

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI MINYAK ATSIRI  
KEMANGI (*Ocimum basilicum* L.) dan KULIT KAYU MANIS  
(*Cinnamomum burmannii* Nees ex BL.) TERHADAP  
*Staphylococcus aureus* ATCC 25923**



oleh:

**Ikae Pratiwi  
18123647A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2016**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI MINYAK ATSIRI  
KEMANGI (*Ocimum basilicum* L.) dan KULIT KAYU MANIS  
(*Cinnamomum burmannii* Nees ex BL.) TERHADAP  
*Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

**SKRIPSI**



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

**SETIA BUDI**

**Oleh:**

**Ikae Pratiwi  
18123647A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2016**

**PENGESAHAN SKRIPSI**

**Berjudul**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI MINYAK ATSIRI  
KEMANGI (*Ocimum basilicum* L.) dan KULIT KAYU MANIS  
(*Cinnamomum burmannii* Nees ex BL.) TERHADAP  
*Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

**Oleh:**

**Ikae Pratiwi**

**18123647A**

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi  
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi  
Pada tanggal : 13 Juni 2016

Mengetahui,  
Fakultas Farmasi  
Universitas Setia Budi



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

Pembimbing,

  
Vivin Nopiyanti, M.Sc., Apt

Pembimbing pendamping,

  
Ismi Rahmawati, M.Si., Apt

Penguji:

1. Opstaria Saptarini, M.Si., Apt

2. Ratno Agung Samsumaharto, S.Si., M.Sc

3. Ismi Rahmawati, M.Si., Apt

4. Vivin Nopiyanti, M.Sc., Apt



## PERSEMBAHAN

*“Percayalah kepada terang itu, selama terang itu ada padamu, supaya kamu menjadi anak-anak terang” (Yohanes 12:36)*

*Bersyukur bukan hanya kunci menuju kebahagiaan batin, melainkan juga cara untuk tetap berhubungan dengan-Nya.*

*Allah tidak menjanjikan perjalanan yang tenang, tetapi pendaratan yang aman.*

***Kupersembahkan skripsi ini untuk:***

*Tuhan Yesus Kristus Sang Juruslamatku yang telah melimpahkan berkat dan kasih karunia-Nya*

*Papah, mamah dan kakak tercinta yang selalu memberikan semangat, dukungan serta doanya*

*Kelompok minyak atsiri tercinta Nur, Rici, Novi. Serta terimakasih ku kepada kak Gace, Denny, Yanti, Nove terima kasih atas suportnya  
Almameter, bangsa dan negaraku*

## PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, disepanjang 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 atau skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi baik secara akademis maupun hukuman.

Surakarta, Juni 2016



Ikae Pratiwi

## KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur kepada Tuhan Yesus Kristus atas berkat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini untuk memenuhi persyaratan guna mencapai gelar Sarjana dalam Ilmu Farmasi pada Universitas Setia Budi, Surakarta.

Skripsi ini dalam penyusunannya penulis memilih judul **“UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI MINYAK ATSIRI KEMANGI (*Ocimum basilicum* L.) dan KULIT KAYU MANIS (*Cinnamomum burmannii* Nees ex BL.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923”**

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini telah mendapatkan banyak bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu penulis menyampaikan terima kasih kepada :

1. Dr. Ir. Djohny Tarigan, MBA, selaku Rektor Universitas Setia Budi.
2. Prof. DR. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt, selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Vivin Nopiyanti, M. Sc., Apt, selaku pembimbing utama dan Ismi Rahmawati, M, Si., Apt, selaku pembimbing pendamping yang telah berkenan memberikan waktunya guna membimbing, memberi nasehat, dan memberikan ilmunya sehingga terselesainya skripsi ini.
4. Dosen penguji yang telah memberikan masukan dan ilmu sehingga terselesainya skripsi ini.

5. Segenap dosen karyawan dan staff Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta yang telah banyak membantu demi kelancaran dan sempurnanya skripsi ini.
6. Segenap karyawan Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi, Surakarta yang telah memberikan fasilitas dan bantuan selama penelitian.
7. Semua teman-teman angkatan 2012, teman-teman Teori 5, teman-teman FKK 2 yang tidak dapat saya sebutkan satu per satu.
8. Semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu. Semua ini merupakan anugerah dan pengalaman terindah yang tidak akan terlupakan.

Harapan penulis semoga Tuhan yang Maha Esa selalu melimpahkan rahmat dan kasih karunia-Nya. Penulis menyadari bahwa skripsi ini jauh dari kata sempurna, namun penulis sudah berusaha semaksimal mungkin di dalam menyajikannya. Oleh karena itu penulis menerima segala kritik dan saran yang bersifat membangun untuk kesempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat berguna untuk pengembangan pengobatan dan ilmu Farmasi.

Surakarta, Juni  
2016

Penulis

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
HALAMAN JUDUL.....	i
PENGESAHAN SKRIPSI.....	ii
PERSEMBAHAN.....	iii
PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR .....	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
INTISARI.....	xiv
ABSTRACT.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
BAB I PENDAHULUAN .....	1
A. Latar Belakang Masalah .....	1
B. Perumusan Masalah.....	4
C. Tujuan Masalah .....	4
D. Kegunaan Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
A. Tanaman Kemangi.....	6
1. Sistematika Tanaman Kemangi ( <i>Ocimum basilicum</i> L.) .....	6
2. Nama Lain .....	7
3. Morfologi Tanaman Kemangi .....	7
4. Manfaat dan Khasiat.....	7
5. Kandungan zat kimia hasil destilasi .....	8
B. Kayu Manis .....	8
1. Sistematika Kayu Manis ( <i>Cinnamomum burmanni</i> Nees ex Bl.) .....	8
2. Nama lain .....	9



3.	Morfologi Tanaman Kayu Manis ( <i>Cinnamomum burmannii</i> Nees ex BL.).....	9
4.	Kandungan Kimia dan Efek Farmakologis .....	10
5.	Kegunaan kulit kayu manis .....	10
C.	Minyak Atsiri.....	11
1.	Pengertian minyak atsiri .....	11
2.	Sifat minyak atsiri .....	12
3.	Metode isolasi minyak atsiri.....	12
4.	Identifikasi minyak atsiri.....	13
D.	Simplisia .....	13
1.	Pengertian Simplisia.....	13
2.	Pengumpulan simplisia.....	14
3.	Cara pembuatan simplisia .....	14
4.	Pengemasan dan penyimpanan.....	15
E.	Penyulingan .....	15
F.	<i>Staphylococcus aureus</i> .....	16
1.	Sistematika <i>Staphylococcus aureus</i> .....	16
2.	Morfologi dan identifikasi.....	16
G.	Antibakteri .....	17
H.	Kombinasi Obat.....	19
I.	Metode Difusi .....	19
J.	Landasan Teori .....	20
K.	Hipotesis .....	23
BAB III	METODE PENELITIAN .....	24
A.	Populasi dan Sampel.....	24
1.	Populasi .....	24
2.	Sampel .....	24
B.	Variabel Penelitian .....	24
1.	Identifikasi variabel utama .....	24
2.	Klasifikasi variabel utama .....	25
3.	Definisi operasional variabel utama .....	25
C.	Alat Dan Bahan .....	27
1.	Alat .....	27
2.	Bahan.....	27
D.	Jalannya Penelitian .....	28
1.	Identifikasi/determinasi tanaman .....	28
2.	Pengambilan Bahan.....	28
3.	Isolasi minyak atsiri.....	28
4.	Analisa minyak atsiri.....	29

4.1. Pengamatan organoleptik .....	29
4.2. Identifikasi minyak atsiri .....	29
4.3. Penetapan indeks bias minyak atsiri.....	30
4.4. Penetapan bobot jenis minyak atsiri.....	30
4.5. Penetapan kelarutan dalam alkohol.....	30
4.6. Karakterisasi komponen senyawa penyusun minyak atsiri dengan Gas Chromatography - Mass Spectrometry (GC-MS).....	30
5. Sterilisasi .....	31
6. Pembuatan suspensi bakteri uji <i>Staphylococcus aureus</i> .....	31
7. Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 .....	32
7.1. Identifikasi berdasarkan koloni .....	32
7.2. Identifikasi mikroskopis secara morfologi .....	32
7.3. Identifikasi fisiologi <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	33
8. Pembuatan kombinasi bahan uji.....	33
9. Pengujian aktivitas antibakteri .....	34
E. Analisis Hasil.....	35
F. Pengujian aktivitas antibakteri dengan metode dilusi .....	35
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHAN .....</b>	<b>40</b>
A. Hasil Penelitian.....	40
1. Identifikasi Tanaman .....	40
2. Pengambilan Bahan .....	40
3. Isolasi Minyak Atsiri .....	40
4. Pengamatan Organoleptik .....	41
5. Identifikasi minyak atsiri.....	42
6. Penetapan indeks bias minyak atsiri.....	42
7. Penetapan bobot jenis minyak atsiri.....	43
8. Penetapan Kelarutan dalam alkohol.....	44
9. Karakteristik komponen senyawa penyusun minyak atsiri dengan Gas Chromatography - Mass Spectrometry (GC-MS).....	44
10. Sterilisasi .....	46
11. Pembuatan suspensi.....	46
12. Identifikasi bakteri <i>staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 berdasarkan koloni .....	46
13. Identifikasi mikroskopis secara morfologi .....	47
14. Identifikasi fisiologi <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 ...	47
14.1 Identifikasi fisiologi-katalase .....	47
14.2 Identifikasi fisiologi-koagulase .....	48

15. Hasil pengujian aktivitas antibakteri minyak atsiri kemangi dan kulit kayu manis secara difusi .....	48
16. Hasil pengujian aktivitas antibakteri minyak atsiri Kemangi dan kulit kayu manis secara dilusi .....	50
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....	53
A. Kesimpulan.....	53
B. Saran .....	53
DAFTAR PUSTAKA .....	55
LAMPIRAN .....	59

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Tanaman Kemangi ( <i>Ocimum basilicum</i> L.).....	6
Gambar 2. Kulit kayu manis ( <i>Cinnamomum burmanni</i> ) .....	9
Gambar 3. Skema isolasi minyak atsiri kulit kayu manis.....	36
Gambar 4. Skema isolasi minyak atsiri kemangi.....	37
Gambar 5. Skema pengujian aktivitas antibakteri secara dilusi .....	38
Gambar 6. Skema pengujian aktivitas antibakteri secara dilusi .....	39

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Kadar minyak atsiri daun kemangi dan kulit kayu manis .....	41
Tabel 2. Organoleptik minyak atsiri kemangi .....	41
Tabel 3. Organoleptik minyak atsiri kulit kayu manis .....	41
Tabel 4. Identifikasi minyak atsiri kemangi .....	42
Tabel 5. Identifikasi minyak kayu manis.....	42
Tabel 6. Indeks bias minyak atsiri .....	43
Tabel 7. Penetapan bobot jenis minyak atsiri kemangi .....	43
Tabel 8. Penetapan bobot jenis minyak atsiri kulit kayu manis .....	43
Tabel 9. Hasil analisis komponen minyak atsiri kemangi dengan GC-MS.....	44
Tabel 10. Hasil analisis komponen minyak atsiri kulit kayu manis dengan GC-MS .....	44
Tabel 11. Diemeter hambat tunggal dari uji difusi minyak atsiri .....	48
Tabel 12. Diemeter hambat kombinasi dari uji difusi minyak atsiri daun kemangi dan kayu manis .....	49
Tabel 13. Hasil uji dilusi dengan kombinasi (1:1) pada minyak atsiri kemangi dan kulit kayu manis.....	50

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Surat Keterangan Identifikasi daun kemangi .....	59
Lampiran 2. Surat Keterangan Identifikasi kayu manis.....	60
Lampiran 3. Kemangi dan kulit kayu manis .....	61
Lampiran 4. Minyak atsiri kemangi dan minyak atsiri kulit kayu manis .....	62
Lampiran 5. Perhitungan kadar minyak atsiri.....	63
Lampiran 6. Alat .....	64
Lampiran 7. Identifikasi minyak atsiri .....	66
Lampiran 8. Kelarutan dalam Alkohol .....	67
Lampiran 9. Identifikasi indeks bias minyak atsiri .....	68
Lampiran 10. Perhitungan bobot jenis minyak atsiri .....	69
Lampiran 11. Hasil analisis GCMS minyak atsiri .....	71
Lampiran 12. Suspensi bakteri.....	77
Lampiran 13. Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dan bahan uji .....	78
Lampiran 14. Gambar dan hasil Diameter daya hambat tunggal dan kombinasi dari uji difusi minyak atsiri.....	80
Lampiran 15. Hasil uji aktivitas antibakteri dengan dilusi .....	86
Lampiran 16. Hasil analisis dengan SPSS .....	87
Lampiran 17. Komposisi media.....	90

## INTISARI

**PRATIWI, I. 2016. UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI MINYAK ATSIRI KEMANGI (*Ocimum basilicum* L.) dan KULIT KAYU MANIS (*Cinnamomum burmannii* Nees ex BL.) TERHADAP *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.**

Penyakit infeksi pada kulit akibat bakteri merupakan masalah besar, bukan hanya di Indonesia tapi juga di seluruh dunia. Bakteri patogen yang sering menyebabkan infeksi pada kulit manusia adalah bakteri *Staphylococcus aureus*. *Staphylococcus aureus* merupakan patogen piogenik yang secara umum menyebabkan infeksi pada luka. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui minyak atsiri daun kemangi, kulit kayu manis dan kombinasi dari keduanya memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan metode difusi dan dilusi. Metode difusi menggunakan konsentrasi 100% dengan perbandingan kombinasi yaitu 1:1;1:2;2:1;1:3;3:1. Metode dilusi menggunakan konsentrasi bertingkat yaitu 100%,50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,19%. Data dari penelitian kemudian diolah menggunakan analisis statistik Analisis of Varians (ANOVA) dengan metode one-way, sehingga didapatkan hasil signifikansi dari data tersebut.

Hasil penelitian dengan metode difusi didapatkan daya hambat yang paling efektif dari kombinasi pada konsentrasi 100% yaitu perbandingan kombinasi 1:1 dengan diameter hambat  $17,16 \pm 0,381$ . Metode dilusi menggunakan deret konsentrasi minyak atsiri, untuk melihat Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dilakukan inokulasi bakteri pada media VJA (*Vogel Jhonson Agar*) didapatkan hasil KBM pada konsentrasi 1,56%. Berdasarkan dari hasil penelitian kombinasi minyak atsiri kemangi dan kulit kayu manis memiliki aktivitas sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

---

**Kata kunci** : *Staphylococcus aureus*, antibakteri, minyak atsiri, *Ocimum basilicum* L., *Cinnamomum burmannii* Nees ex BL.

## ABSTRACT

**PRATIWI, I. 2016. ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF BASIL (*Ocimum basilicum* L.) VOLATILE OIL AND CINNAMON (*Cinnamomum burmannii* Nees ex BL.) BARK COMBINATION on *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, THESIS, PHARMACY FACULTY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.**

Bacteria-induced infectious skin disease is a big problem not only in Indonesia but also in the world. Pathogenic bacteria often resulting in infection in human skin is *Staphylococcus aureus* constituting piogenic pathogen generally resulting in infection in wound. This research aimed to find out the antibacterial activity of basil volatile oil and cinnamon bark, and the combination of them on *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

The methods employed in this research were diffusion and dilution. Diffusion method was carried out using 100% concentration with ratios: 1:1; 1:2; 2:1; 1:3; 3:1. Dilution method was carried out using varying concentrations of 100%, 50%, 25%; 12.5%; 6.25%; 3.125%; 1.56%; 0.78%; 0.39%; 0.19%. Data of research was then processed using a statistical analysis with one-way Variance Analysis (ANOVA), so that significant result was obtained from the data.

The result of research with diffusion method found that the most effective inhibition power of combination at 100% concentration was ratio of 1:1 with inhibition diameter of  $17.16 \pm 0.381$ . Dilution method employed volatile oil concentration series; to see the Minimum Killing Concentration (KBM), bacterial inoculation was conducted on VJA (Vogel Jhonson Agar) media obtaining KBM result at concentration of 1.56%. Considering the result of research, it could be found that combination of basil volatile oil and cinnamon bark had antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

---

**Keywords:** *Staphylococcus aureus*, antibacterial, volatile oil, *Ocimum basilicum* L. *Cinnamomum burmannii* Nees ex BL.



# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

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

Kulit merupakan pembungkus elastik yang melindungi tubuh dari pengaruh lingkungan, baik itu cuaca, polusi, temperatur udara dan sinar matahari (Setiadi 2011). Kulit juga merupakan organ terbesar dalam tubuh yang bagiannya lebih dari 10% massa tubuh dan sangat memungkinkan akan sering berinteraksi dengan lingkungan sekitarnya (Gibson 1957). Kulit jika terluka dan terdapat bakteri *Staphylococcus aureus* maka dapat menyebabkan infeksi. Penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* akan timbul tanda-tanda khas yaitu peradangan dan pembentukan abses (Jawetz *et al.* 2001).

Penyakit infeksi akibat bakteri merupakan salah satu masalah besar, bukan hanya di Indonesia tapi juga di seluruh dunia. Bakteri patogen yang sering menyebabkan infeksi pada manusia dalam komunitas adalah bakteri *Staphylococcus aureus*. Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan patogen piogenik yang secara umum menyebabkan infeksi komunitas yang menyebabkan infeksi kulit dan jaringan lunak, infeksi saluran pernafasan, endokarditis infeksi serta akne vulgaris (Jenri *et al.* 2014).

Penggunaan obat antibakteri untuk pengobatan penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri sekarang sudah cukup banyak. Masalah yang dihadapi sekarang adalah terjadinya efek samping bagi penggunaannya, seperti diare, alergi, hingga bahaya toksik lainnya. Banyaknya kasus infeksi akibat bakteri, timbulnya

efek samping pada penggunaan obat antibakteri, serta biaya perawatan yang cukup tinggi menunjukkan bahwa perlu dilakukannya penelitian untuk pengembangan obat antibakteri yang efektif khususnya dari bahan-bahan alam (Jenri *et al.* 2014).

Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) species dari *Lamiaceae* yang tumbuh di beberapa daerah di dunia merupakan tanaman yang mempunyai kandungan utama minyak atsiri (Sajjadi 2006). Minyak atsiri dari daun kemangi memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dengan Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM) 0,4% sebanding dengan ampisillin trihidrat 150 mg/ml dengan metode difusi agar (Marianne & Sinaga K.R 2006) dan nilai KHM sebesar 3,12-25,0% (Adeola *et al* 2012).

Penelitian Hussain *et al* (2008) membuktikan bahwa minyak atsiri daun kemangi mempunyai komponen utama linalool (56,7-60,6%) dimana mampu melawan 9 mikroorganisme patogen diantaranya pada bakteri *Staphylococcus aureus* dengan diameter zona hambat sebesar 22,2-24,4 mm.

Tanaman herbal kayu manis (*Cinnamomum burmannii* Nees ex BL.) selain dapat digunakan sebagai bahan bumbu masak ataupun sebagai penyedap makanan, kayu manis juga bermanfaat sebagai bahan baku obat untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit seperti obat sakit perut, antirematik, meningkatkan nafsu makan, menurunkan tekanan darah tinggi, sakit pinggang serta menghilangkan sakit. Kulit kayu manis mengandung senyawa antara lain sinamaldehyd dan phenylpropanes yang meliputi hidroksi sinamaldehyd, o-methoksi sinamaldehyd, sinamal alkohol dan asetatnya, dan terpenya di antara

limonen, a-terpienol, tannin, mucilage, oligomeric, dan juga kumarin (Bisset & Wihtcl 2001). Penelitian yang dilakukan Anis et al (2013) memperoleh nilai KBM 1000 µg/mL minyak atsiri kulit kayu manis (*Cinnamomum burmannii* Nees ex BL.) yang memiliki aktivitas terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan mengandung senyawa murni dari minyak atsiri kulit kayu manis, salah satunya adalah sinamaldehyd.

Kulit kayu manis (*Cinnamomum burmannii* Nees ex BL.) pada umumnya banyak mengandung minyak atsiri, pati, protein dan lain-lain. Minyak atsiri kayu manis berada di seluruh bagian dari tanaman, mulai dari bagian akar, batang, hingga daun dan bunga. Kulit kayu manis banyak terdapat komponen kimia seperti damar, pelekat, gula, kalsium, oksalat dan kumarin (Rismunandar 2001).

Terapi kombinasi antibiotik menjadi alternatif untuk beberapa kasus infeksi yang dapat mengurangi potensi efek samping, dan meningkatkan efikasi obat antimikroba (Wagner 2011). Penelitian Imran *et al* (2012) dengan menggunakan metode difusi disk menyatakan adanya efek sinergis ekstrak kemangi dan antibiotik metisilin terhadap *Staphylococcus aureus* tesisten yang diisolasi dari spesimen klinik.

Penelitian kombinasi antibakteri senyawa minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dan minyak atsiri kulit kayu manis (*Cinnamomum burmannii* Nees ex BL.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan untuk mengetahui manakah dari kombinasi atau bahan tunggal yang paling optimal membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

## B. Perumusan Masalah

Permasalahan dalam penelitian ini adalah :

1. Apakah minyak atsiri kulit kayu manis (*Cinnamomum burmannii* Nees ex BL.), daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dan kombinasinya memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ?
2. Manakah dari minyak atsiri kulit kayu manis (*Cinnamomum burmannii* Nees ex BL.), daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dan kombinasi dari keduanya yang memiliki aktivitas paling efektif terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ?
3. Berapakah Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari kombinasi minyak atsiri kulit kayu manis (*Cinnamomum burmannii* Nees ex BL.) dan daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) yang memiliki aktivitas paling optimal terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ?

## C. Tujuan Masalah

1. Mengetahui minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.), kulit kayu manis (*Cinnamomum burmannii* Nees ex BL.) dan kombinasi dari keduanya memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.
2. Mengetahui dari minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.), kulit kayu manis (*Cinnamomum burmannii* Nees ex BL.) dan kombinasi dari keduanya yang memiliki aktivitas paling efektif terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 259923.

3. Mengetahui pada Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) berapa dari kombinasi minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dan kulit kayu manis (*Cinnamomum burmannii* Nees ex BL.) yang memiliki aktivitas antibakteri paling optimal terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

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

Penelitian diharapkan dapat menjadi bukti ilmiah tentang manfaat kombinasi minyak atsiri kulit kayu manis (*Cinnamomum burmannii* Nees ex BL.) dan daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Sebagai salah satu alternatif dalam pengobatan antibakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, serta memberikan informasi kepada masyarakat umum tentang manfaat kombinasi minyak atsiri kulit kayu manis (*Cinnamomum burmannii* Nees ex BL.) dan daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

**BAB II**  
**TINJAUAN PUSTAKA**

**A. Tanaman Kemangi**

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

Kingdom	: Plantae
Super Divisi	: Angiospermae
Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Dicotyledone
Ordo	: Euphorbiales
Famili	: Euphorbiaceae
Genus	: <i>Acalypha</i>
Spesies	: <i>Ocimum sanctum</i> L. (Depkes 1985).



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

**Sumber: Depkes RI, 2001**

## 2. Nama Lain

Setiap daerah mempunyai bermacam-macam nama untuk tanaman Kemangi (*Ocimum basilicum* L.). Berikut ini adalah nama-nama tanaman kemangi diberbagai daerah di Indonesia.

Jawa : lampes (Sunda), lampes (Jawa), kemangi, roko-roko (Madura).  
Bali: uku-uku, Maluku : Lufe-lufe (Ternate), Sumatera : balakama, kemangi utan, ruku-ruku (Depkes 2011)

## 3. Morfologi Tanaman Kemangi

Kemangi adalah tumbuhan dengan habitus: semak, semusim, dengan tinggi 30-150 cm; Batang: berkayu, segi empat, beralur, bercabang, berbulu, hijau; Daun: tunggal, bulat telur, ujung runcing, pangkal tumpul, tepi bergerigi, pertulangan menyirip, panjang 14-16 mm, lebar 3-6 mm, tangkai panjang  $\pm$  1 cm, pendek, hijau; Bunga: majemuk, bentuk tandan, berbulu, daun pelindung bentuk elips, bertangkai pendek, hijau, mahkota bulat telur, putih keunguan; Buah: kotak, coklat tua; Biji: kecil, tiap buah terdiri empat biji, hitam; Akar: tunggal putih kotor (Depkes 2001).

## 4. Manfaat dan Khasiat

Minyak atsiri dari daun kemangi memiliki khasiat sebagai antibakteri. Daun kemangi (*Ocimum basilikum* L.) berkhasiat juga sebagai peluruh air susu, sebagai obat penurun panas dan memperbaiki pencernaan. Daun kemangi untuk pelancaran air susu ibu dipakai  $\pm$  25 gram, dicuci bersih dari kotoran dan dimakan mentah sebagai lalap (Depkes 2001).

## 5. Kandungan zat kimia hasil destilasi

Kandungan kimia hasil destilasi dari tanaman kemangi adalah minyak atsiri. Minyak atsiri merupakan zat yang memberikan aroma pada tumbuhan. Minyak atsiri dalam daun kemangi banyak dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri, baik bakteri gram positif maupun gram negatif, jamur dan kapang (Fitriani Tallamma 2014). Minyak atsiri memiliki komponen volatin pada beberapa tumbuhan dengan karakteristik tertentu. Minyak atsiri atau disebut juga dengan minyak terbang yang terdapat dalam kemangi antara lain: 30%-40% eugenol, *terpeen alipatis ocimeen*=  $C_{10}H_{16}$  (dalam *ocimum basilicum*, selasih Mekah atau selasih besar). Dalam minyak selasih hijau: *cenerol* dan *methylchavicol* (Claus & Tyler 1965).

### B. Kayu Manis

#### 1. Sistematika Kayu Manis (*Cinnamomum burmanni* Nees ex Bl.)

Sistematika kayu manis menurut Rusmanandar dan Paimin (2001), adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Gymnospermae
Subdivisi	: Spermatophyta
Class	: Dicotyledonae
Subclass	: Dialypetalae
Ordo	: Polioleales
Family	: Lauraceae



Genus : *Cinnamomum*

Spesies : *Cinnamomum burmanni* (Nees & T. Nees.) Bl



**Gambar 2. Kulit kayu manis (*Cinnamomum burmanni* Nees ex BL.)**

**Sumber: Ikhsan, 2013**

## **2. Nama lain**

Setiap daerah di Indonesia mempunyai bermacam-macam nama untuk tanaman Kayu Manis (*Cinnamomum burmanni*), diantaranya :

Sumatera : Holim (Batak), Kayu Manis (Melayu), Madang Kulit Manis (Minangkabau). Jawa : Huru Mentek (Sunda), Manis Jangan (Jawa Tengah), Kanyengar (Madura), Bali : Cingar (Depkes 2000).

## **3. Morfologi Tanaman Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii* Nees ex BL.)**

Tanaman kayu manis (*Cinnamomum burmanni* Nees ex BL.) merupakan tanaman yang rata-rata tingginya antara 10-15 meter. Tanaman ini memiliki batang berkayu, tegak, bercabang dan berwarna hijau kecoklatan. Kayu manis berdaun tunggal, tepi rata, panjang 4-14 cm, lebar 1,5-6 cm, petulangan melengkung, masih muda merah pucat setelah tua hijau. Bunga majemuk, berambut halus, tangkai panjang 4-12 mm, benang sari dengan kelenjar di tengah

tangkai sari, mahkota panjang 4-5 mm dan berwarna kuning. Biji kayu manis mempunyai bentuk kecil, bulat telur, masih muda berwarna hijau setelah tua akan berwarna hitam. Tanaman ini berakar tunggal serta berwarna coklat kotor. Tanaman ini tumbuh diantara 1.000 hingga 1.500 mdpl. Tanaman ini termasuk golongan pohon penghasil rempah-rempah yang dapat digunakan untuk menambah cita rasa suatu masakan dan juga menambah aroma suatu masakan (Depkes 2000).

#### **4. Kandungan Kimia dan Efek Farmakologis**

Pada kulit batang kayu manis mengandung paling banyak cinnamic aldehyde atau cinnamaldehyde, sedangkan pada daun lebih banyak mengandung eugenol dibandingkan cinnamaldehyde (Bisset & Wichtl 2001). Minyak pada kulit batang kayu manis mengandung cukup banyak aldehyd, termasuk di dalamnya yaitu : cinnamaldehyde (70-88%), (E)-o-methoxy-cinnamaldehyde (3-15%), benzaldehyde (0,5-2%), salicylaldehyde (0,2-1%), cinnamyl acetate (0-6%), eugenol (<0,5%) dan coumarin (1,5-4%) (Bruneton 1999).

Efek farmakologis yang dimiliki tanaman kayu manis, diantaranya sebagai peluruh kentut (carminative), peluruh keringat (diaporetic), antirematik, penambah nafsu makan (stomachica), dan penghilang rasa sakit (analgesic) (Hariana 2007).

#### **5. Kegunaan kulit kayu manis**

Kayu manis adalah salah satu jenis rempah-rempah yang sering digunakan sebagai bahan pemberi cita rasa, dan pemberi aroma pada makanan dan minuman, dan juga sebagai bahan aditif pada pembuatan parfum dan obat-obatan (Sundari

2001). Kulit kayu manis selain sebagai rempah, dapat juga diolah menjadi minyak atsiri dan oleoresin yang banyak dimanfaatkan dalam industri-industri farmasi, kosmetik, makanan, dan minuman. Kulit kayu manis pada umumnya digunakan secara tradisional, misal sebagai karminatif (Bisset & Wichtl 2001). Kayu manis mengandung 2 jenis fenilpropanoid yaitu cinnamaldehyd dan eugenol, kandungan utama minyak atsiri adalah senyawa sinamaldehyd dan eugenol. Kandungan tersebut memiliki potensi sebagai antibakteri. Minyak atsiri kulit kayu manis mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dengan Kadar Hambat Minimal (KHM) sebesar 0,25% dan Kadar Bunuh Minimal (KBM) sebesar 0,25% (Niu & Gilbert 2004). Kandungan minyak atsiri dapat mempengaruhi lapisan *lipid bi-layer* membransel sehingga menjadikan lebih permeabel, sehingga menyebabkan kebocoran isi sel vital. Penurunan aktivitas enzim bakteri juga merupakan mekanisme aksi penghambatan bakteri *Staphylococcus aureus* salah satunya oleh minyak atsiri (Burt 2004). Mekanisme penghambatan bakteri oleh minyak atsiri kulit kayu manis melibatkan beberapa aksi dan hal ini dimungkinkan karena sifat hidrofobitasnya (Niu & Gilbert 2004).

### **C. Minyak Atsiri**

#### **1. Pengertian minyak atsiri**

Minyak atsiri adalah zat berbau yang terkandung dalam tanaman. Minyak atsiri sering juga disebut sebagai minyak menguap, minyak eteris atau minyak esensial karena jika pada suhu biasa (suhu kamar) akan mudah menguap di udara

terbuka. Penyimpanan minyak atsiri dalam jangka waktu yang lama akan menyebabkan minyak atsiri teroksidasi dan membentuk resin (damar) serta perubahan warna menjadi lebih tua (gelap). Tindakan yang dapat dilakukan untuk mencegah terjadinya hal tersebut yaitu dengan cara menghindari minyak atsiri dari pengaruh cahaya, misalnya dapat disimpan dalam bejana gelas yang berwarna gelap (Gunawan & Mulyani 2004).

## **2. Sifat minyak atsiri**

Minyak atsiri memiliki beberapa sifat antara lain tersusun atas bermacam-macam komponen senyawa, dan memiliki bau yang khas. Bau minyak atsiri pada umumnya mewaliki bau dari tanaman aslinya, mempunyai rasa getir, kadang-kadang terasa tajam, memberi kesan hangat sampai panas, atau justru dingin ketika terasa dikulit, tergantung dari jenis komponen penyusunnya, dalam keadaan murni (belum tercemar oleh senyawa lain) mudah menguap pada suhu kamar, pada umumnya tidak dapat bercampur dengan air, tetapi cukup dapat larut hingga dapat memberikan baunya kepada air walaupun kelarutannya sangat kecil, sangat mudah larut dalam pelarut organik (Gunawan & Mulyani 2004).

Minyak atsiri sebaiknya disimpan dalam wadah berbahan dasar berwarna coklat untuk mengurangi sinar yang masuk. Botol penyimpan minyak atsiri harus terisi penuh agar oksigen udara yang ada dalam ruang udara tempat penyimpanan tersebut kecil (Koensoemardiyah 2010).

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

Metode isolasi yang paling sering digunakan adalah dengan menggunakan metode destilasi. Ada dua metode destilasi yang digunakan yaitu yang pertama,

metode destilasi kering. Metode destilasi kering paling sesuai untuk bahan kering dan untuk minyak-minyak yang tahan pemanasan. Kedua, adalah metode destilasi air. 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 dimasukkan kedalam bejana yang bentuknya mirip dandang (Gunawan dan Mulyani 2004).

#### **4. Identifikasi minyak atsiri**

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

### **D. Simplisia**

#### **1. Pengertian Simplisia**

Simplisia adalah bahan alam yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun (Depkes 1979). Simplisia merupakan sebutan untuk bahan alam yang dikeringkan dan digunakan untuk pengobatan. Suhu pengeringan simplisia maksimal 60°C untuk mencegah kerusakan kandungan senyawa dalam simplisia. Ada dua jenis simplisia yaitu simplisia segar dan simplisia nabati. Simplisia segar yaitu tanaman segar yang belum dilakukan pengeringan. Simplisia nabati yaitu tumbuhan utuh, bagian tumbuhan atau

eksudat tumbuhan. Eksudat tumbuhan adalah isi sel yang secara spontan keluar dari dalam tumbuhan atau dengan cara tertentu dipisahkan dari tumbuhannya (KEMENKES RI 2010).

## **2. Pengumpulan simplisia**

Simplisia berdasarkan bahan bakunya bisa diperoleh dari tanaman liar atau dari tanaman yang dibudidayakan. Simplisia yang diambil dari tanaman budidaya maka keseragaman umur, masa panen dan galur (alas-usul, garis keturunan) tanaman dapat dipantau. Simplisia yang diambil dari tanaman liar akan banyak kendala dan variabilitas yang tidak dapat dikendalikan seperti misalnya asal tanaman, umur tanaman dan tempat tumbuhnya (Depkes RI 1995).

Waktu panen yang tepat adalah pada saat bagian tanaman tersebut mengandung senyawa aktif dalam jumlah yang besar. Senyawa aktif tersebut secara maksimal di dalam bagian tanaman pada umur tertentu (Depkes RI 1985). Waktu panen juga pada umumnya tergantung pada beberapa faktor antara lain kesuburan lahan, perkembangan iklim selama pertumbuhan awal dan ketinggian tempat dari permukaan laut. Semakin muda tanaman dipanen, semakin rendah mutu kulit yang dihasilkan. Sebaliknya, semakin tua umur tanaman yang dipanen, makin tebal kulit yang diperoleh, makin tinggi produksi dan makin tinggi pula mutu kulit yang dihasilkan (Gusmailina 1995).

## **3. Cara pembuatan simplisia**

Pembuatan simplisia dapat dilakukan dengan beberapa tahapan berikut. Tahap yang pertama dimulai dengan pengumpulan bahan baku dan kemudian

menentukan kualitas bahan baku tersebut. Bahan yang sudah terkumpul disortasi basah atau dipilah terlebih dahulu ketika tanaman masih segar, kemudian dilakukan pencucian untuk membersihkan kotoran yang menempel di bahan tanaman. Bahan baku ditimbang dan kemudian dilakukan penetapan kadar zat pada bahan yang ditimbang (KEMENKES RI 2010).

#### **4. Pengemasan dan penyimpanan**

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

### **E. Penyulingan**

Umumnya minyak atsiri diisolasi dengan menggunakan empat metode. Pertama, metode destilasi/penyulingan terhadap tanaman yang mengandung minyak atsiri. Metode ini memanfaatkan perbedaan titik didih. Kedua, metode penyarian dengan menggunakan pelarut penyari yang cocok. Dasar metode ini adalah adanya perbedaan kelarutan. Minyak atsiri mudah sekali larut dalam pelarut organik tetapi tidak dapat larut di dalam air. Ketiga, metode pengepresan dan pemerasan. Metode ini hanya dapat dilakukan untuk simplisian yang banyak mengandung minyak atsiri dengan kadar yang cukup besar. Metode yang keempat, metode perlekatan bau dengan menggunakan media lilin. Metode ini

memanfaatkan aktivitas enzim yang terus aktif selama kurang lebih 15 hari dihitung sejak bahan minyak atsiri dipanen (Gunawan & Mulyani 2014).

## F. *Staphylococcus aureus*

### 1. Sistematika *Staphylococcus aureus*

Sistematika ilmiah menurut Garrity *et al* (2007) adalah sebagai berikut :

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

### 2. Morfologi dan identifikasi

*Staphylococcus aureus* berasal dari perkataan staphyle yang berarti kelompok buah anggur dan kokus yang berarti benih bulat. Kuman ini merupakan Gram positif yang berbentuk sferis, tidak bergerak, tidak berspora dan menggerombol dalam susunan yang tidak teratur dengan diameter masing-masing antara 0,8-1,0 mikron (Jawetz *et al.* 2001).

*Staphylococcus aureus* mengandung polisakarida dan protein yang mempunyai fungsi sebagai antigen dan merupakan substansi penting dalam struktur dinding sel, tidak membentuk spora dan tidak membentuk flagel (Jawetz *et al* 2001).



*Staphylococcus aureus* dapat masuk ke dalam tubuh melalui kerusakan kulit misalnya luka atau melalui rusaknya folikel rambut dan saluran pada jaringan penghasil keringat (Iskamto 2009). *Staphylococcus aureus* juga dapat menyebabkan intoksikasi, dan bermacam-macam infeksi seperti jerawat, bisul, meningitis, osteomielitis, pneumonia dan mastitis pada manusia dan hewan (Jawetz *et al* 2001).

Setiap jaringan atau alat tubuh dapat diinfeksi oleh bakteri *Staphylococcus aureus* dan menyebabkan timbulnya penyakit dengan tanda-tanda khas yaitu peradangan dan pembentukan abses. Bakteri *Staphylococcus aureus* berwarna khas kuning keemasan hanya intensitas warnanya dapat bervariasi, koloni yang masih sangat muda tidak berwarna, tetapi dalam pertumbuhannya terbentuk pigmen yang larut dalam alkohol, eter, kloroform, dan benzol. Pigmen ini termasuk dalam golongan lipolirum dengan alam tetap dalam koloni tidak meresap dalam pembedahan, tetapi larut dalam eksudat jaringan-jaringan sehingga nanah berwarna sedikit kuning keemasan yang merupakan petunjuk tentang adanya infeksi oleh kuman (Jawetz *et al* 2001).

### **G. Antibakteri**

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

Secara umum kemungkinan situs serangan suatu zat antibakteri dapat diduga dengan mengenali struktur serta komposisi sel bakteri. Kerusakan pada salah satu situs dapat mengawali terjadinya perubahan-perubahan matinya sel. Perubahan-perubahan yang dimaksud adalah yang pertama, kerusakan pada dinding sel. Struktur dinding sel dapat rusak dengan cara menghambat pembentukannya atau setelah selesai terbentuk. Kedua, perubahan permeabilitas sel. Membran sitoplasma mempertahankan bagian-bagian tertentu dalam sel serta mengatur aliran keluar masuknya bahan-bahan lain, kemudian memelihara integritas komponen-komponen seluler. Kerusakan pada membran ini akan mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel. Ketiga, perubahan molekul protein dan asam nukleat. Hidup suatu sel tergantung pada terpeliharanya molekul-molekul protein dan asam nukleat dalam keadaan alamiahnya. Suatu antibakteri dapat mengubah keadaan ini dengan mendenaturasikan protein dan asam-asam nukleat sehingga merusak sel tanpa dapat diperbaiki lagi. Keempat, penghambatan kerja enzim. Sulfonamid merupakan zat kemoterapi sintesis yang bekerja dengan cara bersaing dengan PABA, sehingga dapat menghalangi sintesis asam folat yang merupakan asam esensial yang berfungsi dalam sintesis purin dan pirimidin. Dengan demikian karena tidak adanya enzim, maka aktivitas seluler yang normal akan terganggu. Kelima, penghambatan sintesis asam nukleat dan protein. DNA, RNA dan protein memegang perubahan amat penting di dalam proses kehidupan normal sel. Hal ini berarti bahwa gangguan apapun yang terjadi

pada pembentukan sel atau pada fungsi sel zat-zat tersebut mengakibatkan kerusakan total pada sel (Jawetz *et al.* 2001).

## **H. Kombinasi Obat**

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

Efek kombinasi dari beberapa agent kimia yang berbeda dapat dilihat dengan cara melihat hubungan dosis yang linier dan terdapat interaksi antara dua agent kimia yaitu aditif, sinergis, dan antagonis. Aditif dapat terjadi jika efek gabungan yang ditimbulkan oleh dua zat kimia sebanding dengan jumlah efek dari masing-masing agent. Antagonis merupakan kebalikan dari sinergis yaitu jika efek antagonis muncul akibat penetralan zat kimia atau efeknya lebih lemah dari pada jumlah yang diberikan dari masing-masing agent (Alatas & Nurhayati 2006).

## **I. Metode Difusi**

Metode difusi adalah metode yang paling sering digunakan. Metode difusi merupakan suatu uji aktifitas yang menggunakan cakram berliang renik atau suatu silinder tidak beralas yang mengandung obat dalam jumlah tertentu ditempatkan pada pembedihan padat yang telah ditanami dengan biakan bakteri yang akan diperiksa (Harminta 2004). Medium padat yang sebelumnya telah diinokulasi bakteri uji pada permukaannya, yang selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C

selama 18-24 jam. Setelah diinkubasi, diamati diameter zona hambat disekitar cakram kertas yang digunakan untuk mengukur kekuatan hambat terhadap organisme uji (Jawetz et al. 2001). Diameter daerah hambatan tergantung pada daya resap larutan uji yang digunakan ke dalam agar dan kepekaan kuman terhadap obat tersebut (Bonang & Koeswardono 2004).

## **J. Landasan Teori**

Masyarakat Indonesia saat ini sebagian besar masih menggunakan bahan-bahan alami sebagai keperluan sehari-hari dan juga untuk bahan obat. Obat-obat tradisional dipercaya dapat menyembuhkan berbagai macam penyakit. Pengobatan menggunakan bahan alami kemangi (*Ocimum basilicum* L.) yang mengandung minyak atsiri dapat digunakan sebagai antibakteri. Bagian yang diambil minyak atsirinya adalah bagian daun dari tanaman kemangi (Marianne & Sinaga 2006). Kemangi merupakan tanaman yang mempunyai kandungan utama minyak atsiri yang dibudidayakan secara komersial di banyak negara (Sajjadi, 2006). Minyak atsiri kemangi ditemukan memiliki beberapa aktivitas salah satunya adalah sebagai antibakteri. Minyak atsiri daun kemangi dapat menghambat *Salmonella paratyphimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter aerogenes* dengan kisaran KHM sebesar 3,12-25,0 % (Adeola et al, 2012). Minyak atsiri daun kemangi memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dengan Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM) 0,4% sebanding dengan ampisillin trihidrat 150 mg/ml dengan metode difusi agar (Marianne & Sinaga 2006).

Kulit kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) selain dapat digunakan sebagai bahan bumbu masak ataupun sebagai penyedap makanan, kayu manis juga bermanfaat sebagai bahan baku obat untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit seperti obat sakit perut, antirematik, meningkatkan nafsu makan, menurunkan tekanan darah tinggi, sakit pinggang serta menghilangkan sakit. Kayu manis mengandung senyawa utama yaitu sinamaldehyd. Selain itu, kulit kayu manis juga banyak mengandung phenylpropanes lainnya yang meliputi hidroksi sinamaldehyd, o-methoksi sinamaldehyd, sinamal alkohol dan asetatnya, dan terpenya di antara limonen,  $\alpha$ -terpienol, tannin, mucilage, oligomeric, dan juga kumarin (Bisset & Wihtel 2001). Kulit kayu manis banyak terdapat komponen kimia seperti damar, pelekat, gula, kalsium, oksalat dan kumarin. Kulit kayu manis (*Cinnamomum burmannii* Nees ex BL.) pada umumnya banyak mengandung minyak atsiri, pati, protein dan lain-lain. Minyak atsiri kayu manis berada di seluruh bagian dari tanaman, mulai dari bagian akar, batang, hingga daun dan bunga (Rismunandar 2001). Penelitian yang dilakukan Anus et al (2003) memperoleh nilai KBM 1000  $\mu\text{g/mL}$  minyak atsiri kulit kayu manis (*Cinamomum burmannii* Nees ex BL.) yang memiliki aktivitas terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan mengandung senyawa murni dari minyak atsiri kulit kayu manis, salah satunya adalah sinamaldehyd.

Minyak atsiri merupakan zat yang memberikan aroma pada tumbuhan. Keadaan segar dan murni tanpa pencemaran, minyak atsiri umumnya tidak berwarna. Minyak atsiri disimpan di ruang yang terlindung dari sinar matahari dalam wadah yang berbahan kaca yang berwarna gelap agar minyak atsiri tidak mengalami perubahan warna. Penyimpanan lama minyak atsiri dapat teroksidasi

dan membentuk resin serta warnanya berubah menjadi lebih tua (gelap), karena itu penyimpanan minyak atsiri harus disimpan ditempat yang terhindar dari sinar matahari. Minyak atsiri memiliki bau yang khas umumnya bau ini mewakili bau tanaman asalnya, memiliki rasa getir, kadang-kadang berasa tajam, menggigit, memberi kesan hangat sampai panas, atau dingin ketika terasa dikulit, tergantung komponen penyusunnya (Gunawan dan Mulyani 2004).

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

Bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan patogen piogenik yang secara umum menyebabkan infeksi nosokomial pada luka bedah, sedangkan dalam komunitas menyebabkan infeksi kulit dan jaringan lunak, infeksi saluran pernafasan, endokarditis infeksi serta akne vulgaris (Jenri *et al.* 2014). *Staphylococcus aureus* adalah bakteri bersifat Gram positif, biasanya tersusun dalam rangkaian tidak beraturan seperti buah anggur. Beberapa diantaranya tergolong flora normal pada kulit dan selaput mukosa manusia, menyebabkan penanahan, abses, berbagai infeksi pirogen dan bahkan septikimia yang fatal. Bakteri *Staphylococcus aureus* mengandung polisakarida dan protein yang berfungsi sebagai antigen dan merupakan substansi penting didalam struktur dinding sel. *Staphylococcus aureus* tidak membentuk spora, dan tidak membentuk flagel (Jawetz *et al* 2005).

Penelitian yang dilakukan akan menggunakan metode difusi agar atau sumuran. Pengujian dilakukan dengan cawan petri akan diisi dengan media MHA

(*Mueher Hinto Agar*), menginokulasi bakteri *Staphylococcus aureus* pada media tersebut, kemudian menunggu sampai bakteri menyerap pada media. Sumuran dibuat dengan boorprop, larutan uji dimasukkan dengan konsentrasi yang berbeda-beda ke dalam sumuran yang telah dibuat tadi, lalu menginokulasi selama 24 jam, dan kemudian mengamati diameter hambatan. Hasil penelitian pada metode difusi akan didapatkan secara spesifiknya berdasarkan pada konsentrasi larutan uji yang dibuat. Diameter daerah hambat ini tergantung pada daya serap larutan uji kedalam agar dan kepekaan kuman terhadap obat tersebut (Bonang & Koeswardono 2004).

#### **K. Hipotesis**

Berdasarkan dari uraian di atas, maka dapat disusun hipotesis sebagai berikut :

Pertama, minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum basilicum L.*) dan kulit kayu manis (*Cinnamomum burmani Nees ex BL.*) maupun kombinasi dari keduanya memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kedua, kombinasi dengan perbandingan (3:1) yaitu 3 ml minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum basilicum L.*) dan 1 ml minyak atsiri kulit kayu manis (*Cinamomum burmannii Nees ex BL.*) memiliki aktivitas lebih efektif dari pada minyak atsiri kemangi atau kulit kayu manis terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

## **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 kulit kayu manis (*Cinnamomum burmani* Nees ex BL.) dan daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) yang diperoleh dari B2P2TOOT (Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional) Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah pada bulan November 2015.

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

Sampel adalah sebagian kecil dari populasi yang digunakan dalam melakukan penelitian. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit kayu manis (*Cinamomum burmannii* Nees ex BL.) seperti kulit batang dan ranting yang sudah kering, berwarna coklat dan wangi yang diambil secara acak. Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) sampel diambil bagian daunnya, dipilih yang segar, bebas dari penyakit, serta bersih yang diambil secara acak dari B2P2TOOT pada bulan November 2015.

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

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

Variabel utama pertama dalam penelitian ini adalah minyak atsiri dari daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dan kulit kayu manis (*Cinnamomum burmannii* Nees ex BL.) beserta kombinasinya.



Variabel utama kedua penelitian ini adalah aktivitas antibakteri minyak atsiri dari kulit kayu manis (*Cinnamomum burmanii* Nees ex BL.) dan kemangi (*Ocimum basilicum* L.) beserta kombinasinya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC25923.

## **2. Klasifikasi variabel utama**

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

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi dari minyak atsiri kulit kayu manis, daun kemangi, dan kombinasi keduanya.

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

Variabel tergantung dari penelitian ini adalah aktivitas antibakteri minyak atsiri kulit kayu manis, kemangi, dan kombinasi keduanya dengan dilihat pertumbuhannya pada media uji.

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

**Pertama**, daun yang digunakan adalah daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dan kulit kayu manis (*Cinnamomum burmannii* Nees ex BL.) yang diambil secara acak dari B2P2TOOT Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah.

**Kedua**, minyak atsiri kulit kayu manis (*Cinamomum burmannii* Nees ex BL.) dan daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) adalah minyak atsiri hasil destilasi dengan menggunakan metode destilasi uap air.

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

**Keempat**, kombinasi minyak atsiri kulit kayu manis dan daun kemangi (1:1) adalah kombinasi dari minyak atsiri daun kemangi dan kulit kayu manis yaitu satu bagian minyak atsiri daun kemangi dan satu bagian minyak atsiri kulit kayu manis.

**Kelima**, kombinasi minyak atsiri dengan perbandingan (1:2) adalah kombinasi dari minyak atsiri daun kemangi dan kulit kayu manis yaitu satu bagian minyak atsiri kulit kayu manis dan dua bagian minyak atsiri daun kemangi.

**Keenam**, kombinasi minyak atsiri dengan perbandingan (2:1) adalah kombinasi dari minyak atsiri daun kemangi dan kulit kayu manis yaitu dua bagian minyak atsiri daun kemangi dan satu bagian minyak atsiri kulit kayu manis.

**Ketujuh**, kombinasi minyak atsiri dengan perbandingan (1:3) adalah kombinasi dari minyak atsiri daun kemangi dan kulit kayu manis yaitu satu bagian minyak atsiri daun kemangi dan tiga bagian minyak atsiri kulit kayu manis.

**Kedelapan**, kombinasi minyak atsiri dengan perbandingan (3:1) adalah kombinasi dari minyak atsiri daun kemangi dan kulit kayu manis yaitu tiga bagian minyak atsiri daun kemangi kulit dan satu bagian minyak atsiri kulit kayu manis. Kontrol positif adalah antiseptik (seperti betadine).

**Kesembilan,** uji aktivitas antibakteri kombinasi adalah pengujian aktivitas dengan menggunakan metode difusi untuk melihat pertumbuhan bakteri dalam media uji dengan berbagai konsentrasi.

**Kesepuluh,** uji aktivitas antibakteri kombinasi adalah aktivitas dengan menggunakan metode dilusi untuk mengetahui konsentrasi terendah sediaan yang dapat membunuh bakteri uji.

### C. Alat Dan Bahan

#### 1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi gelas ukur, kondensor, lampu spiritus, ose tangkai panjang, tabung reaksi, rak tabung reaksi, cawan petri steril, inkubator, pipet, dan dandang besar.

#### 2. Bahan

Bahan sampel yang digunakan dalam uji mikrobiologi antibakteri adalah minyak atsiri dari kulit kayu manis (*Cinnamomum burmanii* Nees ex BL.) dan daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) yang diambil secara acak dari B2P2TOOT Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah.

Bahan kimia yang digunakan adalah Na sulfat eksikatus. Medium yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Mueler Hilnton Agar* (MHA), *Vogel Johnson Agar* (VJA), *Nutrien Agar* (NA), *Brain Heart Infusion* (BHI) dan plasma sitrat.

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

## **D. Jalannya Penelitian**

### **1. Identifikasi/determinasi tanaman**

Tahap pertama penelitian ini adalah menetapkan kebenaran sampel kemangi dan kulit batang kayu manis yang berkaitan dengan ciri-ciri mikroskopis dan makroskopis, serta mencocokkan ciri-ciri morfologis yang ada pada tanaman kayu manis terhadap kepustakaan yang dilakukan di Laboratorium Morfologi dan Sistemik Tumbuhan, Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi, Surakarta.

### **2. Pengambilan Bahan**

Daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dan kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii* Nees ex BL.) yang diperoleh dari B2P2TOOT Tawangmangu, Karangayar, Jawa Tengah. Kemangi yang diambil adalah bagian daunnya, lalu dibersihkan dari kotoran yang menempel. Kulit batang kayu manis yang diambil yaitu yang berwarna coklat dan wangi. Sebelum diproses, dirajang dahulu menjadi potongan-potongan kecil lalu dikeringkan untuk menjaga keawetan dan mencegah timbulnya jamur.

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

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

Minyak yang diperoleh kemudian dilakukan pemisahan fase air dan minyak menggunakan corong pisah dengan penambahan  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  eksikatus seberat 1% dari volume minyak atsiri sehingga didapat hasil sulingan minyak kayu manis dan kemangi yang murni. Minyak yang diperoleh kemudian disimpan dalam botol berwarna gelap (coklat), diisi penuh dan kemudian ditutup rapat serta simpan di ruangan yang terlindung dari cahaya (Depkes 2003).

#### **4. Analisa minyak atsiri**

**4.1. Pengamatan organoleptik.** Pengamatan organoleptik terhadap minyak atsiri meliputi warna, aroma, bentuk, dan rasa dari minyak. Warna minyak atsiri hasil destilasi masing-masing sampel diambil volume sama dan ditempatkan dalam sebuah wadah berbahan kaca yang bersih dan jernih. Bau dan rasa minyak atsiri memiliki bau dan rasa yang khas sesuai dari tanaman asalnya. Organoleptik minyak atsiri kulit batang kayu manis dan daun kemangi memiliki bau aromatik, mirip sinamaldehyd dan eugonol. Rasa membakar, manis, dan seperti rempah (Stahl 2008).

**4.2. Identifikasi minyak atsiri.** Identifikas minyak atsiri kulit kayu manis (*Cinnamomum burmanii* Nees ex BL.) dan daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) seperti identifikasi minyak atsiri pada umumnya yaitu minyak atsiri kulit kayu manis (*Cinnamomum burmani*) dan daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) minyak atsiri ditetaskan pada permukaan air, minyak atsiri akan menyebar dan permukaan air tidak akan keruh. Minyak atsiri ditetaskan pada kertas saring, apabila dibiarkan minyak akan menguap sempurna tanpa meninggalkan noda lemak (Gunawan dan Mulyani 2004).

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

**4.4. Penetapan bobot jenis minyak atsiri.** Penetapan bobot jenis ditetapkan dengan cara botol timbang dikeringkan dengan cara dioven, kemudian ditimbang botol kosong dan dicatat hasilnya. Minyak atsiri kulit kayu manis (*Cinnamomum burmanii* Nees ex BL.) dan kemangi (*Ocimum basilicum* L.) ditimbang dalam botol timbang dan dicatat hasilnya, penimbangan diulang sebanyak tiga kali. Data hasil penimbangan botol ditimbang dan minyak atsiri kulit kayu manis dan kemangi dikurangkan bobot botol timbang kosong sehingga didapatkan bobot minyak atsiri. Dibandingkan bobot minyak dengan bobot air sehingga didapatkan bobot jenis dari minyak atsiri.

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

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

senyawa penyusun minyak atsiri kulit kayu manis dan kemangi menggunakan GC-MS Shimadzu GCMS-QP2010S (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan) Shimadzu GCMS-QP2010S (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan) dilengkapi dengan Capillary Column Model Number: Agilent 19091S-433 HP-5MS 5 % Phenyl Methyl Siloxane (diameter dalam 250  $\mu\text{m}$ , panjang 30 m, dan ketebalan film 0.25  $\mu\text{m}$ ) dan detektor yang digunakan FID. Kondisi GC: suhu awal 60  $^{\circ}\text{C}$  dinaikkan sampai 250  $^{\circ}\text{C}$  (4  $^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ ) kemudian pada suhu 250  $^{\circ}\text{C}$  dipertahankan selama 20 menit, gas pembawa Helium dengan kecepatan aliran 20 ml/min. Senyawa diidentifikasi dengan membandingkan retention index dan membandingkan mass spectra dengan yang ada di database *wiley library* dan *NIST library* (Adams 2004).

## **5. Sterilisasi**

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

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

Pembuatan suspensi dengan mengambil biakan murni kurang lebih 2 ose bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Suspensi dibuat dalam tabung yang berisi media *Brain Heart Infusion* (BHI) dan kekeruhannya disesuaikan dengan kekeruhan standar Mc Farland 0,5 setara dengan jumlah  $10^8$  cfu/mL. Tujuan disesuaikannya suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan

standar Mc Farland 0,5 yaitu agar jumlah bakteri yang digunakan sama selama penelitian dan mengurangi kepadatan bakteri saat pengujian. Tahap selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam.

## **7. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

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

**7.2. Identifikasi mikroskopis secara morfologi.** Persamaan Gram positif *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menggunakan Gram A (cat Kristal violet sebagai cat utama), Gram B (lugol iodine sebagai mordan), Gram C (etanol aseton = 1 : 1 sebagai peluntur), dan Gram D (cat sarfania sebagai cat lawan atau penutup). Pewarnaan gram dilakukan dengan cara buat preparat ulas yang telah difiksasi kemudian ditetesi dengan Gram A sampai semua ulasan berwarna, diamkan selama kurang lebih 1 menit. Cuci dengan aquadestilata mengalir dan dianginkan untuk mengeringkan preparat, preparat dilunturkan dengan Gram C dan didiamkan selama kurang lebih 30 detik, dicuci dengan aquadestilata mengalir kemudian ditetesi Gram D dan diamkan selama kurang lebih 1 menit. Cuci dengan aquadestilata mengalir kemudian keringkan preparat. Bila diamati di bawah mikroskop bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dinyatakan positif apabila berwarna ungu, berbentuk bulat dan bergerombol seperti buah anggur.



### **7.3. Identifikasi fisiologi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.**

Identifikasi secara fisiologi ada dua yaitu uji katalase dan koagulase, uji katalase menggunakan suspensi bakteri uji yang ditanam pada medium nutrient cair dengan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3%. Hasil positif ditandai dengan adanya gelembung udara sebab *Staphylococcus aureus* mempunyai katalase. Penambahan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> akan terurai menjadi H<sub>2</sub> dan O<sub>2</sub>, hal ini ditandai dengan timbulnya gelembung udara. Uji koagulase menggunakan plasma darah kelinci yang diberi asam sitrat, diencerkan (1:5) ditambah 1 ose biakan bakteri, diinkubasi pada suhu 37°C. Tabung diperiksa dengan melihat pembentukan selama 1-4 jam. Hasilnya positif kuat jika tabung tes dibalik, gumpalan plasma tidak terlepas dan tetap melekat pada dinding tabung (Jawets *et al* 2007).

### **8. Pembuatan kombinasi bahan uji**

Kombinasi minyak atsiri kemangi dan kulit kayu manis dengan perbandingan (1:1) dibuat dengan mengambil 0,5 ml minyak atsiri daun kemangi dan 0,5 ml minyak atsiri kulit kayu manis, kombinasi minyak atsiri dengan perbandingan (1:2) dibuat dengan mengambil 0,33 ml minyak atsiri daun kemangi dan 0,67 ml minyak atsiri kulit kayu manis, kombinasi minyak atsiri dengan perbandingan (2:1) dibuat dengan mengambil 0,67 ml minyak atsiri daun kemangi dan 0,33 ml minyak atsiri kulit kayu manis, kombinasi minyak atsiri dengan perbandingan (1:3) dibuat dengan mengambil 0,25 ml minyak atsiri daun kemangi dan 0,75 ml minyak atsiri kulit kayu manis, kombinasi minyak atsiri dengan perbandingan (3:1) dibuat dengan mengambil 0,75 ml minyak atsiri daun kemangi dan 0,25 ml minyak atsiri kulit kayu manis.

## 9. Pengujian aktivitas antibakteri

Metode yang digunakan untuk uji daya hambat antibakteri adalah metode difusi. Penelitian ini menggunakan cawan petri yang berisi MHA. Pertama bakteri diambil dari media BHI dengan menggunakan mikropipet steril sebanyak 10  $\mu$ l kemudian dituangkan pada cawan petri yang berisi MHA tersebut dan diratakan dengan menggunakan spreader.

Setelah suspensi bakteri diratakan pada MHA, tempelkan cakram yang sudah direndam dalam tiap perbandingan. Dalam satu cawan petri berisi lima perbandingan. Masing-masing bagian cawan petri di tempel cakram dengan larutan kombinasi minyak atsiri kemangi dan kulit kayu manis pertama berisi kombinasi 1:1 yaitu 0,5 ml minyak atsiri daun kemangi dan 0,5 ml minyak atsiri kulit kayu manis, pada sudut kedua berisi kombinasi 1:2 yaitu 0,33 ml minyak atsiri daun kemangi dan 0,67 ml minyak atsiri kulit kayu manis, pada sudut ketiga berisi kombinasi 2:1 yaitu 0,67 ml minyak atsiri daun kemangi dan 0,33 ml minyak atsiri kulit kayu manis, pada sudut keempat berisi kombinasi 1:3 yaitu 0,25 ml minyak atsiri daun kemangi dan 0,75 ml minyak atsiri kulit kayu manis, pada sudut kelima berisi kombinasi 3:1 yaitu 0,75 ml minyak atsiri daun kemangi dan 0,25 ml minyak atsiri kulit kayu manis, dengan menggunakan mikropipet. Kontrol positif menggunakan antiseptik betadine. Setelah semua cawan petri terisi cakram dengan tiap perbandingan larutan, cawan petri diinkubasi di dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C. Kemudian setelah 24 jam dilakukan inkubasi, zona hambat yang terbentuk dapat diukur.

Pengukuran zona hambat disekitar sumuran dilakukan menggunakan penggaris dengan ketelitian 1 mm. Hasil dari pengukuran tersebut dijumlahkan

dan dibagi dengan banyaknya pengukuran untuk mendapatkan besarnya zona hambat yang terbentuk.

### **E. Analisis Hasil**

Data hasil penelitian diperoleh dengan mengukur zona hambat yang terbentuk. Data keseluruhan yang diperoleh dari pengukuran zona hambatan yang terlihat pada cawan petri dikelompokkan menurut perlakuan masing-masing kemudian dihitung rata-ratanya.

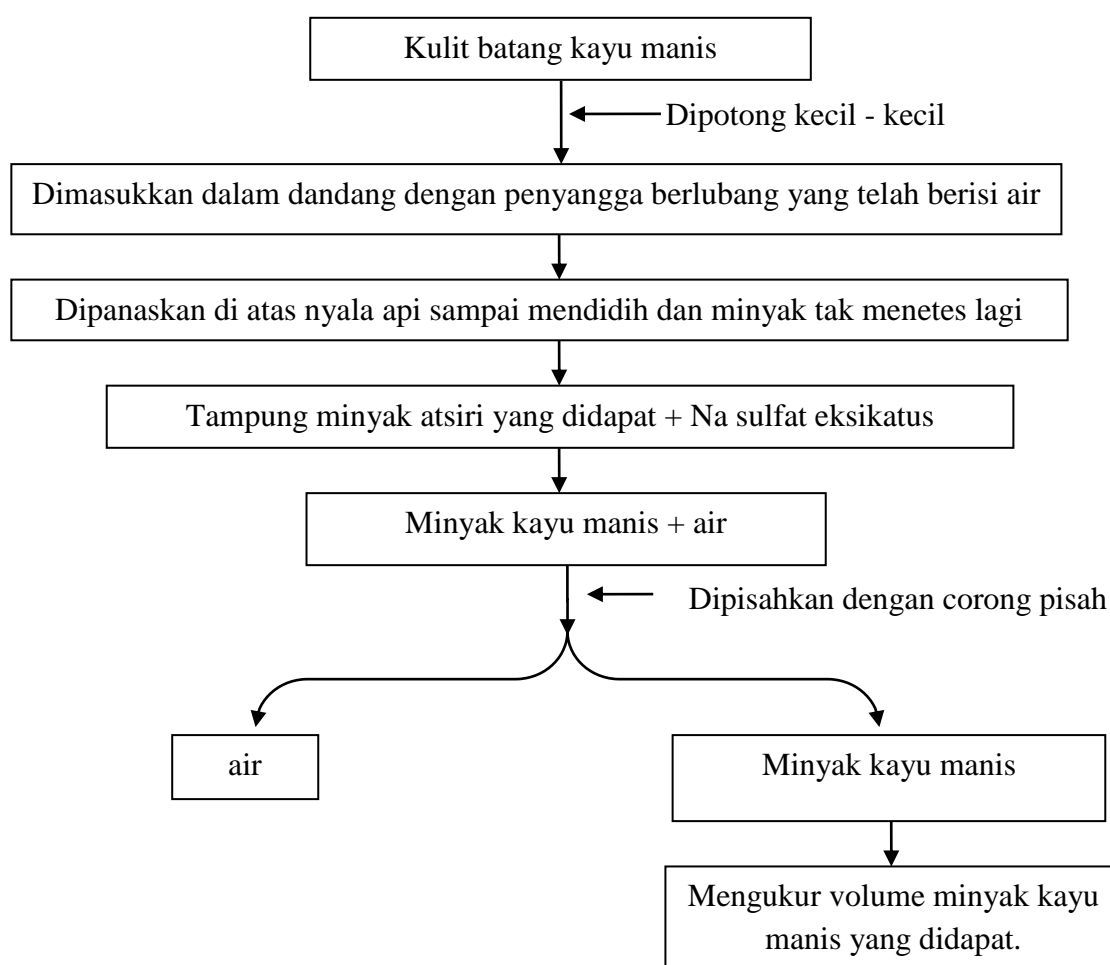
### **F. Pengujian aktivitas antibakteri dengan metode dilusi**

Metode dilusi digunakan untuk mengetahui konsentrasi terendah sediaan yang dapat membunuh bakteri uji. Metode ini menggunakan 1 deretan tabung reaksi dari 12 tabung steril dengan interval pengenceran dua kali secara aseptis.

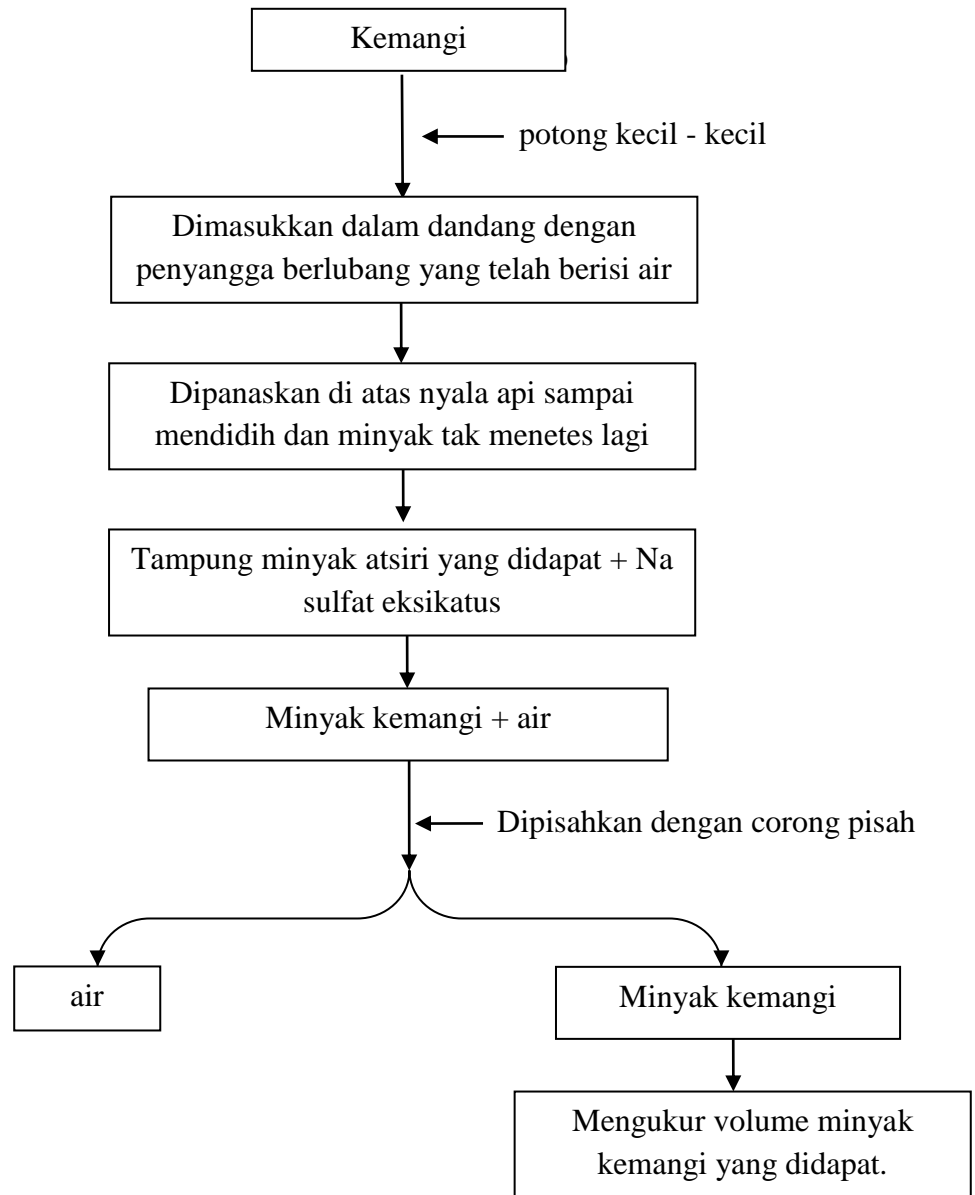
Metode dilusi dilakukan dengan memasukkan bahan uji ke dalam masing-masing tabung reaksi kecuali tabung sebagai kontrol positif dan tabung sebagai kontrol negatif. Pembuatan suspensi bakteri dengan menggunakan pelarut NaCl 0,9%. Masing-masing tabung tersebut mempunyai beberapa konsentrasi pengenceran yaitu, konsentrasi minyak atsiri kulit kayu manis dan daun kemangi adalah 100%; 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,13%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,19%. Kontrol negatif dan kontrol positif secara aseptis dimasukan 0,5 ml dari tabung 2 dipindah ketabung 3, perlakuan sama juga digunakan untuk tabung - tabung berikutnya sampai ke 11, kemudian 0,5 ml dari tabung 11 dibuang. Menambahkan 0,5 ml suspensi bakteri yang akan diperiksa yang telah diencerkan 1: 1000 pada semua tabung reaksi kecuali tabung 1. Tabung 1 sebagai kontrol

negatif berisi media dan larutan stok minyak atsiri. Sedangkan 12 tabung sebagai kontrol positif yang berisi media dan suspensi bakteri inkubasi semua tabung pada suhu 37°C selama 24-48 jam kemudian diamati tingkat kekeruhannya. Minyak atsiri kulit kayu manis dan daun kemangi diuji lagi dengan metode dilusi dilakukan untuk melihat uji mana yang lebih efektif terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

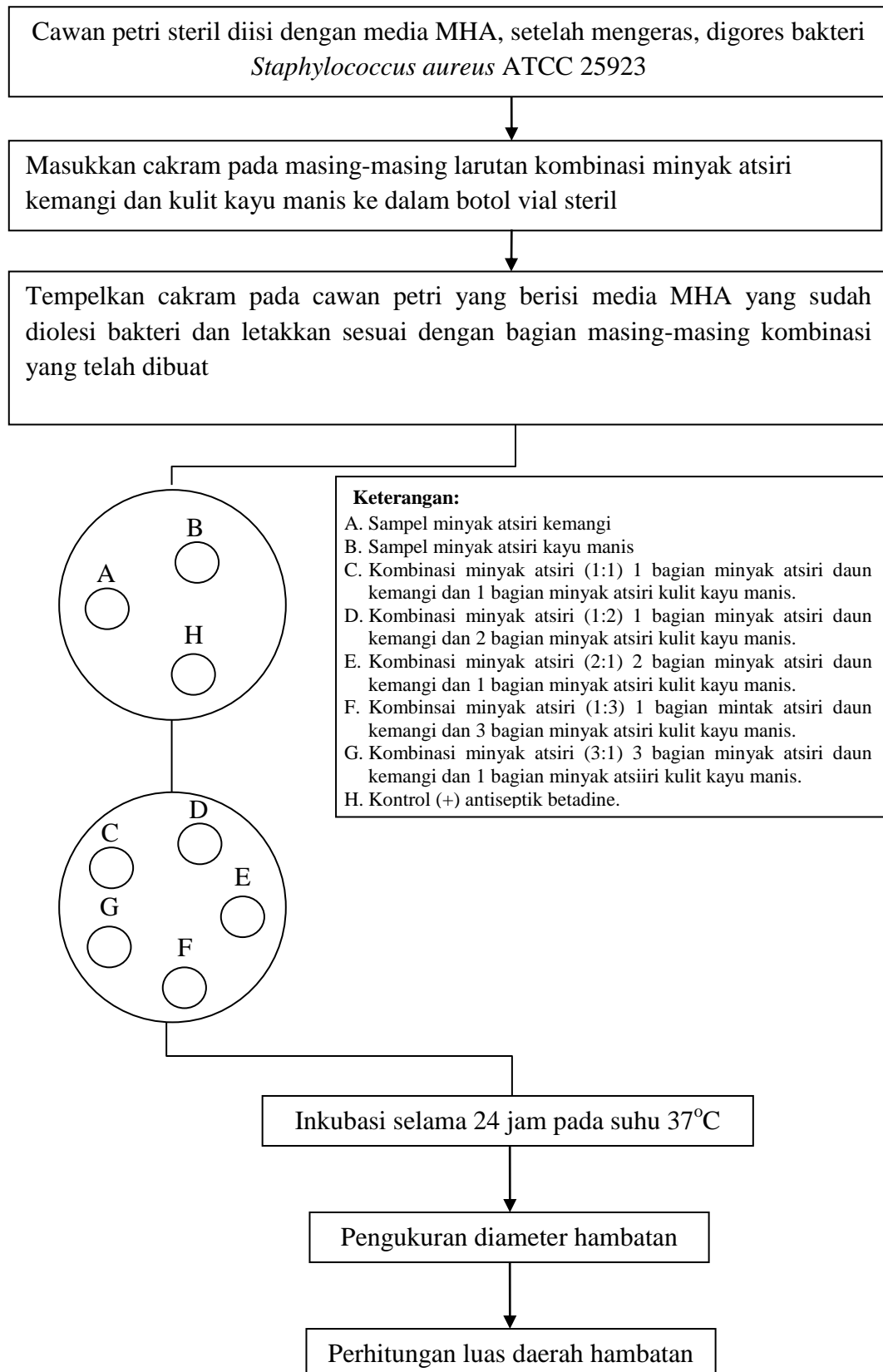
Data dianalisis dengan uji statistik yang sesuai untuk mengetahui pengaruh daya hambat antibakteri kombinasi minyak atsiri kulit kayu manis dan daun kemangi pada konsentrasi berbeda dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.



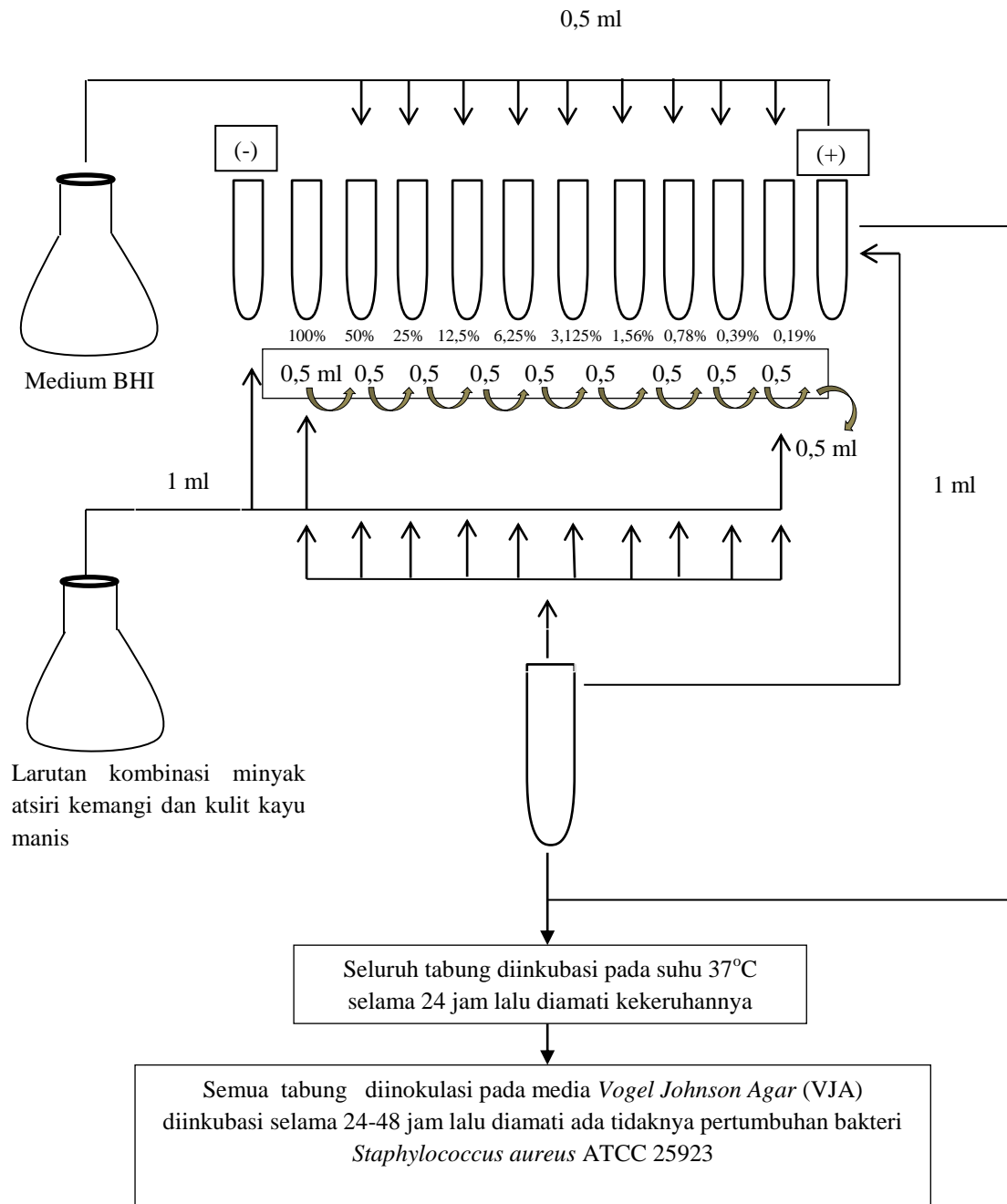
Gambar 3. Skema isolasi minyak atsiri kulit kayu manis



Gambar 4. Skema isolasi minyak atsiri kemangi



Gambar 5. Skema pengujian aktivitas antibakteri secara dilusi



**Gambar 6. Skema pengujian aktivitas antibakteri secara dilusi**

## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHAN**

#### **A. Hasil Penelitian**

##### **1. Identifikasi Tanaman**

Identifikasi adalah untuk menetapkan kebenaran sampel kemangi dan kulit kayu manis yang berkaitan dengan ciri-ciri mikroskopis dan makroskopis, serta mencocokkan ciri-ciri morfologis yang ada pada tanaman. Identifikasi tanaman kemangi dan kulit kayu manis dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Hasil identifikasi dapat dilihat pada lampiran 1 dan 2.

##### **2. Pengambilan Bahan**

Bahan daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dan kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmannii* Nees ex BL.) yang diperoleh dari B2P2TOOT Tawangmangu, Karangayar, Jawa Tengah. Kemangi yang diambil adalah bagian daunnya, lalu dibersihkan dari kotoran yang menempel dan yang masih segar. Kulit batang kayu manis yang diambil berwarna coklat dan wangi, lalu dibersihkan dari kotoran yang menempel. Sebelum diproses, dirajang dahulu menjadi potongan-potongan kecil. Hasil gambar bahan dapat dilihat pada lampiran 3.

##### **3. Isolasi Minyak Atsiri**

Isolasi minyak atsiri kemangi dan kulit kayu manis dengan menggunakan metode destilasi uap dan air.



**Tabel 1. Kadar minyak atsiri daun kemangi dan kulit kayu manis**

<b>Sampel</b>	<b>Bobot sampel</b>	<b>Volume minyak</b>	<b>Kadar (%)</b>
Kemangi	5000 gram	10 ml	0,2
Kulit kayu manis	5000 gram	10 ml	0,2

Penelitian Hussain *et al* (2008) membuktikan bahwa minyak atsiri kemangi mempunyai komponen utama yaitu linalool dan kulit kayu manis mengandung minyak atsiri yang terdiri dari safrol, eugenol, aceteugenol, aldehida, dan sinamaldehyd (Mursito 2005). Hasil dari penelitian ini didapatkan kadar minyak atsiri kemangi dan kayu manis yaitu 0,2 %. Data perhitungan lengkap dapat dilihat pada Lampiran 4 dan 5.

#### **4. Pengamatan Organoleptik**

Organoleptik dalam penelitian ini dilakukan dengan cara melihat dari warna, bau, bentuk dan rasa dari minyak atsiri kemangi dan kulit kayu manis. Hasil organoleptik dapat dilihat pada tabel 2 dan 3.

**Tabel 2. Organoleptik minyak atsiri kemangi**

<b>Jenis pemeriksaan</b>	<b>Hasil</b>	<b>Pustaka</b>
Warna	Kuning kecoklatan	Kuning muda-coklat muda (Depkes 2006)
Bau	Aromatik	Khas kemangi (Depkes 2006)
Bentuk	Cair	Cairan (Depkes 1979)
Rasa	Manis, seperti rampah	Alfrida 2013

**Tabel 3. Organoleptik minyak atsiri kulit kayu manis**

<b>Jenis pemeriksaan</b>	<b>Hasil</b>	<b>Pustaka</b>
Warna	Kuning muda	Kuning muda-coklat muda (Depkes 2006)
Bau	Khas kayu manis	Khas kayu manis (Depkes 2006)
Bentuk	Cair	Cairan (Depkes 1979)
Rasa	Manis pedas, membakar	Hangat, pedas dan sedikit manis (Supriadi <i>et al</i> 2001)

Minyak atsiri hasil destilasi yang digunakan diambil masing-masing dengan volume yang sama kemudian disimpan dalam wadah botol kaca yang bersih dan jernih, kemudian dibandingkan dengan pembanding dari masing-

masing sampel minyak atsiri. Rasa dan bau dari sampel memiliki rasa dan bau yang khas dari tanaman aslinya.

## 5. Identifikasi minyak atsiri

Hasil identifikasi dapat dilihat pada tabel 4 dan 5.

**Tabel 4. Identifikasi minyak atsiri kemangi**

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

**Tabel 5. Identifikasi minyak kayu manis**

<b>Zat Aktif</b>	<b>Pemeriksaan</b>	<b>Hasil</b>	<b>Pustaka</b>
Kulit kayu manis	1 tetes minyak atsiri ditetaskan pada kertas saring	Minyak atsiri menguap tanpa meninggalkan noda	Minyak atsiri tidak meninggalkan noda bila ditetaskan pada kertas saring (Gunawan dan Mulyani 2004)
	1 tetes minyak atsiri ditetaskan pada permukaan air	Minyak atsiri menyebar dan permukaan air tidak keruh	Minyak atsiri menyebar diatas permukaan air dan tidak keruh (Depkes 1979)

Hasil identifikasi minyak atsiri kemangi dan kulit kayu manis menunjukkan bahwa hasil penelitian sesuai dengan pustaka, bila 1 tetes minyak atsiri ditetaskan pada permukaan air, maka minyak akan terlihat menyebar dipermukaan air dan air tidak keruh, jika ditetaskan pada kertas saring, minyak tidak meninggalkan noda. Hasil gambar dapat dilihat pada Lampiran 7.

## 6. Penetapan indeks bias minyak atsiri

Hasil pemeriksaan indeks bias dapat dilihat pada tabel 6.

**Tabel 6. Indeks bias minyak atsiri**

<b>Minyak atsiri</b>	<b>Hasil indeks bias (31°C)</b>	<b>Pustaka</b>
Kemangi	1,485	Indeks bias (20°C) 1,426 - 1,506 (Depkes 1979)
Kulit kayu manis	1,383	Indeks bias (20°C) 1,573-1,595 (Depkes 1979)

Pemeriksaan indeks bias minyak atsiri kemangi yaitu sebesar 1,485 menunjukkan hasil indeks bias yang diteliti sesuai dengan pustaka. Kulit kayu manis yaitu 1,383 menunjukkan hasil indeks bias yang diteliti tidak sesuai dengan pustaka, kemungkinan dikarenakan perbedaan kerapatan suatu medium atau tekanan udara. Indeks bias pada minyak atsiri kemangi adalah 1,426 - 1,506 dan pada minyak atsiri kulit kayu manis yaitu 1,573-1,595 bilangan angka tersebut menunjukkan perbandingan antara sinus sudut datang dengan sinus sudut bias cahaya yang diukur dengan alat refraktometer, putaran optik menunjukkan besar sudut pemutaran bidang polarisasi yang terjadi jika sinar terpolarisasi dilewatkan melalui cairan pada suhu (-5°C) sampai dengan 0°C. Gambar dapat dilihat pada Lampiran 9.

## 7. Penetapan bobot jenis minyak atsiri

Hasil pemeriksaan bobot jenis minyak atsiri kemangi dan kulit kayu manis pada penelitian dapat dilihat pada Tabel 7 dan 8. Perhitungan dapat dilihat pada Lampiran 10.

**Tabel 7. Penetapan bobot jenis minyak atsiri kemangi**

<b>Percobaan</b>	<b>Bobot jenis minyak</b>	<b>Pustaka</b>
I	1,0609	Bobot jenis minyak atsiri (20 °C)
II	1,0312	1,000-1,035
III	1,1363	(Depkes 1979)
Rata-rata	1,0761	

**Tabel 8. Penetapan bobot jenis minyak atsiri kulit kayu manis**

<b>Percobaan</b>	<b>Bobot jenis minyak</b>	<b>Pustaka</b>
I	1,0061	Bobot jenis minya atsiri
II	1,0938	(20°C) 1,000-1,035

III	1,0325	(Depkes 1979)
Rata-rata	1,0441	

## 8. Penetapan Kelarutan dalam alkohol

Kelarutan minyak atsiri kemangi dan kulit kayu manis dalam etanol 70% dengan perbandingan 1:1 (artinya 1 ml minyak atsiri larut dalam 1 ml etanol 70%) menurut hasil penelitian adalah larut dan jernih. Gambar dapat dilihat pada lampiran 8.

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

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

Peak	Senyawa	RT(min)	BM	Kadar (%)
1	6-Methyl-5heptin-2-one	11.399	126	2,04
2	Linalool	15.829	136	0,60
3	Neral	20.387	137	32,79
4	Z-Citral	21.418	152	43,43
5	Eugenol	23.466	164	1,29
6	Kariofilene	25.768	204	2,39
7	Germacrene-D	27.317	204	1,51
8	Alpha-Charyophyllene	28.829	204	2,63

**Tabel 10. Hasil analisis komponen minyak atsiri kulit kayu manis dengan GC-MS**

Peak	Senyawa	RT (min)	BM	Kadar(%)
1	Alpha-Pinene	3.891	136	0.519
2	Zineol	5.399	154	1.833
3	Beta-Linalool	6.582	154	1.061
4	4-Terpineol	8.109	154	1.503
5	Alpha-Terpineol	8.384	154	3.380
6	Cinnamaldehyde	10.100	132	18.187
7	Borneol	10.154	196	4.918
8	2-propen-1-ol, 3-phenyl-, acetate	13.134	176	8.967
9	Pentaethylene glycol monomethyl ether	26.331	326	10.717
10	Hexaoxyethylene glycol	29.511	326	13.508
11	Heptaethylene glycol	32.330	326	9.441
12	Hexagol	34.943	282	3.877

Analisis komponen kimia dengan menggunakan *Gas Chromatography Mass Spectrofotometry* (GCMS) bertujuan untuk mengetahui komponen kimia yang terdapat di dalam minyak atsiri kemangi dan kulit kayu manis. Hasil analisis komponen kimia minyak atsiri kemangi dengan GCMS menunjukkan komponen

senyawa kimia dari minyak atsiri kemangi yaitu 6-Methyl-5heptin, Linalool, Z-Citral, Neral, Eugenol, Kariofilene, Germacrene-D, Alpha-Charyophyllene dan masih banyak lagi. Senyawa kimia yang paling dominan di antaranya yaitu Z-Citral (43,43%) dan Neral (32,79%). Minyak atsiri kulit kayu manis mengandung senyawa seperti  $\alpha$ -pinene, zineol, terpinol,  $\beta$ -linalool, sinamaldehyda, isoeugenol, borneol, 2-propen-1-ol,3-phenyl-,acetate, pentaethylene glycol monomethyl ether, hexaoxyethylene glycol, heptaethylene glycol, hexagol dan masih banyak lagi senyawa yang lain. Sedangkan pada pustaka minyak atsiri kemangi mengandung senyawa ,yaitu  $\alpha$ -pinene, beta-Myrcene, dl-Limonene, beta-ocimene, Linalool, Citronella, alpha-terpineol,  $\beta$ -citronellol, Nerol, Z-Citral, dan Geraneol. Kadar paling besar pada pustaka yaitu senyawa Z-Citral dengan kadar 32,08% dan yang tertinggi kedua yaitu senyawa Nerol dengan kadar sebesar 5,62% (Alfrida 2013). Minyak atsiri kemangi mengandung komponen utama yaitu senyawa citral yang merupakan golongan senyawa aldehid. Citral, atau 3,7-dimetil-2,6-octadienal atau lemonal merupakan senyawa monoterpen dengan rumus molekul  $C_{10}H_{16}O$  (Ganjewala, et al., 2012). Kayu manis pada pustaka mengandung senyawa, yaitu  $\alpha$ -Pinema, Kamfena,  $\beta$ -Pinema, 4-Tujanol, Sineol,  $\beta$ -Linalool, DL-Kamfor, Terpeneol, Sinamaldehyda, Isoeugenol, Kariofilena,  $\alpha$ -Charyophyllene,  $\beta$ -Charyophyllene, Nerolidol. Sinamaldehyd dan eugenol merupakan senyawa utama dalam minyak atsiri kayu manis. Senyawa-senyawa tersebutlah yang berpotensi sebagai antibakteri (Inna *et al.*, 2010). Hasil dapat dilihat pada Lampiran 11.

## 10. Sterilisasi

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

## 11. Pembuatan suspensi

Bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dalam biakan murni diambil dengan menggunakan ose, masing-masing satu sampai dua ose kemudian dimasukkan secara aseptis kedalam tabung reaksi steril yang berisi BHI (*Brain Heart Infusion*) yang kekeruhannya disesuaikan dengan kekeruhan standar Mc Farland 0,5 untuk difusi. Selanjutnya dari biakan murni diambil dua ose dimasukkan dalam cairan NaCl 5 ml yang kekeruhannya sama dengan standar Mc Farland 0,5 untuk dilusi kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil pembuatan suspensi dapat dilihat pada Lampiran 12.

## 12. Identifikasi bakteri *staphylococcus aureus* ATCC 25923 berdasarkan koloni

Identifikasi bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 berdasarkan koloni dengan melakukan inokulasi suspensi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada media differensial *Vogel Jhonson Agar* (VJA) yang telah ditetesi 3 tetes kalium tellurit 1% dalam cawan petri dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil dari pengujian menunjukkan koloni dengan warna hitam, karena bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat mereduksi tellurit menjadi metalik warna medium dan disekitar koloni berwarna kuning karena fermentasi manitol yang dideteksi oleh perubahan warna indikator phenol red dari merah

menjadi kuning (asam), dimana dalam kondisi asam menghasilkan pigmen yang bervariasi dari putih sampai kuning tua (Jawetz *et al* 2012). Hasil identifikasi koloni dapat dilihat pada Lampiran 13.

### **13. Identifikasi mikroskopis secara morfologi**

Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara morfologi. Hasil pengamatan berwarna ungu, terbentuk bulatan dan bergerombol seperti buah anggur. Hasil didapat dengan melakukan pewarnaan Gram dengan perbesaran (100x). Bakteri Gram positif (*Staphylococcus aureus*) memiliki peptidoglikan yang lebih tebal dari pada Gram negatif, sehingga pada pengecatan Gram *Staphylococcus aureus* dapat mempertahankan warna violet dari Gram A (kristal violet). Pemberian kristal violet dan iodine, pemberian alkohol (etanol) pada pewarnaan Gram menyebabkan tidak terestrasinya lipid sehingga memperkecil permeabilitas dinding sel Gram positif. Dinding selnya terdehidrasi dengan perlakuan alkohol, pori-pori mengkerut, daya rembes dinding sel dan membran menurun sehingga pewarnaan safranin tidak dapat masuk sehingga sel berwarna ungu (Pelezar dan chan 2000). Hasil gambar dapat dilihat pada Lampiran 13.

### **14. Identifikasi fisiologi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

**14.1 Identifikasi fisiologi-katalase.** Uji katalase menggunakan suspensi bakteri uji yang ditanam pada medium nutrisi cair dengan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3%. Hasil positif ditandai dengan adanya gelembung udara sebab bakteri *Staphylococcus aureus* mempunyai katalase. Penambahan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> akan terurai menjadi H<sub>2</sub> dan O<sub>2</sub>, hal ini ditandai dengan timbulnya gelembung udara. Uji katalase dilakukan untuk

membedakan antara *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus*. Gambar dapat dilihat pada lampiran 13.

**14.2 Identifikasi fisiologi-koagulase.** Uji koagulase menggunakan plasma darah kelinci yang diberi asam sitrat, diencerkan (1:5) ditambah 1 ose biakan bakteri, diinkubasi pada suhu 37°C. Tabung diperiksa dengan melihat pembentukan selama 1-4 jam. Hasil positif kuat jika tabung tes dibalik, gumpalan plasma tidak terlepas dan tetap melekat pada dinding tabung. Hasil dari penelitian dengan uji koagulase ini dinyatakan positif karena terjadi perubahan plasma darah kelinci yang terdenaturasi oleh *Staphylococcus aureus* sehingga terjadi penggumpalan putih. Uji koagulase ini dilakukan untuk membedakan antara bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*, karena *Staphylococcus epidermidis* tidak membentuk gumpalan-gumpalan putih. Gambar dapat dilihat pada lampiran 13.

## 15. Hasil pengujian aktivitas antibakteri minyak atsiri kemangi dan kulit

### kayu manis secara difusi

Metode difusi dari kombinasi minyak atsiri kemangi dan kulit kayu manis yang digunakan dalam pengujian daya hambat antibakteri menggunakan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan konsentrasi 100% pada kombinasi perbandingan 1:1, 1:2, 2:1, 1:3, 3:1, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil diameter hambat dapat dilihat pada tabel 11 dan 12.

**Tabel 11. Diameter hambat tunggal dari uji difusi minyak atsiri**

Konsentrasi 100%	Diameter daerah hambatan (mm)			Rata-rata ± SD
	I	II	III	
Povidone Iodine (+)	24,50	21,25	19,00	21,58 ± 2,765
Kemangi	40,00	37,25	36,25	37,83 ± 1,941
Kayu manis	11,75	17,25	16,25	15,08 ± 2,929



**Tabel 12. Diemeter hambat kombinasi dari uji difusi minyak atsiri daun kemangi dan kayu manis**

Konsentrasi 100%	Diameter daerah hambatan (mm)			Rata –rata ± SD
	I	II	III	
1 : 1	17,25	16,75	17,50	17,16 ± 0,381
1 : 2	12,00	14,25	15,00	13,75 ± 1,561
2 : 1	10,50	14,00	10,50	11,66 ± 2,020
1 : 3	15,25	15,25	11,00	13,83 ± 2,453
3 : 1	11,00	13,00	12,25	12,08 ± 1,010

Dari hasil yang didapat diameter hambat dari minyak atsiri kemangi dan kulit kayu manis dengan konsentrasi 100% didapatkan hasil bahwa kemangi memiliki daya hambat yang paling besar yaitu  $37,83 \pm 1,941$ . Daya hambat yang paling efektif dari kombinasi pada konsentrasi 100% yaitu pada kombinasi 1 : 1 dengan diameter hambat  $17,16 \pm 0,381$ . Dilihat dari hasil GC-MS menunjukkan bahwa pada analisis minyak atsiri kemangi senyawa yang paling aktif yaitu senyawa Z-Citral dengan kadar 43,43% dan hasil GC-MS pada kulit kayu manis senyawa yang paling aktif adalah senyawa Cinnamaldehyde dengan kadar 18,187%. Uji difusi dilakukan untuk mengetahui kombinasi minyak atsiri kemangi dan kulit kayu manis dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Berdasarkan hasil analisis statistik untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan daya hambat yang signifikan dari sampel minyak atsiri tunggal dan kombinasi yang diteliti. Analisa pertama pada tabel One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test. Uji ini dilakukan untuk mengetahui apakah data hasil penelitian yang diperoleh terdistribusi normal atau tidak. Hasil uji One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test menunjukkan bahwa nilai signifikansinya sebesar 0,064 nilai tersebut lebih besar dari 0,05 sehingga dapat disimpulkan data daya hambat yang diperoleh terdistribusi secara normal. Untuk uji kesamaan varian

dilakukan dengan uji test homogeneity of variances pada kolom *Levene Statistic* menunjukkan bahwa signifikansinya adalah 0,146. Nilai tersebut lebih besar dari 0,05 maka dapat disimpulkan bahwa varian dari data tunggal dan kombinasi adalah sama. Untuk mengetahui apakah ada perbedaan daya hambat yang signifikan dari data sampel tunggal dan kombinasi, maka dilanjutkan dengan melakukan uji ANOVA satu jalan. Hasil analisis ANOVA satu jalan dilakukan dengan menggunakan *Post Hoc Test*. Nilai signifikansinya menunjukkan yaitu sebesar 0,000 dimana nilai ini lebih kecil dari 0,005 atau adanya tanda bintang(\*) pada kolom *Mean Difference*. Melihat banyaknya tanda bintang(\*) pada kolom *Mean Difference* dengan demikian dapat disimpulkan bahwa adanya perbedaan daya hambat yang nyata dari sampel tunggal minyak atsiri kemangi dengan hasil penelitian lebih efektif dari sampel lainnya. Pada kombinasi hasil yang lebih efektif yaitu pada kombinasi dengan perbandingan 1:1. Hasil dapat dilihat pada Lampiran 14.

## 16. Hasil pengujian aktivitas antibakteri minyak atsiri Kemangi dan kulit kayu manis secara dilusi

Tabel 13. Hasil uji dilusi dengan kombinasi (1:1) pada minyak atsiri kemangi dan kulit kayu manis

Konsentrasi (%)	Pertumbuhan bakteri pada media VJA		
	I	II	III
Kontrol (-)	-	-	-
100	-	-	-
50	-	-	-
25	-	-	-
12,5	-	-	-
6,25	-	-	-
3,125	-	-	-
1,56	-	-	-
0,78	+	+	+
0,39	+	+	+
0,19	+	+	+

Kontrol (+)	+	+	+
-------------	---	---	---

Keterangan :

(-) : Tidak ada pertumbuhan bakteri  
 (+) : Ada pertumbuhan bakteri  
 Kontrol (-) : Berisi kombinasi minyak atsiri kemangi dan kulit kayu manis  
 Kontrol (+) : Berisi suspensi bakteri

Pada uji dilusi yaitu menggunakan deret konsentrasi minyak atsiri (100%; 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78; 0,39%; 0,19%) untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dapat dilihat dari kejernihan tabung yang menunjukkan bahwa pada tabung konsentrasi tertentu dapat menghambat pertumbuhan bakteri, kemudian dilakukan inokulasi bakteri pada media selektif VJA (*Vogel Jhonson Agar*) dari semua tabung seri dilusi. Hal ini dilakukan karena dalam penelitian tidak dapat dilihat kejernihan tabung seri dilusi yang disebabkan karena tertutup oleh kekeruhan dari bahan kombinasi minyak atsiri yang digunakan. Konsentrasi bunuh minimum (KBM) dapat diketahui dengan menginokulasi sediaan yang ada pada tabung uji ke media VJA dalam cawan petri. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditentukan pada media VJA dengan konsentrasi minimum yang tidak menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri pada medium VJA (*Vogel Jhonson Agar*), sehingga KBM pada penelitian ini yaitu pada konsentrasi 1,56%. Koloni bakteri berwarna hitam hal ini disebabkan bakteri mereduksi tellurit menjadi metalik tellurit yang dapat menyebabkan pertumbuhan bakteri pada koloni menjadi berwarna hitam. Konsentrasi Bunuh minimum (KBM) berfungsi untuk menegaskan dari hasil kejernihan pada tabung suspensi yang berisi bakteri, media BHI dan minyak atsiri untuk membuktikan bahwa bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 memang tidak tumbuh pada konsentrasi tersebut, dengan melakukan penggoresan pada setiap tabung-tabung

jernih ke media VJA (*Vogel Jhonson Agar*), dan jika tidak ada pertumbuhan bakteri yang terlihat sampai pada goresan terakhir, maka konsentrasi pada goresan terakhir yang dianggap sebagai konsentrasi bunuh minimum.

Hasil uji yang dilakukan pada aktivitas antibakteri kombinasi minyak atsiri kemangi dan kulit kayu manis terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 memiliki KBM yaitu pada konsentrasi 1,56%. Hasil dapat dilihat pada Lampiran 15.

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### A. Kesimpulan

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

Pertama, minyak atsiri kulit kayu manis (*Cinnamomum burmannii*), minyak atsiri kemangi (*Ocimum basilicum L.*) dan kombinasi mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kedua, minyak atsiri kemangi (*Ocimum basilicum L.*) dengan daya hambat  $37,83 \pm 1,941$  dan kombinasi 1:1 dengan diameter daya hambat  $17,16 \pm 0,381$  memiliki aktivitas paling efektif terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Ketiga, Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM) kombinasi kemangi dan kulit kayu manis pada perbandingan 1:1 adalah sebesar 1,56% yang memiliki aktivitas paling optimal terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

#### B. Saran

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

1. Perlu dilanjutkan uji antibakteri secara *in vivo*.

2. Perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri minyak atsiri kemangi dan kulit kayu manis dengan kombinasi tanaman yang lain dan menggunakan bakteri patogen yang berbeda.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adeola, S. A., Folorunso, O.S., dan Amisu, K.O., 2012, Antimicrobial Activity of *Ocimum basilicum* and its Inhibition on the Characterized and Partially Purified Extracellular Protease of *Salmonella typhimurium*, *In Scientific Journal*, 138-144.
- Adams, R.P. 2004. *Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/ Quadrupole Mass Spectrometry*. Carol stream, Allured.
- Alatas Z, Nurhayati S, 2006. *Efek kombinasi paparan radiasi pengion dengan bahan kimia*. Batan: Pusan Teknologi Keselamatan dan Metrologi Radiasi.
- Alfrida T. 2013. *Formulasi Tablet Hisap Minyak Atsiri Kemangi (*Ocimum americanum* L.) Sebagai Antiplak Gigi* [Skripsi]. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Amalina N. 2008. *Uji sitotoksin ekstrak etanol 70% buah merica hitam (*Piper nigrum* L.) terhadap sel Hela* [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Anis F I, Deny S, M Taher. 2013. Antimicrobial Activity and Synergic Effect of *Cinnamomum burmannii*'s Essential Oil & its isolated compound (Cinnamaldehyde). *Jurnal International Conference on Chemical, Agricultural and Medical Sciences (CAMS-2013)*.
- Bisset NG and Wichtl M. 2001. *Herbal Drug and Phytotherapeutics*. Ed ke-2. Germany : Medpharm Scientific Publisher. Hlm 67-69.
- Bonang G, Koeswardono ES. 2004. *Mikrobiologi Kedokteran untuk Laboratorium dan Klinik*. Jakarta: Bagaian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Burt S. 2004. *Essential Oils: Their Antibacterial Properties And Potential Applications In Foods – A Review*. *Int J Food Microbiol*. 2004;94(3):223–53.
- Bruneton J. 1999. *Pharmacognosy : Phytochemistry Medical Plants*. 2nd.ed. Paris : Intercept Ltd. p 297-301.
- Claus, E & Tyler, V. 1965. *Pharmacognosy*. Fifth Edition. Philadelphia. Lea and Febiger. Hlm 186.
- Depkes. 2011. *Profil Departemen Kesehatan Indonesia*. Jakarta 55-57.

- Depkes. 2000. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia. Jilid 1*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. 67-68.
- [Depkes] RI. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hlm 1-15.
- [Depkes] RI. 1995. *Materia Medika Indonesia. Jilid VI*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hlm X.
- Depkes. 2001. *Materia Medika Indonesia Jilid 1*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Depkes. 2003. *Pedoman Teknologi Pengolahan Cassiavera*. Jakarta: Departemen Pertanian.
- [Depkes] RI. 2006. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (1). Jilid 1*. Jakarta: Departemen Kesehatan dan Kesejahteraan Sosial RI, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Hlm 67-68.
- Depkes. 1979. *Farmakope Indonesia. Edisi 3*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Garrity, G.M., Lilburn, J.R. Cole, S.H. Harrison, J. Euzeby, and B.J. Tindall. 2007. *Taxonomic Outline Of the Bacteria and Archaea, Release 7.7*. Michigan: Michigan State University Board of Trustees. P. 364-464.
- Ganjewala, Ashish K, Gupta. 2012. Lemongrass (*Cymbopogon flexuosus* Steud.) Wats Essential Oils Essential Oil. Recent Progress in Medicinal and Aromatic Plants, Vol. 35, Studium Press LLC, USA. pp. 233-274.
- Gusmailina. 1995. *Profil Komoditi Kayu Manis di Sumatra Barat*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Hasil Hutan dan Sosial Ekonomi Kehutanan. Balai Penelitian dan Pengembangan Kehutanan. Bogor.
- Gibson, M. 1957. *Pharmaceutical Preformulation and Formulation*. Second Edition. Leicestershire. Informa healthcare. Hlm 476.
- Gunawan D, Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi). Jilid 1*. Jakarta : Penebar Swadaya. Hlm 106-107.
- Hussain, Al., Anwar, F., Sherazi, S. T. H., Przybylski, R., 2008, Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations, *Food Chem*, 108, 986-995.
- Hariana H. 2007. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya. Seri 2*. Jakarta : Penebar Swadaya.



- Harminta. 2004. *Mikrobiologi Kedokteran Untuk Laboratorium*. Jakarta: Fakultas Kedokteran UI. PT Gramedia.
- Ikhsan P. 2013. *Sejarah dan Manfaat Kayu Manis*. Jakarta.
- Imran, Mohammed., Lawrence, Rubina., Alam, Nasruddin. M. D., Shariq, Mohd., and Kumar, E. J., 2012, Synergistic Effects Of *Ocimum Sanctum* And Antibiotics On Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Isolated From Clinical Specimens, *Journal Of Recent Advances In Applied Sciences*, 27, 99-107.
- Inna, M., Atmania, N., Primasari, S. (2010). Potential Use of *Cinnamomum burmanii* Essential Oil-based Chewing Gum as Oral Antibiofilm Agent. *Journal of Density Indonesia*, 10<sup>th</sup>, Vol 17, No 3.
- Iskamto. 2009. *Mikrobiologi*. Jakarta: Rajawali Pers.
- Irawan. 2009. *Farmakognosi dan Fitoterapi*. Jakarta: Penerbit EGC. Hal. 49-50, 235-238.
- Jawetz, E, Melnick.,J.L., E.A., 2007. *Medical Mikrobiologi*. 24<sup>th</sup>. Ed. Elferia Nr. Penerjemah: Jakarta.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Penerbit Salemba Medika.
- Jawetz, E, Melnick.,J.L., E.A., 2005. *Medical Mikrobiologi*. 23<sup>th</sup>. Ed. Elferia Nr. Penerjemah: Jakarta.
- Jawetz, E, Melnick.,J.L., E.A., 2012. *Medical Mikrobiologi*. 26<sup>th</sup>. Ed. Elferia Nr. Penerjemah: Jakarta.
- Jenri S, Sri W, Mitra H. 2014. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Biji Pinang (Areca catechu L.) Terhadap Staphylococcus aureus Secara In Vitro*. Departemen Fisiologi. Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura. Pontianak. Kalimantan Barat.
- KEMENKES RI. 2010. *Suplemen I Farmakope Herbal Indonesia*. Jakarta: Kementrian Kesehatan RI.
- Koensoemardiyah S. 2010. *A to Z Minyak Atsiri Untuk Industri Makanan, Kosmetik dan Aromateapi*. Yogyakarta: Penerbit ANDI.
- Marianne, Sinaga, KR. 2006. *Uji Antibakteri Minyak Atsiri Daun Ruku-Ruku (Ocimum sanctum L.) terhadap bakteri Staphylococcus aureus*. *Jurnal Komunikasi Penelitian*, vol.18 (2)

- Mursito. 2005. *Ramuan Tradisional Untuk Pelangsing Tubuh*. Cetakan ke-3. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Niu C and Gilbert ES. 2004. *Colorimetric method for identifying plant essential oil components that affect biofilm formation and structure*. Appl Environ Microbiol;70(12):6951-6.
- Pelezer jr, M.j Chan E.CS. 2000. *Dasar-dasar mikrobiologi*. Jakarta: Penerbit Swadaya.
- Rismunandar. 2001. *Kayu Manis Budi Daya & Pengolahan*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Sajjadi, S. E., 2006, Analysis of the essential oils of two cultivated basil (*Ocimum basilicum* L.) from Iran, *Daru*, 14 (3), 128-130.
- Siswandono, Soekardjo B. 2000. *Kimia Medisinal*. Jilid 1. Edisi 2. Surabaya: Airlangga University Press. 216-218.
- Stahl. E. 2008. *Analisa Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopis*. Padmawinanto K, Sudiro L., Penerjemah: Bandung: Penerbit ITB.
- Suriawiria, U., 2005. *Pengantar Mikrobiologi Umum*, Penerbit Angkasa, Bandung, 60-61, 57-58.
- Sundari E. 2001. *Pengambilan Minyak Atsiri dan Oleoresin dari Kulit Kayu Manis*. Central Library Bandung: Ganesha.
- Setiadi B. 2011. *Anatomi Tubuh Manisia*. Laskar Aksara. Bekasi.
- Supriadi, Abdurahman D, Gunandini. 2001. *Tumbuhan Obat Indonesia*. Jakarta: Pustaka Populer Obor.
- Wagner., 2011, Synergy reserach: approaching a new generation of phytopharmaceuticals, *Fitoterapia*, 82 (1), 34-37.

L  
A  
M  
P  
I  
R  
A  
N

**Lampiran 1. Surat Keterangan Identifikasi daun kemangi**



**DEPARTEMEN BIOLOGI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS GADJAH MADA YOGYAKARTA**

Alamat: Sekip Utara Jl. Kaliurang Km 4, Yogyakarta 55281  
Telp. , 0274.649.2568 Fax. +274-543120

**SURAT KETERANGAN**

No.: BF/456/ Ident/ I/2016

Kepada Yth. :  
Sdri/Sdr. Ikae Pratiwi  
NIM. 18123647 A  
Fakultas Farmasi USB  
Di Surakarta

Dengan hormat,

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

No.Pendaftaran	Jenis	Suku
456	<i>Ocimum basilicum</i> L.forma <i>citratum</i> Back.	Lamiaceae

Demikian, semoga dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Yogyakarta, 13 Januari 2016

Kepala



Dr. rer.nat. Triana Hertiani, M.Si., Apt.  
NIP. 197306091998032003

**Lampiran 2. Surat Keterangan Identifikasi kayu manis**



**DEPARTEMEN BIOLOGI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS GADJAH MADA YOGYAKARTA**

Alamat: Sekip Utara Jl. Kaliurang Km 4, Yogyakarta 55281  
Telp. , 0274.649.2568 Fax. +274-543120

**SURAT KETERANGAN**

No.: BF/UGM/Ident/I/2016

Kepada Yth. :  
Sdri/Sdr. Ikae Pratiwi  
NIM. 18123647 A  
Fakultas Farmasi USB  
Di Surakarta

Dengan hormat,

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

No.Pendaftaran	Jenis	Suku
456	<i>Cinnamomum burmanni</i> (Nees & T.Nees) Blume	Lauraceae

Demikian, semoga dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Yogyakarta, 13 Januari 2016

Kepala



Triana Hertiani, M.Si., Apt.  
NIP. 197306091998032003

**Lampiran 3. Kemangi dan kulit kayu manis**



Kemangi

Kulit kayu manis

**Lampiran 4. Minyak atsiri kemangi dan minyak atsiri kulit kayu manis**



### Lampiran 5. Perhitungan kadar minyak atsiri

Sampel	Bobot basah (gram)	Volume minyak atsiri (ml)	Randemen (% v/b)
Kemangi	5000	10	0,2 %
Kayu manis	5000	10	0,2 %

Perhitungan % kadar :

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

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

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

Jadi, kadar minyak atsiri kulit kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) adalah 0,2%



**Lampiran 6. Alat**

Refraktometer

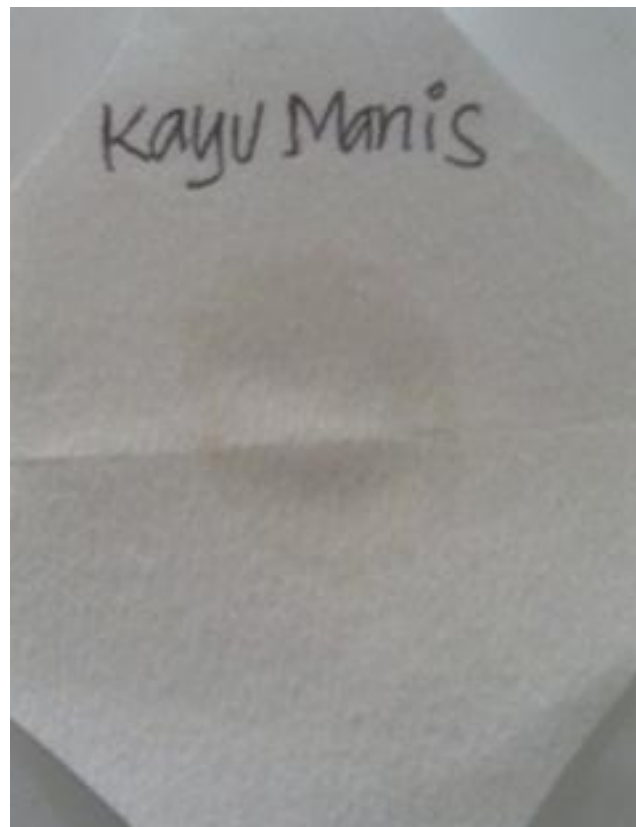


Alat destilasi Uap dan Air



GC-MS

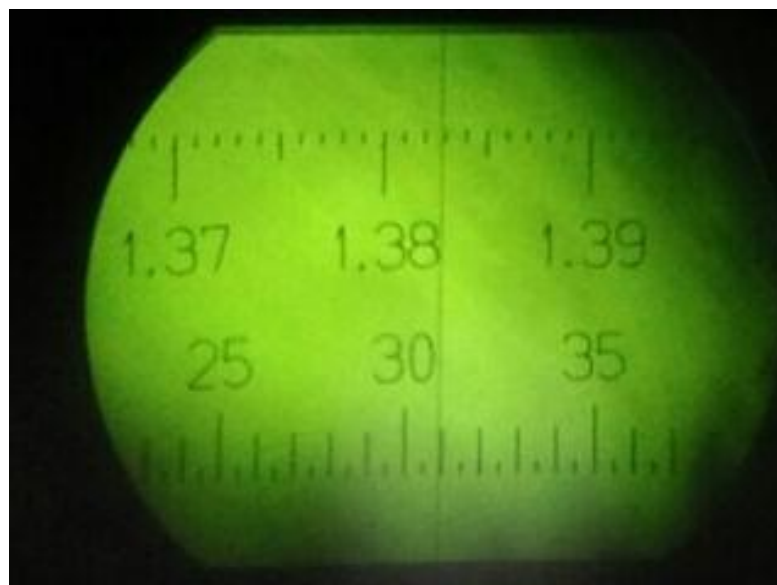
**Lampiran 7. Identifikasi minyak atsiri**



**Lampiran 8. Kelarutan dalam Alkohol**

**Lampiran 9. Identifikasi indeks bias minyak atsiri**

Kemangi



Kayu manis

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

Bobot timbang kosong (g)	Bobot timbang + air (g)	Bobot timbang + minyak (g)		Bobot minyak (g)	
		Kemangi	Kayu manis	Kemangi	Kayu manis
27,25	28,89	28,99	28,90	1,74	1,65
27,25	28,85	28,90	29,00	1,65	1,75
27,25	28,79	29,00	28,84	1,75	1,59
		<b>Rata –Rata</b>		<b>1,7133</b>	<b>1,6633</b>

**Perhitungan bobot jenis :**

**I. Bobot jenis kemangi :**

$$\begin{aligned}
 \text{Bobot timbang + air} &= 28,89 \\
 \text{Bobot tombang kosong} &= \underline{27,25} - \\
 \text{Bobot air} &= 1,64 \\
 \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{berat minyak}}{\text{bobot air}} \\
 &= \frac{1,74}{1,64} = 1,0609 \\
 \text{Bobot timbang + air} &= 28,85 \\
 \text{Bobot tombang kosong} &= \underline{27,25} - \\
 \text{Bobot air} &= 1,6 \\
 \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{berat minyak}}{\text{bobot air}} \\
 &= \frac{1,65}{1,6} = 1,0312 \\
 \text{Bobot timbang + air} &= 28,79 \\
 \text{Bobot tombang kosong} &= \underline{27,25} - \\
 \text{Bobot air} &= 1,54 \\
 \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{berat minyak}}{\text{bobot air}} \\
 &= \frac{1,75}{1,54} = 1,1363
 \end{aligned}$$

$$\text{Rata-rata bobot jenis minyak atsiri kemangi} = \frac{1,0609 + 1,0312 + 1,1363}{3} = 1,0761$$

**II. Bobot jenis kayu manis :**

$$\begin{aligned}
 \text{Bobot timbang + air} &= 28,89 \\
 \text{Bobot tombang kosong} &= \underline{27,25} - \\
 \text{Bobot air} &= 1,64 \\
 \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{berat minyak}}{\text{bobot air}} \\
 &= \frac{1,65}{1,64} = 1,0061
 \end{aligned}$$

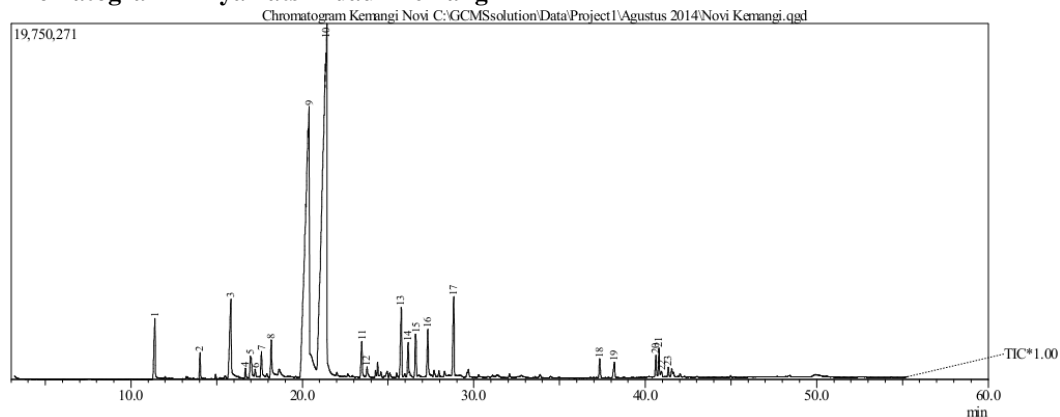
$$\begin{aligned}
 \text{Bobot timbang + air} &= 28,85 \\
 \text{Bobot tombang kosong} &= \underline{27,25} - \\
 \text{Bobot air} &= 1,6 \\
 \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{berat minyak}}{\text{bobot air}} \\
 &= \frac{1,75}{1,6} = 1,0938
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Bobot timbang + air} &= 28,79 \\
 \text{Bobot tombang kosong} &= \underline{27,25} - \\
 \text{Bobot air} &= 1,54 \\
 \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{berat minyak}}{\text{bobot air}} \\
 &= \frac{1,59}{1,54} = 1,0325
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Rata-rata bobot jenis minyak atsiri kayu manis} &= \frac{1,0061 + 1,0938 + 1,0325}{3} \\
 &= 1,0441
 \end{aligned}$$

## Lampiran 11. Hasil analisis GCMS minyak atsiri

### Kromatogram minyak atsiri daun kemangi



### Komponen senyawa minyak atsiri daun kemangi

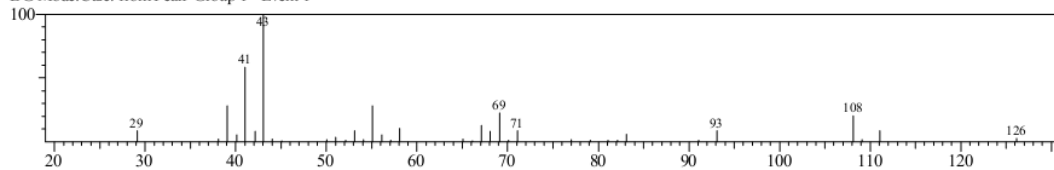
Library

<< Target >>

Line#:1 R. Time:11.400(Scan#:985) MassPeaks:36

RawMode:Averaged 11.392-11.408(984-986) BasePeak:43.05(783866)

BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1

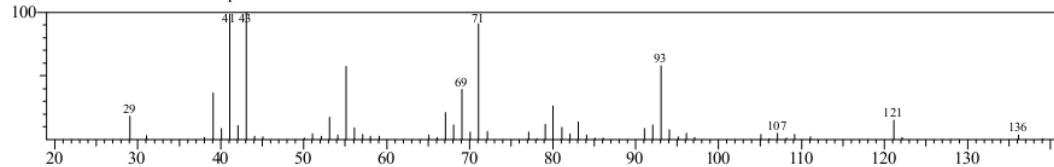


<< Target >>

Line#:3 R. Time:15.825(Scan#:1516) MassPeaks:55

RawMode:Averaged 15.817-15.833(1515-1517) BasePeak:43.05(526327)

BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1

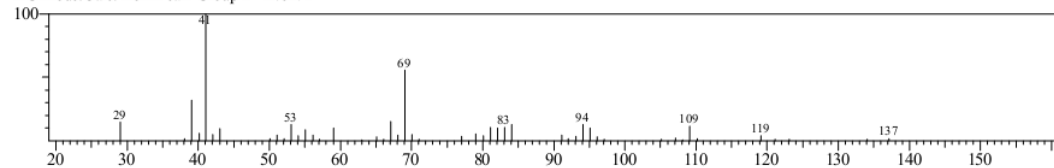


<< Target >>

Line#:9 R. Time:20.383(Scan#:2063) MassPeaks:48

RawMode:Averaged 20.375-20.392(2062-2064) BasePeak:41.05(3282279)

BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1

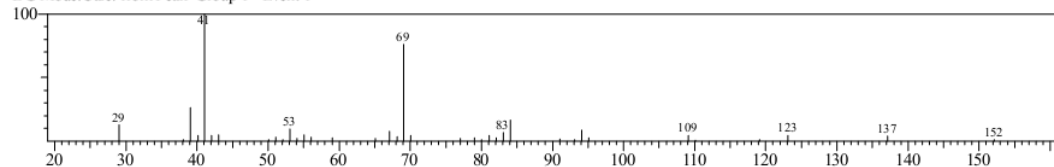


<< Target >>

Line#:10 R. Time:21.417(Scan#:2187) MassPeaks:37

RawMode:Averaged 21.408-21.425(2186-2188) BasePeak:41.05(5148680)

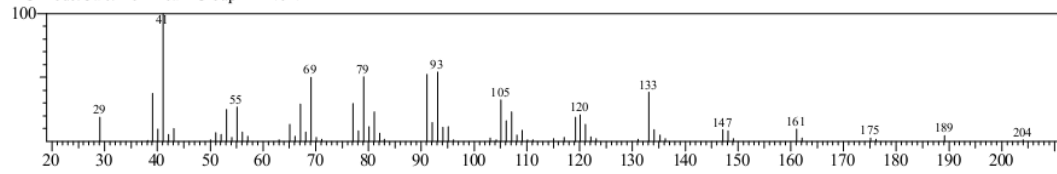
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1





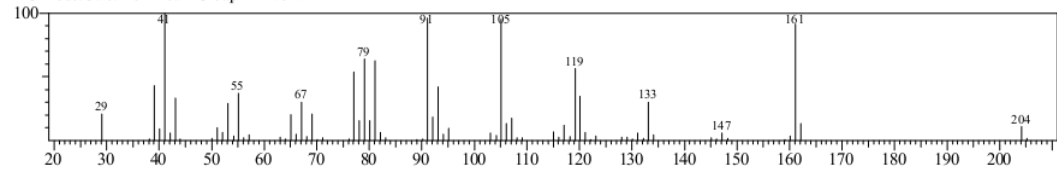
&lt;&lt; Target &gt;&gt;

Line#:13 R.Time:25.767(Scan#:2709) MassPeaks:66  
 RawMode:Averaged 25.758-25.775(2708-2710) BasePeak:41.05(409388)  
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



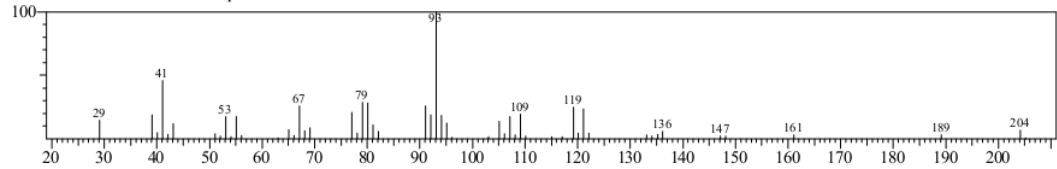
&lt;&lt; Target &gt;&gt;

Line#:16 R.Time:27.317(Scan#:2895) MassPeaks:73  
 RawMode:Averaged 27.308-27.325(2894-2896) BasePeak:41.05(197170)  
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



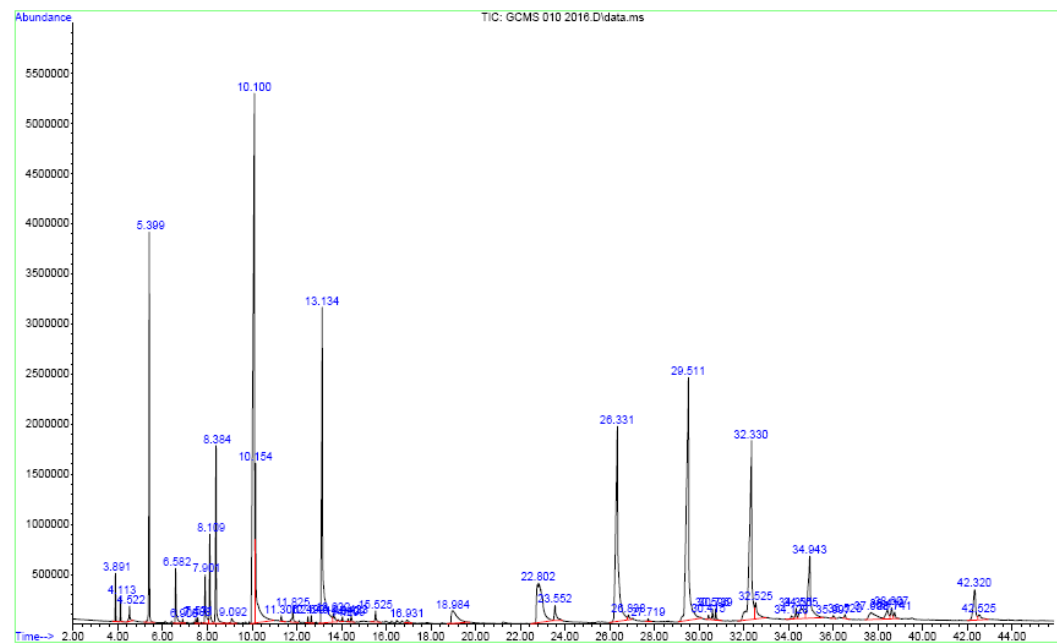
&lt;&lt; Target &gt;&gt;

Line#:17 R.Time:28.825(Scan#:3076) MassPeaks:53  
 RawMode:Averaged 28.817-28.833(3075-3077) BasePeak:93.05(643289)  
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1

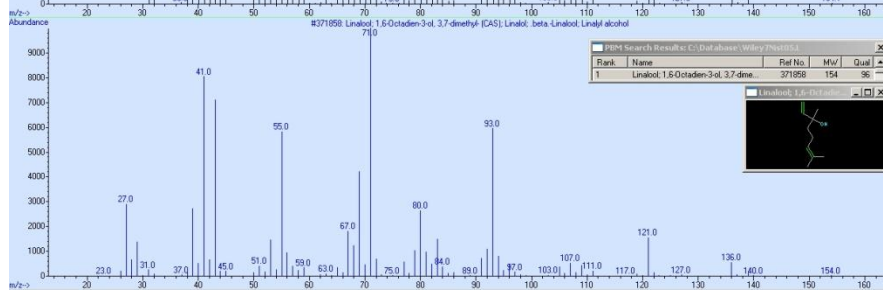
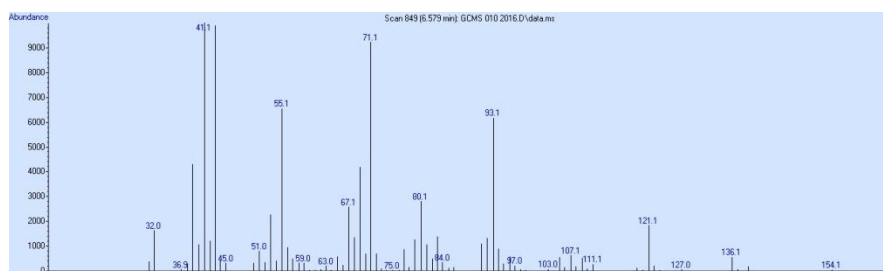
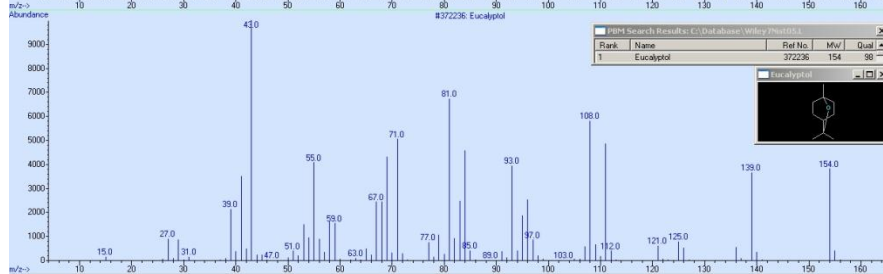
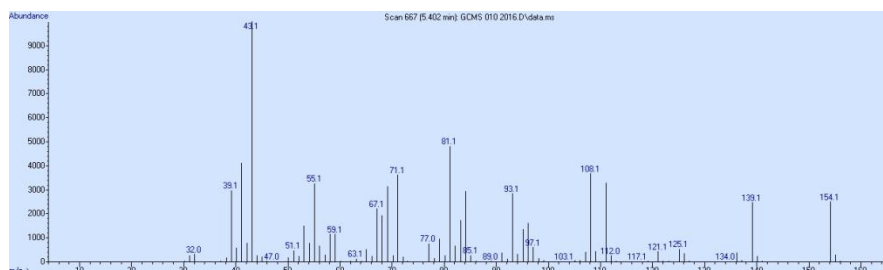
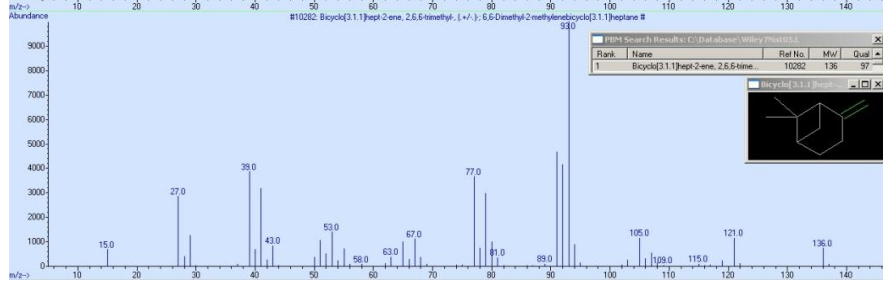
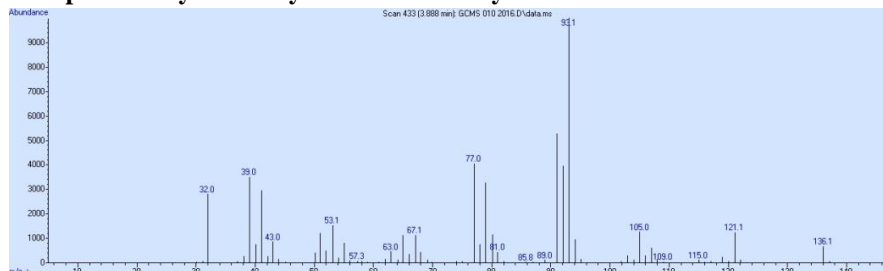


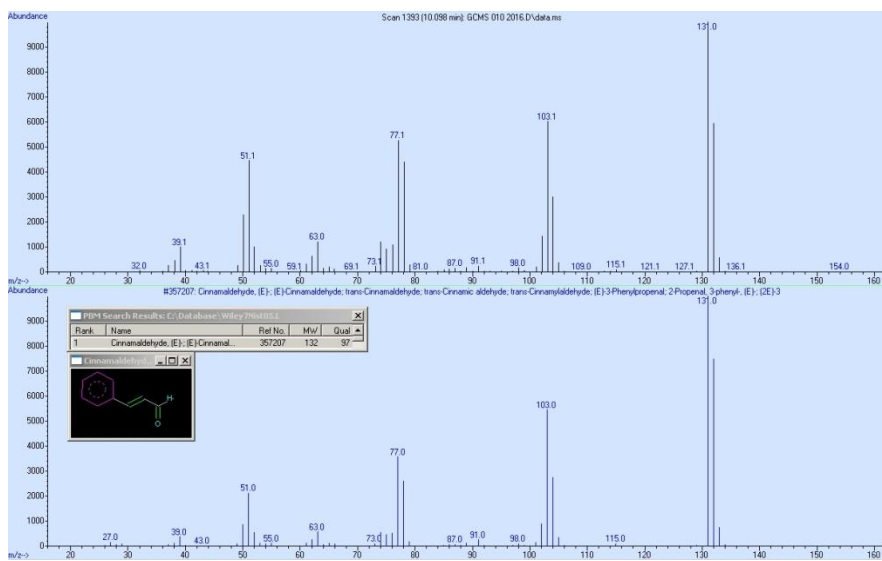
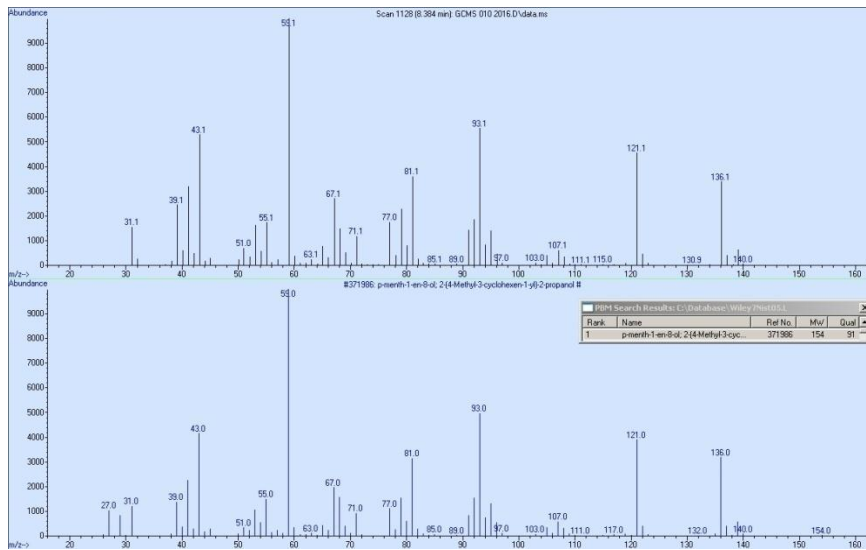
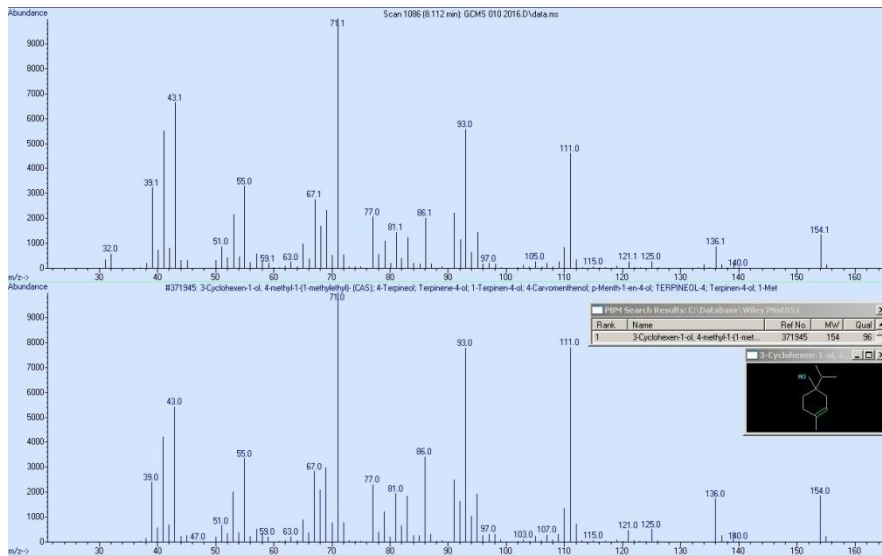
### Kromatogram minyak atsiri kulit kayu manis

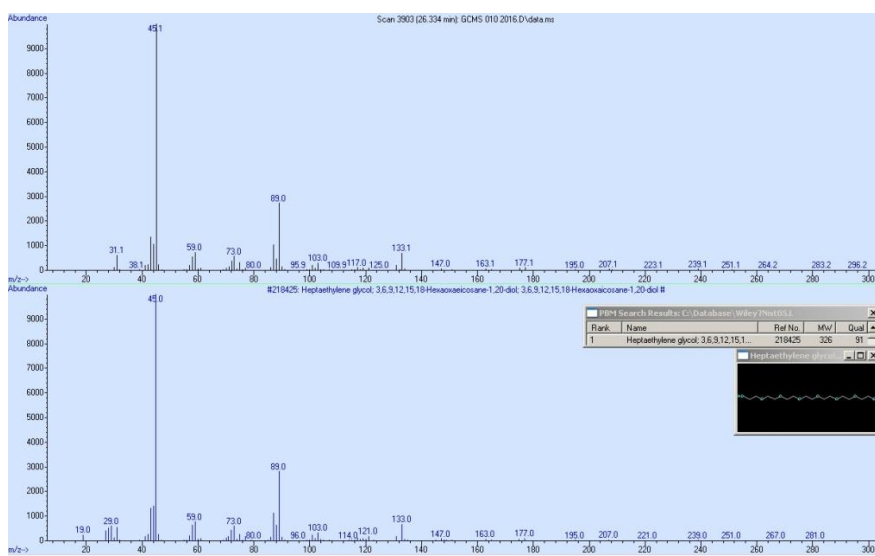
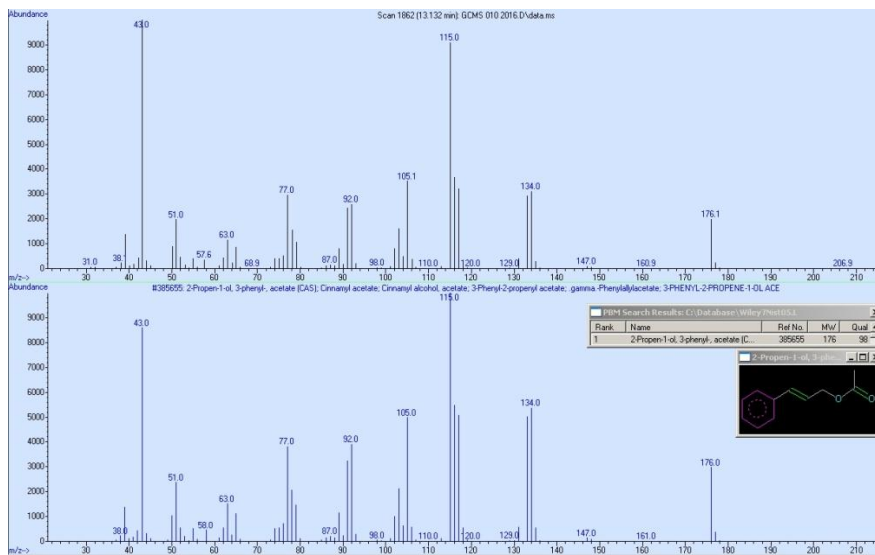
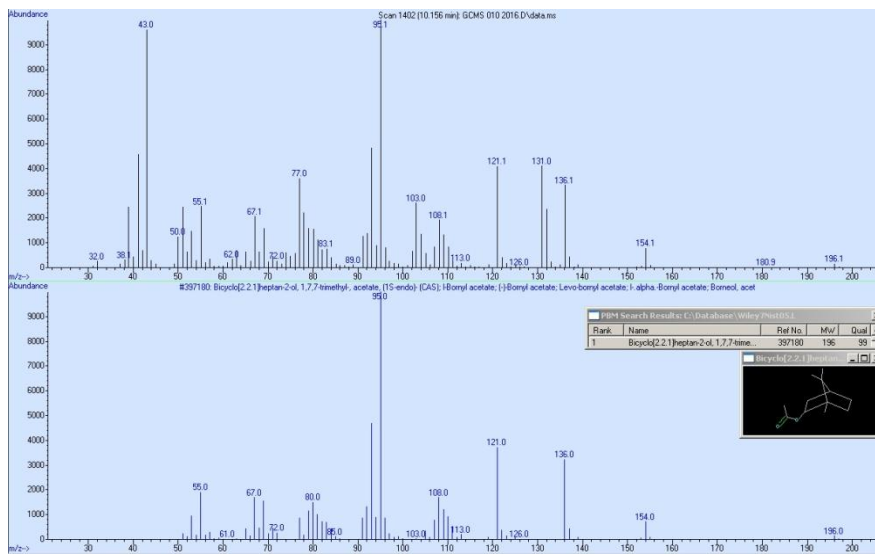
File :D:\Data\_MSD\2016\GCMS 010 2016.D  
 Operator : WIJAYANTO  
 Acquired : 3 Feb 2016 14:41 using AcqMethod MINYAK ATSIRI KAYU MANIS.M  
 Instrument : Instrument #1  
 Sample Name: Minyak Atsiri Kayu Manis  
 Misc Info :  
 Vial Number: 1

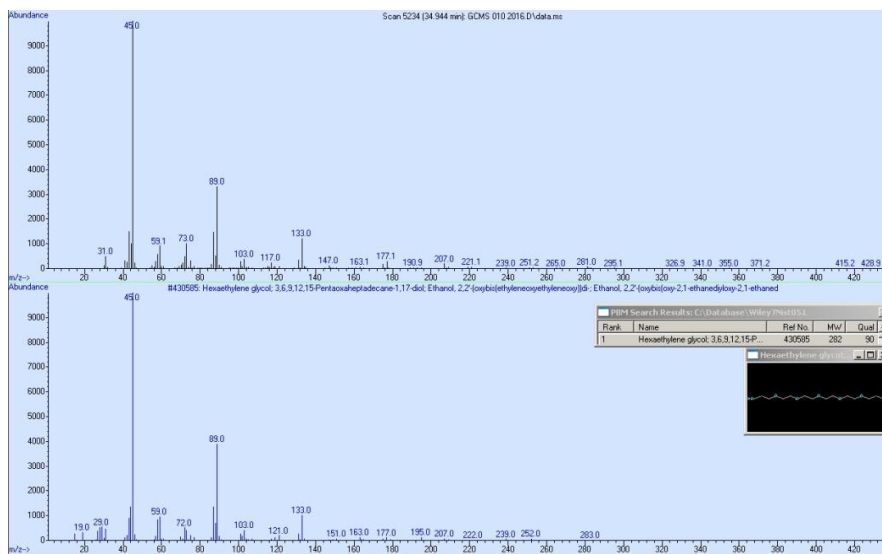
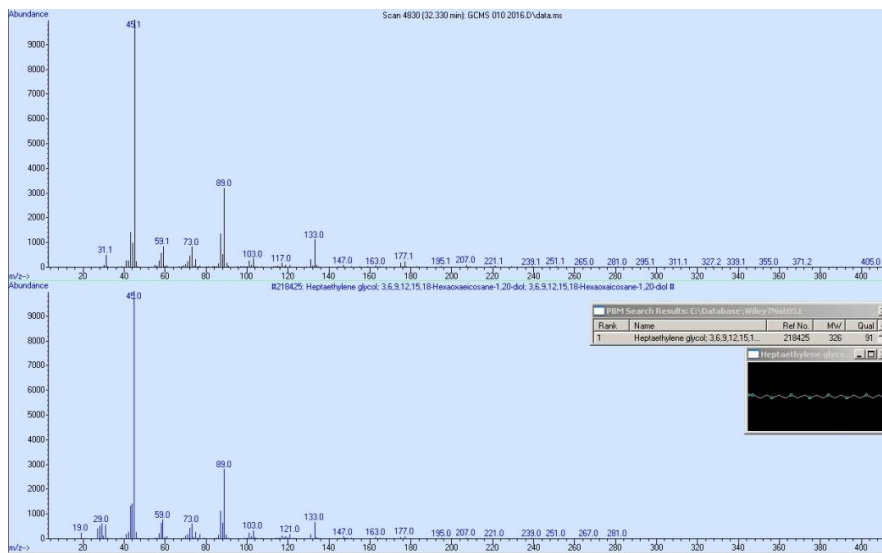
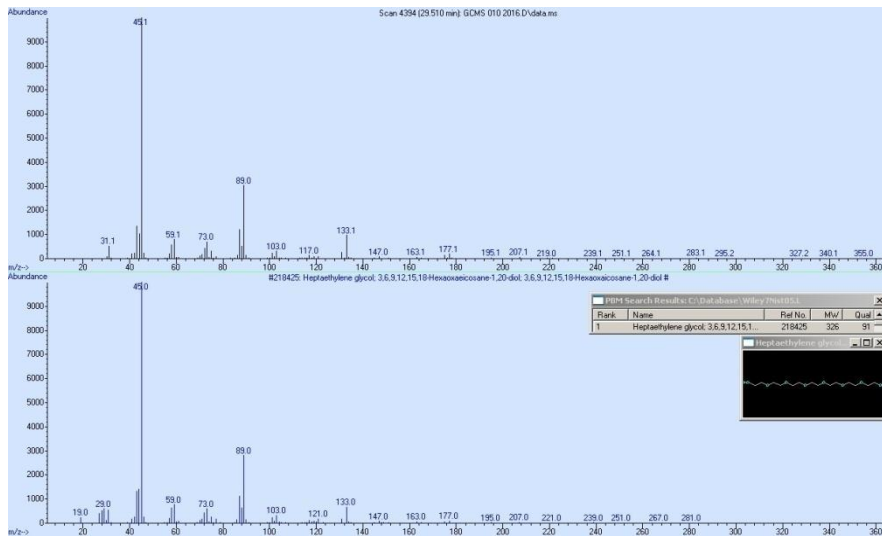


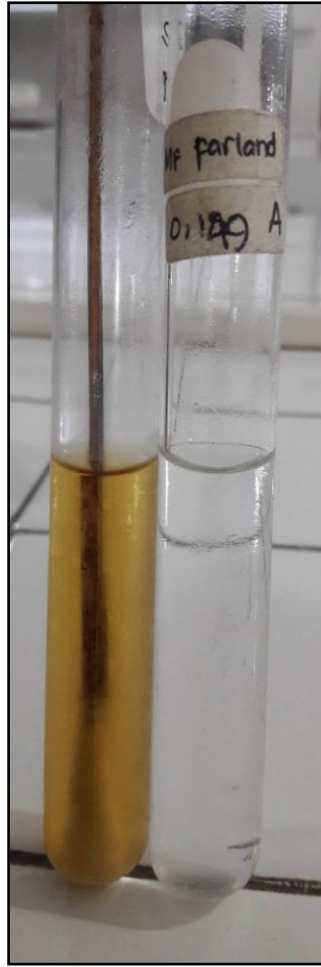
### Komponen senyawa minyak atsiri kulit kayu manis :



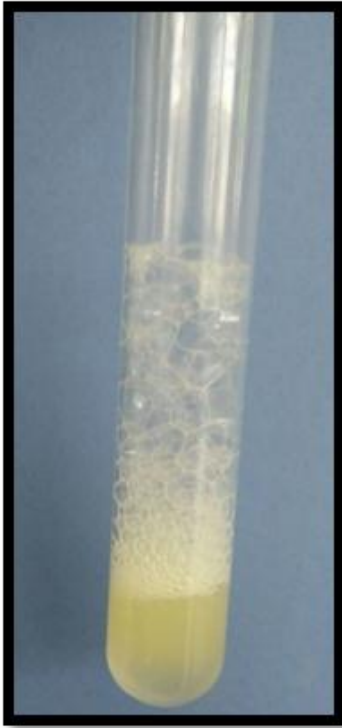




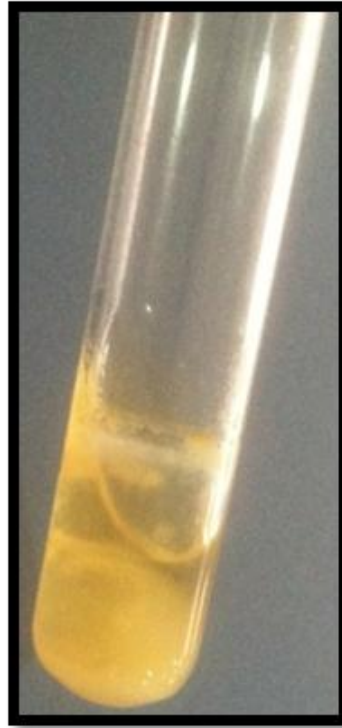


**Lampiran 12. Suspensi bakteri**

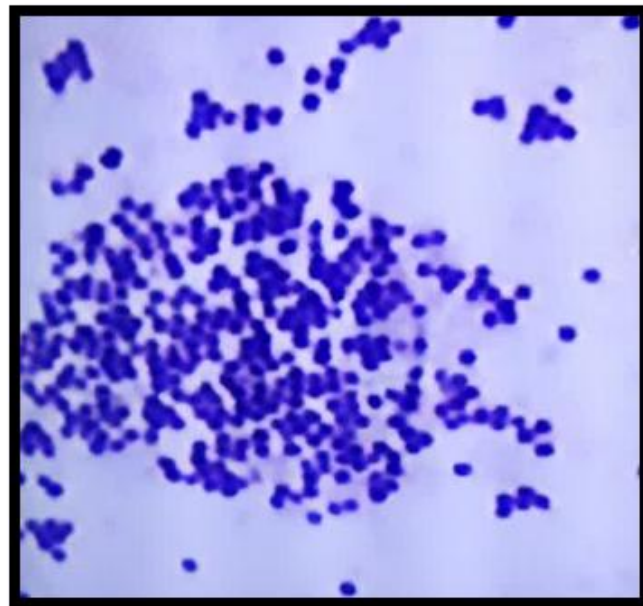
Lampiran 13. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* dan bahan uji



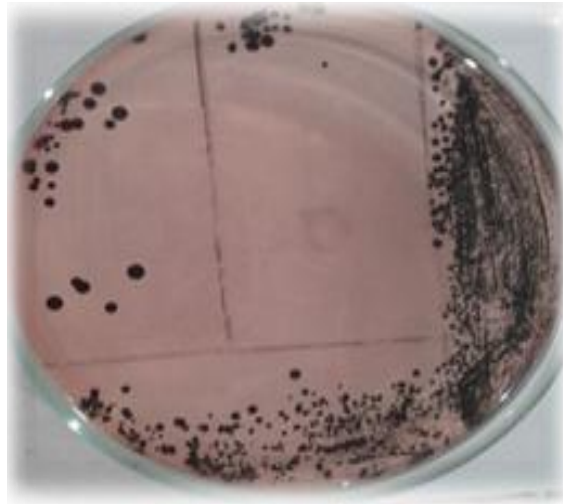
Uji berdasarkan katalase



Uji berdasarkan fisiologi-koagulase



Uji berdasarkan mikroskopis



Uji berdasarkan koloni

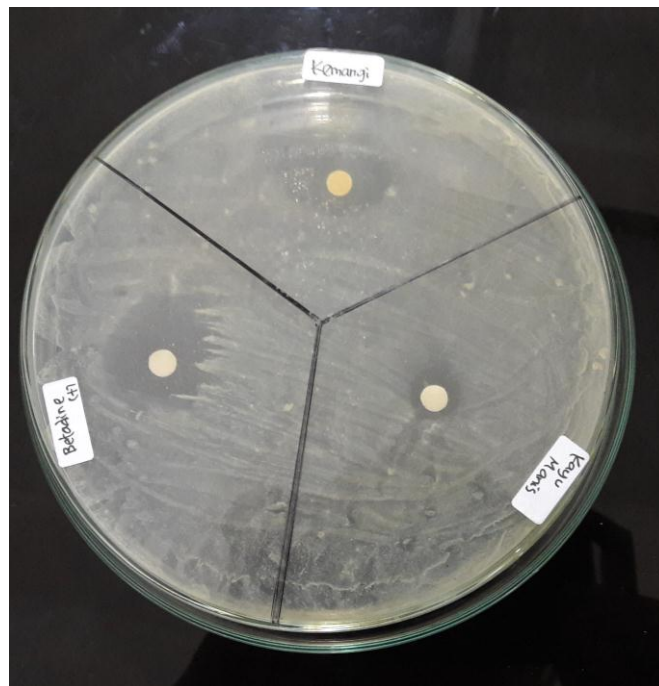
**Bahan uji**



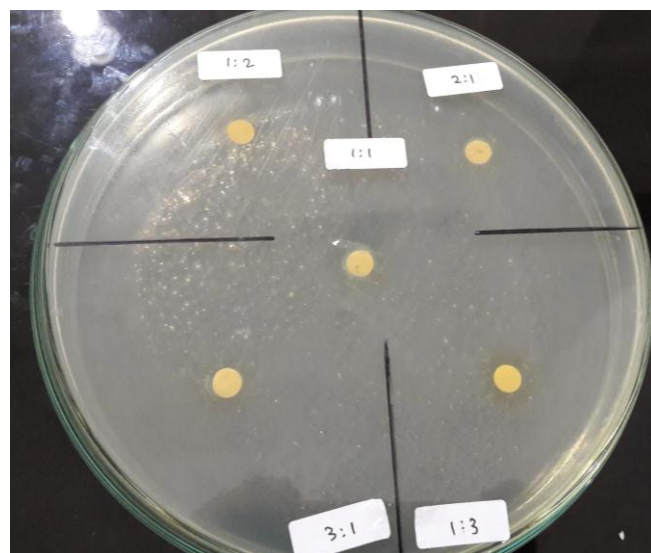


Lampiran 14. Gambar dan hasil Diameter daya hambat tunggal dan kombinasi dari uji difusi minyak atsiri

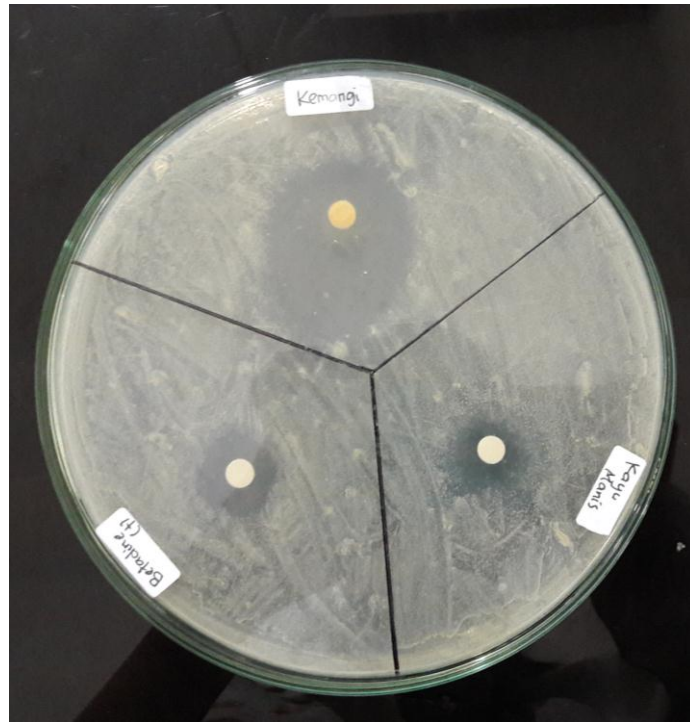
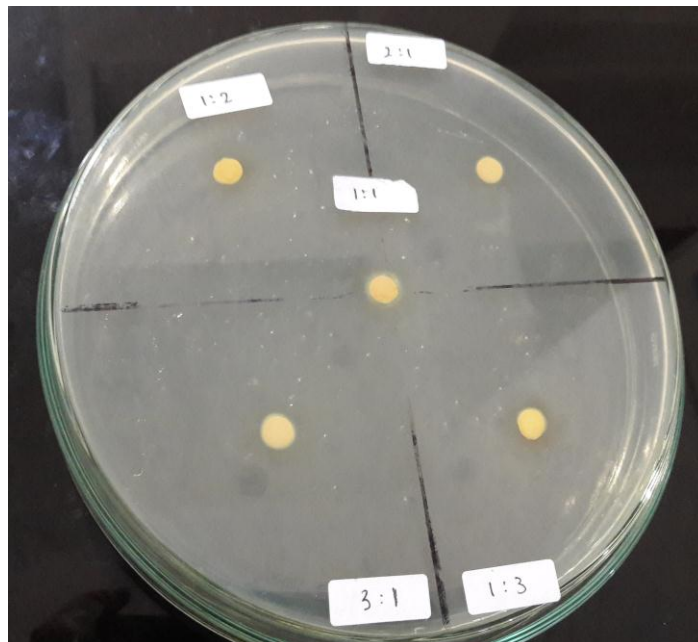
### Reflikasi 1

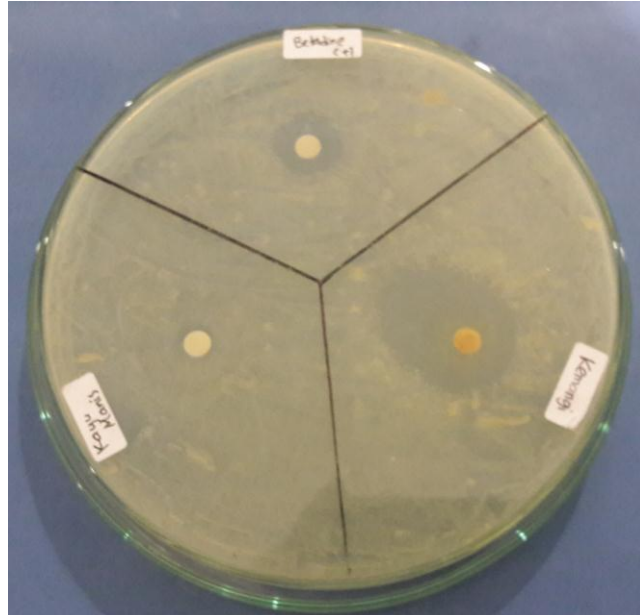
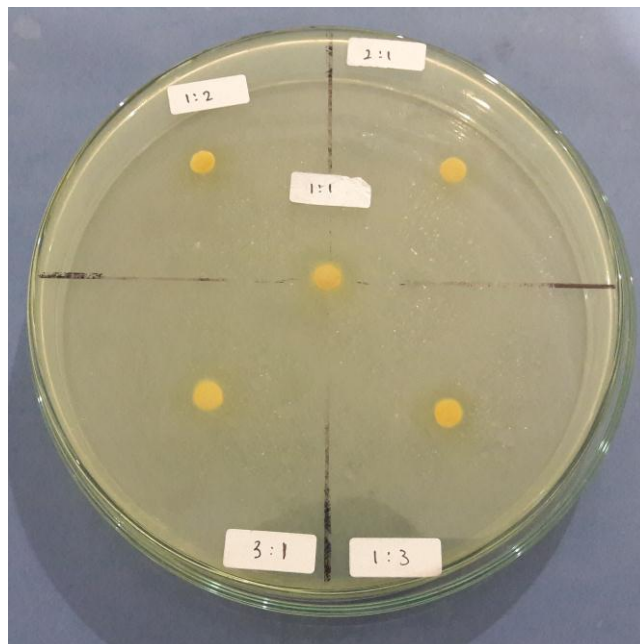


Minyak atsiri Kemangi, Kulit kayu manis dan Betadine (-)



Kombinasi mintak atsiri kemangi dan kulit kayu manis

**Replikasi 2****Minyak atsiri Kemangi, Kulit kayu manis dan Betadine (-)****Kombinasi mintak atsiri kemangi dan kulit kayu manis**

**Replikasi 3****Minyak atsiri Kemangi, Kulit kayu manis dan Betadine (-)****Kombinasi minyak atsiri kemangi dan kulit kayu manis**

### Diameter daya hambat tunggal dan kombinasi dari uji difusi minyak atsiri

Konsentrasi 100%	Diameter daerah hambatan (mm)			Rata –rata ± SD
	I	II	III	
Povidone Iodine (+)	24,50	21,25	19,00	21,58 ± 2,765
Kemangi	40,00	37,25	36,25	37,83 ± 1,941
Kayu manis	11,75	17,25	16,25	15,08 ± 2,929

Konsentrasi 100%	Diameter daerah hambatan (mm)			Rata –rata ± SD
	I	II	III	
1 : 1	17,25	16,75	17,50	17,16 ± 0,381
1 : 2	12,00	14,25	15,00	13,75 ± 1,561
2 : 1	10,50	14,00	10,50	11,66 ± 2,020
1 : 3	15,25	15,25	11,00	13,83 ± 2,453
3 : 1	11,00	13,00	12,25	12,08 ± 1,010

### Perhitungan rata-rata diameter hambatan :

#### ✚ Diameter tunggal :

➤ Betadine (+) :

$$\text{Replikasi I} = \frac{2,6+2,4+2,5+2,3}{4} = 2,45 \text{ cm} = 24,50 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{2,0+2,1+2,2+2,2}{4} = 2,125 \text{ cm} = 21,25 \text{ mm.}$$

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

➤ Kemangi :

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

$$\text{Replikasi II} = \frac{3,1+4,1+4,1+3,6}{4} = 3,725 \text{ cm} = 37,25 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{4,2+3,7+3,6+3,0}{4} = 3,625 \text{ cm} = 36,25 \text{ mm.}$$

➤ Kulit kayu manis :

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

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

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,8+1,6+1,6+1,5}{4} = 1,625 \text{ cm} = 16,25 \text{ mm.}$$

✚ **Diameter kombinasi :**

➤ Kombinasi 1:1 :

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

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

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,6+1,8+1,8+1,8}{4} = 1,75 \text{ cm} = 17,50 \text{ mm.}$$

➤ Kombinasi 1:2 :

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

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,4+1,5+1,5+1,3}{4} = 1,425 \text{ cm} = 14,25 \text{ mm.}$$

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

➤ Kombinasi 2:1 :

$$\text{Replikasi I} = \frac{1,1+1,0+1,0+1,1}{4} = 1,05 \text{ cm} = 10,50 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,2+1,4+1,4+1,6}{4} = 1,4 \text{ cm} = 14,00 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,1+1,0+1,1+1,0}{4} = 1,05 \text{ cm} = 10,50 \text{ mm.}$$

➤ Kombinasi 1:3 :

$$\text{Replikasi I} = \frac{1,6+1,6+1,3+1,6}{4} = 1,525 \text{ cm} = 15,25 \text{ mm.}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{1,5+1,5+1,6+1,5}{4} = 1,525 \text{ cm} = 15,25 \text{ mm.}$$

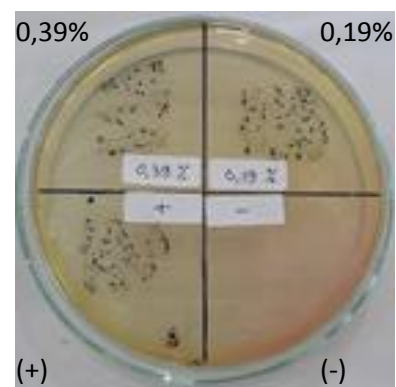
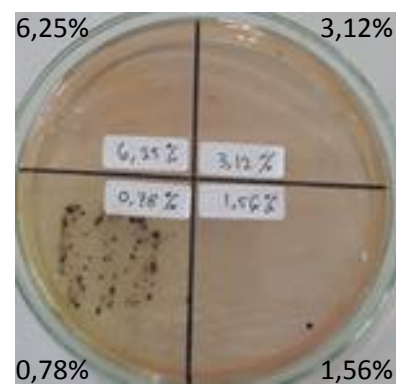
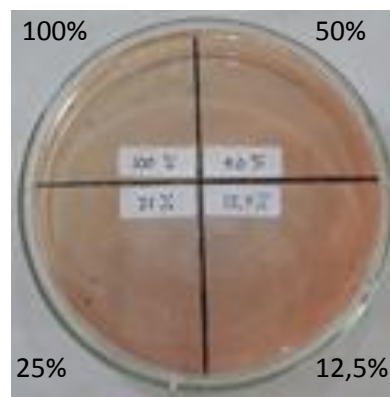
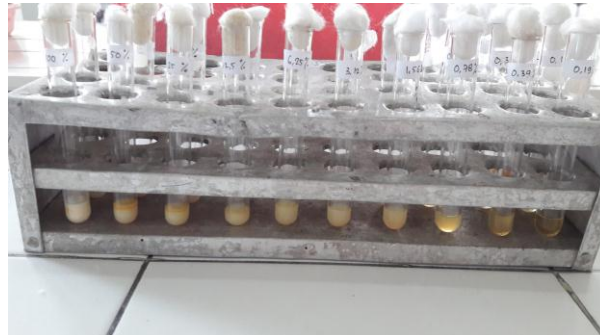
$$\text{Replikasi III} = \frac{1,1+1,1+1,1+1,1}{4} = 1,1 \text{ cm} = 11,00 \text{ mm.}$$

➤ Kombinasi 3:1 :

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

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

$$\text{Replikasi III} = \frac{1,3+1,3+1,2+1,1}{4} = 1,225 \text{ cm} = 12,25 \text{ mm.}$$

**Lampiran 15. Hasil uji aktivitas antibakteri dengan dilusi**

## Lampiran 16. Hasil analisis dengan SPSS

### NPar Tests

Descriptive Statistics					
	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Sampel	24	4,50	2,341	1	8
Dayahambat	24	17,8750	8,45673	10,50	40,00

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test					
		Sampel	Dayahambat		
N		24	24		
Normal Parameters <sup>a</sup>	Mean	4,50	17,8750		
	Std. Deviation	2,341	8,45673		
Most Extreme Differences	Absolute	,114	,268		
	Positive	,114	,268		
	Negative	-,114	-,192		
Kolmogorov-Smirnov Z		,559	1,311		
Asymp. Sig. (2-tailed)		,913	,064		

a. Test distribution is Normal.

### Oneway

Descriptives									
Dayahambat									
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max	Between-Component Variance
					Lower Bound	Upper Bound			
Povidone Iodine	3	21,5833	2,76511	1,59644	14,7144	28,4522	19,00	24,50	
Kemangi	3	37,8333	1,94186	1,12114	33,0095	42,6572	36,25	40,00	
Kayu Manis	3	15,0833	2,92973	1,69148	7,8055	22,3612	11,75	17,25	
Kombinasi 1 : 1	3	17,1667	,38188	,22048	16,2180	18,1153	16,75	17,50	
Kombinasi 1 : 2	3	13,7500	1,56125	,90139	9,8716	17,6284	12,00	15,00	
Kombinasi 2 : 1	3	11,6667	2,02073	1,16667	6,6469	16,6864	10,50	14,00	
Kombinasi 1 : 3	3	13,8333	2,45374	1,41667	7,7379	19,9288	11,00	15,25	
Kombinasi 3 : 1	3	12,0833	1,01036	,58333	9,5735	14,5932	11,00	13,00	
Total	24	17,8750	8,45673	1,72622	14,3040	21,4460	10,50	40,00	
Model			2,05269	,41900	16,9868	18,7632			
Fixed Effects									
Random Effects				3,06425	10,6292	25,1208			

### Test of Homogeneity of Variances

Dayahambat			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,850	7	16	,146

### ANOVA

Dayahambat					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1577,458	7	225,351	53,483	,000
Within Groups	67,417	16	4,214		
Total	1644,875	23			



### Robust Tests of Equality of Means

Dayahambat

	Statistic <sup>a</sup>	df1	df2	Sig.
Welch	40,854	7	6,388	,000
Brown-Forsythe	53,483	7	11,017	,000

a. Asymptotically F distributed.

### Post Hoc Tests

#### Multiple Comparisons

Dayahambat

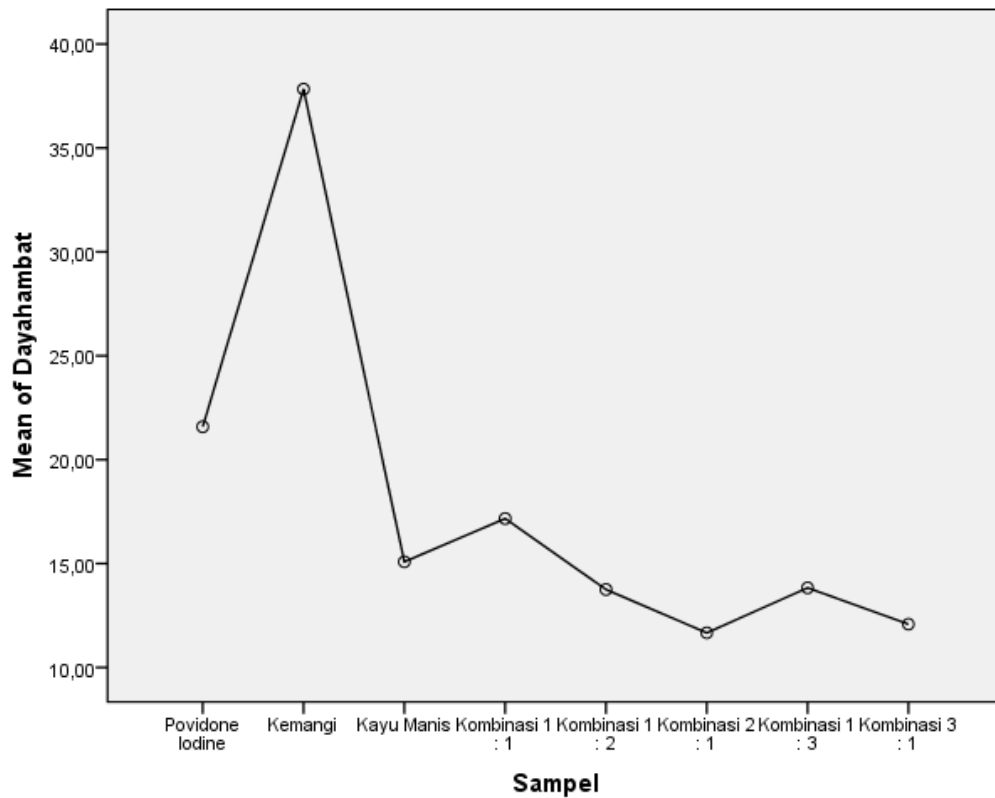
LSD

(I) Sampel	(J) Sampel	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Povidone Iodine	Kemangi	-16,25000	1,67602	,000	-19,8030	-12,6970
	Kayu Manis	6,50000	1,67602	,001	2,9470	10,0530
	Kombinasi 1 : 1	4,41667	1,67602	,018	,8637	7,9697
	Kombinasi 1 : 2	7,83333	1,67602	,000	4,2803	11,3863
	Kombinasi 2 : 1	9,91667	1,67602	,000	6,3637	13,4697
	Kombinasi 1 : 3	7,75000	1,67602	,000	4,1970	11,3030
	Kombinasi 3 : 1	9,50000	1,67602	,000	5,9470	13,0530
Kemangi	Povidone Iodine	16,25000	1,67602	,000	12,6970	19,8030
	Kayu Manis	22,75000	1,67602	,000	19,1970	26,3030
	Kombinasi 1 : 1	20,66667	1,67602	,000	17,1137	24,2197
	Kombinasi 1 : 2	24,08333	1,67602	,000	20,5303	27,6363
	Kombinasi 2 : 1	26,16667	1,67602	,000	22,6137	29,7197
	Kombinasi 1 : 3	24,00000	1,67602	,000	20,4470	27,5530
	Kombinasi 3 : 1	25,75000	1,67602	,000	22,1970	29,3030
Kayu Manis	Povidone Iodine	-6,50000	1,67602	,001	-10,0530	-2,9470
	Kemangi	-22,75000	1,67602	,000	-26,3030	-19,1970
	Kombinasi 1 : 1	-2,08333	1,67602	,232	-5,6363	1,4697
	Kombinasi 1 : 2	1,33333	1,67602	,438	-2,2197	4,8863
	Kombinasi 2 : 1	3,41667	1,67602	,058	-,1363	6,9697
	Kombinasi 1 : 3	1,25000	1,67602	,467	-2,3030	4,8030
	Kombinasi 3 : 1	3,00000	1,67602	,092	-,5530	6,5530
Kombinasi 1 : 1	Povidone Iodine	-4,41667	1,67602	,018	-7,9697	-,8637
	Kemangi	-20,66667	1,67602	,000	-24,2197	-17,1137
	Kayu Manis	2,08333	1,67602	,232	-1,4697	5,6363
	Kombinasi 1 : 2	3,41667	1,67602	,058	-,1363	6,9697
	Kombinasi 2 : 1	5,50000	1,67602	,005	1,9470	9,0530
	Kombinasi 1 : 3	3,33333	1,67602	,064	-,2197	6,8863
	Kombinasi 3 : 1	5,08333	1,67602	,008	1,5303	8,6363
Kombinasi 1 : 2	Povidone Iodine	-7,83333	1,67602	,000	-11,3863	-4,2803
	Kemangi	-24,08333	1,67602	,000	-27,6363	-20,5303
	Kayu Manis	-1,33333	1,67602	,438	-4,8863	2,2197
	Kombinasi 1 : 1	-3,41667	1,67602	,058	-6,9697	,1363
	Kombinasi 2 : 1	2,08333	1,67602	,232	-1,4697	5,6363
	Kombinasi 1 : 3	-,08333	1,67602	,961	-3,6363	3,4697
	Kombinasi 3 : 1	1,66667	1,67602	,335	-1,8863	5,2197
Kombinasi 2 : 1	Povidone Iodine	-9,91667	1,67602	,000	-13,4697	-6,3637
	Kemangi	-26,16667	1,67602	,000	-29,7197	-22,6137
	Kayu Manis	-3,41667	1,67602	,058	-6,9697	,1363
	Kombinasi 1 : 1	-5,50000	1,67602	,005	-9,0530	-1,9470

	Kombinasi 1 : 2	-2,08333	1,67602	,232	-5,6363	1,4697
	Kombinasi 1 : 3	-2,16667	1,67602	,214	-5,7197	1,3863
	Kombinasi 3 : 1	-,41667	1,67602	,807	-3,9697	3,1363
Kombinasi 1 : 3	Povidone Iodine	-7,75000*	1,67602	,000	-11,3030	-4,1970
	Kemangi	-24,00000*	1,67602	,000	-27,5530	-20,4470
	Kayu Manis	-1,25000	1,67602	,467	-4,8030	2,3030
	Kombinasi 1 : 1	-3,33333	1,67602	,064	-6,8863	,2197
	Kombinasi 1 : 2	,08333	1,67602	,961	-3,4697	3,6363
	Kombinasi 2 : 1	2,16667	1,67602	,214	-1,3863	5,7197
	Kombinasi 3 : 1	1,75000	1,67602	,312	-1,8030	5,3030
Kombinasi 3 : 1	Povidone Iodine	-9,50000	1,67602	,000	-13,0530	-5,9470
	Kemangi	-25,75000*	1,67602	,000	-29,3030	-22,1970
	Kayu Manis	-3,00000	1,67602	,092	-6,5530	,5530
	Kombinasi 1 : 1	-5,08333	1,67602	,008	-8,6363	-1,5303
	Kombinasi 1 : 2	-1,66667	1,67602	,335	-5,2197	1,8863
	Kombinasi 2 : 1	,41667	1,67602	,807	-3,1363	3,9697
	Kombinasi 1 : 3	-1,75000	1,67602	,312	-5,3030	1,8030

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

### Means Plots





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

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

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

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