
Hit#:1 Entry:26459 Library:WILEY7.LIB

SE:96 Formula:C<sub>10</sub>H<sub>16</sub> CAS:18172-67-3 MolWeight:136 RetIndex:0

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



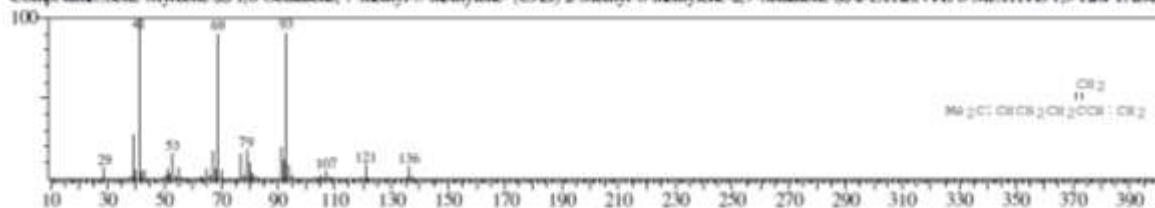
## Senyawa β-myrcene



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

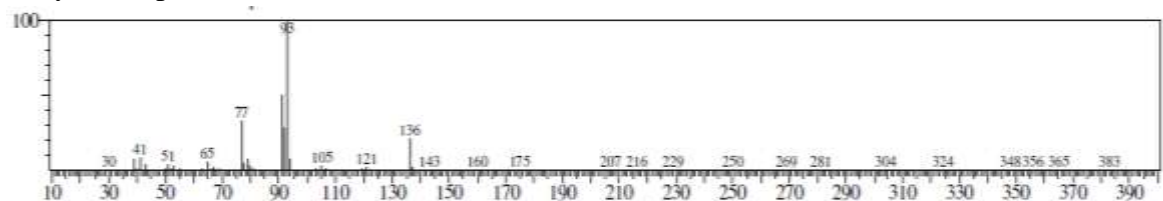
SE:96 Formula:C<sub>10</sub>H<sub>16</sub> CAS:123-35-3 MolWeight:136 RetIndex:0

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



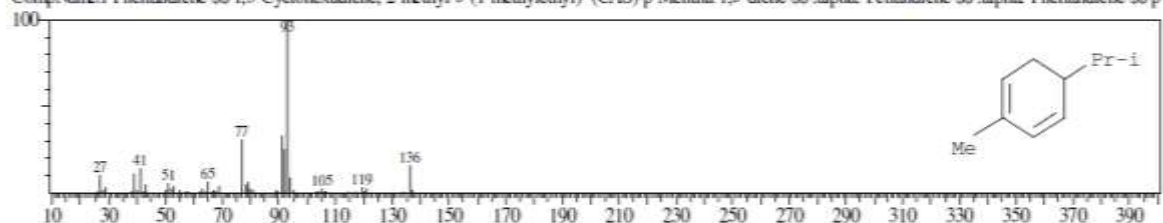
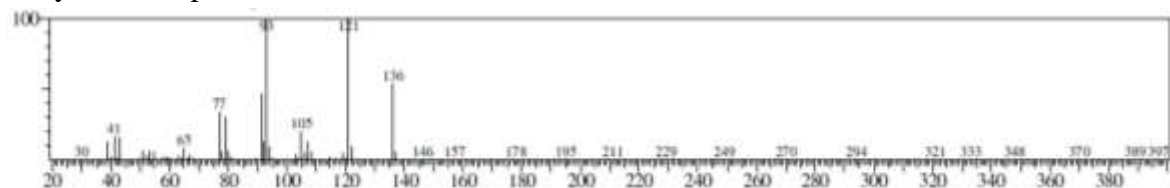


## Senyawa 1-phellandrene



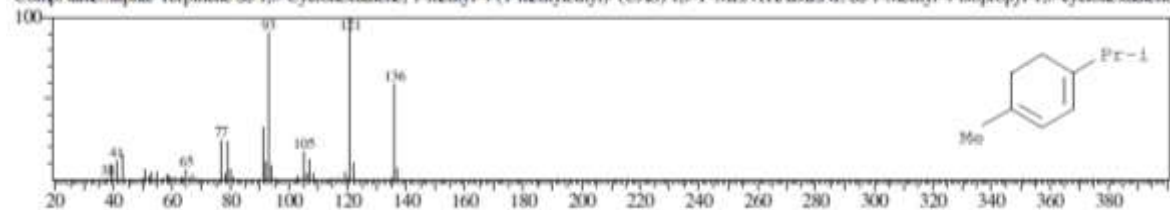
Hit#:1 Entry:26247 Library:WILEY7.LIB

SE95 Formula:C10 H16 CAS:99-83-2 MolWeight:136 RetIndex:0

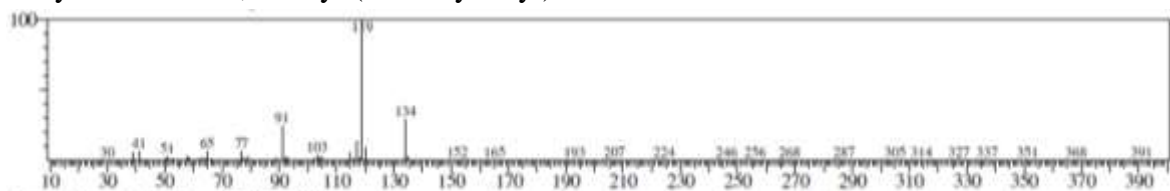
CompName:1-Phellandrene SS 1,3-Cyclohexadiene, 2-methyl-5-(1-methylethyl)- (CAS) p-Mentha-1,5-diene SS  $\alpha$ -Fellandrene SS  $\alpha$ -Phellandrene SS pSenyawa  $\alpha$ -terpinene

Hit#:2 Entry:26227 Library:WILEY7.LIB

SE96 Formula:C10 H16 CAS:99-86-5 MolWeight:136 RetIndex:0

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

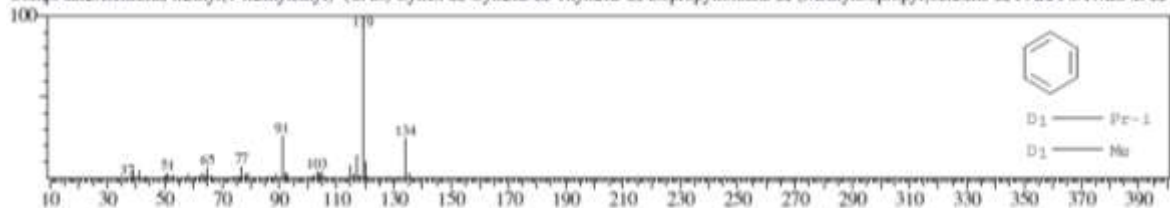
## Senyawa Benzene, methyl (1-methylethyl)



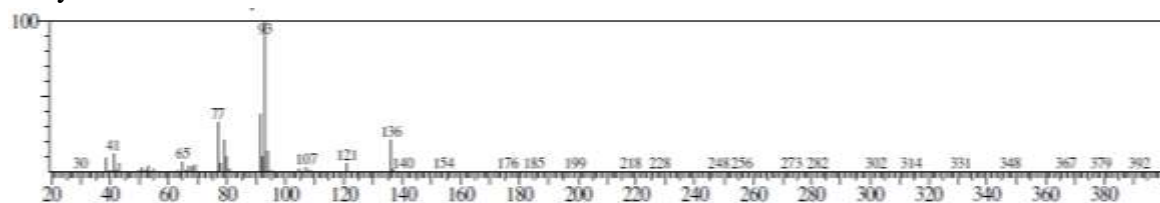
Hit#:1 Entry:24425 Library:WILEY7.LIB

SE97 Formula:C10 H14 CAS:25155-15-1 MolWeight:134 RetIndex:0

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



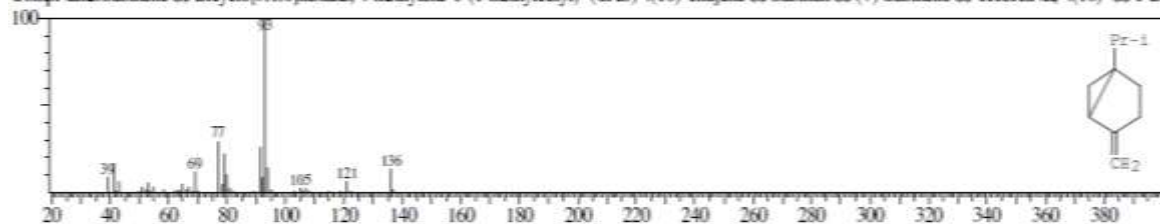
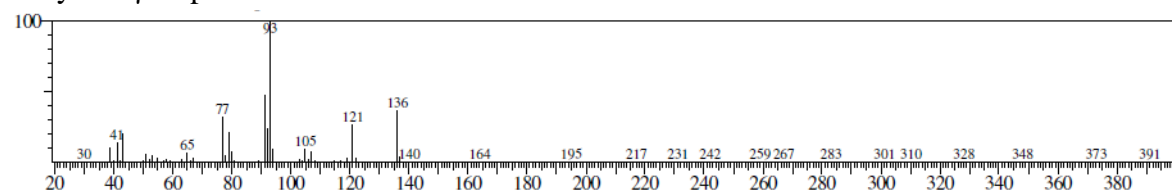
## Senyawa sabinen



Hit# 1 Entry: 26424 Library: WILEY7.LIB

SE96 Formula: C<sub>10</sub>H<sub>16</sub> CAS: 3387-41-5 MolWeight: 136 RetIndex: 0

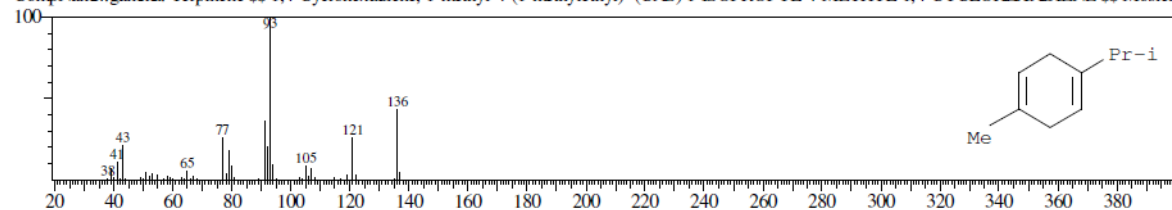
CompName: Sabinene SS Bicyclo[3.1.0]hexane, 4-methylene-1-(1-methylethyl)- (CAS) 4(10)-Thujene SS Sabinen SS (+)-Sabinene SS THUJENE, 4(10)- SS 1-Is

Senyawa  $\gamma$ -terpinene

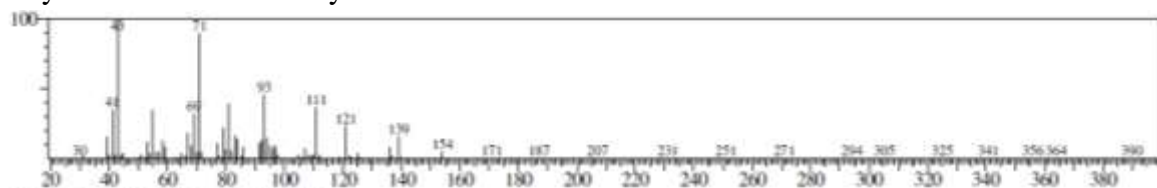
Hit# 1 Entry: 26276 Library: WILEY7.LIB

SE96 Formula: C<sub>10</sub>H<sub>16</sub> CAS: 99-85-4 MolWeight: 136 RetIndex: 0

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



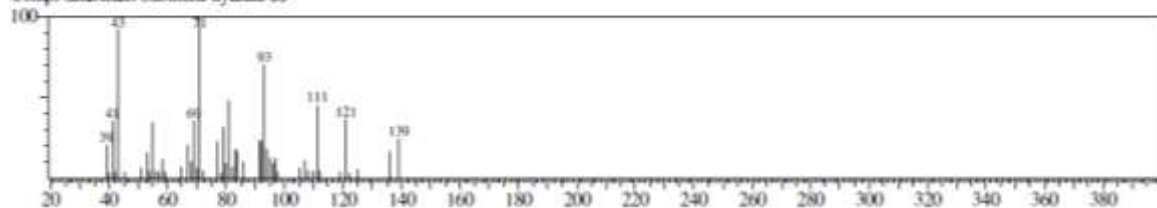
## Senyawa trans Sabinene hydrate

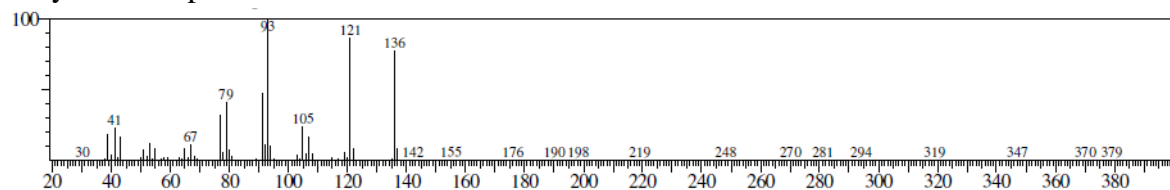


Hit# 1 Entry: 44050 Library: WILEY7.LIB

SE93 Formula: C<sub>10</sub>H<sub>18</sub>O CAS: 17699-16-0 MolWeight: 154 RetIndex: 0

CompName: trans Sabinene hydrate SS

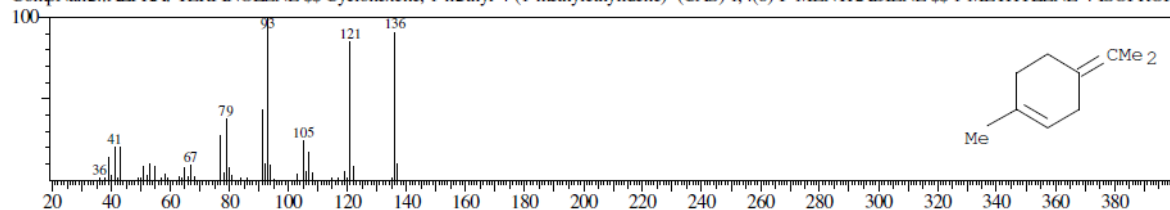


Senyawa  $\alpha$ -terpinolene

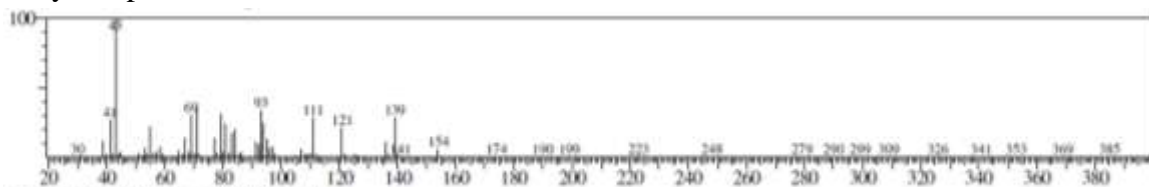
Hit# 1 Entry: 26336 Library: WILEY7.LIB

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

CompName: ALPHA-TERPINOLENE \$\$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethylidene)- (CAS) 1,4(8)-P-MENTHADIENE \$\$ 1-METHYLENE-4-ISOPROP



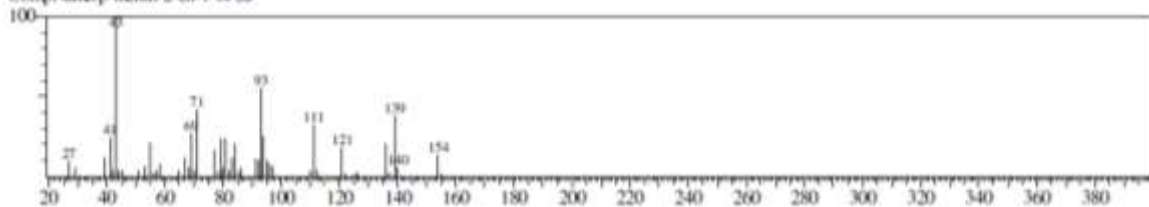
## Senyawa p-menth-2-en-1-ol



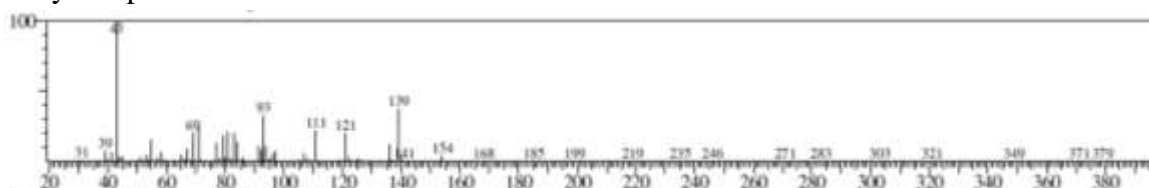
Hit# 1 Entry: 44042 Library: WILEY7.LIB

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

CompName: p-menth-2-en-1-ol \$\$



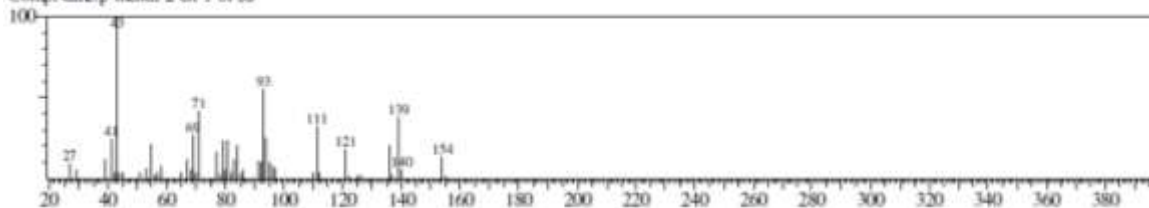
## Senyawa p-menth-2-en-1-ol



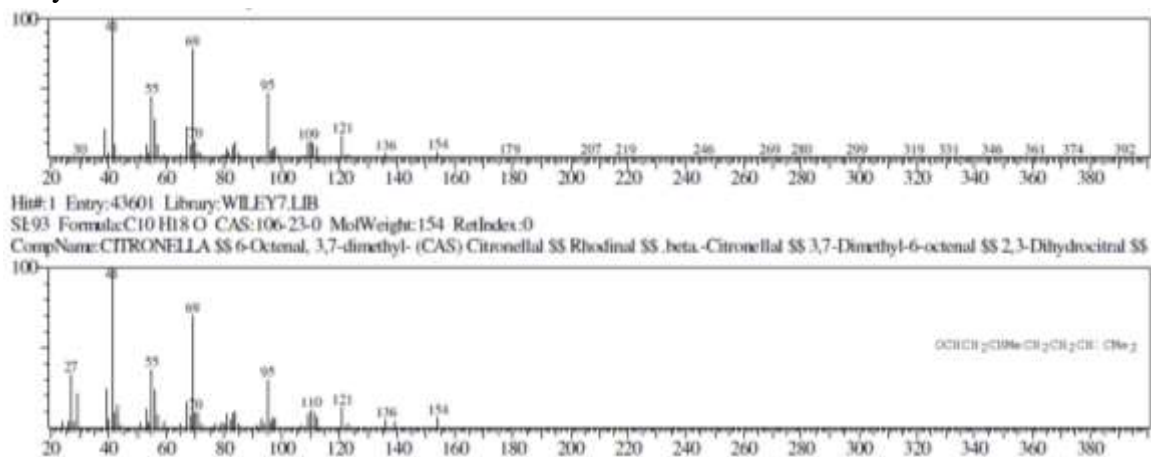
Hit# 1 Entry: 44042 Library: WILEY7.LIB

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

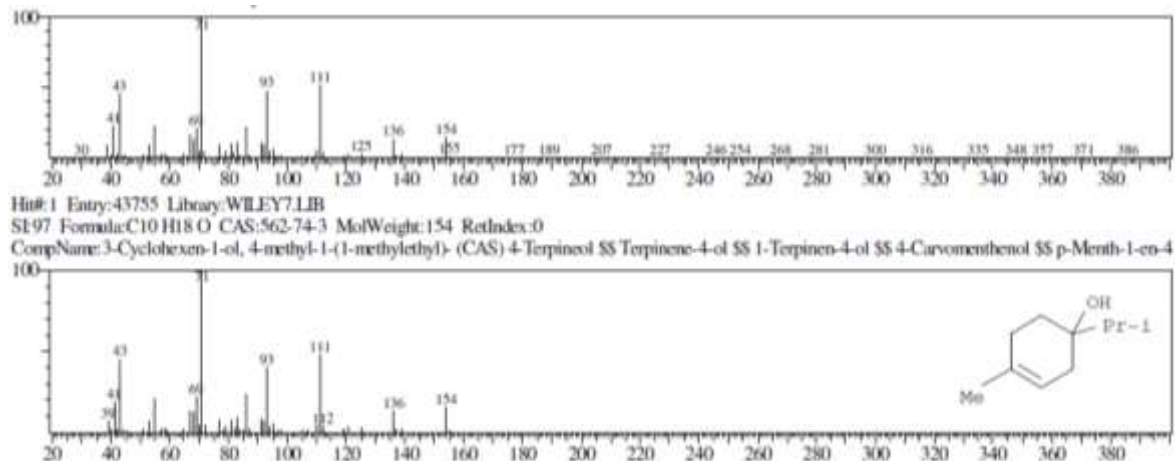
CompName: p-menth-2-en-1-ol \$\$



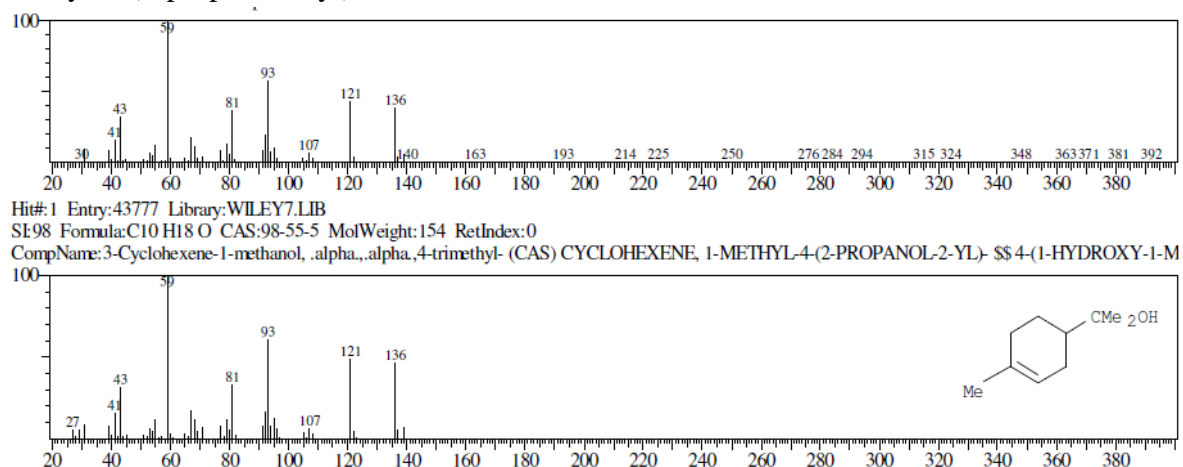
## Senyawa citronella

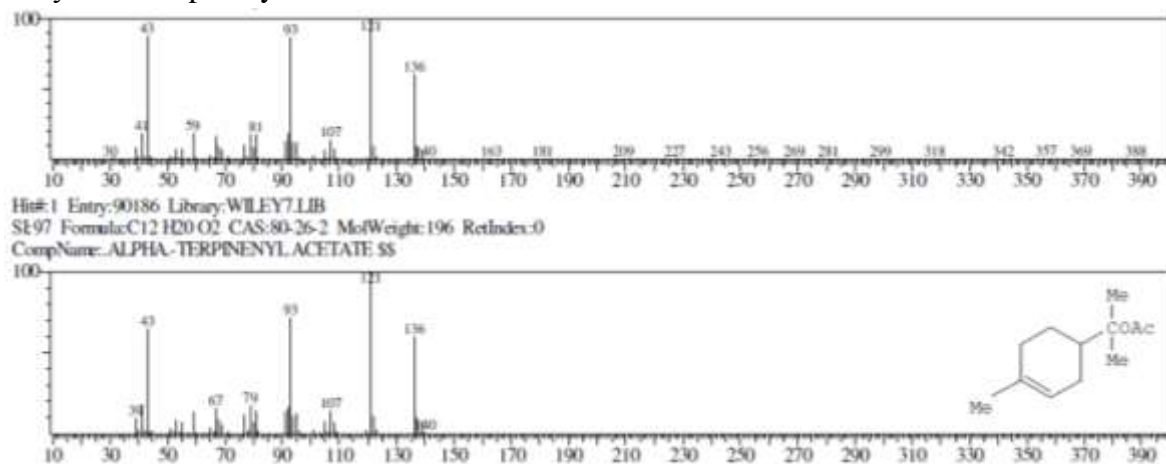


## Senyawa terpinene-4-ol

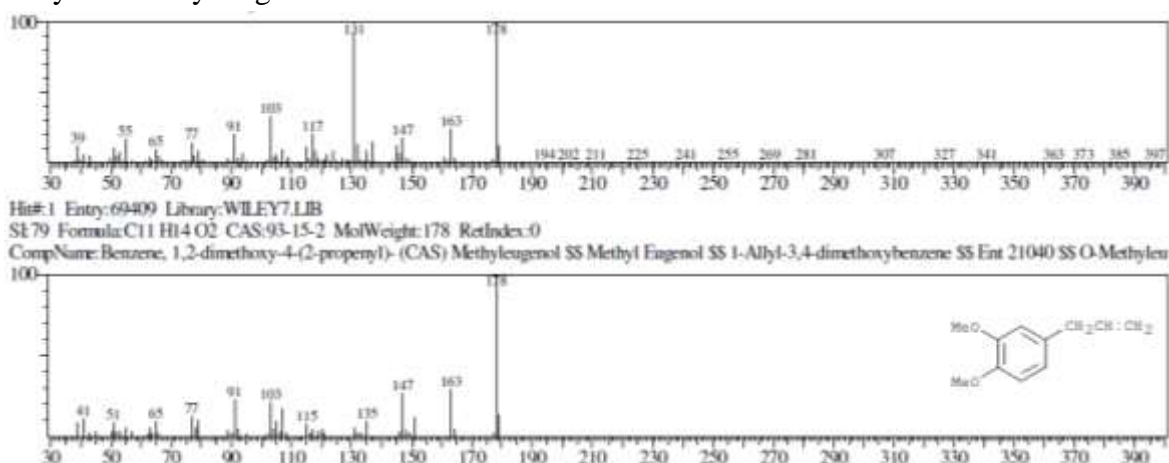


## Senyawa 3-Cyclohexene-1-methanol, alpha 4-trimethyl-(CAS)cyclohexene, 1-methyl-4-(2-propanol-2-yl)

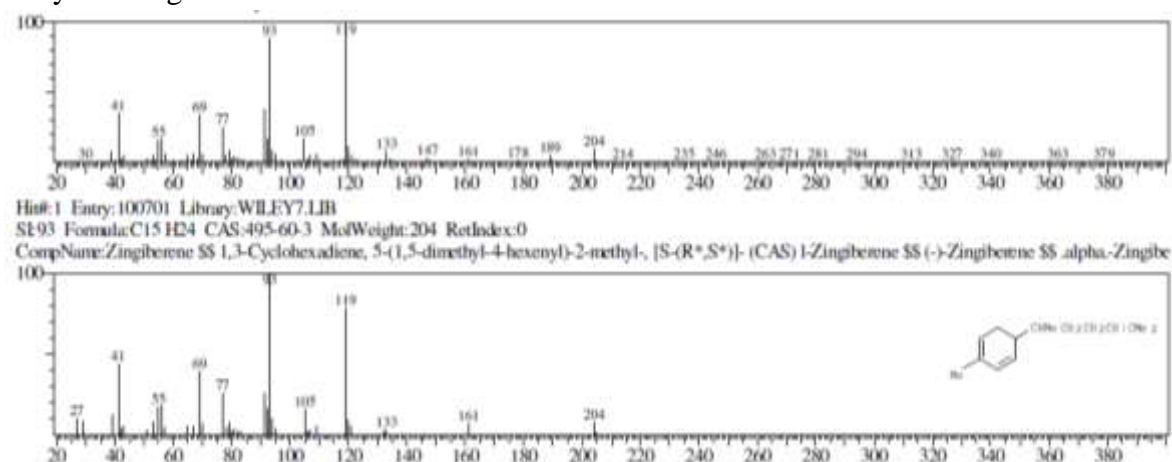


Senyawa  $\alpha$ -terpinenyl acetate

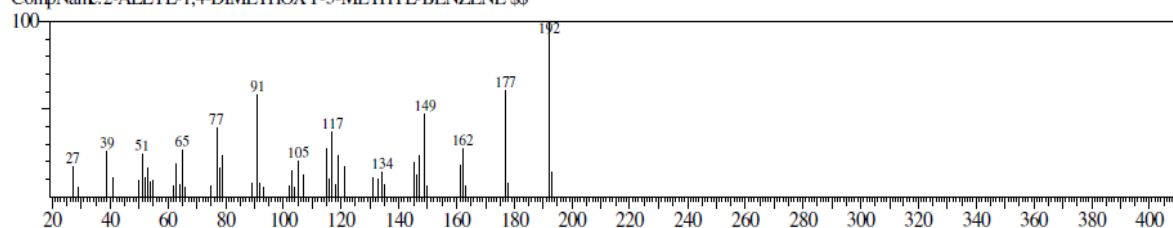
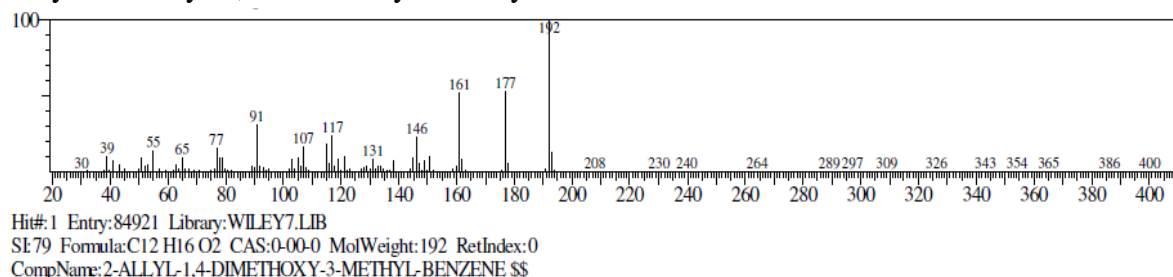
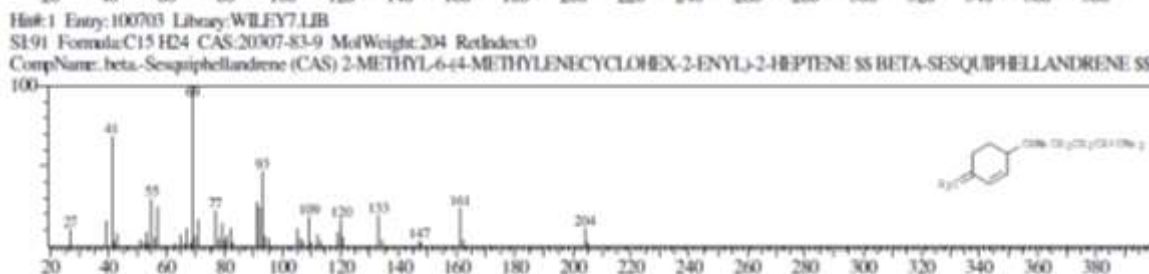
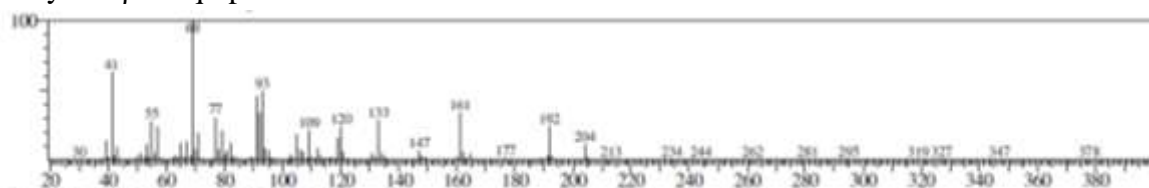
## Senyawa methyl eugenol



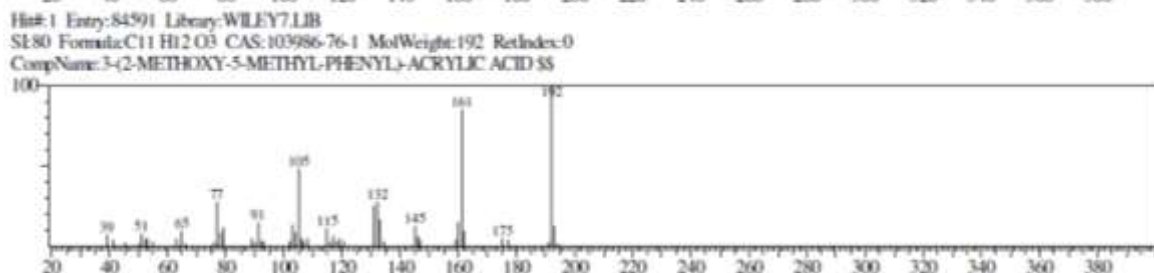
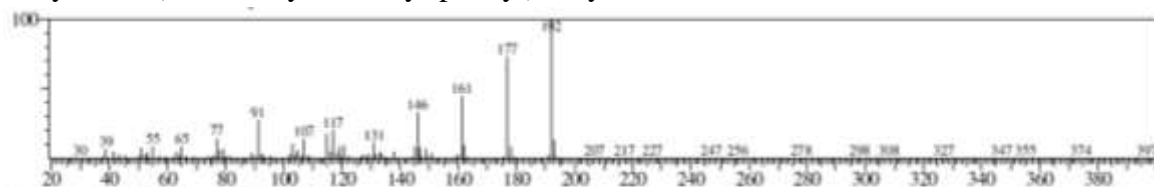
## Senyawa zingiberene



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

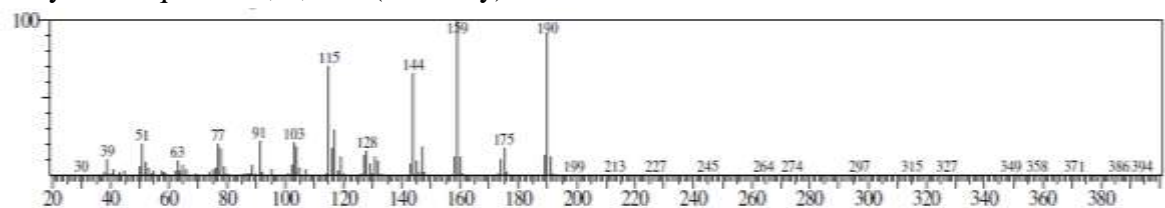
Senyawa  $\beta$ -sesquiphellandrene

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





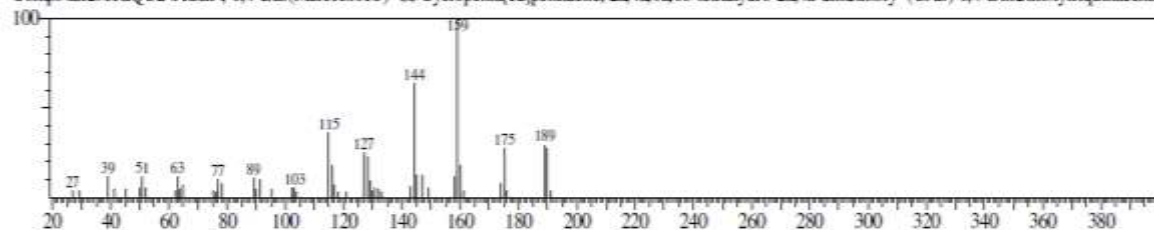
### Senyawa triquinacen, 1,4-bis(methoxy)



Hit# 1 Entry: 82703 Library: WILEY7.LIB

SE 84 Formula: C<sub>12</sub> H<sub>14</sub> O<sub>2</sub> CAS: 60958-96-5 MolWeight: 190 RetIndex: 0

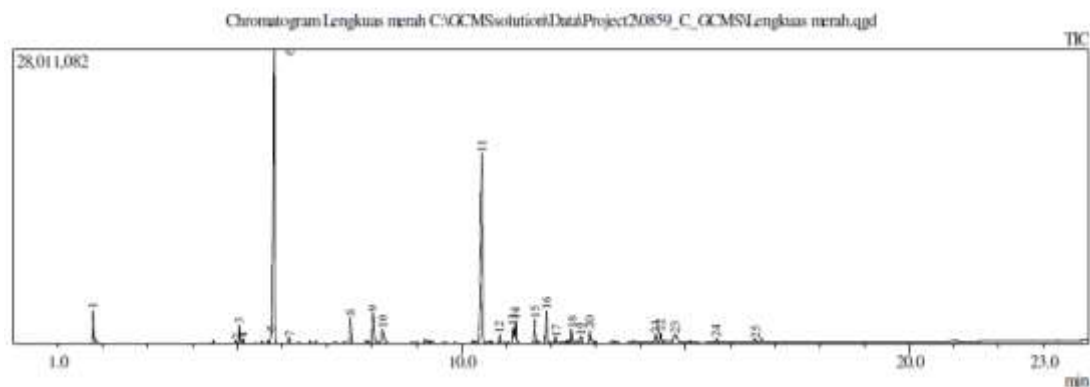
CompName: TRIQUINACEN, 1,4-BIS(METHOXY)- SS Cyclopenta[cd]pentalene, 2a,4a,6a,6b-tetrahydro-2a,4a-dimethoxy- (CAS) 1,4-Dimethoxytriquinacene :



### Kromatogram minyak atsiri lengkuas merah

Sample Information

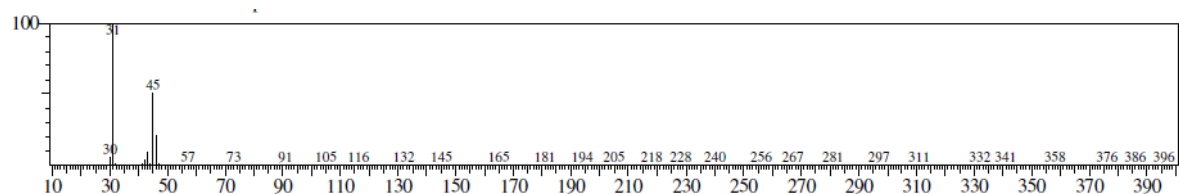
Analyzed by	: Admin
Analyzed	: 3/3/2017 12:21:34 PM
Sample Name	: Lengkuas merah
Sample ID	: 1
Injection Volume	: 0.10
Data File	: C:\GCMSsolution\Data\Project20859_C_GCMS\Lengkuas merah.qgd
Tuning File	: C:\GCMSsolution\System1\Tune1\Tuning 14112016.qgt



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

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

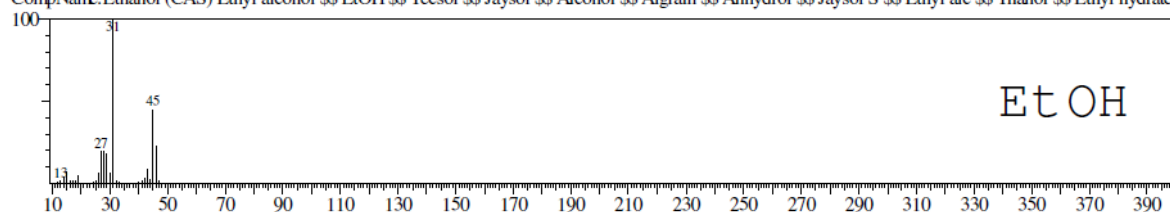
## Senyawa Tecsol



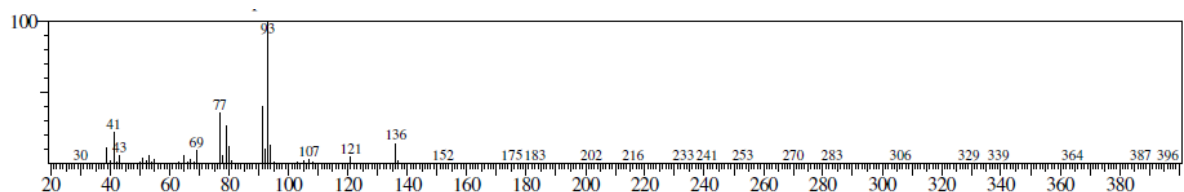
Hit#:1 Entry:266 Library:WILEY7.LIB

SE98 Formula:C2 H6 O CAS:64-17-5 MolWeight:46 RetIndex:0

CompName: Ethanol (CAS) Ethyl alcohol \$\$ EtOH \$\$ Tecsol \$\$ Jaysol \$\$ Alcohol \$\$ Algrain \$\$ Anhydrol \$\$ Jaysol S \$\$ Ethyl alc \$\$ Thanol \$\$ Ethyl hydrate :



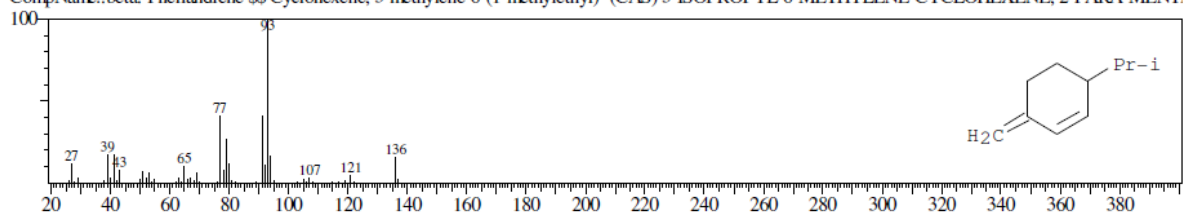
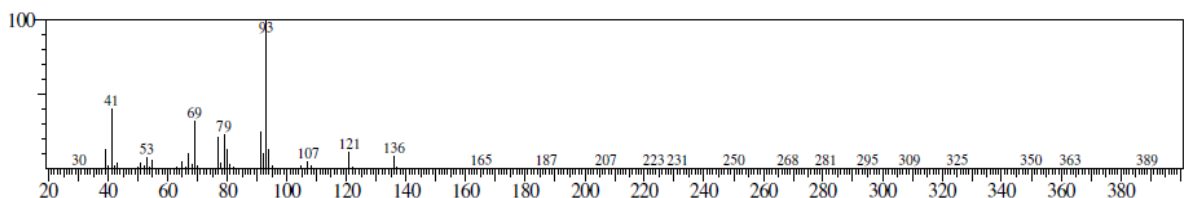


Senyawa  $\beta$ -Phellandrene

Hit#:1 Entry:26356 Library:WILEY7.LIB

SE:97 Formula:C<sub>10</sub>H<sub>16</sub> CAS:555-10-2 MolWeight:136 RetIndex:0

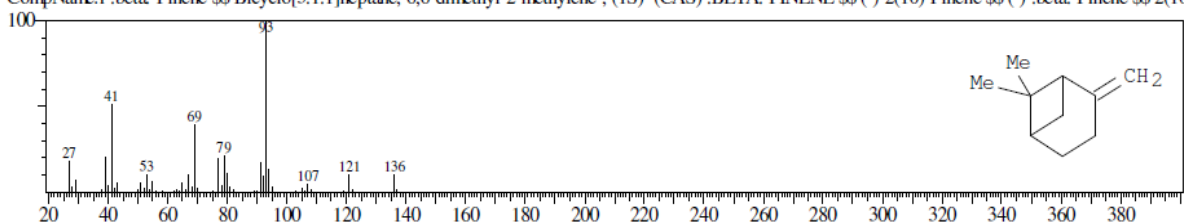
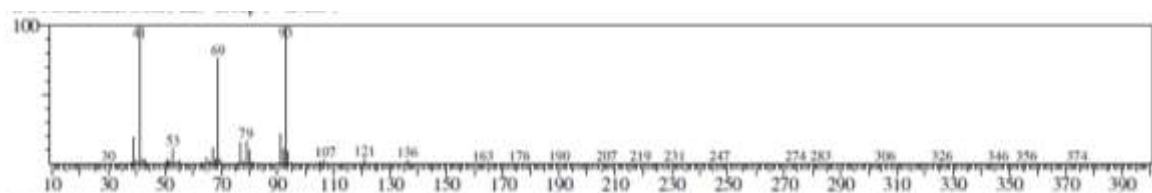
CompName:beta-Phellandrene \$\$ Cyclohexene, 3-methylene-6-(1-methylethyl)- (CAS) 3-ISOPROPYL-6-METHYLENE-CYCLOHEXENE, 2-PARA-MENTH

Senyawa  $\beta$ -pinene

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

SE:96 Formula:C<sub>10</sub>H<sub>16</sub> CAS:18172-67-3 MolWeight:136 RetIndex:0

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

Senyawa  $\beta$ -Myrcene

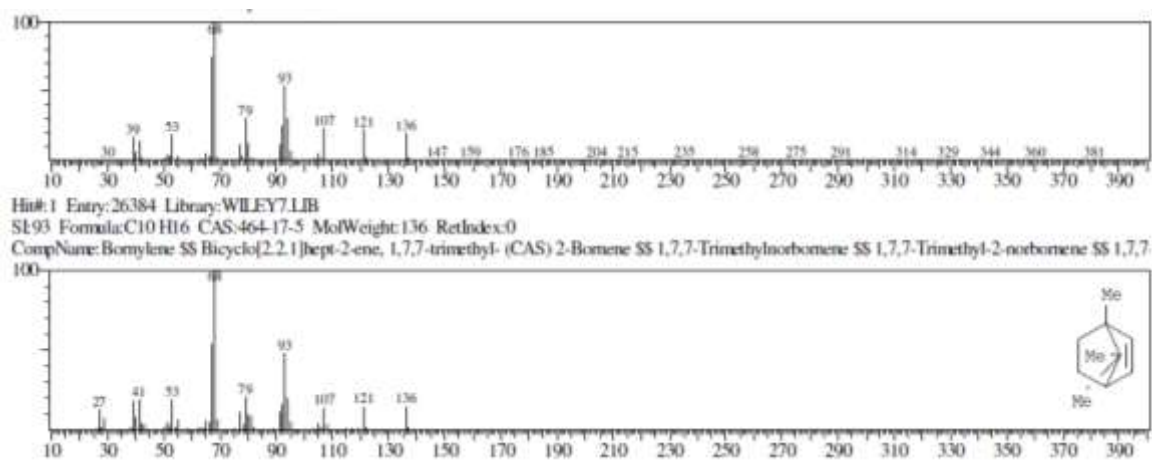
Hit#:1 Entry:26198 Library:WILEY7.LIB

SE:96 Formula:C<sub>10</sub>H<sub>16</sub> CAS:123-35-3 MolWeight:136 RetIndex:0

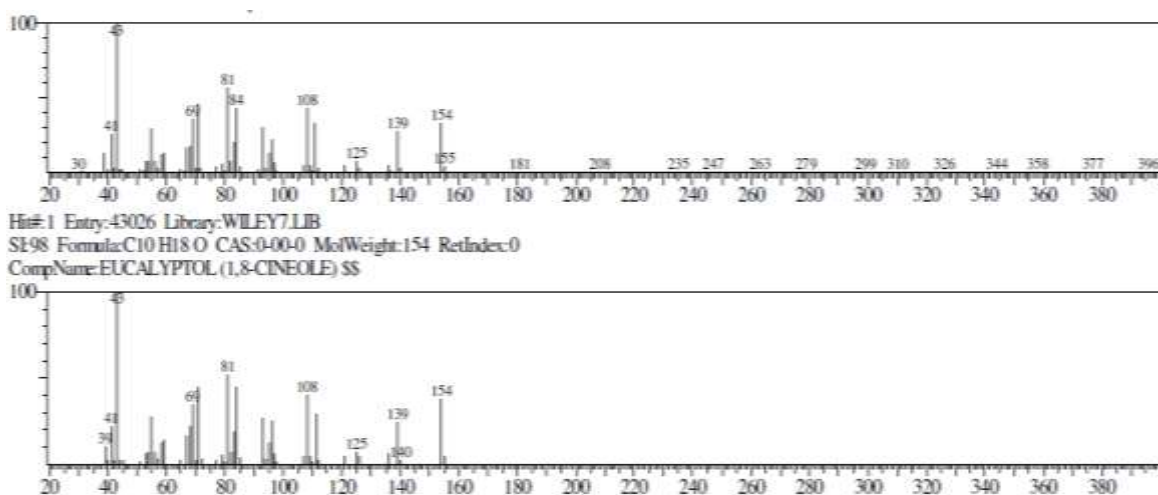
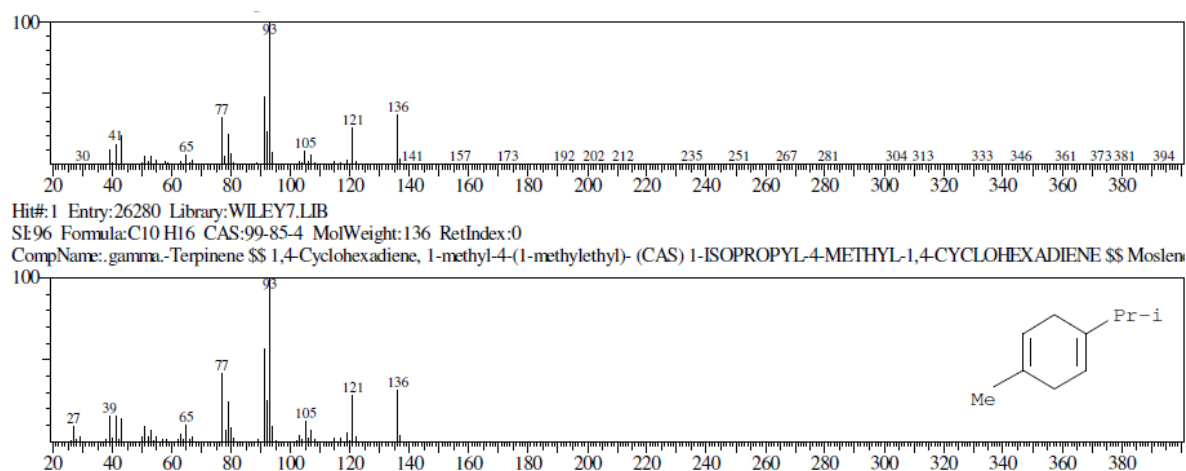
CompName:beta-Myrcene \$\$ 1,6-Octadiene, 7-methyl-3-methylene- (CAS) 2-Methyl-6-methylene-2,7-octadiene \$\$ 2-ETHENYL-6-METHYL-1,5-HEPTADIENE



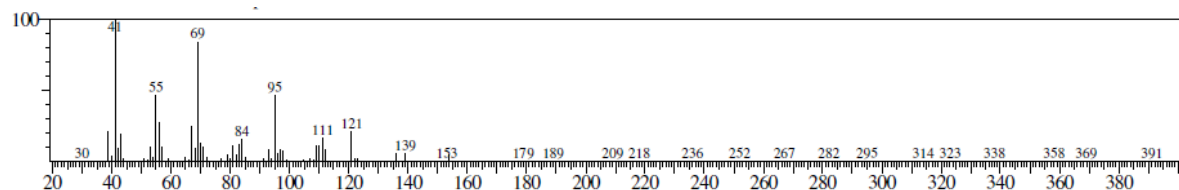
## Senyawa bornylene



## Senyawa eucalyptol (1,8-cineole)

Senyawa  $\gamma$ -terpinene

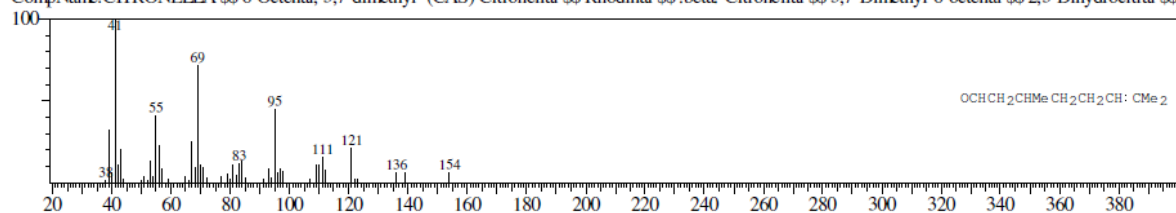
## Senyawa citronella



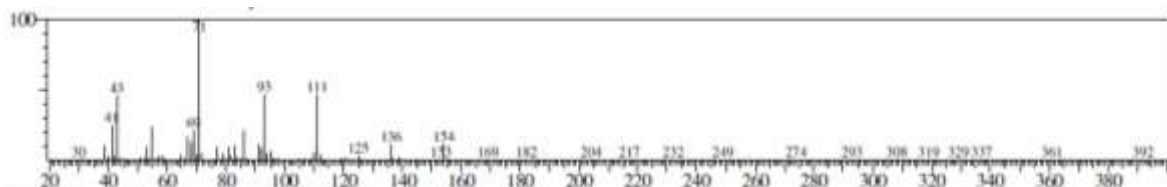
Hit# 1 Entry: 43606 Library: WILEY7.LIB

SE97 Formula: C<sub>10</sub> H<sub>18</sub> O CAS: 106-23-0 MolWeight: 154 RetIndex: 0

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



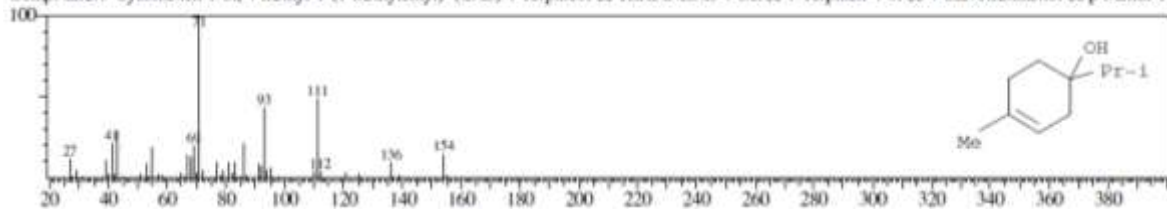
## Senyawa Terpinen-4-ol



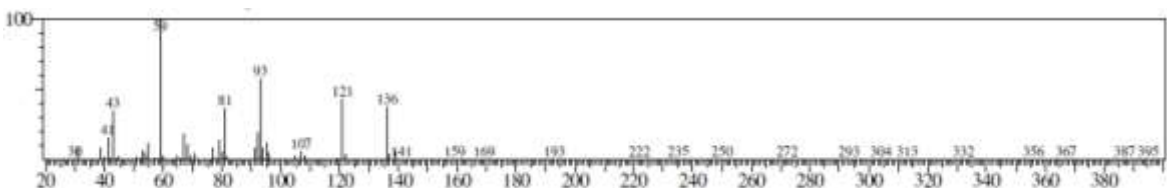
Hit# 1 Entry: 43754 Library: WILEY7.LIB

SE96 Formula: C<sub>10</sub> H<sub>18</sub> O CAS: 562-74-3 MolWeight: 154 RetIndex: 0

CompName: 3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)- (CAS) 4-Terpineol \$\$ TERPINENE-4-OL, \$\$ 1-Terpinen-4-ol \$\$ 4-Carvomenthenol \$\$ p-Menth-1-



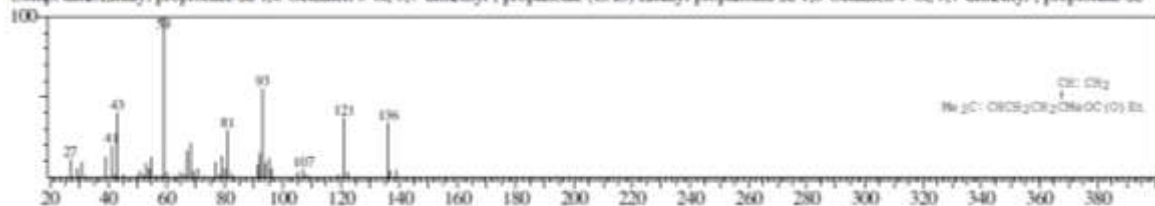
## Senyawa linalyl propionate



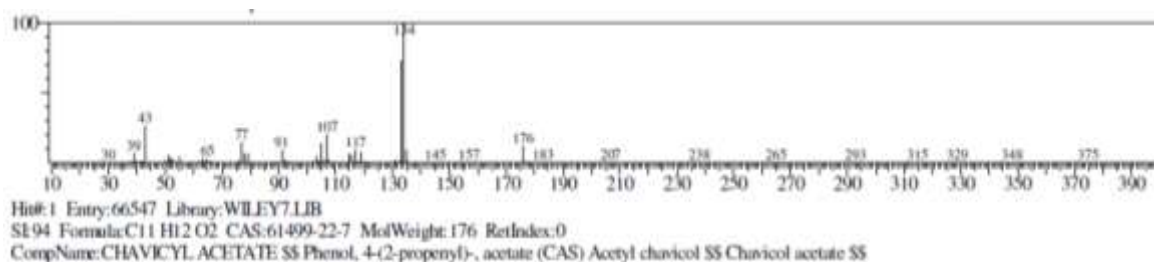
Hit# 2 Entry: 108817 Library: WILEY7.LIB

SE96 Formula: C<sub>13</sub> H<sub>22</sub> O<sub>2</sub> CAS: 144-39-8 MolWeight: 210 RetIndex: 0

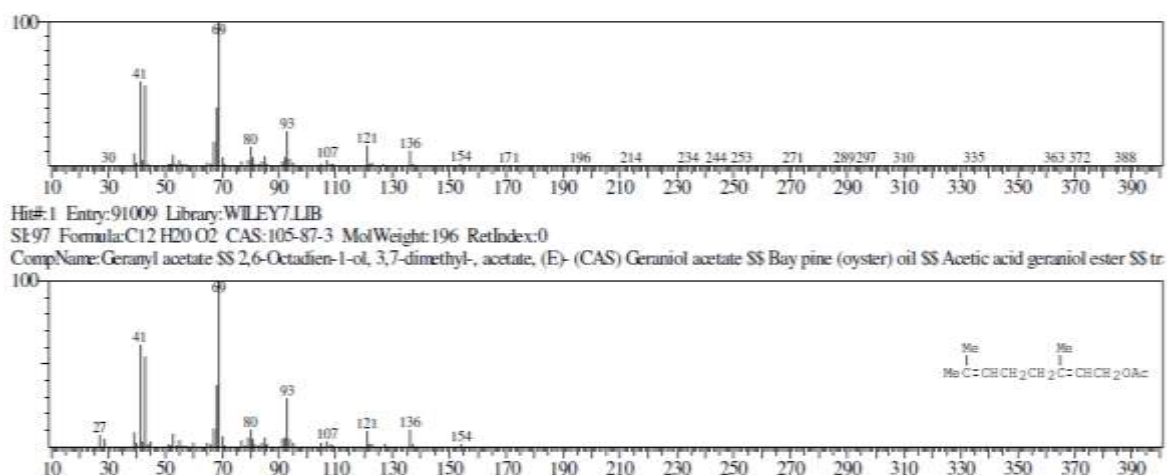
CompName: Linalyl propionate \$\$ 1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-, propionate (CAS) Linalyl propionate \$\$ 1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-, propionate \$\$



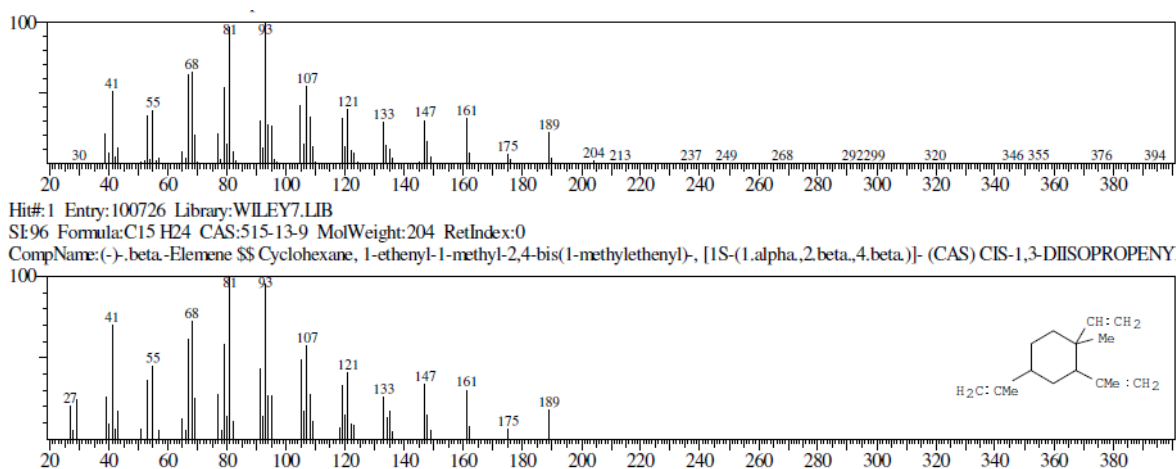
## Senyawa Chavicol acetate



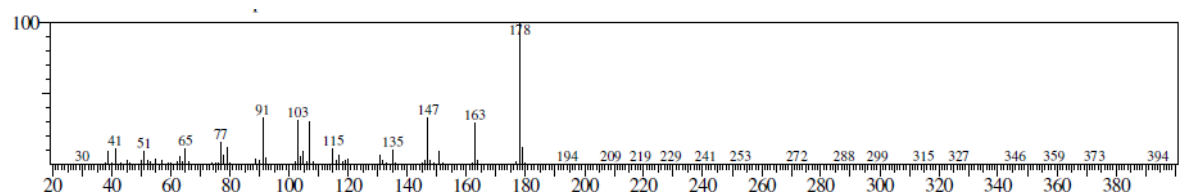
## Senyawa geranyl acetate



## Senyawa β-elemene



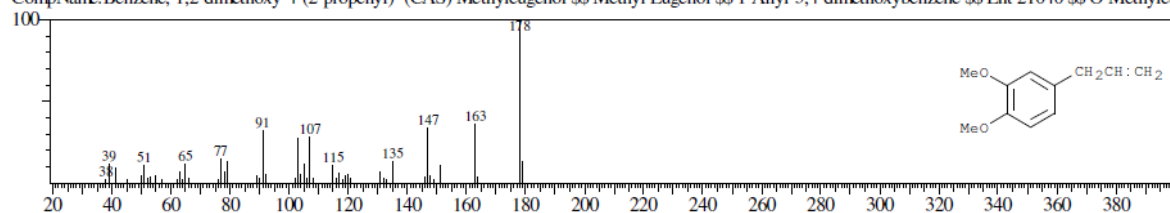
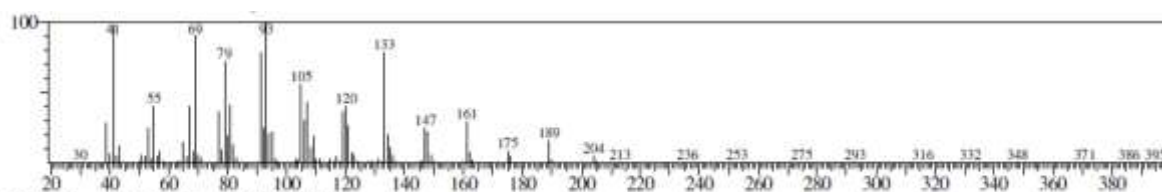
## Senyawa methyl eugenol



Hit# 1 Entry: 69405 Library: WILEY7.LIB

SE: 97 Formula: C<sub>11</sub> H<sub>14</sub> O<sub>2</sub> CAS: 93-15-2 MolWeight: 178 RetIndex: 0

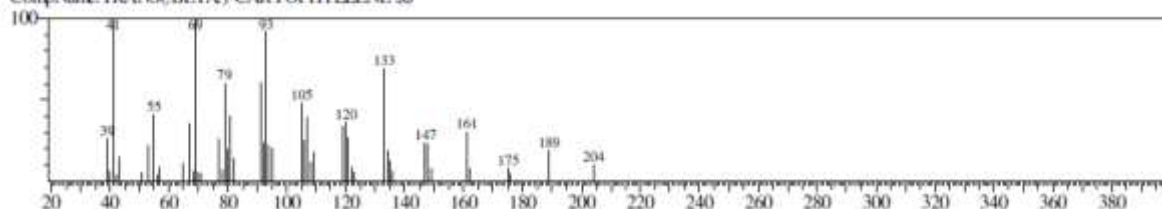
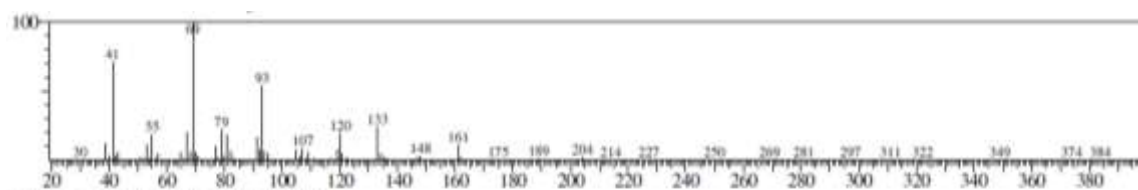
CompName: Benzene, 1,2-dimethoxy-4-(2-propenyl)- (CAS) Methyleugenol \$\$ Methyl Eugenol \$\$ 1-Allyl-3,4-dimethoxybenzene \$\$ Ent 21040 \$\$ O-Methyleu

Senyawa trans- $\beta$ -caryophyllene

Hit# 1 Entry: 100327 Library: WILEY7.LIB

SE: 97 Formula: C<sub>15</sub> H<sub>24</sub> CAS: 0-00-0 MolWeight: 204 RetIndex: 0

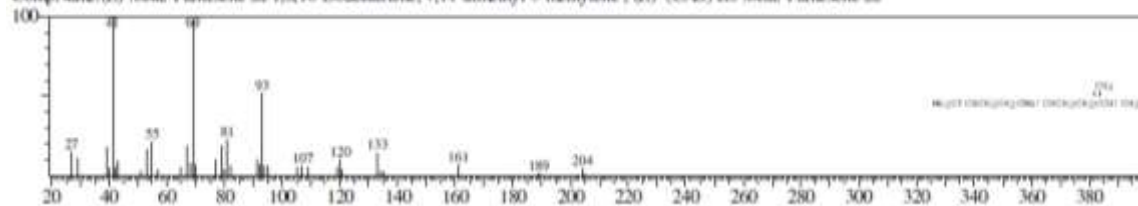
CompName: TRANS-(BETA)-CARYOPHYLLENE \$\$

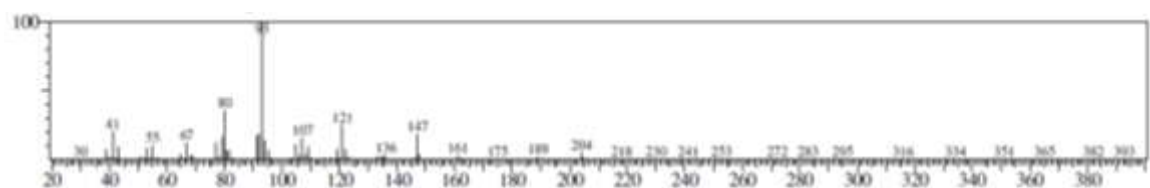
Senyawa  $\beta$ -farnesene

Hit# 1 Entry: 100166 Library: WILEY7.LIB

SE: 92 Formula: C<sub>15</sub> H<sub>24</sub> CAS: 28973-97-9 MolWeight: 204 RetIndex: 0

CompName: (Z)-beta-Farnesene \$\$ 1,6,10-Dodecatriene, 7,11-dimethyl-3-methylene-, (Z)- (CAS) cis-beta-Farnesene \$\$

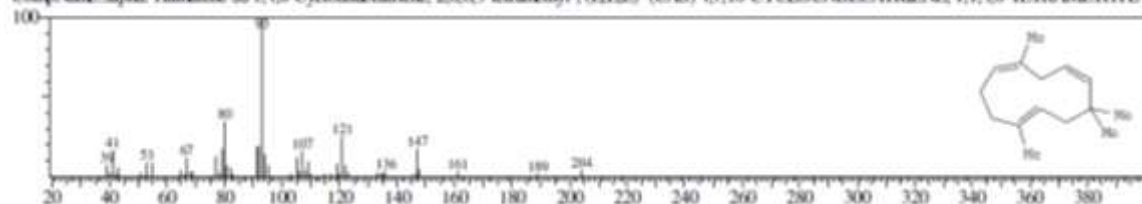


Senyawa  $\alpha$ -humulene

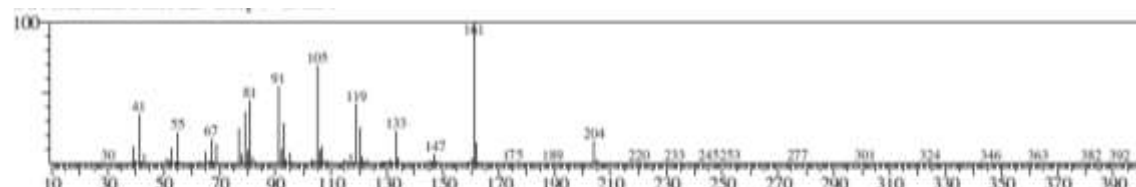
Hint:1 Entry:100734 Library:WILEY7.LIB

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

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



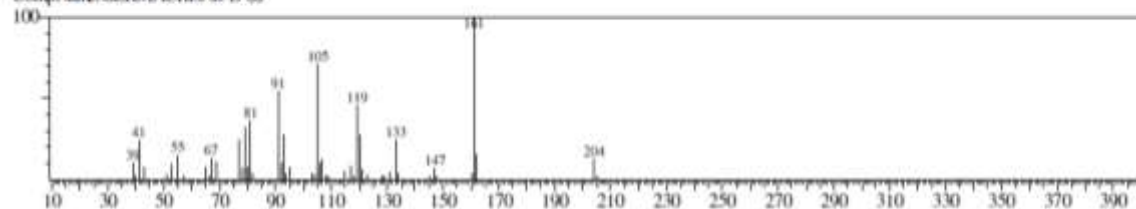
## Senyawa germacrene-d



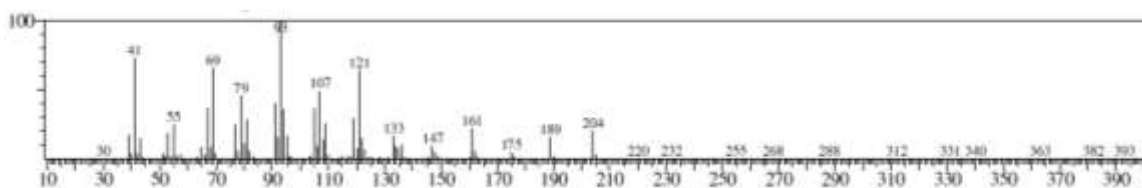
Hint:1 Entry:100272 Library:WILEY7.LIB

SE:97 Formula:C15 H24 CAS:23086-74-5 MolWeight:204 RetIndex:0

CompName:GERMACRENE-D SS



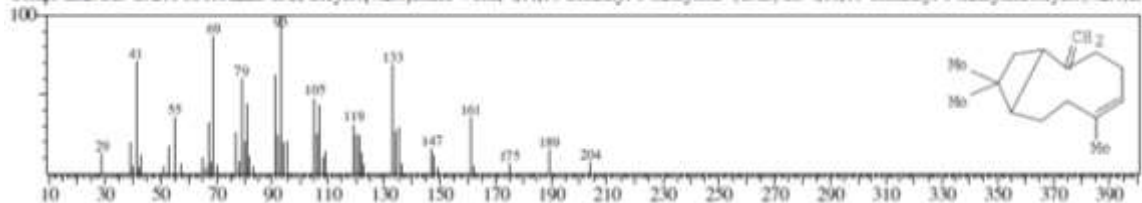
## Senyawa cis-caryophyllene



Hint:2 Entry:100771 Library:WILEY7.LIB

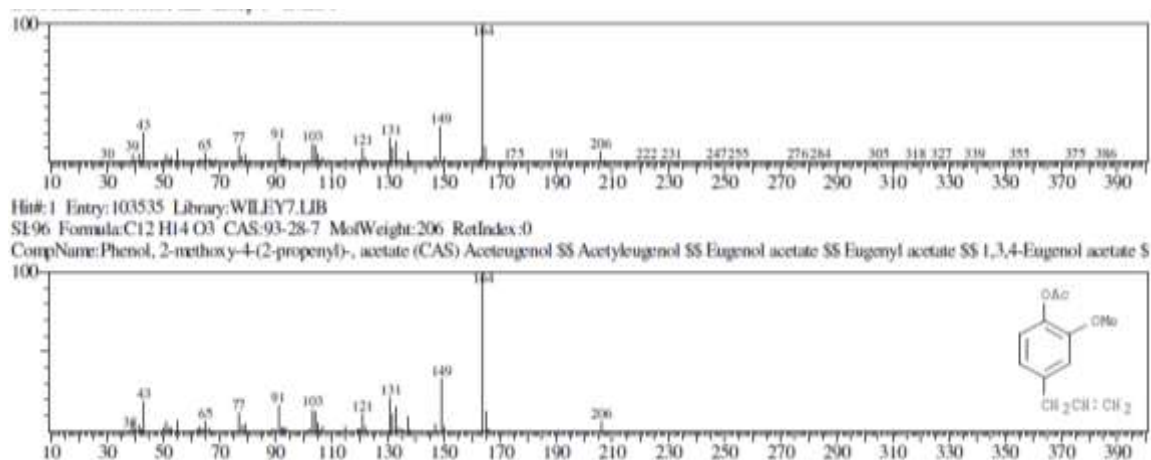
SE:91 Formula:C15 H24 CAS:13877-93-5 MolWeight:204 RetIndex:0

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

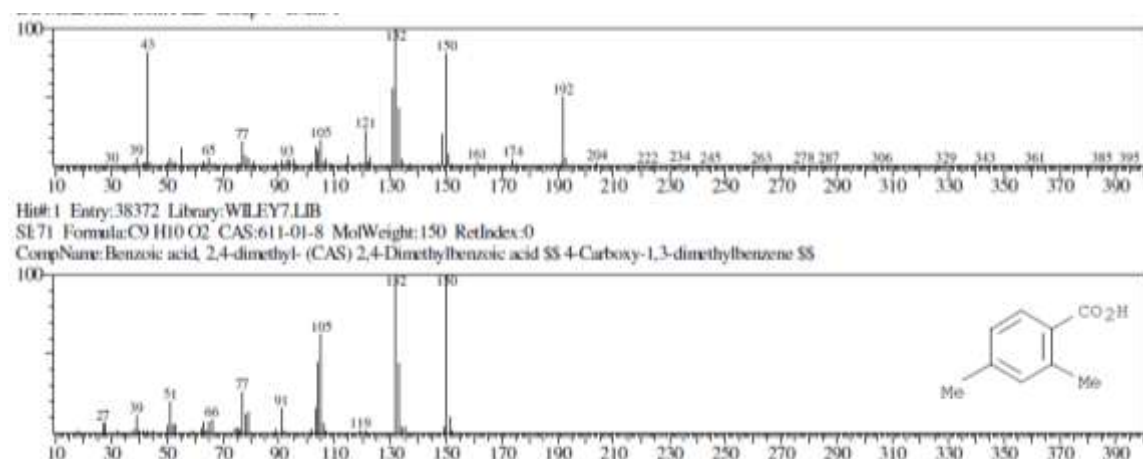
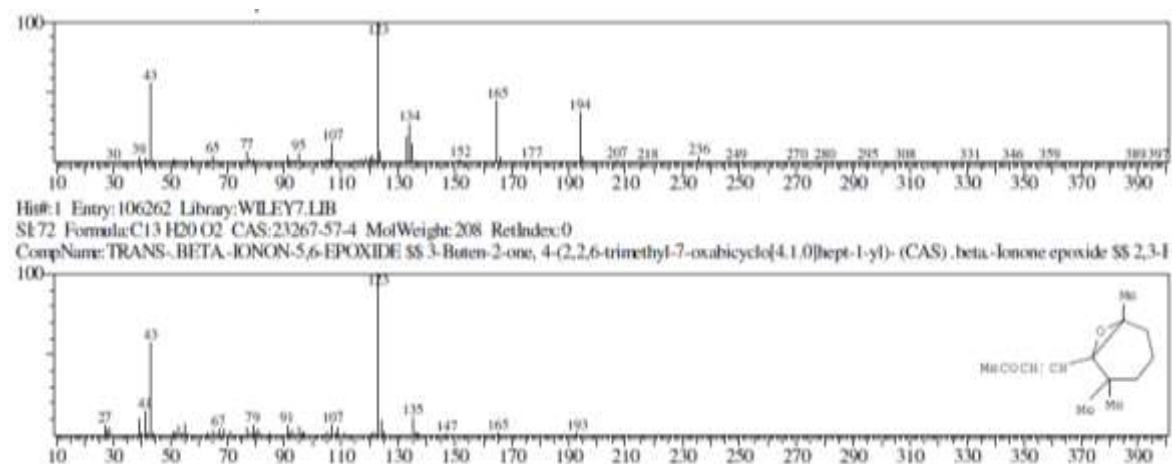




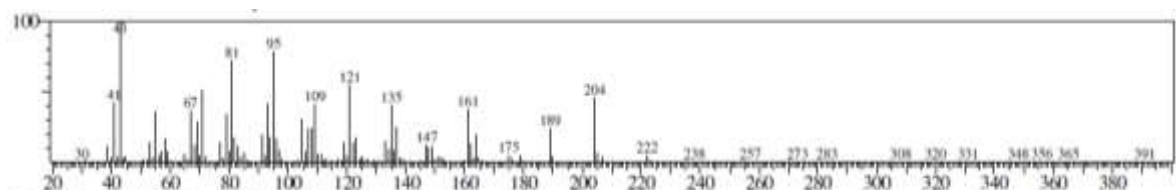
## Senyawa acetyl eugenol



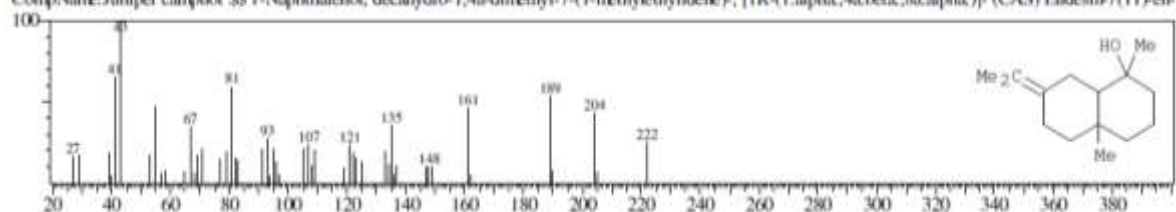
## Senyawa 4-Carboxy-1,3-dimethylbenzene

Senyawa trans- $\beta$ -ionon-5,6-epoxide

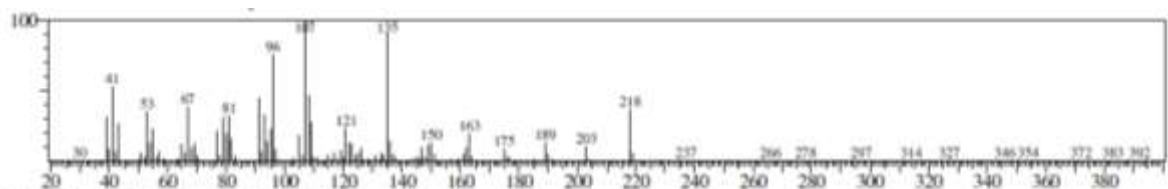
## Senyawa Juniper camphor



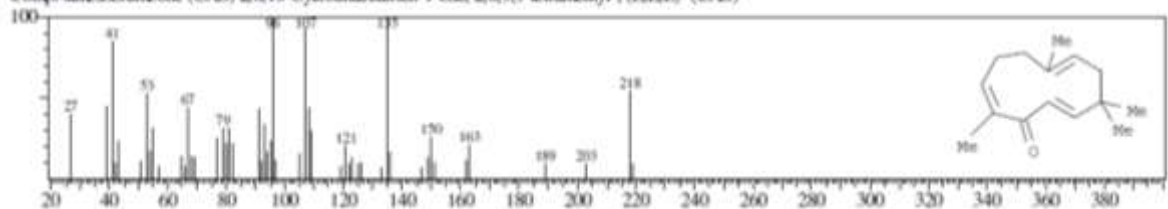
Hit# 1 Entry: 124034 Library: WILEY7.LIB  
 SI: 87 Formula: C<sub>15</sub> H<sub>26</sub> O CAS: 473-04-1 MolWeight: 222 RetIndex: 0  
 CompName: Juniper camphor \$S\$ 1-Naphthalenol, decahydro-1,4a-dimethyl-7-(1-methylethylidene)-, [1R-(1.alpha.,4a.beta.,8a.alpha.)]- (CAS) Endom-7(11)-en-



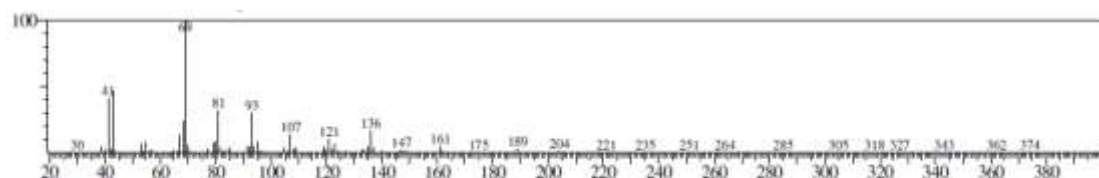
## Senyawa Zerumbone



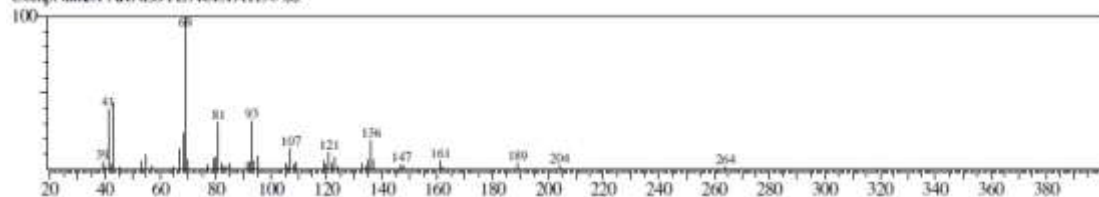
Hit# 1 Entry: 118285 Library: WILEY7.LIB  
 SI: 93 Formula: C<sub>15</sub> H<sub>22</sub> O CAS: 471-05-6 MolWeight: 218 RetIndex: 0  
 CompName: Zerumbone (CAS) 2,6,10-Cycloundecatrien-1-one, 2,6,9,9-tetramethyl-, (E,E,E)- (CAS)



## Senyawa farnesyl acetate



Hit# 1 Entry: 173145 Library: WILEY7.LIB  
 SI: 98 Formula: C<sub>17</sub> H<sub>28</sub> O<sub>2</sub> CAS: 0-00-0 MolWeight: 264 RetIndex: 0  
 CompName: FARNESYL ACETATE \$S\$





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

Replikasi	Konsentrasi (%)	Minyak atsiri tunggal (mm)		Kombinasi minyak atsiri (mm) Laos : Bangle		
		Bangle	Laos	1:1	1:3	3:1
I	50	14,60	12,00	10,60	12,00	10,00
	25	13,60	10,00	9,30	11,60	8,60
	12,5	11,60	9,60	7,60	11,00	7,60
	K(+)	22,60	21,30	22,00	22,60	21,30
	K(-)	0	0	0	0	0
II	50	13,30	11,30	11,00	12,60	9,60
	25	13,00	10,60	9,00	10,60	9,00
	12,5	11,00	9,00	8,00	10,60	8,30
	K(+)	23,00	21,60	22,60	21,60	23,00
	K(-)	0	0	0	0	0
III	50	13,60	11,60	10,00	11,30	9,00
	25	12,30	11,00	8,60	11,00	8,30
	12,5	10,60	8,60	8,30	10,00	8,00
	K(+)	24,00	22,60	23,00	22,60	23,00
	K(-)	0	0	0	0	0

**Perhitungan rata-rata diameter hambatan :**

**Diameter tunggal :**

- Kloramfenikol (+) :

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

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

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

- Bangle (50%) :

$$\text{Replikasi I} = \frac{1,5 + 1,4 + 1,5}{3} = 1,46 \text{ cm} = 14,60 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,3 + 1,3 + 1,4}{3} = 1,33 \text{ cm} = 13,30 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,4 + 1,4 + 1,3}{3} = 1,36 \text{ cm} = 13,60 \text{ mm.}$$

- Bangle (25%) :

$$\text{Replikasi I} = \frac{1,4 + 1,3 + 1,4}{3} = 1,36 \text{ cm} = 13,60 \text{ mm.}$$

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

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,2 + 1,3 + 1,2}{3} = 1,23 \text{ cm} = 12,30 \text{ mm.}$$

- Bangle (12,5%) :
- |               |                               |           |             |
|---------------|-------------------------------|-----------|-------------|
| Replikasi I   | $= \frac{1,1 + 1,2 + 1,2}{3}$ | = 1,16 cm | = 11,60 mm. |
| Replikasi II  | $= \frac{1,1 + 1 + 1,2}{3}$   | = 1,1 cm  | = 11 mm.    |
| Replikasi III | $= \frac{1,1 + 1,1 + 1}{3}$   | = 1,06 cm | = 10,60 mm. |
- Lengkuas merah (50%) :
- |               |                               |           |             |
|---------------|-------------------------------|-----------|-------------|
| Replikasi I   | $= \frac{1,2 + 1,2 + 1,2}{3}$ | = 1,2 cm  | = 12 mm.    |
| Replikasi II  | $= \frac{1,2 + 1,1 + 1,1}{3}$ | = 1,13 cm | = 11,30 mm. |
| Replikasi III | $= \frac{1,2 + 1,2 + 1,1}{3}$ | = 1,16 cm | = 11,60 mm. |
- Lengkuas merah (25%) :
- |               |                               |           |             |
|---------------|-------------------------------|-----------|-------------|
| Replikasi I   | $= \frac{0,9 + 1 + 1,1}{3}$   | = 1 cm    | = 10 mm.    |
| Replikasi II  | $= \frac{1,1 + 1 + 1,1}{3}$   | = 1,06 cm | = 10,60 mm. |
| Replikasi III | $= \frac{1,1 + 1,1 + 1,1}{3}$ | = 1,1 cm  | = 11 mm.    |
- Lengkuas merah (12,5%) :
- |               |                               |           |            |
|---------------|-------------------------------|-----------|------------|
| Replikasi I   | $= \frac{0,9 + 1 + 0,9}{3}$   | = 0,96 cm | = 9,60 mm. |
| Replikasi II  | $= \frac{0,9 + 0,9 + 0,9}{3}$ | = 0,9 cm  | = 9 mm.    |
| Replikasi III | $= \frac{0,8 + 0,9 + 0,9}{3}$ | = 0,86 cm | = 8,60 mm. |

**Diameter kombinasi :**

- Kombinasi 1:1 (50%):
- |               |                               |           |             |
|---------------|-------------------------------|-----------|-------------|
| Replikasi I   | $= \frac{1,1 + 1 + 1,1}{3}$   | = 1,06 cm | = 10,60 mm. |
| Replikasi II  | $= \frac{1,1 + 1,1 + 1,1}{3}$ | = 1,1 cm  | = 11 mm.    |
| Replikasi III | $= \frac{1,1 + 0,9 + 1}{3}$   | = 1 cm    | = 10 mm.    |
- Kombinasi 1:1 (25%):
- |               |                               |           |            |
|---------------|-------------------------------|-----------|------------|
| Replikasi I   | $= \frac{0,9 + 1 + 0,9}{3}$   | = 0,93 cm | = 9,30 mm. |
| Replikasi II  | $= \frac{0,9 + 0,9 + 0,9}{3}$ | = 0,9 cm  | = 9 mm.    |
| Replikasi III | $= \frac{0,9 + 0,9 + 0,8}{3}$ | = 0,86 cm | = 8,60 mm. |

- Kombinasi 1:1 (12,5%) :
- Replikasi I =  $\frac{0,7 + 0,8 + 0,8}{3}$  = 0,76 cm = 7,60 mm.
- Replikasi II =  $\frac{0,8 + 0,8 + 0,8}{3}$  = 0,8 cm = 8 mm.
- Replikasi III =  $\frac{0,9 + 0,8 + 0,8}{3}$  = 0,83 cm = 8,30 mm.
- Kombinasi 1:3 (50%):
- Replikasi I =  $\frac{1,2 + 1,1 + 1,3}{3}$  = 1,2 cm = 12 mm.
- Replikasi II =  $\frac{1,2 + 1,3 + 1,3}{3}$  = 1,26 cm = 12,60 mm.
- Replikasi III =  $\frac{1,2 + 1,1 + 1,1}{3}$  = 1,13 cm = 11,30 mm.
- Kombinasi 1:3 (25%):
- Replikasi I =  $\frac{1,2 + 1,1 + 1,2}{3}$  = 1,16 cm = 11,60 mm.
- Replikasi II =  $\frac{1,1 + 1,1 + 1}{3}$  = 1,06 cm = 10,60 mm.
- Replikasi III =  $\frac{1,1 + 1,1 + 1,1}{3}$  = 1,1 cm = 11 mm.
- Kombinasi 1:3 (12,5%) :
- Replikasi I =  $\frac{1,1 + 1,2 + 1}{3}$  = 1,1 cm = 11 mm.
- Replikasi II =  $\frac{1,2 + 0,9 + 1,1}{3}$  = 1,06 cm = 10,60 mm.
- Replikasi III =  $\frac{1 + 1 + 1}{3}$  = 1 cm = 10 mm.
- Kombinasi 3:1 (50%):
- Replikasi I =  $\frac{1 + 1,1 + 0,9}{3}$  = 1 cm = 10 mm.
- Replikasi II =  $\frac{0,9 + 1 + 1}{3}$  = 0,96 cm = 9,60 mm.
- Replikasi III =  $\frac{0,9 + 0,9 + 0,9}{3}$  = 0,9 cm = 9 mm.
- Kombinasi 3:1 (25%):
- Replikasi I =  $\frac{0,8 + 0,9 + 0,9}{3}$  = 0,86 cm = 8,60 mm.
- Replikasi II =  $\frac{0,9 + 0,9 + 0,9}{3}$  = 0,9 cm = 9 mm.
- Replikasi III =  $\frac{0,8 + 0,8 + 0,9}{3}$  = 0,83 cm = 8,30 mm.

➤ Kombinasi 3:1 (12,5%) :

$$\begin{aligned} \text{Replikasi I} &= \frac{0,7 + 0,8 + 0,8}{3} = 0,76 \text{ cm} = 7,60 \text{ mm.} \\ \text{Replikasi II} &= \frac{0,9 + 0,8 + 0,8}{3} = 0,83 \text{ cm} = 8,30 \text{ mm.} \\ \text{Replikasi III} &= \frac{0,8 + 0,8 + 0,8}{3} = 0,8 \text{ cm} = 8 \text{ mm.} \end{aligned}$$

## Lampiran 15. Data statistik

### Tests of Normality

	bahan uji	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
diameter	kontrol positif	,205	9	,200 <sup>*</sup>	,952	9	,717
zona hambat	minyak atsiri bangle	,167	9	,200 <sup>*</sup>	,952	9	,713
	minyak atsiri lengkuas merah	,135	9	,200 <sup>*</sup>	,958	9	,775
	kombinasi 1:1	,126	9	,200 <sup>*</sup>	,955	9	,749
	kombinasi 1:3	,150	9	,200 <sup>*</sup>	,976	9	,942
	kombinasi 3:1	,148	9	,200 <sup>*</sup>	,970	9	,893

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

a. Lilliefors Significance Correction

### Descriptive Statistics

Dependent Variable: diameter zona hambat

bahan uji	konsentrasi	Mean	Std. Deviation	N
kontrol positif	50%	21,9667	,65064	3
	25%	22,4000	,72111	3
	12,5%	23,2000	,72111	3
	Total	22,5222	,81206	9
minyak atsiri bangle	50%	13,8333	,68069	3
	25%	12,9667	,65064	3
	12,5%	11,0667	,50332	3
	Total	12,6222	1,33677	9
minyak atsiri lengkuas merah	50%	11,6333	,35119	3
	25%	10,5333	,50332	3
	12,5%	9,0667	,50332	3
	Total	10,4111	1,18369	9
kombinasi 1:1	50%	10,5333	,50332	3
	25%	8,9667	,35119	3
	12,5%	7,9667	,35119	3
	Total	9,1556	1,17485	9
kombinasi 1:3	50%	11,9667	,65064	3
	25%	11,0667	,50332	3
	12,5%	10,5333	,50332	3
	Total	11,1889	,79127	9
kombinasi 3:1	50%	9,5333	,50332	3
	25%	8,6333	,35119	3
	12,5%	7,9667	,35119	3
	Total	8,7111	,76721	9
Total	50%	13,2444	4,26480	18
	25%	12,4278	4,83891	18
	12,5%	11,6333	5,47422	18
	Total	12,4352	4,83709	54

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

Dependent Variable: diameter zona hambat

F	df1	df2	Sig.
,431	17	36	,967

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

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

### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: diameter zona hambat

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Intercept	8350,227	1	8350,227	714,837	,001
bhn_uji	1188,523	5	237,705	133,162	,000
konsentrasi	23,363	2	11,681	6,544	,015
bhn_uji * konsentrasi	17,851	10	1,785	6,223	,000
Error	23,363	2	11,681		
Error	17,851	10	1,785		
Error	10,327	36	,287 <sup>c</sup>		

a. MS(konsentrasi)

b. MS(bhn\_uji \* konsentrasi)

c. MS(Error)

## Post Hoc Tests

### bahan uji

#### Multiple Comparisons

Dependent Variable: diameter zona hambat

Tukey HSD

(I) bahan uji (J) bahan uji		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol positif	minyak atsiri bangle	9,9000 <sup>*</sup>	,25248	,000	9,1404	10,6596
	minyak atsiri lengkuas merah	12,1111 <sup>*</sup>	,25248	,000	11,3515	12,8707
	kombinasi 1:1	13,3667 <sup>*</sup>	,25248	,000	12,6071	14,1263
	kombinasi 1:3	11,3333 <sup>*</sup>	,25248	,000	10,5737	12,0929
	kombinasi 3:1	13,8111 <sup>*</sup>	,25248	,000	13,0515	14,5707
minyak atsiri bangle	kontrol positif	-9,9000 <sup>*</sup>	,25248	,000	-10,6596	-9,1404
	minyak atsiri lengkuas merah	2,2111 <sup>*</sup>	,25248	,000	1,4515	2,9707
	kombinasi 1:1	3,4667 <sup>*</sup>	,25248	,000	2,7071	4,2263
	kombinasi 1:3	1,4333 <sup>*</sup>	,25248	,000	,6737	2,1929
	kombinasi 3:1	3,9111 <sup>*</sup>	,25248	,000	3,1515	4,6707
minyak atsiri lengkuas merah	kontrol positif	-12,1111 <sup>*</sup>	,25248	,000	-12,8707	-11,3515
	minyak atsiri bangle	-2,2111 <sup>*</sup>	,25248	,000	-2,9707	-1,4515
	kombinasi 1:1	1,2556 <sup>*</sup>	,25248	,000	,4960	2,0152
	kombinasi 1:3	-,7778 <sup>*</sup>	,25248	,042	-1,5374	-,0182
	kombinasi 3:1	1,7000 <sup>*</sup>	,25248	,000	,9404	2,4596
kombinasi	kontrol positif	-13,3667 <sup>*</sup>	,25248	,000	-14,1263	-12,6071

1:1	minyak atsiri bangle	-3,4667 <sup>*</sup>	,25248	,000	-4,2263	-2,7071
	minyak atsiri lengkuas merah	-1,2556 <sup>*</sup>	,25248	,000	-2,0152	-,4960
	kombinasi 1:3	-2,0333 <sup>*</sup>	,25248	,000	-2,7929	-1,2737
	kombinasi 3:1	,4444 <sup>*</sup>	,25248	,503	-,3152	1,2040
kombinasi 1:3	kontrol positif	-11,3333 <sup>*</sup>	,25248	,000	-12,0929	-10,5737
	minyak atsiri bangle	-1,4333 <sup>*</sup>	,25248	,000	-2,1929	-,6737
	minyak atsiri lengkuas merah	,7778 <sup>*</sup>	,25248	,042	,0182	1,5374
	kombinasi 1:1	2,0333 <sup>*</sup>	,25248	,000	1,2737	2,7929
	kombinasi 3:1	2,4778 <sup>*</sup>	,25248	,000	1,7182	3,2374
kombinasi 3:1	kontrol positif	-13,8111 <sup>*</sup>	,25248	,000	-14,5707	-13,0515
	minyak atsiri bangle	-3,9111 <sup>*</sup>	,25248	,000	-4,6707	-3,1515
	minyak atsiri lengkuas merah	-1,7000 <sup>*</sup>	,25248	,000	-2,4596	-,9404
	kombinasi 1:1	-,4444 <sup>*</sup>	,25248	,503	-1,2040	,3152
	kombinasi 1:3	-2,4778 <sup>*</sup>	,25248	,000	-3,2374	-1,7182

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,287.

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

## Homogeneous Subsets

### diameter zona hambat

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

bahan uji	N	Subset				
		1	2	3	4	5
kombinasi 3:1	9	8,7111				
kombinasi 1:1	9	9,1556				
minyak atsiri lengkuas merah	9		10,4111			
kombinasi 1:3	9			11,1889		
minyak atsiri bangle	9				12,6222	
kontrol positif	9					22,5222
Sig.		,503	1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,287.

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

b. Alpha = ,05.

## konsentrasi

### Multiple Comparisons

Dependent Variable: diameter zona hambat

Tukey HSD

(I) konsentrasi	(J) konsentrasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
50%	25%	,8167*	,17853	,000	,3803	1,2530
	12,5%	1,6111*	,17853	,000	1,1747	2,0475
25%	50%	-,8167*	,17853	,000	-1,2530	-,3803
	12,5%	,7944*	,17853	,000	,3581	1,2308
12,5%	50%	-1,6111*	,17853	,000	-2,0475	-1,1747
	25%	-,7944*	,17853	,000	-1,2308	-,3581

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,287.

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



## Homogeneous Subsets

diameter zona hambat

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

konsentrasi	N	Subset		
		1	2	3
12,5%	18	11,6333	12,4278	13,2444
25%	18			
50%	18			
Sig.		1,000	1,000	1,000

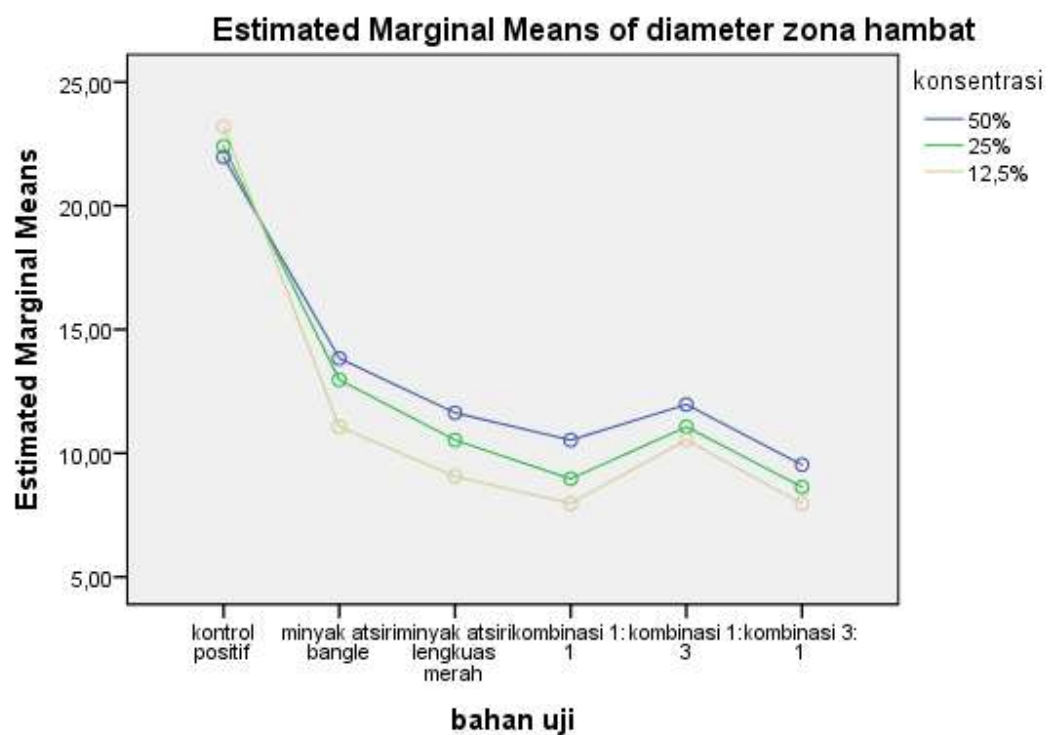
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = ,287.

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

b. Alpha = 0,05.



**Lampiran 16. Komposisi Media**