

**UJI AKTIVITAS ANTIJAMUR KOMBINASI MINYAK ATSIRI RIMPANG  
LENGKUAS MERAH (*Alpinia purpurata K. schum*) DAN BANGLE  
(*Zingiber cassumunar Roxb.*) TERHADAP *Candida albicans*  
ATCC 10231 SECARA *IN VITRO***



**Oleh :**

**Ani Nurchayati  
20144249A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2018**

**UJI AKTIVITAS ANTIJAMUR KOMBINASI MINYAK ATSIRI RIMPANG  
LENGKUAS MERAH (*Alpinia purpurata K. schum*) DAN BANGLE  
(*Zingiber cassumunar Roxb.*) TERHADAP *Candida albicans*  
ATCC 10231 SECARA IN VITRO**

**SKRIPSI**

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

**Oleh:**

**Ani Nurchayati  
20144249A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2018**

## PENGESAHAN SKRIPSI

berjudul :

### UJI AKTIVITAS ANTIJAMUR KOMBINASI MINYAK ATSIRI RIMPANG LENGKUAS MERAH (*Alpinia purpurata K schum*) DAN BANGLE (*Zingiber cassumunar Roxb.*) TERHADAP *Candida albicans* ATCC 10231 SECARA IN VITRO

Oleh :

Ani Nurchayati  
20144249A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi  
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi  
Pada tanggal : 2 Juli 2018

Menetahui,  
Fakultas Farmasi  
Universitas Setia Budi



Dekan,

Pembimbing Utama

Dr. Supriyadi, M.Si.

Pembimbing Pendamping

Dr. Ana Indrayati., M.Si.,  
Penguji :

1. Drs. Edy Prasetya, M. Si

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

2. Drs. Mardiyono, M. Si

3. D. Andang Arif Wibawa, S.P., M.Si

4. Dr. Drs. Supriyadi, M. Si

## **PERSEMPAHAN**

“Demi masa. Sesungguhnya manusia itu benar-benar dalam kerugian, kecuali orang-orang yang beriman dan mengerjakan amal saleh dan nasihat-menasihati supaya mentaati kebenaran dan nasihat menasihati supaya menetapi kesabaran”

(Qs Al-Ashr: 1-3)

“Belajarlah kalian semua atas ilmu yang kalian inginkan, maka demi Allah tidak akan diberikan pahala kalian sebab mengumpulkan ilmu sehingga kamu mengamalkannya”

(HR. Abu Hasan)

Bismillahirrahmanirrahim...

Dengan rasa syukur kupersembahkan skripsi ini untuk :

- Allah SWT, terimakasih untuk segala nikmat yang telah diberikan dalam kehidupan ini.
- Bapak, Ibu, dan Kakak tersayang yang selalu memberikan semangat, doa, dan dukungan secara terus-menerus sampai Ani mencapai gelar sarjana.
- Teman-teman, teruntuk sahabat terunik (Ica, mbak Kiki, mbak Hilda, Desi, Solecha, Febri, Kini, Zainab, Farha) terimakasih sudah banyak membantu dan mendukung dari awal kuliah sampai sekarang. Terimakasih juga untuk Silvia (cepi), Dewanti, Laina, Listya, Amanda, Angelica, Ulfa yang selalu menyemangatiku dan memberi nasihat, serta semua teman-teman kuliah angkatan 2014.
- Dosen pembimbing Dr. Supriyadi, M.Si dan Dr. Ana Indrayati, M.Si yang telah membimbing dan mengajari saya selama ini.

## **PERNYATAAN**

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

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi.

Surakarta, 2 Juli 2018



Ani Nurchayati

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya serta kasih dan sayang-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul "**UJI AKTIVITAS ANTIJAMUR KOMBINASI MINYAK ATSIRI RIMPANG LENGKUAS MERAH (*Alpinia purpurata K. schum*) DAN BANGLE (*Zingiber cassumunar Roxb.*) TERHADAP *Candida albicans* ATCC 10231 SECARA IN VITRO**".

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

Penyusunan skripsi ini tentunya tidak lepas dari bimbingan, bantuan, dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terimakasih kepada :

1. Allah SWT yang senantiasa memberikan anugrah, nikmat, serta petunjuk disetiap langkah hidup umat-Nya.
2. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA., selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
3. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.
4. Dr. Supriyadi, M.Si. selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah banyak memberikan ilmu, masukan, pengarahan, dan bimbingan selama penyusunan skripsi ini.
5. Dr. Ana Indrayati, M.Si. selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah banyak memberikan ilmu, masukan, pengarahan, dan bimbingan selama penyusunan skripsi ini.
6. Dosen penguji yang telah meluangkan waktu untuk menguji dan memberikan masukan pada skripsi ini.
7. Segenap dosen, instruktur laboratorium yang banyak memberikan bantuan dan kerjasama selama penyusunan penelitian skripsi ini.
8. Orang tua tersayang yang selalu mendukung dan mendoakanku.
9. Kakakku yang selalu mendukung dan menyemangati saya.

10. Teman-teman seperjuanganku dalam menyelesaikan penyusunan skripsi ini.
11. Semua orang yang terlibat dalam penyelesaian skripsi ini yang penulis tidak bisa sebutkan satu-persatu.

Demikian skripsi ini penulis buat, penulis menyadari bahwa skripsi ini masih ada kekurangan, oleh karena itu penulis menerima saran dan kritik yang bersifat membangun untuk perbaikan dan penyempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi peningkatan kualitas dalam ilmu kefarmasian.

Surakarta, 2 Juli 2018

Penulis

## DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL.....	i
PENGESAHAN SKRIPSI .....	ii
PERSEMAWAHAN .....	iii
PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR .....	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
INTISARI.....	xiv
ABSTRACT .....	xv
BAB I PENDAHULUAN .....	1
A. Latar Belakang .....	1
B. Rumusan Masalah.....	4
C. Tujuan .....	5
D. Kegunaan Penelitian .....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	7
A. Rimpang Lengkuas Merah.....	7
1. Sistematika tanaman .....	7
2. Nama daerah .....	7
3. Morfologi tanaman .....	7
4. Kandungan kimia.....	8
5. Kegunaan lengkuas merah.....	8
B. Rimpang Bangle .....	9
1. Sistematika tanaman .....	9
2. Nama daerah .....	9
3. Morfologi tanaman .....	9
4. Kandungan kimia.....	10
5. Kegunaan rimpang bangle .....	10
C. Simplisia .....	11
1. Pengertian simplisia.....	11

2.	Pengumpulan simplisia .....	11
3.	Pengeringan dan pencucian simplisia.....	11
4.	Cara pembuatan simplisia.....	12
5.	Pengemasan dan penyimpanan .....	12
D.	Destilasi .....	13
1.	Pengertian destilasi .....	13
2.	Macam-macam destilasi .....	13
2.1	Destilasi air.....	13
2.2	Destilasi uap air .....	13
2.3	Destilasi uap langsung.....	14
E.	Minyak Atsiri.....	14
1.	Pengertian minyak atsiri .....	14
2.	Sumber minyak atsiri .....	14
3.	Sifat minyak atsiri.....	15
4.	Penggunaan minyak atsiri.....	15
5.	Isolasi minyak stsiri .....	15
6.	Penyimpanan minyak atsiri.....	16
F.	Jamur.....	16
1.	Uraian tentang jamur .....	16
2.	<i>Candida albicans</i> .....	17
2.1	Klasifikasi <i>Candida albicans</i> .....	17
2.2	Sifat-sifat umum <i>Candida albicans</i> .....	17
3.	Morfologi jamur.....	17
4.	Fisiologi jamur.....	18
5.	Kandidiasis .....	19
G.	Antijamur .....	19
1.	Definisi antijamur .....	19
2.	Mekanisme kerja antijamur .....	20
2.1	Kerusakan dinding sel .....	20
2.2	Perubahan permeabilitas sel .....	20
2.3	Perubahan molekul protein dan asam nukleat.....	20
2.4	Penghambatan kerja enzim.....	20
2.5	Penghambatan sintesis asam nukleat dan protein .....	20
H.	Uji Aktivitas Antijamur .....	21
1.	Metode difusi .....	21
2.	Metode dilusi .....	21
I.	Media .....	22
J.	GC-MS.....	22
K.	Kombinasi Obat Herbal .....	23
1.	Aditif.....	24
2.	Antagonis .....	24
3.	Sinergisme .....	24
L.	Ketokonazole .....	24
M.	Sterilisasi.....	25
N.	Landasan Teori .....	25
O.	Hipotesis .....	29

BAB III METODE PENELITIAN .....	30
A. Populasi dan Sampel .....	30
1. Populasi.....	30
2. Sampel .....	30
B. Variabel Penelitian.....	30
1. Identifikasi variabel utama .....	30
2. Klasifikasi variabel utama .....	30
3. Definisi operasional variabel utama .....	31
C. Alat dan Bahan.....	32
1. Alat .....	32
2. Bahan .....	32
D. Jalan Penelitian .....	33
1. Identifikasi determinasi tanaman .....	33
2. Pengambilan bahan .....	33
3. Isolasi minyak atsiri .....	33
4. Analisis minyak atsiri .....	34
4.1 Pengamatan organoleptik.....	34
4.2 Penetapan indeks bias minyak atsiri .....	34
4.3 Penetapan bobot jenis minyak atsiri .....	34
4.4 Penetapan kelarutan dalam alkohol .....	35
4.5 Karakteristik komponen senyawa penyusun minyak atsiri dengan <i>Gas Chromatography – Mass Spectrometry (GC-MS)</i> .....	35
5. Pembuatan stok jamur <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.....	35
6. Pembuatan suspensi <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 .....	36
7. Identifikasi jamur uji.....	36
7.1 Identifikasi makroskopis.....	36
7.2 Identifikasi biokimia .....	36
8. Pembuatan kombinasi bahan uji .....	37
9. Pengujian aktivitas antijamur .....	37
E. Skema Jalannya Penelitian.....	40
F. Analisis Hasil.....	46
 BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN .....	47
1. Determinasi tanaman .....	47
2. Isolasi minyak atsiri .....	47
3. Penetapan sifat fisika .....	48
3.1 Pengamatan organoleptik .....	48
3.2 Penetapan indeks bias.....	49
3.3 Penetapan bobot jenis .....	50
3.4 Penetapan kelarutan etanol.....	50
3.5 Hasil analisis komponen minyak atsiri dengan GC-MS .	50
4. Hasil identifikasi jamur <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.....	51
4.1 Identifikasi <i>Candida albicans</i> secara makroskopis pada media SGA .....	51

4.2	Identifikasi biokimia <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 ...	52
4.3	Identifikasi jamur candida secara mikroskopis dengan pewarnaan LCB .....	53
5.	Hasil pengujian aktivitas antijamur <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 .....	54
5.1	Hasil pengujian aktivitas antijamur <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 secara difusi. ....	54
5.2	Hasil pengujian aktivitas antijamur <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 secara dilusi. ....	60
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....		62
A.	Kesimpulan .....	62
B.	Saran .....	62
DAFTAR PUSTAKA .....		64
LAMPIRAN .....		70

## **DAFTAR GAMBAR**

Halaman

Gambar 1. Alur penelitian.....	40
Gambar 2. Skema isolasi minyak atsiri lengkuas merah.....	41
Gambar 3. Skema isolasi minyak atsiri bangle .....	42
Gambar 4. Skema pembuatan suspensi jamur.....	43
Gambar 5. Skema pengujian aktivitas antijamur secara difusi .....	44
Gambar 6. Skema pengujian aktivitas antijamur secara dilusi .....	45
Gambar 7. Koloni <i>Candida albicans</i> pada media SGA .....	51
Gambar 8. Hasil uji biokimia .....	52
Gambar 9. Hasil identifikasi mikroskopis <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.....	54

## **DAFTAR TABEL**

Halaman

Tabel 1. Rendemen minyak atsiri lengkuas merah .....	47
Tabel 2. Rendemen minyak atsiri bangle .....	48
Tabel 3. Identifikasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle .....	48
Tabel 4. Hasil indeks bias minyak atsiri lengkuas merah dan bangle .....	49
Tabel 5. Komponen utama minyak atsiri bangle .....	50
Tabel 6. Komponen utama minyak atsiri lengkuas merah .....	51
Tabel 7. Hasil zona hambat uji aktivitas antijamur <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 secara difusi. ....	55
Tabel 8. Hasil rata-rata dan standar deviasi zona hambat pada kombinasi minyak atsiri .....	55
Tabel 9. Hasil zona hambat kontrol secara difusi .....	55
Tabel 10. Hasil uji dilusi kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle dengan konsentrasi 50% pada perbandingan 3:1.....	60

## **DAFTAR LAMPIRAN**

Halaman

Lampiran 1.	Determinasi tanaman rimpang lengkuas merah .....	71
Lampiran 2.	Determinasi tanaman rimpang bangle .....	72
Lampiran 3.	Tanaman lengkuas merah dan bangle.....	73
Lampiran 4.	Hasil minyak atsiri.....	73
Lampiran 5.	Alat dan bahan untuk uji.....	74
Lampiran 6.	Hasil identifikasi minyak atsiri.....	76
Lampiran 7.	Minyak atsiri lengkuas merah, bangle, dan kombinasi .....	77
Lampiran 8.	Perhitungan kadar minyak atsiri Lengkuas merah dan Bangle Minyak atsiri lengkuas merah .....	78
Lampiran 9.	Perhitungan bobot jenis minyak atsiri .....	80
Lampiran 10.	Hasil perhitungan indeks bias minyak atsiri.....	82
Lampiran 11.	Pembuatan seri konsentrasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle metode difusi.....	83
Lampiran 12.	Hasil uji difusi .....	84
Lampiran 13.	Hasil uji dilusi.....	85
Lampiran 14.	Diameter daya hambat tunggal dan kombinasi minyak atsiri dari uji difusi.....	86
Lampiran 15.	Pembuatan media pada uji .....	88
Lampiran 16.	Analisa hasil diameter hamabat pada uji difusi dengan ANOVA two way .....	90
Lampiran 17.	Hasil analisa minyak atsiri dengan GC-MS .....	94

## INTISARI

**Nurchayati, A., 2018, UJI AKTIVITAS ANTIJAMUR KOMBINASI MINYAK ATSIRI RIMPANG LENGKUAS MERAH (*Alpinia purpurata K schum*) DAN BANGLE (*Zingiber cassumunar Roxb.*) TERHADAP *Candida albicans* ATCC 10231 SECARA IN VITRO SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.**

Lengkuas merah (*Alpinia purpurata K schum*) mengandung eugenol, terpenoid (terpinen-4-ol) yang memiliki khasiat sebagai antijamur. Bangle (*Zingiber cassumunar Roxb.*) mengandung sesquiterpen (zerumbon) dan terpinen 4-ol yang memiliki aktivitas sebagai antijamur. Penelitian bertujuan untuk mengetahui adanya aktivitas antijamur kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle terhadap jamur *Candida albicans* ATCC 10231.

Minyak atsiri lengkuas merah dan bangle diperoleh dengan menggunakan metode destilasi uap air. Hasil minyak atsiri lengkuas merah dan bangle dilakukan uji aktivitas antijamur menggunakan metode disk difusi dengan konsentrasi 50%, 25%, 12,5% dengan perbandingan (1:1, 1:3, 3:1) selanjutnya dilakukan uji pengenceran dengan metode dilusi dengan konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,56%, 0,78%. Kontrol positif yang digunakan adalah antibiotik ketokonazole 2% dan kontrol negatif DMSO 1%.

Parameter yang digunakan dalam uji difusi adalah konsentrasi hambat minimum (KHM) dan pada uji dilusi parameter yang digunakan konsentrasi bunuh minimum (KBM). Hasil uji difusi pada kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle yang paling efektif pada konsentrasi 50% dengan perbandingan 3:1 yang memiliki zona hambat sebesar 26,38 mm. Pada uji dilusi nilai KHM yang diperoleh adalah 6,25% dan nilai KBM 3,125%.

---

Kata kunci : *Alpinia purpurata K schum*, *Zingiber cassumunar Roxb*, Minyak atsiri, *Candida albicans*, Antijamur.

## ABSTRACT

**NURCHAYATI, ANI., 2018, ANTIFUNGAL ACTIVITY TEST COMBINATION OF ESSENTIAL OIL OF LENGKUAS MERAH (*Alpinia purpurata K schum*) AND BANGLE (*Zingiber cassumunar Roxb.*) TO *Candida albicans* ATCC 10231, ESSAY, PHARMACY FACULTY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.**

The red galangal (*Alpinia purpurata K schum*) contains eugenol, terpenoid (terpinen-4-ol) which has as an antifungal. Bangle (*Zingiber cassumunar Roxb.*) Contains sesquiterpenes (zerumbon) and terpinen-4-ol that have activity as an antifungal. The objective of this research is to know the antifungal activity of the combination of red galangal and bangle oil against *Candida albicans* ATCC 10231.

The essential oil of red galangal and bangle is distilled by using the method of vapor distillation. The result of red galangal and bangle essential oil was tested by using diffusion disc method with concentration 50%, 25%, 12,5% with ratio (1:1, 1:3, 3:1) then dilution test with dilution method with concentrations of 50%, 25%, 12.5%, 6.25%, 3.125%, 1.56%, 0.78%. Positive controls used were 2% ketoconazole antibiotics and 1% negative DMSO control.

The parameters used in the diffusion test are the minimum inhibitory concentration (KHM) and on the dilution test parameters used minimum killing concentration (KBM). The result of diffusion test on the combination of essential oil of red galangal and bangle which is most effective at concentration 50% with 3: 1 ratio having inhibit zone of 26,38 mm. In the dilution test the value of KHM obtained is 6.25% and the KBM value is 3.125%.

---

Key word : *Alpinia purpurata K schum*, *Zingiber cassumunar Roxb.*, essential oils, *Candida albicans*, antifungal.

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

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

Manusia hidup di alam selalu kontak dengan mikroorganisme. Infeksi terjadi bila mikroorganisme yang masuk ke dalam tubuh menyebabkan berbagai gangguan fisiologi normal tubuh sehingga timbul penyakit infeksi dan bagian tubuh yang terkena infeksi adalah kulit. Kulit merupakan pembungkus elastik yang melindungi tubuh dari pengaruh lingkungan, baik dari cuaca, polusi, temperatur udara dan sinar matahari (Setiadi 2011).

Infeksi jamur banyak dijumpai pada masyarakat Indonesia karena sebagai negara yang beriklim tropis keadaan udaranya panas dan lembab. Kondisi tersebut merupakan lahan yang cocok untuk pertumbuhan jamur. Jamur atau fungi dapat menyebabkan penyakit yang luas, mulai dari infeksi dermatofita kulit sampai infeksi invasif pada pasien *immunocompromised* yang berat. Jamur yang biasanya dapat ditemukan pada membran mukosa, kulit, dalam saluran cerna, dan dalam vaginal adalah *Candida albicans* (Stephen dan Kathleen 2009).

*Candida albicans* merupakan flora normal pada tubuh manusia. *Candida albicans* adalah salah satu penyebab infeksi jamur uniseluler. Kondisi tertentu *Candida albicans* dapat tumbuh berlebih dan melakukan invasi sehingga menyebabkan penyakit sistemik progresif pada penderita yang lemah atau kekebalan tubuh menurun (Pratiwi 2008). *Candida albicans* merupakan penyebab paling umum dari kandidiasis vulvovaginalis. Kandidiasis vulvovaginalis merupakan salah satu bentuk infeksi pada vagina yang umumnya menyerang wanita dan dapat dijumpai di seluruh dunia terutama di negara-negara berkembang (Bahupati 2015).

Prevalensi terjadinya kandidiasis vulvovagitis adalah sebesar 70%-90%, pada wanita normal infeksi ini juga sering dijumpai yaitu sekitar 50%-75% (Suyoso 2013). Angka kejadian tingginya kandidiasis vulvovaginitis pada wanita meningkat secara signifikan pada usia setelah 20 tahun dan mencapai puncaknya pada usia 30-40 tahun (Anindita 2012). Tingginya angka kejadian kandidiasis ini

akan menjadikan permasalahan baru di dalam dunia kesehatan, sehingga menjadikan para ilmuan terdorong untuk melakukan penelitian dan pengembangan agen anti-infeksi baru untuk menghasilkan obat-obat baru.

Pengobatan infeksi yang paling umum dilakukan adalah dengan terapi antibiotik. Penggunaan antibiotik yang berlebihan dan pemberian dalam jangka waktu yang lama dapat menyebabkan terjadinya resistensi pada bakteri (Muryuni 2008). Hal tersebut dapat menyebabkan terjadinya toksisitas atau efek samping obat dalam penggunanya (Nwinyi *et al.* 2009).

Salah satu pemanfaatan tumbuhan sebagai obat tradisional adalah pemanfaatan senyawa yang terkandung dalam suatu tumbuhan atau bagiannya sebagai bahan obat. Salah satu komponen tanaman obat yang memiliki khasiat sebagai antibakteri antara lain adalah minyak atsiri. Sifat toksik alami minyak atsiri berguna dalam pengobatan dan minyak atsiri telah lama dikenal sebagai sumber terapi yang penting, misalnya sebagai senyawa antibakteri. Minyak atsiri dapat menghambat pertumbuhan atau mematikan bakteri dengan mengganggu proses terbentuknya membran atau dinding sel sehingga tidak terbentuk atau terbentuk tidak sempurna (Triphati *et al.* 2013).

Pengobatan penyakit infeksi dapat menggunakan obat modern maupun tradisional. Pengobatan tradisional dengan memanfaatkan tanaman berkhasiat relatif lebih aman dibandingkan dengan pengobatan modern atau sintetik. Salah satu cara yang digunakan adalah dengan mencari senyawa-senyawa alam yang berasal dari tanaman, diantaranya yaitu tanaman rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata K. schum*) dan bangle (*Zingiber cassumunar Roxb.*).

Rimpang lengkuas merah oleh masyarakat digunakan sebagai bahan obat alam dalam pengobatan tradisional. Kandungan kimia dari rimpang lengkuas merah adalah minyak atsiri berwarna kuning kehijauan yang terdiri dari metilsinamat 48%, sineol 20-30% eugenol, kamfer 1% galangin, flavonoid, saponin, tanin dan lain-lain. Lengkuas merah adalah salah satu sumber alamiah terbaik dari kuersetin, suatu bioflavonoid yang secara khusus baik untuk melawan radikal bebas. Disamping kemampuan sebagai antioksidan, kuerstin juga memiliki sifat mencegah kanker, antijamur, antibakteri, dan anti peradangan (Klohs 2012).

Sari dari rimpang lengkuas yang mengandung senyawa berupa minyak atsiri. Salah satu komponen bioaktif yang terkandung dalam minyak atsiri rimpang lengkuas ini adalah *eugenol* dan senyawa diterpene yang memiliki efek antijamur. Komponen bioaktif pada rempah-rempah, khususnya pada golongan Zingiberaceae yang terbanyak adalah dari jenis terpenoid dan flavonoid. Komponen lainnya yang terdapat pada golongan Alpinia adalah alpinetin. Alpinetin merupakan jenis flavanon yang dikenal sebagai senyawa fungistatik dan fungisida. Bentuk senyawa bioaktif lainnya adalah dari golongan terpenoid. Terpenoid yang dikenal dengan monoterpen, diterpen, triterpen, tetraterpen, dan politerpen (Erna S 2005).

Senyawa diterpene yang diisolasi dari biji lengkuas merah dan diidentifikasi sebagai (E)-8 beta, 17-epoxylabd-12-ene-15, 16-dial secara sinergis meningkatkan aktivitas antifungi dari quercetin dan chalcone melawan *Candida albicans* dengan cara melisikan protoplasma dari *Candida albicans* (Haraguchi *et al.* 2006). Penelitian yang telah dilakukan sebelumnya menunjukkan minyak atsiri rimpang lengkuas merah memiliki potensi yang mampu menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* dengan membentuk diameter hambat 7,66 mm yaitu pada konsentrasi terbesar 20% (Naldi & Icka 2014).

Secara empiris bangle adalah tanaman yang sudah lama digunakan masyarakat kampung Tulang kuning, parung kecamatan Bogor sebagai obat tradisional untuk menghilangkan rasa gatal kemerahan, obat luka, bisul dan kudis yang bernanah akibat infeksi yang disebabkan oleh bakteri dan jamur. Cara penggunaannya yaitu dengan menumbuk rimpang bangle kemudian di boreh pada tempat yang sakit.

Minyak atsiri dari *Zingiber cassumunar* Roxb. teruji secara *invitro* dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan Gram negatif, fungi dermatophyta dan ragi (Pithayanukul *et al.* 2007; Tripathi *et al.* 2008; Jantan *et al.* 2003). Komponen utama minyak atsiri rimpang *Zingiber cassumunar* Roxb. adalah 4-terpineol (42,5%),  $\beta$ -pinene (23,41%),  $\gamma$ -terpinene (6,28%) dan  $\beta$ -sesquiphellandrene (5,92%). Senyawa 4-terpeniol diduga merupakan zat aktif

antijamur dalam minyak atsiri rimpang *Zingiber cassumunar* Roxb (Mondello *et al.* 2006).

Hasil uji berdasarkan penelitian yang telah dilakukan Ayuningtiyas (2008) aktivitas minyak atsiri rimpang bangle terhadap pertumbuhan (*Malassezia furfur*) didapat pada konsentrasi terkecil 6,25% sudah mampu menghambat pertumbuhan jamur tersebut dengan tidak adanya koloni pada media cair.

Penggunaan kombinasi obat herbal ialah campuran dua atau lebih obat dalam satu formulasi, penggunaan dua obat yang berbeda secara bersama-sama dapat memberikan interaksi yakni dapat memperlihatkan kerja berlawanan (antagonis) sehingga efeknya lemah dan interaksi yang satunya dapat memperlihatkan kerja sama yang baik antara kedua obat (sinergisme) sehingga efeknya saling menguatkan. Efek antagonis dapat terjadi apabila obat yang pertama melemahkan efek obat yang kedua sedangkan sinergisme terjadi apabila kedua obat dikombinasikan bersama dan efeknya lebih baik dari pada dosis tunggal dari masing-masing obat (Tjay & Rahardja 2007).

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian pengujian lebih lanjut terhadap potensi kombinasi minyak atsiri rimpang lengkuas merah dan bangle terhadap pertumbuhan *Candida albicans*. Penelitian ini perlu dilakukan untuk menguji aktivitas kombinasi minyak atsiri rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata* K. schum) dan rimpang bangle (*Zingiber purpurem* Roxb.) yang berkhasiat sebagai antijamur terhadap *Candida albicans* ATCC 10231 dengan menggunakan metode difusi dan dilusi.

## **B. Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang yang telah dikemukakan maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah :

Pertama, apakah minyak atsiri rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata* K. schum) dan bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) memiliki aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans* ATCC 10231?

Kedua, apakah kombinasi minyak atsiri rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata K. schum*) dan bangle (*Zingiber cassumunar Roxb.*) memiliki aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans* ATCC 10231?

Ketiga, manakah dari minyak atsiri rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata K. schum*) dan bangle (*Zingiber cassumunar Roxb.*) atau kombinasi keduanya yang memiliki aktivitas paling optimal terhadap *Candida albicans* ATCC 10231?

Keempat, berapakah Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari kombinasi minyak atsiri rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata K. schum*) dan bangle (*Zingiber cassumunar Roxb.*) yang memiliki aktivitas antijamur paling optimal terhadap *Candida albicans* ATCC 10231?

### **C. Tujuan**

Penelitian ini bertujuan untuk :

Pertama, mengetahui apakah minyak atsiri rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata K. schum*) dan bangle (*Zingiber cassumunar Roxb.*) memiliki aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans* ATCC 10231?

Kedua, mengetahui apakah kombinasi minyak atsiri rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata K. schum*) dan bangle (*Zingiber cassumunar Roxb.*) memiliki aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans* ATCC 10231.

Ketiga, mengetahui manakah dari berbagai perbandingan kombinasi minyak atsiri rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata K. schum*) dan bangle (*Zingiber cassumunar Roxb.*) yang memiliki aktivitas antijamur paling optimal terhadap *Candida albicans* ATCC 10231.

Keempat, mengetahui berapa Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari kombinasi minyak atsiri rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata K. schum*) dan bangle (*Zingiber cassumunar Roxb.*) yang memiliki aktivitas antijamur paling optimal terhadap *Candida albicans* ATCC 10231.

Roxb.) yang memiliki aktivitas paling optimal terhadap *Candida albicans* ATCC 10231.

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

Dari penelitian ini diharapkan dapat dijadikan bukti ilmiah mengenai manfaat kombinasi minyak atsiri rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata* K. schum) dan bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) terhadap *Candida albicans* ATCC 10231. Penelitian ini dapat pula sebagai salah satu alternatif dalam pengobatan antifungi *Candida albicans* ATCC 10231, serta memberikan informasi kepada masyarakat umum mengenai manfaat kombinasi minyak atsiri rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata* K. schum) dan bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) dalam menghambat dan membunuh jamur *Candida albicans* ATCC 10231.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Rimpang Lengkuas Merah**

##### **1. Sistematika tanaman**

Kingdom : Plantae  
Divisio : Tracheophyta  
Class : Liliopsida  
Order : Zingiberales  
Family : Zingiberaceae  
Genus : Alpinia  
Species : *Alpinia Purpurata* K. Schum (Wagner et al., 1999)  
Sinonim : *Alpinia grandis* K. Schum., *Guillainia purpurata* Vieill.,  
*Languas purpurata* (Vieill.) Kaneh.

##### **2. Nama daerah**

Nama Daerah Dari Lengkuas Merah Adalah Lakuwe (Nias), Lengkuas (Melayu), Lengkueh (Minang), Laja (Sunda), Laos (Jawa, Madura), Galangal, Greater galangal, Java galangal, Siamese ginger (Inggeris), Grote galanga, Galanga de l'inde (Belanda), Galanga (Perancis), Grosser galgant (Jerman) (Sinaga 2009).

##### **3. Morfologi tanaman**

Morfologi tumbuhan lengkuas merah hampir sama dengan lengkuas putih namun pada umumnya pohnnya lebih pendek daripada lengkuas putih (Sinaga 2009). Lengkuas merah berbatang semu, tinggi sekitar 1-2 meter, dan tumbuh dalam rumpun yang rapat. Batangnya tegak tersusun oleh pelepas-pelepas daun yang bersatu membentuk batang semu, berwarna hijau agak keputihan. Batang daun muda keluar sebagai tunas dari batang tua. Daun tunggal, berwarna hijau, bertangkai pendek, tersusun berseling. Daun disebelah atas dan bawah biasanya lebih kecil dari pada di tengah. Bentuk daun lanset memanjang, ujung runcing pangkal tumpul, dengan tepi daun rata. Pertulangan daun menyirip, panjang daun sekitar 20-60 cm dan lebarnya 4-15 cm. Pelepas daun kurang lebih 15-30 cm,

beralur, berwarna hijau. Pelepah daun ini saling menutup membentuk batang semu berwarna hijau (Sinaga 2009).

Bunga lengkuas merah adalah bunga majemuk, berbentuk silindris, keluar tersendiri pada ujung batang dengan panjang mencapai 4 cm, jumlah bunga 4-12 atau lebih, sangat sempit, ujung kelopak bunga bergigi 2. Benang sari berbentuk bulat dan keras. Sewaktu masih muda berwarna hijau-kekuningan, setelah tua berubah menjadi hitam kecoklatan, berdiameter lebih kurang 1 cm. buahnya ada juga yang berwarna merah. Bijinya kecil-kecil, berbentuk lonjong, berwarna hitam.

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

Studi fitokimia pada lengkuas merah menunjukkan bahwa rimpang lengkuas merah mengandung flavonoid, rutin, kaempferol-3-rutinoside, dan kaempferol-3-oliucronide (Victorio *et al.* 2009).

Rimpang lengkuas merah mengandung minyak atsiri yang terdiri dari sinamat, sineol, kamfer,  $\delta$ -pinen, galangin, dan eugenol. Rimpang lengkuas merah mengandung kamfer, galangol, sesquiterpen, dan kristal kuning (Hembing & Wijayakusuma 2001).

Minyak atsiri dan fraksi metanol rimpang lengkuas menunjukkan aktivitas penghambatan pertumbuhan mikroba pada spesies bakteri dan jamur (Yuharmen *et al.* 2002).

#### **5. Kegunaan lengkuas merah**

Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata* K. schum) merupakan tumbuhan budidaya yang sangat populer di India, rimpangnya mempunyai aroma tajam, yang dapat membantu meningkatkan nafsu makan, memberikan rasa pada masakan dan melegakan tenggorokan. Rimpang lengkuas merah ini biasa digunakan untuk menyembuhkan sakit kepala, rematik, radang tenggorokan dan penyakit ginjal (Prajapathi *et al.* 2003). Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata* K. schum) telah dipelajari dalam berbagai studi dan telah dibuktikan bahwa tanaman ini mempunya berbagai efek biologis seperti antiinflamasi, antioksidan, antijamur, antivirus, antibakteri, dan aktivitas antikanker (Arambewela & Wijenghe 2006).

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

## B. Rimpang Bangle

### 1. Sistematika tanaman

Klasifikasi tanaman bangle adalah sebagai berikut:

Kingdom	:	Plantae
Divisi	:	Magnoliophyta
Kelas	:	Liliopsida
Bangsa	:	Zingiberales
Familia	:	Zingiberaceae
Genus	:	Zingiber
Species	:	<i>Zingiber purpureum</i> Roxb. (USDA 2014), <i>Zingiber purpureum</i> Roscoe, <i>Zingiber montanum</i> (J. Koenig) Link ex A. Dietr.

### 2. Nama daerah

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

### 3. Morfologi tanaman

Tanaman *Zingiber purpureum* Roxb tumbuh di daerah Asia yang beriklim tropis dari India sampai Indonesia. Bangle dapat tumbuh di daratan rendah hingga ketinggian 1300 m di atas permukaan laut, pada lahan kering dengan tipe iklim A, B dan C berdasarkan klasifikasi Schmidt & Ferguson. Faktor lingkungan tumbuh seperti iklim, jenis dan kesuburan tanah, pemupukan dapat mempengaruhi produksi dan mutu simplisia bangle (Raharjo *et al.* 2004).

Penanamannya sangat mudah, sekali tanam dapat memperbanyak diri dan terus bertahan dalam waktu lama. Bangle tidak pernah ditanam secara besar-besaran. Tanaman ini menghendaki tanah yang relatif subur, ringan, gembur, baik

tata pengairannya dan mendapatkan sinar matahari yang cukup. Pada tanah yang becek, pertumbuhan tanaman akan terganggu dan rimpangnya cepat membusuk. Jarak tanaman 40 cm sampai 50 cm. Penyakit yang sering dijumpai adalah serangan penyakit layu. Tanaman yang terserang harus segera dibongkar dan dibakar. Panen dapat dilakukan setelah tanaman berumur satu tahun (Martha Tilaar *Innovation Center* 2002).

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

Bangle mempunyai rimpang yang menjalar dan berdaging, bentuknya hampir bundar sampai lonjong atau tidak beraturan, tebal 2-5 mm. Permukaan luar tidak rata, berkerut, warnanya coklat muda kekuningan, bila dibelah berwarna kuning muda sampai kuning kecoklatan. Rasanya tidak enak, pedas dan pahit (Herbie 2012).

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

*Zingiber purpureum* Roxb mengandung bahan-bahan berupa minyak atsiri 1,8% atas dasar bahan kering, mengandung komponen antara lain sabinen, terpinen-4-ol, seskuifeladren, sineol, asam dan gom, asam-asam organik dan albuminoid serta kurkuminoid (Hanani 2000; Depkes 1989; Syamsuhidayat dan Hutapea 1991). Kandungan senyawa organik lainnya adalah damar, lemak, gom, gula, mineral albuminoid dan asam–asam organik (Wonohadi *et al.* 2000).

#### **5. Kegunaan rimpang bangle**

Dalam pengobatan secara tradisional, rimpang bangle sering digunakan untuk mengobati sakit kepala, susah buang air besar, nyeri pada perut, sakit kuning, sebagai penghangat tubuh, pelangsing, dan mempunyai efek karminatif

(Martha Tilaar *Innovation Center* 2002), selain rimpangnya, bagian daun bangle bermanfaat sebagai obat tidak nafsu makan dan perut kembung (Wijayakusuma *et al.* 1996).

Beberapa penelitian juga telah menyatakan bahwa bangle mempunyai efek insektisidal, antioksidan, antiinflamasi, antihelmintik, antibakteri, dan laksansia (Ozaki *et al.* 2001).

### C. Simplisia

#### 1. Pengertian simplisia

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

#### 2. 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 (asal 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 (Kemenkes RI 2010)

#### 3. Pengeringan dan pencucian simplisia

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

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

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

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

#### **4. Cara pembuatan simplisia**

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

#### **5. 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 terlindungi dari gangguan serangga-serangga ataupun tikus (Amalina 2008).

## **D. Destilasi**

### **1. Pengertian destilasi**

Destilasi adalah suatu proses pemisahan secara fisik suatu campuran dua atau lebih produk yang mempunyai titik didih yang berbeda dengan cara mendidihkan terlebih dahulu komponen yang mempunyai titik didih rendah terpisah dari campuran. Metode ini cocok untuk minyak atsiri yang tidak mudah rusak oleh panas, misalnya minyak jahe (Widiasuti 2012).

### **2. Macam-macam destilasi**

Metode destilasi yang digunakan dalam industri minyak atsiri ada tiga metode yaitu: metode detilasi air, destilasi uap-air dan destilasi uap langsung (Sastrohamidjojo 2004).

**2.1 Destilasi air.** Destilasi air yaitu simplisia yang digunakan akan direbus langsung dengan air yang mendidih. Kelebihannya adalah alatnya sederhana dan waktu yang dibutuhkan untuk mendapatkan minyak atsiri sebentar. Sedangkan kekurangan detilasi air ini tidak cocok untuk bahan baku yang tidak tahan uap panas dan kualitas hasil penyulingan tidak sebaik uap dan air.

**2.2 Destilasi uap dan air.** Destilasi dengan uap dan air yaitu simplisia yang digunakan akan direbus dengan air mendidih namun tidak kontak langsung dengan air, diberi sekat antara air dan simplisia, biasanya disebut ang sang. Prinsip dari metode ini adalah air mendidih dan uap air akan membawa partikel minyak atsiri untuk dialirkan ke kondensor kemudian ke alat pemisah secara otomatis dan minyak akan terpisah karena ada perbedaan berat jenis air sehingga minyak berada di atas dan air dibawah. Keuntungan membutuhkan sedikit air sehingga bisa menyingkat waktu proses destilasi, alatnya sederhana namun dapat menghasilkan minyak atsiri dalam jumlah yang cukup sehingga efisien dalam penggunaan, minyak yang dihasilkan tidak mudah menguap karena pembawanya adalah air yang tidak mudah menguap.

**2.3 Destilasi uap langsung.** Destilasi uap langsung yaitu tanaman dimasukkan ke dalam bejana. Prinsip dari metode ini adalah uap air yang dihasilkan oleh steam generator akan mengalir ke wadah simplisia dan membawa minyak atsiri bersama dengan uap air tersebut. Destilasi uap langsung merupakan destilasi yang paling baik yang dapat menghasilkan minyak atsiri dengan kualitas yang tinggi karena tidak bercampur dengan air.

## E. Minyak Atsiri

### 1. Pengertian minyak atsiri

Minyak atsiri yang dikenal dengan nama minyak terbang atau minyak eteris adalah komoditi ekstrak alami dari jenis tumbuhan yang berasal dari daun, bunga, biji-bijian bahkan putik bunga. Minyak atsiri merupakan minyak yang mudah menguap, dengan komposisi dan titik didih yang berbeda-beda. Setiap substansi yang dapat menguap memiliki titik didih dan tekanan uap tertentu dan hal ini dipengaruhi oleh suhu (Guenther 2006). Minyak atsiri mudah larut dalam pelarut organik seperti alkohol, eter, petroleum, benzen, dan tidak larut dalam air.

Minyak atsiri umumnya tidak berwarna dalam keadaan segar dan murni tanpa tercemar. Minyak atsiri dapat teroksidasi dan membentuk resin serta warnanya berubah menjadi lebih tua (gelap) pada penyimpanan yang lama. Untuk mencegah supaya warna tidak berubah, minyak atsiri harus terlindungi dari pengaruh cahaya, sehingga sebaiknya disimpan dalam kemasan botol kaca berwarna gelap dan tertutup rapat. Minyak atsiri yang disimpan dalam wadah logam dapat mengakibatkan perubahan warna minyak dari jernih hingga kecoklatan karena adanya reaksi karat dari logam (Yuliani 2012).

### 2. Sumber minyak atsiri

Minyak atsiri merupakan salah satu hasil akhir proses metabolisme sekunder dalam tumbuhan. Minyak atsiri terdapat pada setiap bagian tumbuhan yaitu di daun, bunga, biji, batang, kulit, dan akar (Ketaren 2008).

### **3. Sifat minyak atsiri**

Minyak atsiri memiliki sifat-sifat yang tersusun oleh bermacam-macam komponen senyawa dan memiliki bau khas. Umumnya bau ini mewakili bau tanaman aslinya, mempunyai rasa getir, kadang-kadang terasa tajam, mengigit, memberi kesan hangat sampai panas, atau justru, dingin ketika terasa di kulit, tergantung dari jenis komponen penyusunnya, dalam keadaan murni (belum tercemar oleh senyawa lain) mudah menguap pada suhu kamar, bersifat tidak bisa berubah menjadi tengik (Gunawan dan Mulyani 2004).

Minyak atsiri ini berupa cairan jernih, tidak berwarna selama penyimpanan akan mengental dan berwarna kekuningan atau kecoklatan. Hal ini tersebut terjadi karena adanya pengaruh oksidasi dan resinifikasi dapat dicegah atau diperlambat dengan cara minyak atsiri dilindungi dari pengaruh sinar matahari yang dapat merangsang terjadinya oksidasi dan oksigen udara yang akan mengoksidasi minyak atsiri (Koen somardiyah 2010).

### **4. Penggunaan minyak atsiri**

Minyak atsiri dalam industri farmasi digunakan sebagai antibakteri, antifungi, antiseptik, pengobatan lesi, antinyeri, dapat digunakan sangat luas dan spesifik khususnya dalam berbagai bidang industri. Minyak atsiri digunakan sebagai bahan baku dalam berbagai bidang industri, misalnya industri parfum, kosmetik, *essence*, industri farmasi dan *flavoring agent*. Dalam pembuatan parfum dan wangi-wangian minyak atsiri tersebut berfungsi sebagai zat pewangi. Beberapa jenis minyak atsiri dapat digunakan sebagai zat pengikat bau (*fixative*) dalam parum, misalnya minyak nilam, minyak akar wangi dan minyak cendana. Minyak atsiri yang berasal dari rempah-rempah, misalnya minyak lada, minyak kayu manis, minyak jahe, minyak cengkeh, minyak ketumbar, umumnya digunakan sebagai bahan penyedap (*flavoring agent*) dalam bahan pangan dan minuman (Kateren 2008).

### **5. Isolasi minyak atsiri**

Metode isolasi yang paling lazim digunakan adalah metode destilasi. Beberapa metode destilasi yang paling populer dilakukan diberbagai perusahaan

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

## 6. Penyimpanan minyak atsiri

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

## F. Jamur

### 1. Uraian tentang jamur

Jamur adalah suatu organisme eukariot yang mempunyai ciri-ciri yang spesifik yaitu mempunyai inti, tidak berklorofil dan beberapa jamur mempunyai bagian-bagian tubuh berbentuk filamen-filamen dan sebagian lagi bersifat uniseluler. Jamur mendekomposisi sisa-sisa tumbuhan dan hewan yang kompleks dan menguraikannya menjadi zat yang lebih sederhana. Beberapa jamur juga bersifat menguntungkan karena merupakan bahan makanan, misalnya cendawan (*mushroom*), dan beberapa jamur dapat bersimbiosis dengan akar. Simbiosis ini dikenal dengan nama mikoriza. Beberapa jamur yang bersifat parasit dengan memperoleh senyawa organik dari organisme hidup. Hal ini, jamur bersifat merugikan karena menimbulkan penyakit pada manusia, hewan, maupun tanaman (Pratiwi, 2008). Jamur yang digunakan adalah *Candida albicans*, jamur tersebut

memperbanyak diri dengan spora yang dibentuk langsung dari hifa tanpa adanya peleburan inti dan berbentuk tunas. *Candida* membentuk pseudohifa yang sebenarnya adalah rangkaian blastospora yang bercabang-cabang (Jawetz *et al.* 2005).

## **2. *Candida albicans***

**2.1 Klasifikasi *Candida albicans*.** Menurut Jawetz *et al.* (2007), kedudukan *Candida albicans* dapat dilihat dalam sistematika sebagai berikut:

Kingdom	: Fungi
Phylum	: Asomycota
Class	: Ascomycetes
Bangsa	: Saccharomycetes
Ordo	: Saccaromycetales
Family	: Crytococcaea
Genus	: Candida
Spesies	: <i>Candida albicans</i> .

**2.2 Sifat-sifat umum *Candida albicans*.** *Candida albicans* menghasilkan asam dan gas, menghasilkan asam dari sukrosa, dan tidak bereaksi dengan laktosa. Peragian karbohidrat bersama-sama dengan sifat koloni dan morfologi koloni membedakan *Candida albicans* dari spesies *Candida* lainnya. *Candida albicans* termasuk jamur oportunis yaitu jamur yang biasanya menimbulkan penyakit pada orang dengan mekanisme pertahanan tubuhnya terganggu. Jamur ini dapat menginfeksi salah satu atau semua organ tubuh. *Candida albicans* merupakan anggota flora normal di selaput lendir, saluran pernafasan, saluran pencernaan, dan genitalia wanita (Jawetz *et al.* 2001).

## **3. Morfologi jamur**

Jamur terdiri dari kapang dan khamir. Kapang adalah jamur yang mempunyai filamen. Tubuh atau talus, suatu kapang pada dasarnya terdiri dari dua bagian yaitu miselium dan spora. Miselium merupakan kumpulan beberapa filamen yang dinamakan hifa. Setiap hifa lebarnya 5 sampai 10  $\mu\text{l}$ , dibandingkan dengan sel bakteri yang biasanya 1  $\mu\text{m}$ . Khamir merupakan jamur sel tunggal tanpa filamen. Khamir sangat beragam ukurannya berkisar antara 1 sampai 5  $\mu\text{m}$

lebarnya dan panjangnya dari 2 sampai 30  $\mu\text{m}$  atau lebih. Biasanya berbentuk telur, tetapi beberapa ada yang memanjang atau berbentuk bola. Setiap spesies mempunyai bentuk yang khas, namun sekalipun dalam biakan murni terdapat variasi yang luas dalam hal ukuran dan bentuk sel-sel individu, tergantung kepada umur dan lingkungannya (Koes 2014).

*Candida albicans* tampak sebagai ragi lonjong, sel-sel bertunas, gram positif, berukuran 2-3 x 4-6  $\mu\text{m}$ , memanjang menyerupai hifa (pseudohifa) dengan permukaan halus, licin atau berlipat-lipat, berwarna putih kekuning-kuningan. Pada agar sabouraud yang dieramkan pada suhu kamar berbentuk koloni-koloni lunak berwarna coklat yang mempunyai bau seperti ragi. *Candida albicans* memiliki dua jenis morfologi yaitu seperti khamir dan hifa. Selain itu, fenotipe atau penampakan mikroorganisme dapat berubah dari berwarna putih dan rata menjadi kerut tidak beraturan, berbentuk bintang, lingkaran, dan tidak tembus cahaya. *Candida albicans* mempunyai struktur dinding sel yang kompleks, tebalnya 100 sampai 400 nm. Dinding sel *Candida albicans* berfungsi sebagai pelindung, sebagai target dari beberapa antimikotik dan memberi bentuk pada sel dan melindungi sel ragi dari lingkungannya. Terdapat enam lapisan sel (dari luar ke dalam) pada dinding sel *Candida albicans*, yaitu *fibrillar layer*, mannoprotein,  $\beta$ -glucan,  $\beta$ -glucan-chitin, mannoprotein dan membran plasma (Andrew 2005).

*Candida albicans* dibiakkan pada media Sabouraud Glukosa Agar (SGA) selama 2-4 hari pada suhu 37°C atau suhu ruang akan tampak koloni berbentuk bulat, warna krem, diameter 1-2 mm, konsistensi “smooth”, mengkilap, bau seperti ragi. Besar koloni tergantung pada umur biakan, tepi koloni terlihat hifa semu sebagai benang-benang halus yang masuk ke dalam media, pada media cair biasanya tumbuh pada dasar tabung (Koes 2014).

#### 4. Fisiologi jamur

Jamur memerlukan kondisi kelembaban yang tinggi, persediaan bahan organik, dan oksigen untuk pertumbuhan. Lingkungan yang hangat dan lembab mempercepat pertumbuhan jamur. Jamur tumbuh dengan baik pada kondisi lingkungan yang mengandung banyak gula dengan tekanan osmotik tinggi dan kondisi asam yang tidak menguntungkan bagi pertumbuhan bakteri. Hal ini

memungkinkan jamur dapat tumbuh pada selai atau acar. Khamir bersifat fakultatif artinya khamir dapat hidup dalam aerob ataupun anaerob sedangkan kapang merupakan organisme aerob sejati. Beberapa jamur terutama jamur patogen memiliki dua bentuk pertumbuhan sebagai kapang ataupun khamir, sifat dimorfisme ini tergantung pada temperatur. Temperatur 37°C merupakan fase khamir dan temperatur 24-48°C merupakan fase kapang (Pratiwi 2008).

## 5. Kandidiasis

Kandidiasis adalah suatu infeksi primer atau sekunder dari genus *Candida albicans* atau kadang-kadang spesies kandida lain, yang dapat menyerang berbagai jaringan tubuh. Manifestasi klinisnya bervariasi dari akut, subakut dan kronis ke episodic. Kelainan dapat terjadi pada area mulut, tenggorokan, kulit, kepala, vagina, jari tangan, kuku, bronchi, paru, atau saluran pencernaan makanan atau menjadi sistemik.

Kandidiasis merupakan infeksi intertrigonasi (yang mengenai aksila, lipatan dibawah payudara, daerah kruris, dan celah jari). Kandidiasis merupakan penyebab tersering dari vulvovaginitis pada wanita. Pada orang-orang imunokompeten, kandidiasis juga dapat mengenai mukosa dan genitalia (Patrick 2006).

Kandidiasis Oral atau yang sering disebut juga moniliasis merupakan suatu infeksi yang sering dijumpai, khususnya dalam rongga mulut. Prevalensinya sebesar 20%-75% pada manusia sehat tanpa gejala. Sedangkan kandidiasis pada penyakit sistemik menyebabkan peningkatan angka kematian sebesar 71%-79%.

## G. Antijamur

### 1. Definisi antijamur

Antijamur adalah senyawa yang digunakan untuk pengobatan penyakit infeksi yang disebabkan oleh jamur. Antijamur atau sering disebut antifungi mempunyai dua pengertian yaitu fungisidal dan fungistik. Fungisidal didefinisikan sebagai suatu senyawa yang dapat membunuh fungi sedangkan fungistik dapat menghambat pertumbuhan fungi tanpa mematikannya (Siswandono & Soekardjo 2000).

## 2. Mekanisme kerja antijamur

Zat antijamur bekerja menurut salah satu dari berbagai cara, antara lain menyebabkan kerusakan dinding sel, perubahan permeabilitas sel, perubahan molekul protein dan asam nukleat, penghambatan kerja enzim, atau penghambatan sintesis asam nukleat, dan protein. Kerusakan pada salah satu situs ini dapat mengawali terjadinya perubahan-perubahan menuju pada matinya sel tersebut (Pelczar & Chan 2005).

**2.1 Kerusakan dinding sel.** Dinding sel merupakan penutup pelindung bagi sel juga berpartisipasi di dalam proses-proses fisiologi tertentu. Strukturnya dapat dirusak dengan cara menghambat setelah selesai terbentuk.

**2.2 Perubahan permeabilitas sel.** Membran sitoplasma mempertahankan bahan-bahan tertentu di dalam sel serta secara selektif mengatur aliran keluar masuknya zat antara sel dengan lingkungan luarnya. Membran pemelihara integritas komponen-komponen seluler. Membran ini juga merupakan situs beberapa reaksi enzim. Kerusakan pada membran ini akan mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel atau matinya sel.

**2.3 Perubahan molekul protein dan asam nukleat.** Hidupnya suatu sel bergantung pada terpeliharanya molekul protein dan asam nukleat pada membran alamiahnya. Suatu kondisi atau substansi yang mengubah keadaan ini yaitu mendenaturasikan protein dan asam-asam nukleat dapat merusak sel tanpa dapat diperbaiki kembali. Suhu tinggi dan konsentrasi pekat beberapa zat kimia dapat mengakibatkan koagulasi (denaturasi) irreversibel (tak dapat balik) komponen-komponen seluler yang vital ini.

**2.4 Penghambatan kerja enzim.** Setiap enzim beratus-ratus enzim berbeda-beda yang ada di dalam sel merupakan sasaran potensial bagi bekerjanya suatu penghambat. Banyaknya zat kimia telah diketahui dapat mengganggu reaksi biokimiawi. Penghambatan ini dapat mengakibatkan terganggunya metabolisme atau matinya sel.

**2.5 Penghambatan sintesis asam nukleat dan protein.** DNA, RNA, dan protein memegang peranan sangat penting di dalam proses kehidupan normal

sel. Hal ini berarti bahwa gangguan apapun yang terjadi pada pembentukan atau pada fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel.

## **H. Uji Aktivitas Antijamur**

### **1. Metode difusi**

Metode difusi merupakan metode paling sering digunakan. Metode difusi dapat digunakan untuk mengetahui daerah hambat yang terbentuk mengelilingi obat berupa warna jernih yang dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan terhadap mikroba yang diperiksa (Jawetz *et al.* 2007). Metode ini dapat dilakukan dengan tiga cara yaitu metode silinder, metode lubang (sumuran), dan metode cakram kertas / *disc diffusion*. Metode sumuran yaitu membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi mikroba. Kemudian lubang diinjeksikan dengan ekstrak yang akan diuji, lalu pertumbuhan mikroba diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan disekeliling lubang. *Disc diffusion*, dilakukan dengan mengukur zona bening (clear zone) yang merupakan petunjuk adanya penghambatan pertumbuhan mikroba oleh suatu senyawa antimikroba dalam ekstrak (Kusmayatidan & Agustini 2007).

### **2. Metode dilusi**

Metode dilusi berguna untuk mencari Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dengan mengetahui kadar obat terendah yang dapat menghambat dan membunuh pertumbuhan mikroba. Prinsip metode dilusi adalah senyawa antimikroba yang diencerkan hingga diperoleh beberapa macam konsentrasi. Kemudian masing-masing konsentrasi ditambahkan suspensi mikroba uji dalam media cair, lalu diinkubasi dan diamati ada atau tidaknya pertumbuhan mikroba, yang ditandai dengan terjadinya kekeruhan. Larutan uji senyawa antimikroba pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa ada pertumbuhan mikroba uji ataupun senyawa antimikroba, dan diinkubasi selama 24 jam. Media agar yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan jamur setelah diinkubasi ditetapkan sebagai Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) (Pratiwi 2008).

## I. Media

Media adalah tempat bagi jaringan untuk tumbuh dan mengambil nutrisi yang mengandung kehidupan jaringan. Media tumbuh menyediakan berbagai bahan yang diperlukan jaringan untuk hidup memperbanyak diri. Mikroba dapat tumbuh dan berkembang biak dengan baik, di dalam media diperlukan persyaratan tertentu, yaitu media harus mengandung semua unsur hara yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangan mikroba. Media harus mempunyai tekanan osmosa, tegangan permukaan dan pH yang sesuai dengan kebutuhan mikroba. Media harus dalam keadaan steril artinya sebelum ditanami mikroba yang dimaksud, tidak ditumbuhi oleh mikroba lain (Abdurahman 2008).

Terdapat tiga bentuk media yaitu media cair, padat dan setengah padat. Media cair (*liquid media*) dapat digunakan pembiakan organisme dalam jumlah yang besar, fermentasi dan berbagai uji. Media padat (*solid media*) digunakan untuk mengamati bentuk dan morfologi koloni serta mengisolasi biakan murni. Media setengah padat (*semisolid media*) digunakan untuk menguji ada atau tidaknya motilitas dan kemampuan fermentasi (Sriyanti & Wijayanti 2008).

## J. GC-MS

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

Perkembangan teknologi instrumentasi yang sangat pesat akhirnya dapat melahirkan suatu alat yang merupakan gabungan dua sistem dengan prinsip dasar yang berbeda satu sama lain tetapi dapat saling menguntungkan dan saling melengkapi, yaitu gabungan antara kromatografi gas dan spektrometri massa (GC-MS). Pada alat GC-MS, kedua alat dihubungkan dengan suatu interfase.

Kromatografi gas disini berfungsi sebagai alat pemisah berbagai komponen campuran dalam sampel sedangkan spektrofotometer massa berfungsi untuk mendeteksi masing-masing molekul komponen yang telah dipisahkan pada kromatografi gas (Agusta 2000).

Dasar pemisahan menggunakan kromatografi gas adalah penyebaran cuplikan pada fase diam sedangkan gas sebagai fase gerak mengelusi fase diam. Cara kerja dari GC adalah suatu fase gerak yang berbentuk gas mengalir di bawah tekanan melewati pipa yang dipanaskan dan disalut dengan fase diam cair atau dikemas dengan fase diam cair yang disalut pada suatu penyangga padat. Analit tersebut dimuatkan ke bagian atas kolom melalui suatu portal injeksi yang dipanaskan. Suhu oven dijaga atau diprogram agar meningkat secara bertahap. Ketika sudah berada dalam kolom, terjadi proses pemisahan antar komponen. Pemisahan ini akan bergantung pada lamanya waktu relatif yang dibutuhkan oleh komponen-komponen tersebut di fase diam (Sparkman *et al.*, 2011)

## **K. Kombinasi Obat Herbal**

Ada banyak agen herbal yang memiliki kandungan farmakologi yang signifikan. Seringkali agen herbal tersebut hanya memunculkan efeknya secara tunggal saja. Hal tersebut memunculkan suatu anggapan bahwa apabila suatu agen herbal yang memiliki efek tunggal dikombinasikan dengan agen herbal lainnya maka akan dapat memunculkan suatu efek komplementer, sinergis, maupun kontraindikasi (Pramono 2006).

Efek komplementer merupakan suatu efek yang saling mendukung antara zat satu dengan zat lainnya. Efek sinergis merupakan suatu efek yang muncul dari dua atau lebih kandungan kimia yang memiliki khasiat sama dan saling menguntungkan. Efek kontraindikasi merupakan suatu efek yang muncul karena terdapat kandungan kimia yang memiliki sifat saling bertentangan (Pramono 2006).

Teori kombinasi dapat dibagi menjadi 3 jenis interaksi antara dua agen aditif, sinergisme dan antagonis, yang masing-masing memberikan efek kombinasi yang sama, lebih besar atau lebih kecil dari efek individu setiap agen (Joyce & Evelyn 2006).

Efek dari kombinasi ada 3 yaitu:

### **1. Aditif**

Aditif adalah interaksi antara dua obat dengan kerja yang serupa diberikan jumlah dari efek kedua obat dapat menjadi yang diinginkan.

### **2. Antagonis**

Antagonis adalah interaksi dua obat apabila dikombinasikan mempunyai kerja yang berlawanan, maka efek obat-obatan itu akan saling meniadakan atau kerja obat dari kedua obat itu akan hilang.

### **3. Sinergisme**

Sinergisme adalah dua obat atau lebih diberikan bersama-sama, obat yang satu dapat memperkuat obat yang lain.

## **L. Ketokonazole**

Antijamur sintetik azol menghambat jamur dengan merusak lipid jamur, terutama egosterol pada membran sel. Efek ini diakibatkan oleh penghambatan pada  $14\alpha$ -dementilasi yang membutuhkan P450 dari lanosterol jamur. Interaksi azol dengan demetilase C $14\alpha$  dalam sel jamur juga menyokong efek toksi utama azol pada sel mamalia, misalnya secara klinis ketokonazol menyebabkan kelainan endokrin pada manusia karena inhibisi enzim sitokrom P450 yang dibutuhkan untuk sintesis hormon steroid adrenal dan gonad, akan tetapi efek tidak diharapkan ini malah dimanfaatkan untuk mengurangi produksi hormon steroid pada sindrom cushing. Suatu perbedaan penting antar imidazole dan triazole adalah afinitas triazol yang lebih besar terhadap enzim sitokrom P450 dan jamur dibandingkan dengan manusia, sehingga efek penghambatannya hanya terlihat pada dosis tinggi (Gunawan 2007).

Ketokonazol suatu imidazol, merupakan obat pertama dari kelompok ini yang diberikan peroral dan efektif untuk beberapa mikrosos sistemik. Dosis tunggal harian 200-400 mg diberikan bersama makanan. Obat ini diabsorpsi dengan baik dan terdistribusi secara luas, tetapi konsentrasi disusunan saraf pusat rendah. Penyerapan pada saluran pencernaan berkurang pada pasien dengan pH lambung yang tinggi, pada pemberian antasida. Pengaruh makanan tidak bagitu nyata terhadap penyerapan ketokonazol. Dosis harian menekan infeksi Candida mulut dan vagina dalam 1-2 minggu dan dermatofitosis dalam 3-8 minggu. Kandidiasis mukotan pada anak-anak kurang imun memberi respon dalam 4-10 minggu (Katzung 2004).

### **M. Sterilisasi**

Bahan atau peralatan yang digunakan dalam bidang mikrobiologi harus dalam keadaan steril. Steril artinya tidak didapatkan mikroba yang tidak diharapkan kehadirannya, baik yang mengganggu atau merusak media dari mikroba atau mengganggu kehidupan dan proses yang sedang dikerjakan (Waluyo 2005).

Sterilisasi merupakan suatu tindakan untuk membebaskan alat dan media dari mikroba. Cara sterilisasi yang umum dilakukan meliputi sterilisasi secara fisik yaitu dengan pemanasan dan penyinaran, sterilisasi secara kimia yaitu penggunaan desinfektan, larutan alkohol, larutan formalin, dan sterilisasi secara mekanik yaitu penggunaan kertas saringan atau filter untuk bahan yang akibat pemanasan tinggi atau tekanan tinggi mengalami perubahan atau penguraian (Darmandi 2008).

### **N. Landasan Teori**

Infeksi jamur banyak dijumpai pada masyarakat Indonesia karena sebagai negara yang beriklim tropis keadaan udaranya panas dan lembab. Kondisi tersebut merupakan lahan yang cocok untuk pertumbuhan jamur. Jamur atau fungi dapat menyebabkan penyakit yang luas, mulai dari infeksi dermatofita kulit sampai injeksi invasif pada pasien immunocompromised yang berat. Jamur yang biasanya

dapat ditemukan pada membran mukosa, kulit, dalam saluran cerna, dan dalam vaginal adalah *Candida albicans* (Stephen & Kathleen 2009).

Salah satu alternatif penanganan resistensi obat adalah dengan penggunaan tanaman obat yang mengandung sifat antijamur. Salah satu tanaman tradisional yang banyak tumbuh subur di Indonesia adalah rimpang lengkuas merah dan bangle. Rimpang lengkuas merah dapat hidup di daerah dataran rendah sampai dataran tinggi, lebih kurang 1200 m di atas permukaan laut. Rimpang lengkuas merah oleh masyarakat digunakan sebagai bahan obat alam dalam pengobatan tradisional. Kandungan kimia dari rimpang lengkuas merah adalah 1 % minyak atsiri berwarna kuning kehijauan yang terdiri dari metil-sinamat 48%, sineol 20-30% eugenol, kamfer 1 % galangin, flavonoid, saponin, tanin dan lain-lain. Lengkuas merah adalah salah satu sumber alamiah terbaik dari kuerstin, suatu bioflavonoid yang secara khusus baik untuk melawan radikal bebas. Disamping kemampuan sebagai antioksidan, kuerstin juga memiliki sifat mencegah kanker, antijamur, antibakteri, dan anti peradangan (Klohs 2012).

Penelitian yang telah dilakukan sebelumnya menunjukkan minyak atsiri rimpang lengkuas merah memiliki potensi yang mampu menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* dengan membentuk diameter hambat 7,66 mm yaitu pada konsentrasi terbesar 20% (Naldi & Icka 2014).

Secara empiris Bangle adalah tanaman yang sudah lama digunakan masyarakat kampung Tulang kuning, parung kecamatan Bogor sebagai obat tradisional untuk menghilangkan rasa gatal kemerahan, obat luka, bisul dan kudis yang bernanah akibat infeksi yang disebabkan oleh bakteri dan jamur. Cara penggunaannya yaitu dengan menumbuk rimpang bangle kemudian di boreh pada tempat yang sakit (Astuti 2015). Kandungan minyak atsiri yang terkandung di dalam rimpang bangle yaitu komponen utama 4-terpinol (42,5%),  $\beta$ -pinen (23,41%),  $\gamma$ -terpinene (62,28%) dan  $\beta$ -sesquiphellandrene (5,92%) dan berdasarkan penelitian (Kamazerin *et al.* 2003) memiliki komponen penyusun seperti zerumbon (60,77%), kariofilena (6,44%) dan  $\alpha$ -kariofilena (23,92%).

Hasil uji berdasarkan penelitian yang telah dilakukan Ayuningtyias (2008) aktivitas minyak atsiri rimpang bangle terhadap pertumbuhan (*Malassezia furfur*)

didapat pada konsentrasi terkecil 6,25% sudah mampu menghambat pertumbuhan jamur tersebut dengan tidak adanya koloni pada media cair.

*Candida albicans* termasuk jamur oportunistis yaitu jamur yang biasanya menimbulkan penyakit pada orang dengan mekanisme pertahanan tubuhnya terganggu. Jamur ini dapat menginfeksi salah satu atau semua organ tubuh. *Candida albicans* merupakan anggota flora normal di selaput lendir, saluran pernafasan, saluran pencernaan, dan genitalia wanita (Jawetz *et al.* 2001). *Candida albicans* dibiakkan pada media Sabouraud Glukosa Agar (SGA) selama 2-4 hari pada suhu 37 °C atau suhu ruang akan tampak koloni berbentuk bulat, warna krem, mengkilap, bau seperti ragi. Besar koloni tergantung pada umur biakan, tepi koloni terlihat hifa semu sebagai benang-benang halus yang masuk ke dalam media, pada media cair biasanya tumbuh pada dasar tabung (Koes 2014).

Minyak atsiri memiliki sifat-sifat yang tersusun oleh bermacam-macam komponen senyawa dan memiliki bau khas. Umumnya bau ini mewakili bau tanaman aslinya, mempunyai rasa getir, kadang-kadang terasa tajam, mengigit, memberi kesan hangat sampai panas, atau justru, dingin ketika terasa di kulit, tergantung dari jenis komponen penyusunnya, dalam keadaan murni (belum tercemar oleh senyawa lain) mudah menguap pada suhu kamar, bersifat tidak bisa berubah menjadi tengik (Gunawan & Mulyani 2004). Minyak atsiri ini berupa cairan jernih, tidak berwarna selama penyimpanan akan mengental dan berwarna kekuningan atau kecoklatan. Hal ini tersebut terjadi karena adanya pengaruh oksidasi dan resinifikasi dapat dicegah atau diperlambat dengan cara minyak atsiri dilindungi dari pengaruh sinar matahari yang dapat merangsang terjadinya oksidasi dan oksigen udara yang akan mengoksidasi minyak atsiri (Koensoemardiyah 2010). Untuk mencegah supaya warna tidak berubah, minyak atsiri harus terlindungi dari pengaruh cahaya, sehingga sebaiknya disimpan dalam kemasan botol kaca berwarna gelap dan tertutup rapat. Minyak atsiri yang disimpan dalam wadah logam dapat mengakibatkan perubahan warna minyak dari jernih hingga kecoklatan karena adanya reaksi karat dari logam (Yuliani 2012).

Metode isolasi yang paling lazim digunakan adalah metode destilasi. Beberapa metode destilasi yang paling populer dilakukan diberbagai perusahaan

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

Metode yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan metode difusi dengan cakram disk. Kontrol positif yang digunakan ketokonazole dan kontrol negatif yang digunakan dalam penelitian ini adalah DMSO. Metode difusi digunakan untuk mengetahui adanya daya hambat terhadap jamur uji dan untuk menentukan diameter zona hambat dari minyak atsiri rimpang lengkuas merah dan bangle.

Uji dilusi dilakukan untuk mengetahui konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimun (KBM) minyak atsiri rimpang lengkuas merah dan rimpang bangle terhadap jamur dengan konsentrasi 50%, 25%, 12,5%. Kontrol prositif dalam penelitian ini adalah suspensi yang berisi jamur dan kontrol negatif dalam penelitian ini adalah larutan kombinasi minyak atsiri rimpang lengkuas merah dan bangle. Tabung diinkubasi selama 24-48 jam dengan suhu 37 °C, lalu diamati kekeruhannya. Aktivitas antijamur dapat ditentukan berdasarkan nilai KHM dan KBM-nya terhadap pertumbuhan jamur. Konsentrasi minimal yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan jamur dikenal sebagai konsentrasi hambat minimum (KHM). Konsentrasi minimum yang diperlukan untuk membunuh 99,9% pertumbuhan jamur dikenal sebagai konsentrasi bunuh minimum (KBM) (Forbes 2007).

Kombinasi obat adalah perpaduan dua atau lebih obat dalam satu formulasi, yang digunakan pada waktu bersamaan agar khasiatnya masing-masing dapat memberikan efek kombinasi yang sama, lebih besar atau kecil dari individu setiap agen (Joyce & Evelyn 2006).

Pengujian ini akan digunakan kombinasi minyak atsiri rimpang lengkuas merah dan rimpang bangle, diharapkan kombinasi dari kedua rimpang ini dapat mempunyai aktivitas sebagai antijamur yang lebih optimal dari pada bentuk tunggal dari minyak atsiri masing-masing rimpang. Jamur yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Candida albicans* ATCC 10231.

#### O. Hipotesis

Berdasarkan uraian diatas, maka dapat disusun suatu hipotesis yaitu:

Pertama, minyak atsiri rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata K. schum*) dan bangle (*Zingiber cassumunar Roxb.*) memiliki aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans* ATCC 10231?

Kedua, kombinasi minyak atsiri rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata K schum*) dan bangle (*Zingiber cassumunar Roxb.*) memiliki aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans* ATCC 10231.

Ketiga, pada perbandingan kombinasi minyak atsiri rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata K. schum*) dan bangle (*Zingiber cassumunar Roxb.*) yang memiliki aktivitas antijamur paling optimal terhadap *Candida albicans* ATCC 10231.

Keempat, pada Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) berapa dari kombinasi minyak atsiri rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata K. schum*) dan bangle (*Zingiber cassumunar Roxb.*) yang memiliki aktivitas paling optimal terhadap *Candida albicans* ATCC 10231.

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

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

##### **1. Populasi**

Populasi adalah semua objek yang menjadi sasaran penelitian. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata K. schum*) dan bangle (*Zingiber cassumunar Roxb.*) yang diperoleh dari Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah pada bulan Februari 2018.

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

Sampel adalah representasi populasi yang dijadikan sumber informasi bagi semua data yang diperlukan untuk menjawab permasalahan penelitian (sampel merupakan bagian dari populasi). Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang Lengkuas merah (*Alpinia purpurata K. schum*) pengambilan rimpang diambil secara acak dalam keadaan bersih, segar, tidak busuk, dan bebas penyakit. Bangle (*Zingiber cassumunar Roxb.*) pengambilan rimpang dari tanaman telah siap panen berumur 10-12 bulan setelah tanaman yang diambil secara acak.

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

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

Variabel utama pertama dalam penelitian ini adalah minyak atsiri dari rimpang lengkuas merah dan bangle.

Variabel utama kedua dalam penelitian ini adalah kombinasi minyak atsiri dari rimpang lengkuas merah dan bangle.

Variabel utama ketiga dalam penelitian ini adalah aktivitas antijamur kombinasi minyak atsiri dari rimpang lengkuas merah dan bangle beserta kombinasi terhadap jamur *Candida albicans* ATCC 10231.

##### **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 ini adalah variabel yang direncanakan

untuk diteliti pengaruhnya terhadap variabel tergantung sedangkan pada pengertian variabel tergantung dalam penelitian ini adalah pusat persoalan yang merupakan pengaruh selain variabel bebas.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah kombinasi minyak atsiri rimpang lengkuas merah dan bangle dengan perbandingan 1 : 1; 1 : 3; dan 3 : 1.

Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah minyak atsiri rimpang lengkuas merah dan bangle jamur uji yang digunakan *Candida Albicans* ATCC 10231, sterilisasi, suhu, kondisi peneliti, kondisi laboratorium, media, dan metode penelitian.

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah diameter zona hambat terhadap pertumbuhan *Candida albicans* ATCC 10231 (mm).

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

Pertama, rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata K. schum*) adalah rimpang lengkuas merah yang diambil secara acak dari Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah dengan ciri rimpang lengkuas merah yang sudah siap panen berumur 2,5 – 3 bulan setelah masa tanam dan dipilih warna hijau kekuningan.

Kedua, rimpang bangle (*Zingiber cassumunar Roxb.*) adalah rimpang bangle yang diam diambil secara acak dari Ngarjosari, Samigaluh Kulon Progo Jogja, Jawa Tengah dengan ciri rimpang bangle yang sudah siap panen berumur 10-12 bulan setelah masa tanam.

Ketiga, minyak atsiri rimpang lengkuas merah dan bangle adalah minyak atsiri hasil destilasi rimpang lengkuas merah dan bangle dengan menggunakan metode destilasi uap air.

Keempat, jamur yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Candida albicans* ATCC 10231 dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi Surakarta.

Kelima, kombinasi minyak atsiri rimpang bangle dan lengkuas merah (1:1) adalah kombinasi antara rimpang lengkuas merah dan bangle yaitu satu bagian dari

minyak atsiri rimpang lengkuas merah dan satu bagian dari rimpang minyak atsiri bangle.

Keenam, kombinasi minyak atsiri dengan perbandingan (1:3) adalah kombinasi dari minyak atsiri rimpang lengkuas merah dan bangle yaitu satu bagian dari minyak atsiri rimpang lengkuas merah dan tiga bagian dari minyak atsiri rimpang bangle.

Ketujuh, kombinasi minyak atsiri dengan perbandingan (3:1) adalah kombinasi dari minyak atsiri rimpang lengkuas merah dan bangle yaitu tiga bagian dari minyak atsiri rimpang lengkuas merah dan satu bagian dari rimpang bangle.

Kedelapan, kontrol positif adalah antibiotik ketokonazole dan kontrol negatif DMSO.

Kesembilan, uji aktivitas antijamur kombinasi minyak atsiri rimpang lengkuas merah dan bangle dengan menggunakan metode dilusi yaitu dengan konsentrasi 50%; 25%; 12,5% dengan melihat KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) terhadap pertumbuhan jamur pada media uji kontrol negatif adalah kombinasi minyak atsiri rimpang lengkuas merah dan bangle dan kontrol positif adalah biakan murni jamur *Candida albicans* ATCC 10231.

## **C. Alat dan Bahan**

### **1. Alat**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi alat untuk pembuatan minyak atsiri yaitu kondensor dan dandang besar. Peralatan untuk uji mikrobiologi yaitu lampu spirtus, jarum Ose, cawan petri steril, tabung reaksi steril, kapas lidi steril, inkubator, cakram disk (6 mm), autovortex mixer, gelas ukur, pipet volume steril, bobot vial steril, autoklaf, oven, pinset, neraca analitik, dan penggaris (jangka sorong). Alat untuk analisis minyak atsiri yaitu refraktometer dan GC-MS Shimadzu GCMS-QP2010S.

### **2. Bahan**

Bahan sampel yang digunakan dalam uji mikrobiologi antijamur adalah minyak atsiri dari rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata* K. schum) dan

rimpang bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) dengan konsentrasi 50%; 25%; dan 12,5% untuk uji difusi.

Bahan kimia yang digunakan adalah tween 80, etanol 70%, DMSO 1%, *Lactophenol Cotton Blue* (LCB) dan antibiotik ketokonazole. Media yang digunakan SGA (*Sabourand Glukosa Agar*), (*Sabourand Glukosa Cair*) SGC, media gula-gula (Glukosa Broth, Sukrosa Broth, Laktosa Broth, dan Maltosa Broth).

Jamur uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah jamur *Candida albicans* ATCC 10231, yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi Surakarta.

## D. Jalan Penelitian

### 1. Identifikasi determinasi tanaman

Tahap awal dalam pengujian ini adalah mengidentifikasi/determinasi tanaman rimpang lengkuas merah dan bangle dengan tujuan untuk menetapkan kebenaran sampel tanaman rimpang lengkuas merah dan bangle dengan mencocokkan ciri-ciri morfologi yang ada pada rimpang lengkuas merah dan bangle yang dilakukan di Laboratorium Morfologi dan Sistematik Tumbuhan, Fakultas MIPA, Universitas Gajah Mada, Yogyakarta dan Laboratorium Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

### 2. Pengambilan bahan

Bahan uji yang digunakan adalah rimpang lengkuas merah dan bangle yang diambil dari Ngarjosari, Samigaluh Kulon Progo Jogja, Jawa Tengah. Lengkuas merah yang diambil untuk uji adalah bagian rimpangnya. Bangle yang diambil untuk uji adalah bagian rimpang. Rimpang lengkuas merah dan bangle dipisahkan dari rimpang yang masih segar dan yang sudah busuk, lalu dibersihkan dari kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing seperti tanah, serangga, daun, rumput, akar yang telah rusak.

### 3. Isolasi minyak atsiri

Rimpang lengkuas merah dan bangle masing-masing yang telah dipotong menjadi lebih kecil dimasukkan ke dalam alat penyulingan minyak dan air yang

menyerupai dandang dengan penyangga berlubang yang telah berisi air. Penyulingan dilakukan di atas api sampai air mendidih. Uap air yang dihasilkan dialirkan pada pipa ke bagian kondensor dan mengalami proses kondensasi, bersama dengan uap air tersebut minyak atsiri dari rimpang lengkuas merah dan bangle terbawa. Penyulingan minyak atsiri rimpang lengkuas merah dan bangle dilakukan selama 6 jam. Pemanasan dilakukan dengan api sampai penyulingan dihentikan setelah tidak ada penambahan minyak, kemudian tampung hasil destilat dan ukur volume yang dihasilkan.

Minyak yang didapat kemudian dilakukan pemisahan antara fase air dan fase minyak menggunakan corong pisah dengan penambahan natrium sulfat anhidrat sampai jenuh kemudian dipisahkan dan hitung kadarnya. Minyak atsiri rimpang lengkuas merah dan bangle yang sudah didapat disimpan dalam botol kaca coklat dan di tempat yang sejuk, hal ini dilakukan untuk menghindari minyak atsiri yang didapat tidak rusak dan teroksidasi.

#### **4. Analisis minyak atsiri**

**4.1 Pengamatan organoleptik.** Pengamatan organoleptik terhadap minyak atsiri meliputi warna, aroma, bentuk, dan rasa dari minyak. Pada keadaan murni mudah menguap pada suhu kamar sehingga bila diteteskan pada selembar kertas maka ketika dibiarkan akan menguap, tidak meninggalkan bekas noda pada benda yang ditempel (Gunawan & Mulyani 2004).

**4.2 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 pada garis dan baca skala dicatat indeks biasnya (Irawan 2009).

**4.3 Penetapan bobot jenis minyak atsiri.** Penetapan bobot jenis ditetapkan dengan cara botol timbang dikeringkan dengan oven, kemudian ditimbang botol kosong dan dicatat hasilnya. Minyak atsiri rimpang lengkuas merah dan bangle ditimbang dalam botol timbang dan catat hasilnya,

penimbangan diulang sebanyak tiga kali. Data hasil penimbangan botol ditimbang dan minyak atsiri rimpang bangle dan lengkuas merah dikurangkan bobot botol timbang kosong sehingga didapatkan bobot minyak atsiri. Dibandingkan bobot minyak dengan bobot air sehingga didapatkan bobot jenis dari minyak atsiri. Bobot minyak atsiri = bobot botol timbang berisi minyak atsiri – bobot timbang kosong.

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

**4.5 Karakteristik komponen senyawa penyusun minyak atsiri dengan Gas Chromatography – Mass Spectrometry (GC-MS).** Pengujian komponen senyawa penyusun minyak atsiri rimpang bangle dan lengkuas merah menggunakan GC-MS Shimadzu GCMS-QP2010S (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan), Shimadzu GCMS-QP2010S (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan) dilengkapi dengan Capillary Column Model Number: Agilent 19091S-433 HP-5MS 5% Phenyl Methyl Siloxane (diameter dalam 250 µm, panjang 30 m, dan ketebalan fi lm 0.25 µm) dan detektor yang digunakan FID. Kondisi GC: suhu awal 60°C dinaikkan sampai 250°C (4°C/menit) kemudian pada suhu 250°C dipertahankan selama 20 menit, gas pembawa Helium dengan kecepatan aliran 20 ml/min. Senyawa diidentifikasi dengan membandingkan retention index dan membandingkan mass spectra dengan yang ada di database wiley library dan NIST library (Adams 2004).

## 5. Pembuatan stok jamur *Candida albicans* ATCC 10231

*Candida albicans* ATCC 10231 diambil dari suatu biakan murni sebanyak beberapa Ose, kemudian digoreskan pada media *Sabouraud Glukosa Agar* (SGA) miring pada tabung yang kemudian diinkubasi 24-48 jam pada suhu 37°C. Hasil inkubasi digunakan sebagai stok jamur uji *Candida albicans* ATCC 10231.

## 6. Pembuatan suspensi *Candida albicans* ATCC 10231

Beberapa Ose biakan jamur *Candida albicans* ATCC 10231, diambil dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 10 ml larutan SGC. Campuran dihomogenkan dan disetarakan kekeruhan dengan standar Mc Farland 0,5.

## 7. Identifikasi jamur uji

**7.1 Identifikasi makroskopis.** Identifikasi *Candida albicans* ATCC 10231 dilakukan pada media *Sabouraud Glukosa Agar* (SGA) yang diinokulasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam. Kemudian terbentuk kolon-koloni lunak berwarna krem yang mempunyai bau seperti ragi dengan bentuk lonjong.

**7.2 Identifikasi biokimia.** Identifikasi biokimia dilakukan dengan menggunakan media *Glukosa Broth*, *Sukrosa Broth*, *Laktosa Broth*, dan *Maltosa Broth*. Jamur diinokulasi ke dalam media Glukosa Broth lalu diamati terdapat gas dan terbentuk asam pada reaksi fermentasi ditunjukkan perubahan warna merah dari indikator fenol red menjadi kuning. Media kemudian diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37°C. Hasil positif jika media Glukosa Broth terbentuk gas pada tabung durham. Gas yang terbentuk akan tampak sebagai ruang kosong pada tabung durham. Spesies *Candida albicans* ATCC 10231 memperlihatkan hasil reaksi fermentasi dan gas pada glukosa dan maltosa.

**7.3 Identifikasi Jamur *Candida Albicans* ATCC 10231 dengan pengecatan.** Identifikasi jamur kapang atau khamir salah satunya dilakukan dengan menggunakan pewarnaan *Lactophenol Cotton Blue* (LCB). Dalam pewarnaan LCB, phenol berfungsi untuk mematikan jamur. Glycerol mengawetkan preparat dan mencegah presipitasi dari cat dan cotton blue berfungsi untuk mewarnai jamur menjadi biru. Metode pewarnaan *Lactophenol Cotton Blue* menggunakan bahan-bahan phenol 20 g, *lactic acid* 20 ml, *glycerol* 40 g, dan *cotton* 0,05 g. Cara kerjanya adalah jarum Ose dipanaskan, diambil dua tetes pewarna LCB dan letakkan pada gelas obyek. Kemudian panaskan ose kembali lalu dipanaskan dan dinginkan. Setelah bahan siap, koloni jamur diambil kemudian dicampur dengan larutan LCB pada obyek glass. Setelah itu, ditutup dengan penutup gelas dan lihat hasilnya dibawah mikroskop (Pohan 2013).

## 8. Pembuatan kombinasi bahan uji

Kombinasi minyak atsiri rimpang bangle dan lengkuas merah dengan perbandingan (1:1) dibuat dengan mangambil 1 ml minyak atsiri rimpang lengkuas merah dan 1 ml minyak atsiri rimpang bangle, kombinasi minyak atsiri dengan perbandingan (1:3) dibuat dengan mengambil 0,5 ml minyak atsiri rimpang lengkuas merah dan 1,5 ml minyak atsiri rimpang bangle, kombinasi minyak atsiri dengan perbandingan (3:1) dibuat dengan mengambil 1,5 ml minyak atsiri rimpang lengkuas merah dan 0,5 ml minyak atsiri rimpang bangle. Volume total dari masing-masing perbandingan adalah 2 ml.

## 9. Pengujian aktivitas antijamur

Metode yang digunakan untuk uji daya antijamur adalah metode difusi dan dilusi. Metode difusi digunakan untuk mengetahui adanya daya hambat minyak atsiri lengkuas merah dan bangle terhadap jamur *Candida albicans* ATCC 10231 dan untuk menentukan diameter daerah hambat dari minyak atsiri lengkuas merah dan bangle.

Penelitian ini menggunakan satu cawan petri yang berisi masing-masing sebanyak 30 ml media SGA dituang pada cawan petri dalam keadaan panas  $\pm$  50°C. Kemudian diamkan sampai media SGA dingin dan memadat. Setelahnya, bagi cawan petri menjadi 7 bagian dengan jarak yang sama dan diberi label untuk membedakan.

Pertama jamur diambil dari media SGC yang berisi suspensi jamur yang setara dengan standar Mc Farland 0,5 dengan menggunakan kapas lidi steril kemudian dioleskan pada cawan petri yang berisi media SGA dan ditunggu sampai jamur berdifusi pada media  $\pm$  10 menit. Dimasukkan cakram disk ( $\pm$  6 mm) yang sebelumnya sudah direndam ke dalam sampel minyak atsiri rimpang lengkuas merah dan bangle (30 menit - 2 jam perendaman).

Cawan petri diisi dengan kontrol positif (ketokonazole), kontrol negatif (DMSO 1%), minyak atsiri tunggal lengkuas merah, minyak atsiri tunggal bangle, dan kombinasi minyak atsiri dengan konsentrasi 50%; 25%; dan 12,5%.

Kombinasi pertama minyak atsiri rimpang bangle dan lengkuas merah dengan perbandingan (1:1) dibuat dengan mangambil 1 ml minyak atsiri rimpang

lengkuas merah dan 1 ml minyak atsiri rimpang bangle, kombinasi minyak atsiri dengan perbandingan (1:3) dibuat dengan mengambil 0,5 ml minyak atsiri rimpang lengkuas merah dan 1,5 ml minyak atsiri rimpang bangle, kombinasi minyak atsiri dengan perbandingan (3:1) dibuat dengan mengambil 1,5 ml minyak atsiri rimpang lengkuas merah dan 0,5 ml minyak atsiri rimpang bangle. Setelah itu, masing-masing kombinasi minyak atsiri dari rimpang bangle dan lengkuas merah yang berisi rendaman cakram disk dimasukkan ke dalam media SGA, ke sembilan cawan petri diinkubasi di dalam inkubator selama 24-48 jam pada suhu 37°C (suhu ruang). Kemudian zona hambat yang terbentuk dapat diukur. Pengukuran zona hambat disekitar cakram dilakukan dengan menggunakan penggaris dengan ketelitian 1 mm. Hasil pengukuran tersebut dijumlahkan dan dibagi dengan banyaknya pengukuran untuk mendapatkan besarnya zona hambat yang terbentuk. Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali replikasi.

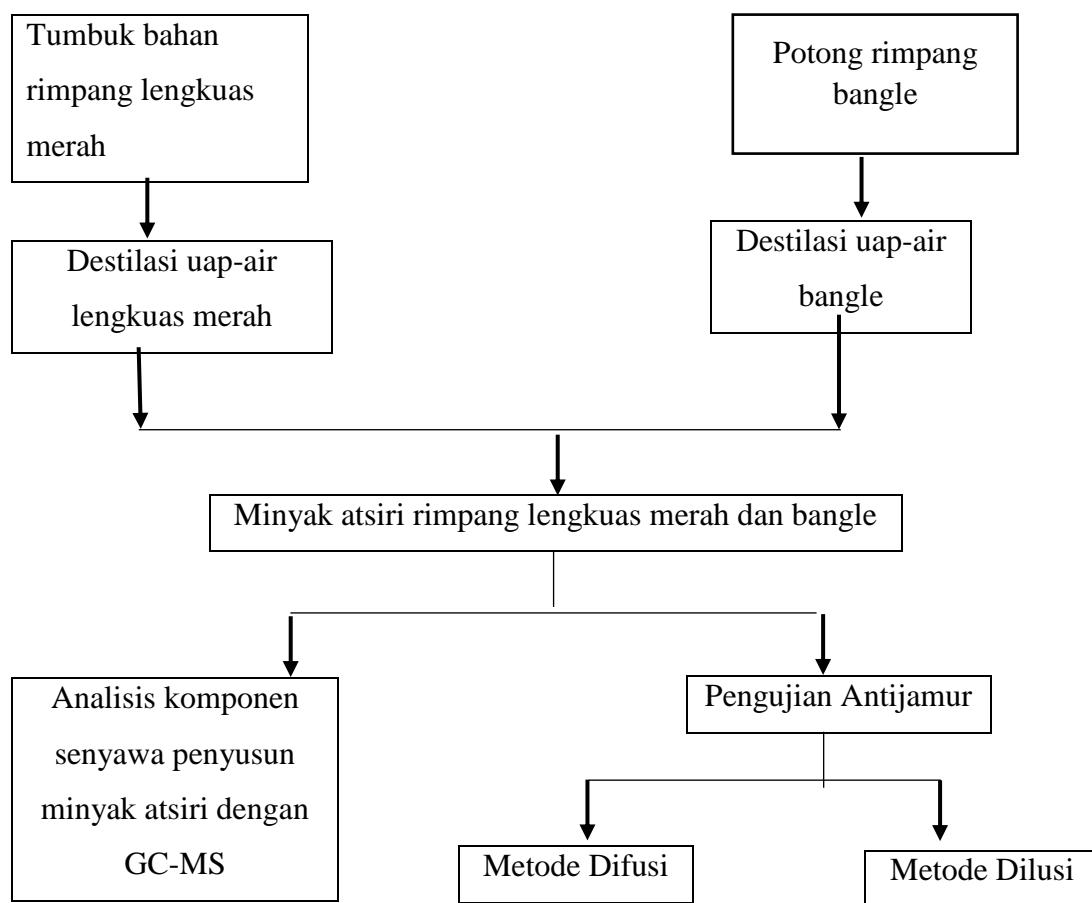
Uji dilusi dilakukan untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) minyak atsiri terhadap jamur *Candida albicans* ATCC 10231 dengan konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,56%, dan 0,78%. Metode dilusi dilakukan dengan pengenceran 9 tabung reaksi yang steril dan dibuat secara aseptis dimulai dari tabung dua sampai tabung delapan secara berturut-turut berisi konsentrasi pengenceran 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,56%, dan 0,78%.

Metode dilusi dilakukan dengan cara memasukkan bahan uji ke dalam masing-masing tabung reaksi kecuali tabung nomor 9 sebagai kontrol positif yang berisi suspensi jamur dan tabung nomor 1 sebagai kontrol negatif yang berisi larutan kombinasi minyak atsiri rimpang lengkuas merah dan bangle konsentrasi 50% dengan perbandingan 3:1. Tabung tersebut memiliki konsentrasi bahan uji yang berbeda dengan menambahkan bahan pengencer atau media SGC.

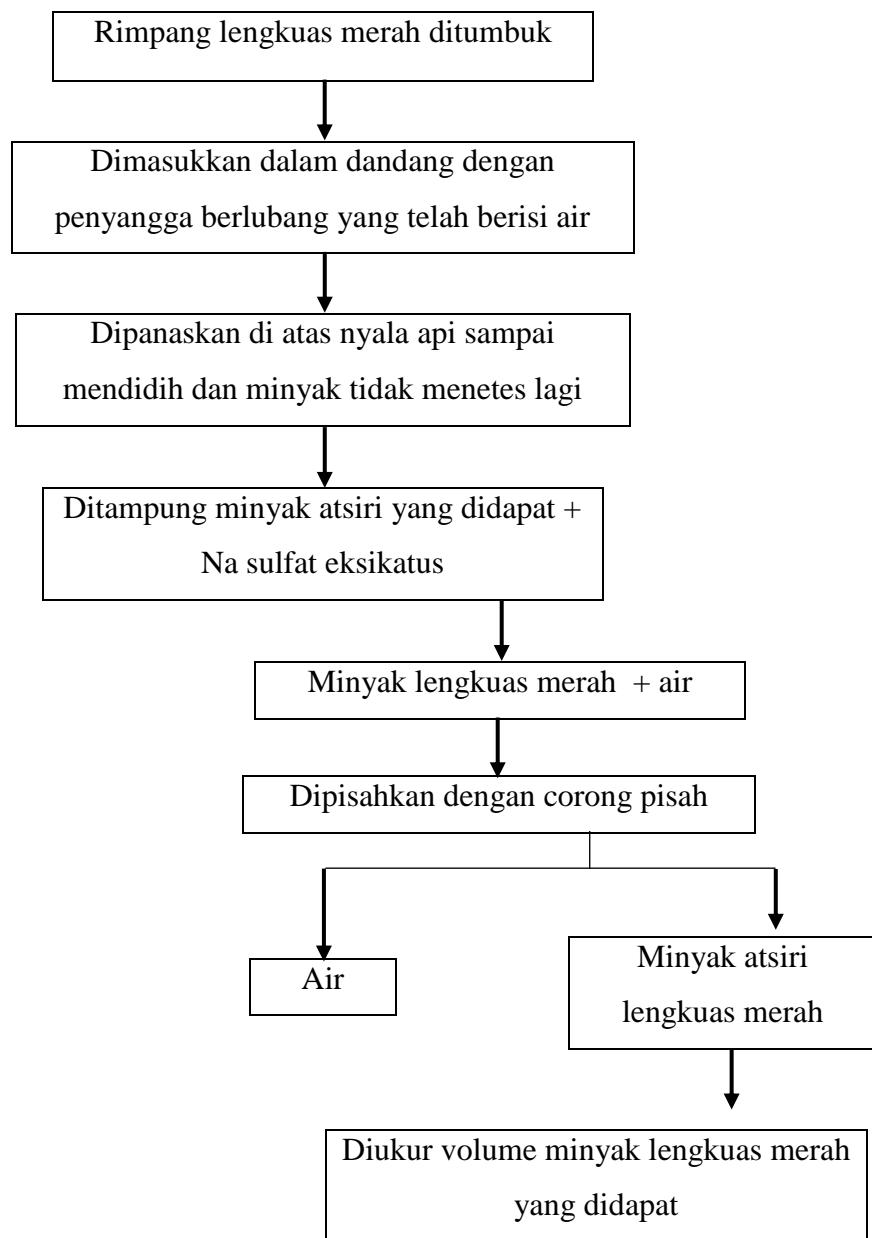
Media SGC dimasukkan ke dalam masing-masing tabung uji secara aseptis tabung pertama ditambahkan 0,5 ml, kemudian dimasukkan ke dalam tabung dua, dari tabung dua diambil 0,5 ml dimasukkan ke dalam tabung tiga dan begitu seterusnya. Proses pencampuran Sampel uji minyak dan media cair SGC

digunakan tween 80 sebanyak 2 tetes. Suspensi jamur yang setara dengan standard Mc Farland 0,5 dimasukkan ke dalam masing-masing tabung uji kecuali tabung nomor 1 sebagai kontrol negatif. Seluruh tabung diinkubasi pada suhu kamar selama 24-48 jam pada suhu 37°C (suhu ruang), lalu diamati adanya kekeruhan. Tabung nomor dua dan delapan dilakukan pengujian kembali untuk membuktikan apakah jamur tersebut memang tidak dapat tumbuh dalam konsentrasi tersebut menggunakan media SGA untuk melihat pertumbuhan jamur dan untuk menentukan KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum), diinkubasi 2-3 hari pada suhu 37°C (suhu ruang).

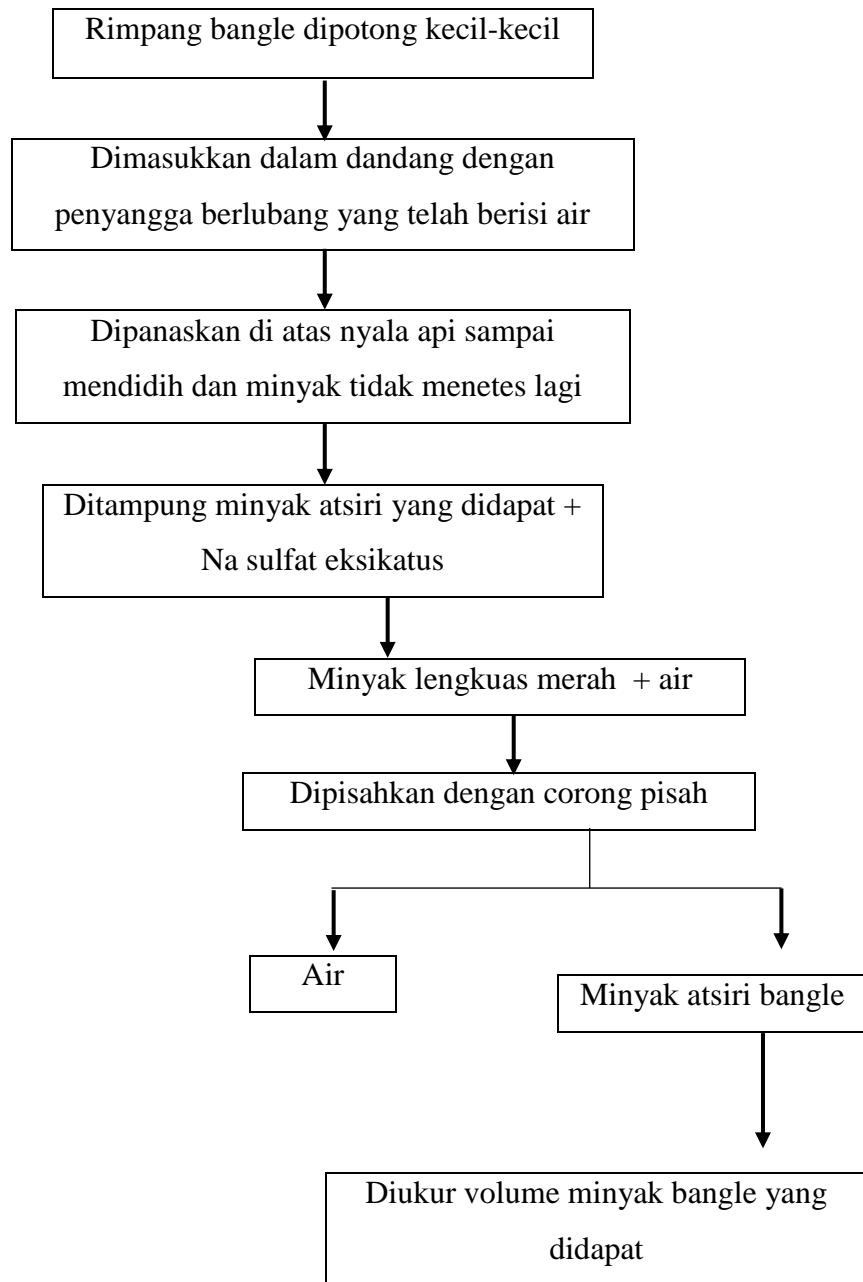
### E. Skema Jalannya Penelitian



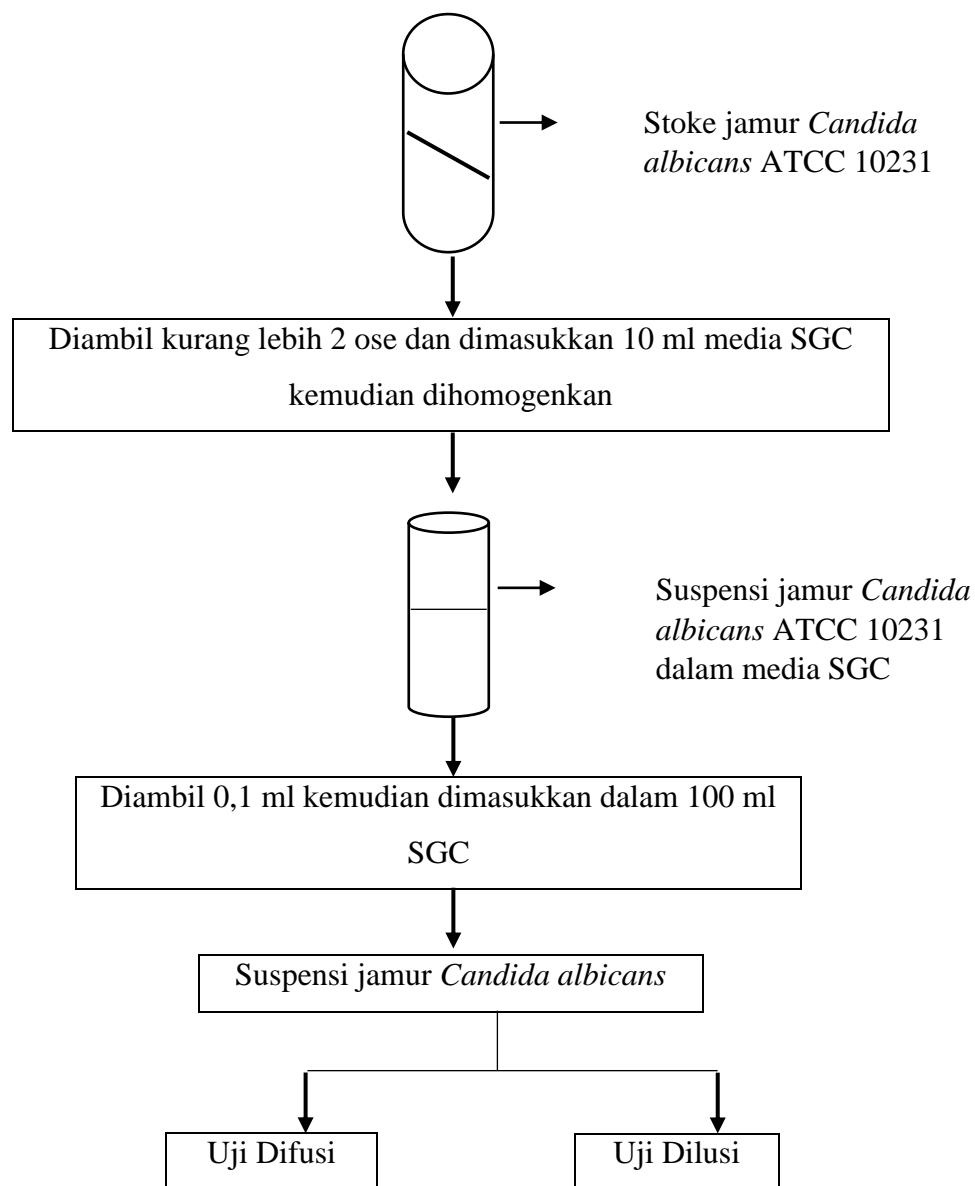
Gambar 1. Alur penelitian



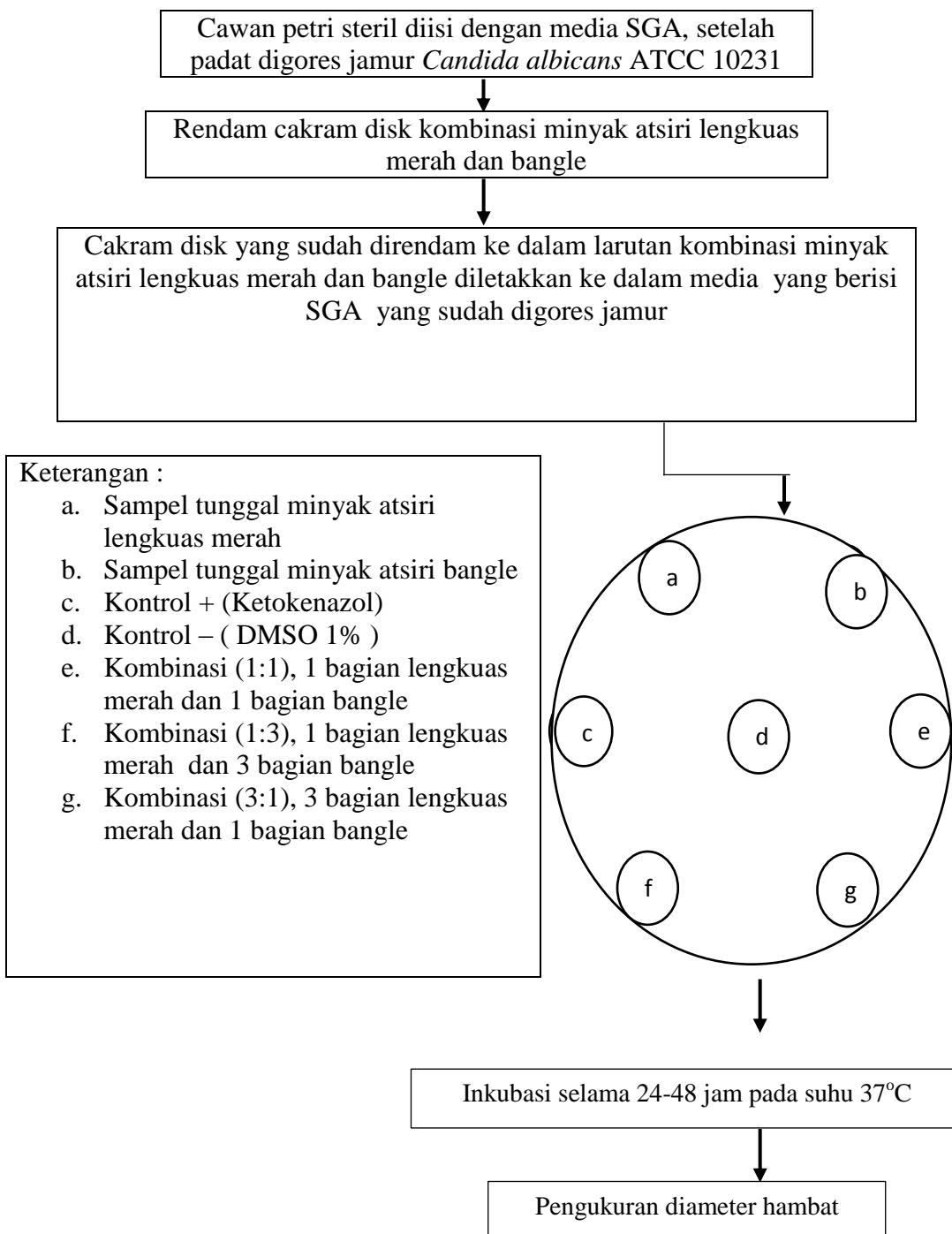
Gambar 2. Skema isolasi minyak atsiri lengkuas merah



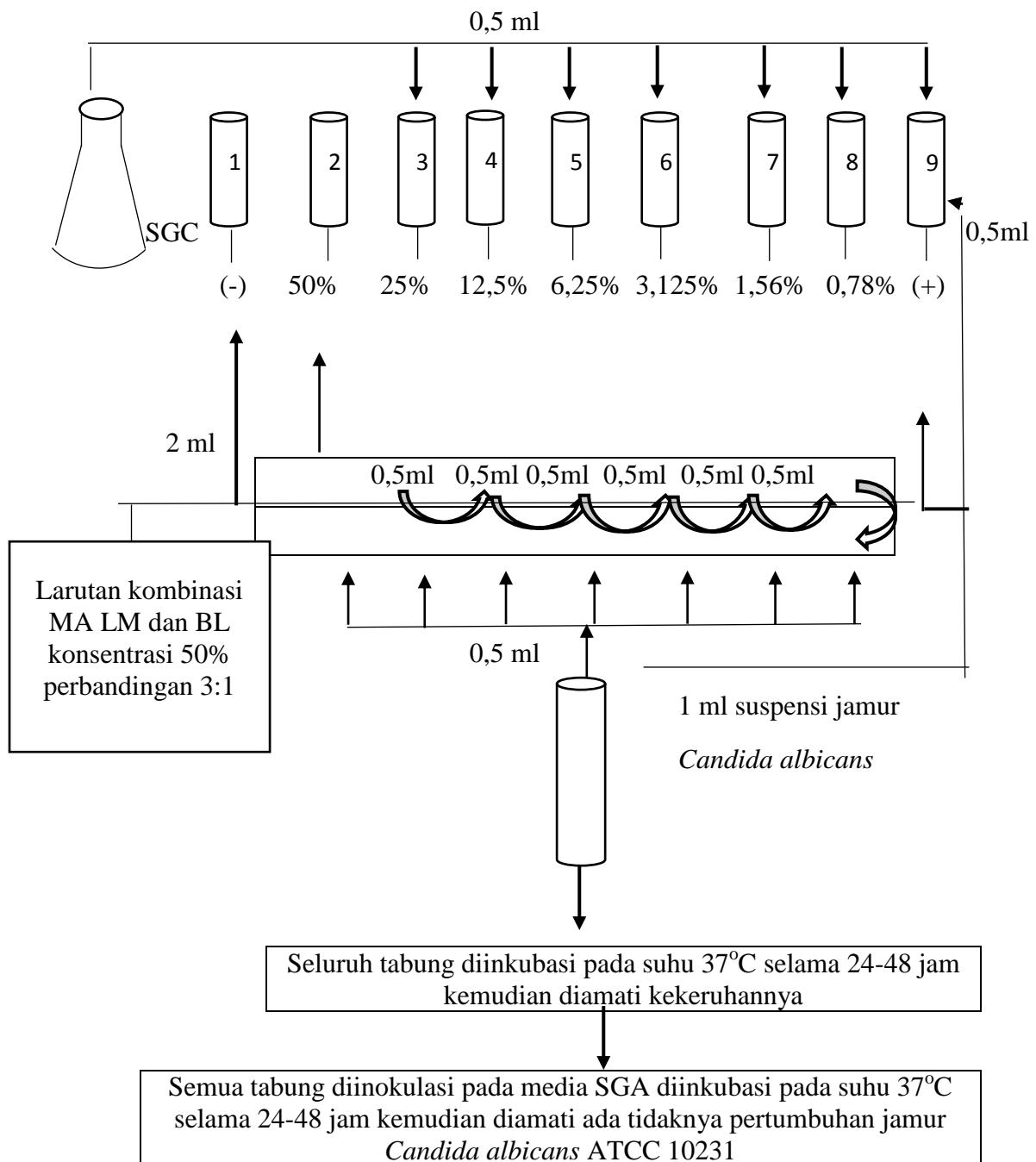
**Gambar 3. Skema isolasi minyak atsiri bangle**



Gambar 4. Skema pembuatan suspensi jamur



Gambar 5. Skema pengujian aktivitas antijamur secara difusi



#### Keterangan :

Tabung 1 berisi kombinasi minyak atsiri LM dan BL (konsentrasi 50% dengan perbandingan 3:1). Tabung 2 berisi kombinasi minyak atsiri LM dan BL (konsentrasi 50% dengan perbandingan 3:1) dan suspensi jamur. Tabung ke 3 sampai 8 berisi SGC 0,5 ml kombinasi MA LM dan BL 0,5 ml konsentrasi 50% dengan perbandingan 3:1) dan suspensi jamur 1 ml. tabung nomor 9 berisi suspensi *Candida albicans* sebanyak 2 ml.

**Gambar 6.** Skema pengujian aktivitas antijamur kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle terhadap *Candida albicans* ATCC 10231 secara dilusi

## F. Analisis Hasil

Data hasil penelitian diperoleh dengan mengukur daya sebar dilihat dari adanya daerah hambatan pertumbuhan jamur uji *Candida albicans* ATCC 10231 yang ditunjukkan dengan adanya zona jernih disekeliling cakram yang tidak ditumbuhi jamur, kemudian diukur diameter hambatan pertumbuhan jamur *Candida albicans* ATCC 10231 dari masing-masing lingkaran. Data yang diperoleh dianalisa dengan menggunakan Shapiro-Wilk, jika terdistribusi secara normal kemudian dilanjutkan dengan analysis of varian (ANOVA) dua jalan.

Analisis hasil yang digunakan pada metode dilusi adalah dengan melihat pertumbuhan jamur *Candida albicans* ATCC 10231 pada tabung reaksi. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditentukan berdasarkan hasil pengamatan, dimana konsentrasi terkecil yang tidak ada pertumbuhan ditentukan sebagai KBM.

## **BAB IV**

### **HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN**

#### **1. Determinasi tanaman**

Proses determinasi tanaman rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata K. schum*) dan bangle (*Zingiber cassumunar Roxb.*) dilakukan di Laboratorium Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Sebelas Maret, Surakarta dan Laboratorium Sistematika Tumbuhan, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Determinasi dilakukan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang akan digunakan dalam penelitian agar terhindar dari kesalahan dalam pengumpulan bahan penelitian.

Berdasarkan hasil determinasi tanaman diketahui bahwa tanaman rimpang yang digunakan pada penelitian adalah benar rimpang lengkuas merah dan bangle. Hasil determinasi tanaman dapat dilihat pada lampiran 1, 2, dan 3.

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

Isolasi minyak atsiri dilakukan dengan menggunakan metode destilasi uap dan air, keuntungan dari metode ini adalah alat yang digunakan sederhana dan dapat menghasilkan isolat minyak atsiri cukup besar, kerugian dari metode ini adalah waktu yang digunakan untuk destilasi minyak atsiri cukup lama.

Pemilihan metode dengan destilasi uap-air karena cocok untuk bahan yang mudah menguap dan penyulingan lebih singkat (Taufiq 2008). Bahan yang akan disuling diiris kecil-kecil terlebih dahulu, hal ini bertujuan memperluas permukaan sehingga mempermudah pelepasan minyak atsiri setelah bahan tersebut ditembus oleh uap. Berdasarkan uji isolasi minyak atsiri rendemen yang diperoleh hasil seperti pada Tabel 1.

**Tabel 1. Rendemen minyak atsiri lengkuas merah**

<b>Proses destilasi</b>	<b>Bobot basah (gram)</b>	<b>Volume minyak atsiri (ml)</b>	<b>Rendemen (%) v/b</b>
Destilasi 1	15.000	15	0,1%
Destilasi 2	15.000	15	0,1%
Total	30.000	30	0,1%

**Tabel 2. Rendemen minyak atsiri bangle**

<b>Proses destilasi</b>	<b>Bobot basah (gram)</b>	<b>Volume minyak atsiri (ml)</b>	<b>Rendemen (%) v/b)</b>
Destilasi 1	5.000	15	0,3%
Destilasi 2	5.000	15	0,3%
Total	10.000	30	0,3%

Hasil rendemen dari destilasi uap-air pada masing-masing rimpang lengkuas merah adalah 0,1% (rendah). Hasil ini tidak sesuai literatur yang menyatakan bahwa rendemen minyak atsiri lengkuas merah tidak kurang dari 0,50% (Anonim 2009). Rendemen bangle adalah 0,3% (rendah) menurut Bhuiyan *et al.* (2008) rendemen minyak atsiri bangle 3,8%-0,95% berdasarkan bobot basah. Rendemen bertujuan untuk mengetahui perbandingan antara jumlah minyak yang didapatkan dengan jumlah tanaman yang digunakan. Perbedaan hasil rendemen minyak atsiri pada rimpang lengkuas merah dan bangle dapat dipengaruhi oleh usia simplisia saat dipanen dan musim saat memanen, suhu, tekanan yang digunakan, semakin tinggi tekanan yang diberikan dapat meningkatkan rendemen minyak dan perbedaan destilasi (Guenther 2006). Hasil rendemen dapat dilihat pada lampiran 8.

### 3. Penetapan sifat fisika

**3.1 Pengamatan organoleptik.** Minyak atsiri yang diperoleh diuji secara organoleptik secara makroskopis bertujuan untuk mengetahui standar minyak atsirinya. Berdasarkan uji organoleptik yang diperoleh hasil seperti pada Tabel 1.

**Tabel 3. Identifikasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle**

<b>Minyak atsiri</b>	<b>Warna</b>	<b>Bau</b>	<b>Bentuk</b>
Lengkuas merah	Kuning kehijauan jernih	Khas lengkuas merah	Cair
Bangle	Kuning muda	Khas bangle	Cair

Minyak atsiri dapat berubah warna menjadi gelap karena pada saat penyimpanannya terjadi oksidasi dan membentuk resin yang merubah warna minyak menjadi lebih gelap. Perubahan warna pada minyak atsiri dapat dicegah dengan menyimpan minyak atsiri pada botol berwarna gelap dan terhindar dari paparan sinar atau cahaya matahari. Minyak atsiri dapat bertahan selama ± 1

tahun, penyimpanan minyak atsiri yang lama dapat mempengaruhi perubahan warna pada minyak atsiri (Saifudin *et al.* 2011).

Bau minyak atsiri rimpang lengkuas merah dan bangle memiliki bau yang khas dari asal tanamannya, hal ini sesuai dengan teori karena minyak atsiri memiliki bau yang sesuai dengan zat berbau yang terkandung dalam tanaman asalnya. Adapun sifat yang menonjol dari minyak atsiri adalah mempunyai rasa getir, kadang berasa tajam, menggigit, dan memberi kesan hangat sampai panas atau dingin saat menempel pada kulit, tergantung dari komponen penyusunnya. Pada keadaan murni minyak atsiri mudah menguap pada suhu kamar sehingga bila diteteskan pada selembar kertas maka ketika dibiarkan akan menguap, tidak meninggalkan bekas noda (Gunawan & Mulyani 2004). Hasil pengujian minyak atsiri secara organoleptik dapat dilihat pada lampiran 6.

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

**Tabel 4. Hasil indeks bias minyak atsiri lengkuas merah dan bangle**

<b>Minyak atsiri</b>	<b>Nilai indeks bias</b>	
	<b>Hasil</b>	<b>Teoritis</b>
Lengkuas merah	1,489	1,475 (Murakami, 2002)
Bangle	1,490	1,3-1,7 (Guenther, 2006)

Nilai indeks bias minyak atsiri lengkuas merah adalah 1,489 telah sesuai dengan pustaka yaitu 1,475, sedangkan nilai indeks bias minyak atsiri bangle yang diperoleh adalah 1,490 berbeda dari pustaka yaitu 1,3-1,7 hal ini dapat disebabkan karena kerapatan minyak yang lebih tinggi sehingga lebih sulit membiaskan cahaya dan meningkatkan nilai indeks bias minyak tersebut. Hasil indeks bias dapat dilihat pada gambar.

**3.3 Penetapan bobot jenis.** Penetapan bobot jenis dilakukan untuk menentukan mutu dan kemurnian minyak atsiri, bobot jenis minyak atsiri lengkuas merah secara teoritis 0,89 sedangkan bobot jenis minyak atsiri bangle secara teoritis 0,88 pada suhu 25°C. Hasil bobot jenis pada penelitian adalah minyak atsiri lengkuas merah sebesar 0,89 dan minyak atsiri bangle 0,91. Perbedaan bobot jenis ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor seperti perbedaan tanaman, umur panen tanaman, kondisi tempat tumbuh, dan metode penyulingan yang digunakan. Perhitungan bobot jenis dapat dilihat pada lampiran 9.

**3.4 Penetapan kelarutan etanol.** Pengujian kelarutan dalam etanol digunakan untuk mengetahui jumlah etanol yang dibutuhkan untuk melarutkan secara sempurna minyak atsiri. Minyak atsiri lengkuas merah dan bangle masing-masing dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambah etanol sedikit demi sedikit sambil dikocok untuk melihat kelarutan minyak atsiri. Minyak atsiri lengkuas merah dan bangle yang dihasilkan dalam penelitian ini dapat larut dengan sempurna dalam etanol dengan perbandingan kelarutan 1:10 yang artinya 1 ml minyak atsiri larut secara sempurna dalam 10 ml etanol. Hasil kelarutan dapat dilihat pada lampiran 6.

**3.5 Hasil analisis komponen minyak atsiri dengan GC-MS.** Analisis GC-MS minyak atsiri rimpang lengkuas merah dan bangle memiliki 6 komponen utama dengan presentase komponen dapat dilihat pada Tabel 5.

**Tabel 5. Komponen utama minyak atsiri bangle**

Senyawa	RT (min)	Kadar%
Sabinen	3,97	22,42
β-pinien	5,05	1,59
gamma-terpinen	4,59	3,36
Terpinen-4-ol	6,84	42,38
Triquinacen	12,89	10,17
benzene	4,59	3,36

Kandungan minyak atsiri rimpang bangle antara lain sabinen, β-pinien, α-terpinen, Terpinen-4-ol, α-zingiberen, osimen, yang secara ilmiah telah terbukti memiliki aktivitas sebagai antimikroba. Kandungan terpinen-4-ol memiliki aktivitas sebagai antijamur (Mondelo *et al.* 2006). Analisis GC-MS minyak atsiri

lengkuas merah memiliki 6 komponen utama dengan presentase komponen dapat dilihat pada Tabel 4.

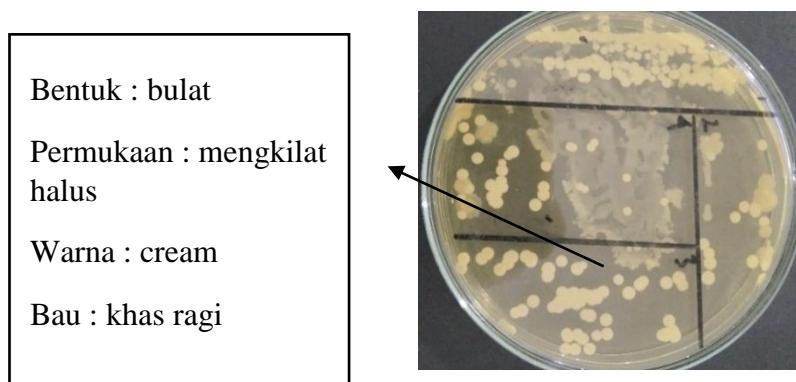
**Tabel 6. Komponen utama minyak atsiri lengkuas merah**

Senyawa	RT (min)	Kadar %
<b>Uecalyptol (1,8-cineole)</b>	4,73	63,79
<b>Alpha-pinol</b>	3,49	3,63
<b>Terpinen-4-ol</b>	6,77	1,99
<b>Beta-bisabolol</b>	10,64	6,09
<b>Chavicol acaetate (phenol)</b>	9,13	4,80
<b>Oxiranecarboxylic acid</b>	13,04	6,30

Kandungan kimia dari lengkuas merah 1% minyak atsiri berwarna kuning kehijauan yang terdiri dari metil-sinamat 48%, sineol 20-30%, eugenol, kamfer 1%, galangin dan lain-lain (Anonim 2008). Zat yang berfungsi sebagai antijamur pada minyak atsiri lengkuas merah adalah eugenol dan terpinen 4-ol.

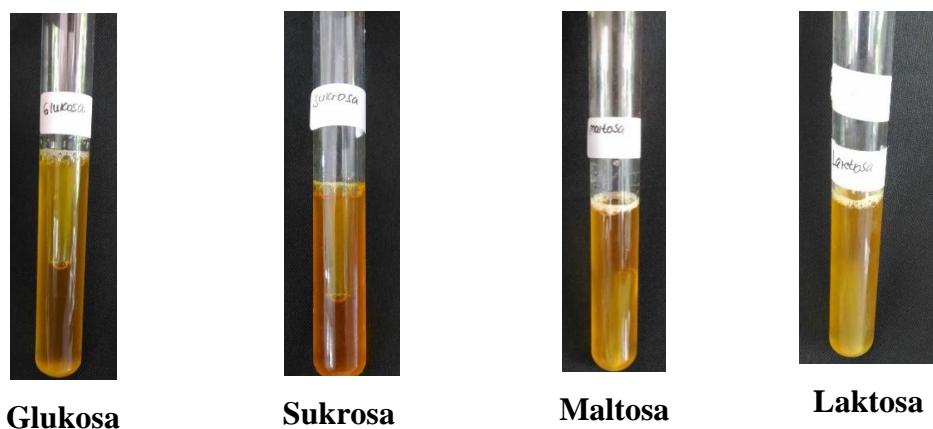
#### 4. Hasil identifikasi jamur *Candida albicans* ATCC 10231

**4.1 Identifikasi *Candida albicans* secara makroskopis pada media SGA.** Identifikasi jamur *Candida albicans* ATCC 10231 dilakukan untuk meyakini bahwa jamur yang digunakan adalah benar. Hasil identifikasi *Candida albicans* dari biakan murni ditanam pada media SGA yang diinkubasi pada suhu 37°C (suhu kamar) selama 24-48 jam yang akan terbentuk koloni berwarna krem, timbul diatas permukaan media, permukaan koloni halus dan licin, dan berbau khas ragi dari sel tunas yang berkembang (Jawetz 2004). Hasil identifikasi *Candida albicans* secara makroskopis.



**Gambar 7. Koloni *Candida albicans* pada media SGA**

**4.2 Identifikasi biokimia *Candida albicans* ATCC 10231.** Pada proses identifikasi biokimia dengan proses fermentasi karbohidrat pada media gula-gula (glukosa, laktosa, maltosa, sukrosa). Koloni *Candida albicans* diinokulasi ke dalam masing-masing tabung berisikan larutan gula tersebut yang telah ditambahkan indikator phenol red 1%. Masing-masing tabung dimasukkan tabung durham yang diletakkan secara terbalik untuk mengetahui adanya gas, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil uji biokimia dapat dilihat pada gambar.



**Gambar 8. Hasil uji biokimia**

Keterangan

1. Glukosa : terbentuk gas pada durham dan terjadi fermentasi
2. Sukrosa : terbentuk gas pada durham dan terjadi fermentasi
3. Maltosa : terbentuk gas pada durham dan terjadi fermentasi
4. Laktosa : tidak terbentuk gas dan tidak terjadi fermentasi

Identifikasi secara biokimia *Candida albicans* menunjukkan adanya perubahan warna merah menjadi warna kuning pada reaksi fermentasi. Gas yang terbentuk dalam tabung durham menunjukkan adanya reaksi fermentasi, jamur ini menunjukkan reaksi fermentasi dan gas pada glukosa dan maltosa, terjadi proses fermentasi tanpa pembentukan gas pada sukrosa dan tidak terjadi proses fermentasi pada laktosa. Pada gambar gas tidak begitu jelas terlihat karena gas berada diatas tabung durham dan ukuran gas tidak terlalu besar.

*Candida albicans* mampu melakukan metabolisme sel pada kondisi aerob dan anaerob. Pertumbuhan jamur *Candida albicans* jauh lebih cepat pada kondisi asam dibandingkan dengan pH normal atau alkali (Biswas & Chaffin 2005).

Proses peragian atau fermentasi pada jamur *Candida albicans* dilakukan dalam suasana aerob dan anaerob. Karbohidrat yang tersedia dalam larutan dimanfaatkan untuk melakukan metabolisme sel dengan cara mengubah karbohidrat menjadi CO<sub>2</sub> dan H<sub>2</sub>O dalam suasana aerob sedangkan pada suasana anaerob hasil fermentasi berupa laktat atau etanol dan CO<sub>2</sub> (Waluyo 2004).

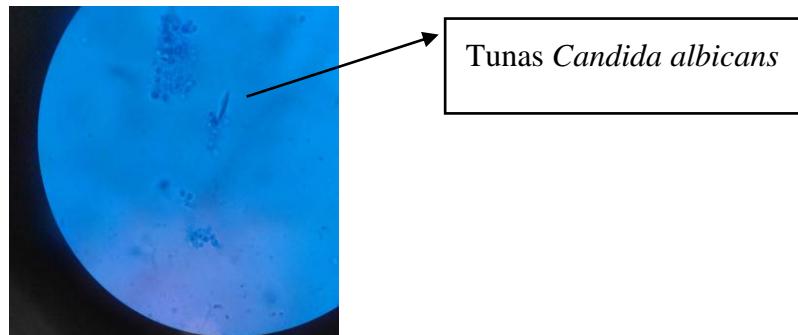
Berdasarkan hasil pengujian identifikasi yang telah dilakukan dan kemudian hasilnya dibandingkan dengan pustaka menunjukkan bahwa jamur yang diamati adalah *Candida albicans* ATCC 10231.

#### **4.3 Identifikasi jamur candida secara mikroskopis dengan pewarnaan**

**LCB.** Identifikasi *Candida albicans* ATCC 10231 secara mikroskopis dengan cara sampel koloni jamur *Candida albicans* ATCC 10231 diambil kurang lebih 2 Ose, koloni tersebut diletakkan pada gelas obyek yang sudah dalam keadaan steril lalu diteteskan LCB kemudian ditutupi dengan gelas penutup. Pada pada sediaan apus eksudat, *Candida albicans* tampak ragi lonjong, kecil, berdinding tipis, bertunas, gram positif, berukuran 2-3 x 4-6 µm yang memanjang menyerupai pseudohifa (hifa). *Candida albicans* membentuk pseudohifa ketika tunas-tunas terus tumbuh tapi gagal melepaskan diri, menghasilkan rantai sel-sel yang memanjang yang terjepit atau tertarik pada rongga-rongga diantara sel. *Candida albicans* bersifat dimorfik, selain ragi-ragi dan pseudohifa, *Candida albicans* juga bisa menghasilkan hifa sejati.

*Candida albicans* merupakan jamur dimorfik karena kemampuannya untuk tumbuh dalam dua bentuk yang berbeda yaitu sebagai sel tunas yang akan berkembang menjadi blastospora dan menghasilkan kecambah yang akan membentuk hifa semu. Perbedaan bentuk ini tergantung pada faktor eksternal yang mempengaruhinya. Sel blastopsora berbentuk bulat lonjong. *Candida albicans* memperbanyak diri dengan membentuk tunas yang akan terus memanjang membentuk hifa semu. Hifa semu terbentuk dengan banyak kelompok blastospora berbentuk bulat atau lonjong. Pada beberapa strain, blastospora berukuran besar, berbentuk bulat atau seperti botol, dalam jumlah sedikit. Sel ini dapat berkembang menjadi klamidiospora yang berdinding tebal dan bergaris

tengah  $8 - 12\mu$  (Simatupang 2009). Hasil identifikasi mikroskopis *Candida albicans* ATCC 10231 dapat dilihat pada gambar.



**Gambar 9. Hasil identifikasi mikroskopis *Candida albicans* ATCC 10231**

## 5. Hasil pengujian aktivitas antijamur *Candida albicans* ATCC 10231

**5.1 Hasil pengujian aktivitas antijamur *Candida albicans* ATCC 10231 secara difusi.** Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui kombinasi dan konsentrasi teraktif dari minyak atsiri rimpang lengkuas merah dan bangle dalam menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* ATCC 10231. Konsentrasi yang digunakan dalam kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle adalah 50%, 25%, dan 12,5% dengan perbandingan 1:1; 1:3; dan 3:1. Kontrol positif yang digunakan adalah ketokonazole 2% dan DMSO 1% sebagai kontrol negatif. Perhitungan pembuatan konsentrasi dapat dilihat pada lampiran 11. Kontrol positif digunakan sebagai standar untuk melihat dan membandingkan kemampuan penghambatan kombinasi minyak atsiri terhadap jamur uji. DMSO 1% sebagai kontrol negatif karena tidak bersifat toksik dan tidak memiliki daya hambat terhadap jamur uji. Pada pembuatan suspensi jamur uji disesuaikan dengan standar Mc Farland 0,5.

Metode difusi pada penelitian menggunakan metode cakram disk. Cakram disk dimasukkan ke dalam larutan kombinasi minyak atsiri dan direndam selama  $\pm 30$  menit - 2 jam. Masa inkubasi pengujian aktivitas antijamur dilakukan selama 24-48 jam pada suhu  $37^\circ\text{C}$  (suhu kamar) kemudian diamati adanya daya hambat yang terbentuk berupa warna jernih disekitar cakram disk dalam ukuran mm. Hasil metode difusi dapat dilihat pada lampiran 12.

**Tabel 7.** Hasil zona hambat uji aktivitas antijamur *Candida albicans* ATCC 10231 secara difusi.

<b>Replikasi</b>	<b>Konsentrasi (%)</b>	<b>Minyak atsiri tunggal</b>		<b>Kombinasi minyak atsiri lengkuas merah : bangle</b>		
		<b>Laos merah</b>	<b>Bangle</b>	<b>1:1</b>	<b>1:3</b>	<b>3:1</b>
I	50	24,80	16,05	27,50	24,00	22,90
	25	22,00	19,70	26,25	22,00	21,40
	12,5	18,25	14,20	18,00	16,00	19,25
II	50	26,35	20,35	24,00	17,10	28,65
	25	23,75	14,55	19,50	17,40	20,90
	12,5	19,85	12,60	20,00	18,55	22,60
III	50	27,00	22,40	22,05	21,80	27,60
	25	21,20	20,00	23,20	18,80	23,00
	12,5	18,30	15,45	19,70	21,30	20,00

**Tabel 8.** Hasil rata-rata dan standar deviasi zona hambat pada kombinasi minyak atsiri

<b>Sampel uji</b>	<b>Rata-rata ± SD</b>		
	<b>50%</b>	<b>25%</b>	<b>12,5%</b>
Lengkuas Merah	26,05 ± 1,13	22,32 ± 1,30	18,8 ± 0,91
Bangle	20,13 ± 3,98	18,08 ± 3,06	14,08 ± 1,43
Kombinasi 1:1	24,52 ± 2,76	22,98 ± 3,38	19,23 ± 1,08
Kombinasi 1:3	20,97 ± 3,52	19,4 ± 2,36	18,62 ± 2,65
Kombinasi 3:1	26,38 ± 3,06	21,77 ± 1,10	20,62 ± 1,76

**Tabel 9.** Hasil zona hambat kontrol secara difusi

<b>Sampel uji</b>	<b>Konsentrasi</b>	<b>Diameter hambat (mm)</b>			<b>Rata-rata ± SD</b>
		<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	
Kontrol obat (Ketokonazole)	2%	28,50	29,25	32,70	30,15 ± 2,24
		30,30	31,35	33,20	31,62 ± 1,47
		33,10	31,15	29,40	31,22 ± 1,85
Kontrol DMSO	1%	0	0	0	0 ± 0

Pengujian aktivitas antijamur kombinasi minyak atsiri rimpang lengkuas merah dan bangle terhadap *Candida albicans* ATCC 10231. Menunjukkan adanya daya hambat, hal tersebut dapat dibuktikan dengan adanya zona hambat (zona bening) disekitar disk yang tidak ditumbuhki jamur. Hasil uji pada tabel

menunjukkan hasil penelitian bahwa kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle pada konsentrasi 50% dengan perbandingan 3:1 memiliki aktivitas daya hambat yang lebih efektif dan besar bila dibandingkan pada konsentrasi 25%, 12,5% dengan perbandingan 1:1 dan 1:3.

Hasil rata-rata diameter hambat kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle pada konsentrasi 50% dengan perbandingan 1:1; 1:3; dan 3:1 secara berturut-turut adalah 24,52; 20,97; dan 26,38. Konsentrasi 25% dengan perbandingan 1:1; 1:3; dan 3:1 secara berturut-turut adalah 22,98; 19,4; dan 21,77, sedangkan konsentrasi 25% dengan perbandingan 1:1; 1:3; dan 3:1 secara berturut-turut adalah 19,23; 18,62; dan 20,62. Pada kontrol positif (ketokonazole) konsentrasi 2% adalah 30,15; 31,62; 31,22. Pengujian aktivitas antijamur secara difusi menggunakan DMSO 1% sebagai kontrol negatif yang pada pengujian tidak aktif dalam menghambat *Candida albicans* ATCC 10231.

Daya hambat menurut Davis dan Stout (1971) dibagi atas sangat kuat (>20 mm), kuat (10-20mm), sedang (5-10mm) dan lemah (<5mm). Kontrol negatif tergolong sediaan yang memberikan daya hambat lemah (<5 mm). Pada hasil uji difusi zona hambat yang termasuk dalam kategori sedang yaitu pada konsentrasi 25% (dengan perbandingan 1:3) dan 12,5% (pada perbandingan 1:1 dan 1:3), untuk zona hambat yang termasuk kategori kuat pada konsentrasi 50% (perbandingan 1:1; 1:3; 3:1), 25% (1:1 dan 3:1), 12,5% (perbandingan 3:1). Gambar hasil uji antijamur dari kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle secara difusi terhadap *Candida albicans* ATCC 10231 dapat dilihat pada lampiran.

Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Wardani *et all* (2018) minyak atsiri lengluas merah memiliki Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) terletak pada konsentrasi 12% yaitu rata-rata diameter zona hambat sebesar 16 mm. Menurut Dhuhita (2008) konsentrasi hambat minimum minyak atsiri bangle pada uji aktivitas minyak atsiri bangle terhadap pertumbuhan *Malassezia furfur* secara dilusi yaitu 6,25%. Pada penelitian yang telah dilakukan kombinasi minyak atsiri rimpang lengkuas merah dan bangle terhadap *Candida albicans* hasil yang didapatkan lebih optimal dalam menghambat pertumbuhan

jamur *Candida albicans* jika kedua bahan tersebut dikombinasikan. Selain itu, semakin tinggi konsentrasi minyak atsiri maka semakin besar diameter zona hambat yang terbentuk. Hasil konsentrasi 50% dengan perbandingan (3:1) memiliki daya habat rata-rata terbesar yaitu 26,38 mm.

Analisis data dari hasil pengujian aktivitas antijamur dengan metode difusi secara statistik ANOVA two way. Data yang dianalisis ANOVA one way adalah konsentrasi 50%, 25%, dan 12,5% kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle dengan perbandingan 1:1, 1:3, dan 3:1. Kontrol positif (ketokonazole 2%) dan kontrol negatif (DMSO 1%) juga dianalisis dalam ANOVA two way. Data yang dihasilkan digunakan untuk membandingkan hubungan antara kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle serta kontrol positif untuk mendapatkan hasil ada atau tidaknya perbedaan yang signifikan.

Pada *tests of normality* syarat dari Shapiro-Wilk adalah nilai sig > 0,05 (artinya data terdistribusi normal. Hasil data penelitian pada Test of Normality dilihat pada Shapiro-Wilk nilai sig yang diperoleh > 0,05, artinya bahwa semua data terdistribusi normal. Selanjutnya dilanjutkan dengan uji ANOVA two way. Levene's Test Of Equality of Error Varians digunakan untuk menilai homogenitas tiap variabel. Hasil analisa dari *Levene's Test Of Equality of Error Varians* diperoleh nilai sig 0,337 > sig (0,05). Analisis tersebut menunjukkan varian antar kelompok berbeda signifikan. Pada Multiple Comparisons, tabel Tukey HSD digunakan untuk menilai kategori manakah dari variabel konsentrasi yang memiliki perbedaan signifikan. Hasil Test Tukey HSD yang diperoleh bahwa konsentrasi yang memiliki perbedaan signifikant adalah 50% (dilihat dari adanya bintang pada kolom Mean Difference). Hasil subset pada Tukey HSD pada subset 1 konsentrasi 12,5% dan 25% tidak memiliki perbedaan yang nyata, sedangkan pada subset 2 lihat konsentrasi 50% berbeda nyata dengan konsentrasi 12,5% dan 25%. Hasil subset pada Tukey HSD pada perbandingan kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle menunjukkan tidak adanya perbedaan signifikan (terlihat dari tidak adanya perbedaan subset pada perbandingan 1:1, 1:3, dan 3:1) hasil tunggal dan kombinasi perbandingan yang digunakan. Namun, semua perbandingan kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle memiliki

aktivitas sebagai antijamur (dilihat dari hasil uji difusi ditandai dengan adanya zona bening), walaupun tidak sebaik obat ketokonazole. Hasil analisis data dapat dilihat pada lampiran 16.

Komponen penyusun minyak atsiri bangle salah satunya adalah senyawa terpenoid seperti terpinen-4-ol dan zerumbon. Zerumbon merupakan suatu sesquiterpen golongan terpenoid yang terdiri dari tiga satuan isoprena bersifat nonpolar, volatil, memiliki struktur keton silang terkonjugasi pada sebelas cincin carbon dan memiliki karakteristik sitotoksik yang selektif terhadap sel kanker dan garis sel normal serta sebagai antiinflamasi dan kemoterapi (Murakami *et al.* 2002). Senyawa dengan struktur unik ini dapat digunakan sebagai agen antimikroba yang mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan mikroba (Yamamoto *et al.* 2001).

Menurut Dhuhita (2008) aktivitas antijamur yang dimiliki tanaman bangle ini dimungkinkan memiliki kesamaan mekanisme dengan golongan *azole*, suatu agen antijamur dimana golongan *azole* tersebut akan berinteraksi dengan C-14 $\alpha$  demetilase (enzim P-450 sitokrom) untuk menghambat demetilasi lanosterol menjadi ergosterol yang merupakan sterol penting untuk membran jamur. Ergosterol berfungsi mempertahankan integritas membran sel jamur. Proses penghambatan ini akan mengganggu fungsi jamur dan meningkatkan permeabilitas.

Komponen bioaktif dan penyusun utama dari minyak atsiri lengkuas merah salah satunya adalah senyawa golongan terpenoid. Menurut Choi (2008). Golongan terpenoid diketahui mampu menghambat sintesis ergosterol dalam sel *Candida albicans*. Mekanisme penghambatan biosintesis ergosterol dalam sel *Candida albicans* yaitu dengan mengubah permeabilitas membran dalam proses pengangutan senyawa-senyawa essensial yang dapat menyebabkan ketidakseimbangan metabolismik sehingga menghambat pertumbuhan atau menimbulkan kematian sel jamur. Bagian lipofilik pada terpenoid berpartisipasi ke dalam struktur dan fungsi membran sehingga menyebabkan perubahan fluiditas membran, mengubah lingkungan lipid protein membran, melisiskan membran sel, dan mengganggu aktivitas enzimatik membran yang dapat merusak pembentukan

dinding sel. Kekurangan ergosterol menyebabkan ketidakstabilan membran sehingga menurunkan aktivitas enzim yang berkaitan dengan membran dan melibatkan permeabilitas serta hambatan pertumbuhan perbanyak sel. Selain terpenoid komponen minyak atsiri yang memiliki aktivitas sebagai antijamur adalah eugenol.

Komponen minyak atsiri rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata* K. schum) yang mempunyai sifat antijamur adalah eugenol. Aktivitas antijamur dari eugenol yaitu dengan merusak membran sitoplasma dan menonaktifkan dan atau menghambat sintesis dari enzim intraselular dan ekstraselular (Lima *et al.* 2005). Eugenol merupakan komponen bioaktif yang menyebabkan aroma pedas menyengat pada lengkuas merah dan telah dibuktikan dapat menghambat pertumbuhan beberapa jenis jamur (Chunkanhom *et al.* 2005). Selain itu, Charni *et al.* (2004) menyatakan bahwa eugenol dapat menghambat jamur *Candida albicans* secara efektif.

*Candida albicans* mempunyai membran yang terdiri dari lipid dan protein, sehingga kemungkinan terjadi ikatan kompleks antara antimikroba dengan ergosterol yang terdapat dalam membran sel jamur tersebut. Lewat pori-pori inilah komponen dari isi sel jamur keluar seperti asam nukleat dan protein lainnya. Minyak atsiri bekerja dengan menembus membran sehingga dapat mengkoagulasi sitoplasma, merusak lemak dan protein. Kemungkinan hal inilah yang menyebabkan kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle pada konsentrasi 50% dengan perbandingan 3:1 menjadi paling aktif kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO 1% dimana pelarut ini merupakan pelarut yang digunakan dalam pembuatan seri konsentrasi kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle. Berdasarkan hasil penelitian Diah *et al.* (2012) mengemukakan penggunaan DMSO diatas 5%-20% dapat menghambat aktivitas pertumbuhan jamur atau mikroorganisme lain. Hasil dari pengujian DMSO 1% tidak memiliki aktivitas sehingga daya hambat yang terbentuk benar-benar merupakan aktivitas dari masing-masing kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle.

## 5.2 Hasil pengujian aktivitas antijamur *Candida albicans* ATCC 10231 secara dilusi.

Pengujian antijamur kemudian dilanjutkan menggunakan metode dilusi, sediaan uji yang digunakan dalam metode ini adalah kombinasi minyak atsiri paling aktif dalam menghambat pertumbuhan jamur yang diperoleh dari metode difusi. Metode dilusi digunakan untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Konsentrasi hambat yang digunakan dalam pengujian metode dilusi digunakan konsentrasi dan perbandingan paling aktif dari kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle yaitu konsentrasi 50% dengan perbandingan 3:1. Seri konsentrasi yang digunakan dalam uji adalah 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,56%, 0,78%, kontrol positif dan kontrol negatif. Kombinasi minyak atsiri diencerkan dalam media SGC dan diinokulasi dengan jamur *Candida albicans*, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam. Gambar hasil uji dilusi dapat dilihat pada lampiran 8.

**Tabel 10. Hasil uji dilusi kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle dengan konsentrasi 50% pada perbandingan 3:1.**

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

Keterangan :

- K (+) : berisi suspensi jamur *Candida albicans*
- K (-) : bebrisi kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle
- (+) : tumbuh jamur
- (-) : tidak tumbuh jamur

Uji dilusi dilakukan dengan menggunakan media cair SGC dan sediaan uji yang digunakan adalah konsentrasi 50% pada perbandingan 3:1. Sediaan uji yang berupa minyak atsiri tidak dapat bercampur dengan media cair SGC, hal ini diatasi dengan penambahan tween 80 sebanyak 2 tetes sebagai emulgator

sehingga media cair SGC dan sediaan uji minyak dapat bercampur dan homogen. Hasil pengamatan pada konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,56%, dan 0,78% yang diteliti mendapat hasil yaitu pada konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25% tidak terlihat adanya pertumbuhan jamur *Candida albicans*. Hasil tersebut menunjukkan kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle memiliki aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans* pada konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%. Pada konsentrasi yang lebih kecil yaitu 3,125%, 1,56%, dan 0,78% hasil yang diperoleh masih didapatkan pertumbuhan jamur *Candida albicans*. Hasil tersebut menunjukkan kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle mampu membunuh pada konsentrasi 3,125%. Sedangkan konsentrasi 6,25% menunjukkan kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle mampu menghambat jamur *Candida albicans*. Semakin tinggi konsentrasi bahan uji maka semakin tinggi pula kandungan zat aktif di dalamnya sehingga aktivitas antijamur akan semakin bertambah.

Menurut Radji (2010) konsentrasi lebih dari 1% merupakan nilai KBM yang kuat, karena pada kadar ini memiliki aktivitas antijamur yang signifikan. Semakin tinggi konsentrasi sediaan uji maka semakin tinggi pula kandungan zat aktif di dalamnya sehingga aktivitas antijamur akan semakin bertambah. Sediaan uji yang memiliki konsentrasi bunuh minimum semakin kecil, menandakan semakin potensialnya sediaan uji sebagai antijamur karena dengan konsentrasi kecil sediaan uji sudah dapat membunuh jamur.

Dari hasil pengujian kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle secara difusi dan dilusi dapat dipastikan bahwa kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle memiliki aktivitas antijamur. Hal ini diduga karena adanya kandungan terpinen-4-ol, eugenol, dan zerumbon dari minyak atsiri lengkuas merah dan bangle sebagaimana tercantum dalam tabel 5. Hasil ini memiliki kemiripan pada penelitian Mondello *et al* (2006) dan Lima *et al* (2005).

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

Pertama, senyawa tunggal minyak atsiri lengkuas merah (*Alpinia purpurata* K. schum) dan bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) memiliki aktivitas antijamur terhadap jamur *Candida albicans* ATCC 10231.

Kedua, kombinasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle memiliki aktivitas sebagai antijamur dengan perbandingan (1:1, 1:3, dan 3:1) terhadap jamur *Candida albicans* ATCC 10231.

Ketiga, konsentrasi dan perbandingan yang memiliki aktivitas sebagai antijamur terhadap jamur *Candida albicans* ATCC 10231 pada uji difusi dengan kombinasi minyak atsiri lengkuas merah (*Alpinia purpurata* K. schum) dan bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) adalah konsentrasi 50% dengan perbandingan 3:1.

Keempat, konsentrasi hambat minimum (KHM) pada uji dilusi diperoleh pada konsentrasi 6,25% dan konsentrasi bunuh minimum pada konsentrasi 3,125% pada perbandingan 3:1 kombinasi minyak atsiri lengkuas merah (*Alpinia purpurata* K. schum) dan bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) terhadap *Candida albicans* ATCC 10231.

#### **B. Saran**

Berdasarkan kesimpulan dapat disarankan:

Pertama, dapat dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai uji aktivitas antijamur kombinasi minyak atsiri lengkuas merah (*Alpinia purpurata* K. schum) dan bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) dengan perbandingan dan konsentrasi berbeda.

Kedua, dapat dilakukan peneilitian lebih lanjut mengenai uji aktivitas antijamur kombinasi minyak atsiri lengkuas merah (*Alpinia purpurata* K. schum) dan bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) dengan menggunakan jamur lain.

Ketiga, pengambilan sampel minyak atsiri lengkuas merah secara destilasi untuk penelitian selanjutnya, sebaiknya tidak dipotong kecil-kecil lebih baik

ditumbuk atau dipres terlebih dahulu, supaya minyak atsiri yang diperoleh banyak.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adams, R.P. 2004. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography Quadrupole Mass Spectrometry, Carol Stream, Akkure.
- Agusta A. 2000. *Minyak Atsiri Tumbuhan Tropika Indonesia*. Bandung: ITB.
- Amalina N. 2008. Uji Sitotoksik ekstrak etanol 70% jamerica hitam (*Piper nigrum* L.) terhadap sel Hela [SKRIPSI]. Surakarta: Fakultas Farmasi, UMS.
- Andrew J.Lamb, Cushnie T.P.T. Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents* ; 2005 : 26, pp. 347.
- Anggraini FP. 2015. Efek Kombinasi Minyak Atsiri Bangle (*Zingiber cassumunar Roxb.*) dan Jahe merah (*Zingiber Oicinale Var. Rubrum*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* [SKRIPSI]. Jember. Fakultas Farmasi Universitas Jember.
- Anindita, W. 2006. Faktor Resiko Kejadian Kandidiasis Vaginalis Pada Akseptor KB. *The Indonesian Journal Of Public Health*. Vol. 3. No.1. Juli. 2006. 24-28.
- Anonim. 2008. Lengkuas Merah. <http://www.plantamor.com/index.php?Plant>.
- Ansel HC. 2006. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Edisi IV. Farida Ibrahim. Penerjemah; Jakarta: Universitas Indonesia Press. Hlm 605-608. Terjemahan dari: *Introduction Forms Pharmaceutical Preparations*.
- Astuti TB. 2013. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Eanol 70% Rimpang Bangle (*Zingiber purpureum Roxb.*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25925 dan Jamur (*Microsporum canis*) secara *in vitro* [SKRIPSI]. Jakarta. FKIK UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Bahupati OW. 2015. *Hubungan Pengetauan Kesehatan Alat Reproduksi Dengan Kejadian Kandidiasis Vulvovagibalis Pada Penderita Kandidiasis Vulvovaginalis*. Fakultas Kedoteran Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Bhuiyan M. N. I., Chowdhury J. U., and Begum J. 2008. Volatile Constituents Of Essential Oils From Leaf and Rhizoma Of *Zingiberaceae cassumunar Roxb.* *Bangladesh Journal Of pharmacology*, 3(2): 191-201.
- Biswas SK dan Chaffin WL. 2005. Anaerobic Growth of *Candida albicans* does not support biofilm formation under similar condition used for aerobic biofilm Current Microbiologi. *Journal*.

- Brooks, G. Jawetz, Melnick dan Adelberg. Mikrobiologi kedokteran Edisi 20. EGC. Jakarta.1996. pp 627-629.
- Choi, H.W. 2008. *A Role for a Methone Reductase in Resistance Against Microbial Pathogens in Plants*, (online), <http://www.plantphysiol.org/cgi/content/full/148/1/383>. Diakses tanggal 29 Mei 2018.
- Darmandi. 2008. Infeksi Nosokomial: Problematika dan Pengndaliannya. Jakarta: Salemba Medika.
- [Depkes] RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Depkes] RI. 2007. *Materi Medika Indonesia*. Jilid VI. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hlm 10.
- Dhuhita. 2008. Aktivitas Minyak Atsiri Rimpang Bengle (*Zingiber cassumunar Roxb.*) Terhadap Pertumbuhan (*malassezia furfur*) IN VITRO [Artikel]. Semarang. Universitas Diponegoro Semarang.
- Djide, N dan Sartini. 2008. Dasar-dasar mikrobiologi farmasi. Lembaga Penerbitan UNHAS (lephas). Makassar. hal 30.
- Entjang I. 2003. *Mikrobiologi dan Parasitologi Untuk Akademi Keperawatan Dan Sekolah Tenaga Kesehatan Sederajad*. Bandung: PT. Citra Aditya Bakti.
- Erna S. 2005. Pusat Penelitian dan pengembangan Tumbuhan Obat UNAS/P3TO UNAS.
- Forbes, A Berty. 2007. *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology 12<sup>th</sup> ed.* St Louis: Mosby. P. 270.
- Gibson M. 2008. *Pharmaceutical Preformulation and Formulation Second edition*. Leicestershire: Informa Kesehatan. Hlm 476.
- Guenther, E. 2006. *Minyak Atsiri Jilid I* (Terjemahan). UI-Press. Jakarta. Hal. 44-484.
- Guenther E. 2010. *Minyak Atsiri*. RS Ketaren. Penerjemah; Jakarta: Universitas Indonesia Press. Terjemahan dari: *Essential Oils*.
- Gunawan D, Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi)*. Jilid 1. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Gunawan SG. 2007. Farmakologi dan Terapi. Ed ke-3. Jakarta: UI Press.

- Haraguchi H, Kuwata Y, Shingu K, dkk. 2006. Antifungal Activity from Alpinia Galanga and the competition for incorporation of unsaturated fatty acids in cell growth.
- Harbone. 2007. *Metode Fitokimia, Penentuan Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Padmawinata K, Soediro I, Penerjemah; Bandung: Penerbit ITB. Terjemahan dari: *Phytochemical Methods*.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. Brooks GF. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi ke-22, Elferia NR, penerjemah; Surabaya: Universitas Airlangga. Terjemahan dari: *Medical Microbiology*.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. Brooks GF, Butel JS, Ornston LN. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi ke-23, Midihardi E, Kuntaman, Warsito EB, Mertanasih NM, Harsono S, Alimsardjono L, penerjemah; Jakarta: Salemba Medika. Terjemahan dari: *Medical Microbiology*.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. Brooks GF, Butel JS, Ornston LN. 2007. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi ke-23, Nugroho, Maulany RF. Penerjemah; Jakarta: Salemba Medika. Terjemahan dari: *Medical Microbiology*.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 2007. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi ke-25, Ratna NE, penerjemah; Jakarta: Salemba Medika. Terjemahan dari: *Medical Microbiology*.
- Katzung BG. 2004. Basic and Clinical Pharmacology. Edisi ke-9. New York: Mc Graw-Hill.
- Ketaren, S. 2008. Minyak dan Lemak Pangan. Cetakan Pertama. Jakarta : Universitas Indonesia Press.
- Koensomardiyah S. 2010. A to Z Minyak Atsiri Untuk Industri Makanan. Kosmetik dan Aromaterapi. Yogyakarta: Penerbit ANDI.
- Koes I. 2014. *Bakteriologi Medis, Mikrobiologi Medis, dan Virologi Medis*. Bandung: Penerbit Alfabeta.
- Kusumawardani N.F. 2009. Formulasi Salep Minyak Atsiri Rimpang Lengkuas (*Alpinia galanga* (L.) Swartz) Basis Lemak Dan PEG 4000 Dengan Uji Sifat Fisik Dan Uji Aktivitas Antijamur *Candida albicans* [SKRIPSI]. Surakarta. S.Farm., Fakultas Farmasi, Universitas Muhamadiyah Surakarta.
- Kusumayanti dan Agustini NWR, 2007. Uji aktivitas senyawa antibakteri dari mikroalga (*Porphyridium cruentinum*). Biodiversitas 8:48-53.

- Lima, I,O, Oliveira, R. A, G, Lima, E, Souza, E.L, Farias, N.P dan Navvaro, D.F. 2005. Aksi penghambatan beberapa fitokimia pada ragi yang berpotensi menyebabkan oportunistik., Sao Paulo, v.41, p.199-203.
- Marlian L. 2012. Aktivitas Antibakteri dan Telaah Senyawa Komponen Minyak Atsiri Rimpang Bangle (*Zingiber cassumunar Roxb.*). Bandung: Prodi S1 Farmasi, Sekolah Tinggi Farmasi Bandung. ISSN 2089-3582.
- Mondello M, Rudd, A. 2006. How do college coach define character? A qualitative study with division IA head coaches. *Journal Of Collage and Character*. Vol. 8, No 3, Hal 1-10.
- Muhlisah F. 2005. *Tanaman Obat Keluarga*. Jakarta: Penerbit Swadaya.
- Murakami A, Takasih D, Kinoshita T, Koshimiza K, Kim HW, Yoshihiro A, Nakamura Y, Jiwajinja S, Terao J, Ohigashi H. 2002. Zerumbone, a SoutheastAsian ginger sesquiterpene, markedly suppresses free radical generation, proinfammatory proteinproduction and cancer cell proliferation accompanined by apoptosis : the alpha, beta-unsaturated carbonyl group is a prerequisite. *Carcinogenesis* 23:795-802.
- Naldi Yandri, Icka Siti Aisyah. 2014. Perbandingan Efektivitas Lengkuas Merah (*Alpinia Purpurata K Schum*) dan Lengkuas Putih (*Alpinia Galanga*) Terhadap Pertumbuhan Jamur *Candida Albicans* Secara *In Vitro*. Tunas Medika Jurnal Kesehatan, volume.
- Nwiyin, Obina C., Chinedu, Nwodo S., anani, Olayinka, Chinwe I., Ogunniran & Kehinde, O. 2009. Anticacterial effect of extract of *Ocimum gratissimum* and *Piper guineense* on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. African journal of Food Science. 3 (3): 022-025.
- Patrick D. 2006. Medicine at a Glance. dr. Rahmalia A, dr. Cut NR, penerjemah; Jakarta: Erlangga.
- Plezar, M.M. dan Chan, E.C.S. 1988. Dasar-dasar Mikrobiologi. Jilid 2. Penerjemah Ratna Siri Hadioetomo, dkk. Jakarta. Universitas Indonesia Press.
- Pohan, Arthur. 2013. Bahan Kuliah Mikologi FK UNAIR. UNAIR. Surabaya.
- Prasetyo KRD. 2016. Uji Beda Daya Hambat Antara Ekstrak Rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata K. Schum*) Dengan Ekstrak Rimpang Lengkuas Putih (*Alpinia galanga W.*) Terhadap *Candida albicans* [SKRIPSI]. Jember. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Pratiwi ST. 2008. Mikrobiologi farmasi. Jakarta: Penerbit Airlangga.

- Radji M. 2011. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Rubiarto D. 1993. Mempelajari Pengaruh Ukuran Bahan Dan Lama Penyulingan terhadap Rendemen dan Mutu Minyak Kemukus (*Piper cuceba* Linn.) [SKRIPSI]. Bogor: Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Sastrohamidjojo, H. 2004. Kimia Minyak Atsiri. Yogyakarta: Penerbit: Gajah Mada University Press. Hal 2, 9-15.
- Saifudin A. 2011. *Standarisasi Bahan Obat Alam*. Yogyakarta. Graha Ilmu. pp. 1-11.
- Sayuti Al, Ulfa EU, Puspitasari E. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Kombinasi Minyak Atsiri Lempuyang Wangi (*Zingiber aromaticum* Val.) dan Bangle (*Zingber cassumunar* Roxb.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.
- Setiani W, Saad S, Edyati, Hertiani T. 2005. Isolasi dan identifikasi senyawa antimikroba dari umbi sarang semut (*Myrmecodia tuberosa*) [TESIS]. Yogyakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada.
- Silamba NF. 2014. Daya Hambat Tanaman Sarang Semut (*Myrmecodia pendens*) terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans* [SKRIPSI]. Makassar. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin.
- Sparkman, O.D., Penton, Z., Fulton, G., 2011, Gas chromatography and mass spectrometry : a practical guide, Elsevier.
- Simatupang MM. *Candida albicans*. USU Repository: 2009.
- Sriyanti dan Wijayanti. 2008. Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek. Jakarta: Gramedia.
- Sriyanti DP, Wijayanti A. 2008. Teknik Kultur Jaringan. Cetakan ke-9. Yogyakarta: Penerbit Kanisius. hlm 86.
- Stephen H, Gillespie, Kathleen B, Bamford. 2009. *At a Glance Mikrobiologi Medis dan Infeksi*. Ed ke-3. dr. Stella TH, penerjemah; Jakarta: Erlangga. Terjemahan dari: *Medical Microbiology and Infection at a Glance*.
- Supriadi. 2001. *Tumbuhan Obat Indonesia*. Jakarta: Pustaka Populer Obor.
- Suriawiria U. 2005. *Pengantar Mikrobiologi Umum*. Penerbit Angkasa: Bandung, 60-61, 57-58.

- Suyoso Sunarso. 2013. Kandidiasis Mukosa. Departemen/SMF Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga dan RSUD Dr. Soetomo Surabaya.
- Tjay TH dan Rahardja K. 2007. *Obat-Obat Penting*. Jakarta: PT Elex Media Komputindo.
- Tripathi, Priyanka, Ruby, and Shivangi. 2013. Essential Oil From Family zingeberaceae for antimikrobial activity- A Review. Internasional Jurnal Pharmaceutical Biology Science. Vol. 4(4): 149-162.
- Waluyo L. 2004. Mikrobiologi Umum. Universitas Muhammadiyah, Malang Press. Malang.
- Waluyo R. 2005. Mikrobiologi Umum. Universitas Muhammadiyah Malang.
- Widiastuti, I. 2012. *Sukses Agribisnis Minyak Atsiri*. Yogyakarta: Penerbit Pustaka Baru Press.
- Yamamoto, Kitayama, Minagawa, Watanabe, Sawada, Okatomao, and Ustumi. 2001. Antibacterial Agent That Inhibit Histidin Protein Kinase YycG of *Bacillus subtilis Bioscience Biotechnology Biochemistry*.
- Yuliani, Sri., Satuhu, Suyanti. 2012. *Panduan Lengkap Minyak Atsiri*. Penebar Swadara. Bogor.

L

A

M

P

I

R

A

N

**Lampiran 1. Determinasi tanaman rimpang lengkuas merah**



UNIVERSITAS GADJAH MADA  
FAKULTAS BIOLOGI  
LABORATORIUM SISTEMATIKA TUMBUHAN

Jalan Teknika Selatan Sekip Utara Yogyakarta 55281 Telpon (0274) 6492262/6492272; Fax: (0274) 580839

**SURAT KETERANGAN**

Nomor : 01303/S.Tb./IV/2018

Yang bertanda tangan dibawah ini, Kepala Laboratorium Sistematika Tumbuhan Fakultas Biologi UGM, menerangkan dengan sesungguhnya bahwa,

Nama	: Ani Nurchayati
NIM	: 20144249A
Asal instansi	: Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

telah melakukan identifikasi tumbuhan dengan hasil sebagai berikut,

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Tracheophyta
Class	: Liliopsida
Ordo	: Zingiberales
Familia	: Zingiberaceae
Genus	: Alpinia
Spesies	: <i>Alpinia purpurata</i> K. Schum.
Sinonim	: <i>Alpinia grandis</i> K. Schum. <i>Guillainia purpurata</i> Vieill. <i>Languas purpurata</i> (Vieill.) Kaneh.
Nama lokal	: Lengkuas merah

identifikasi tersebut dibantu oleh Abdul Razaq Chasani, S.Si., M.Si.

Demikian surat keterangan ini diberikan untuk dapat dipergunakan seperlunya.

Mengetahui,  
Dekan Fakultas Biologi  
Universitas Gadjah Mada  
Dr. Budi Setiadi Daryono, M.Agr.Sc.  
NIP. 197003261995121001

Yogyakarta, 18 April 2018  
Kepala Laboratorium  
Sistematika Tumbuhan  
Fakultas Biologi UGM  
Dr. Purnomo, M.S.I.  
NIP. 195504211982031005

## Lampiran 2. Determinasi tanaman rimpang bangle



Nomor : 23/UN27.9.6.4/Lab/2018  
H a l : Hasil Determinasi Tumbuhan  
Lampiran : -  
Nama Pemesan : Ani Nurchayati  
NIM : 20144249A  
Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

### HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

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

Familia : Zingiberaceae

Hasil Determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963, 1968) :  
1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31a-  
32a-33a-34a-35a-36d-37b-38b-39b-41b-42b-44b-45b-46e-50b-51b-53b-54b-56b-57b-58b-59d-  
72b-73b-74a-75b-76b-333b-334b-335b-336a-337b-338a-339b-340a **207. Zingiberaceae**  
1a-2b-6a **1. Zingiber**  
1a-2a-3b-4b ***Zingiber montanum* (J. Koenig) Link ex A. Dietr.**

#### Deskripsi Tumbuhan :

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

Surakarta, 25 Januari 2018

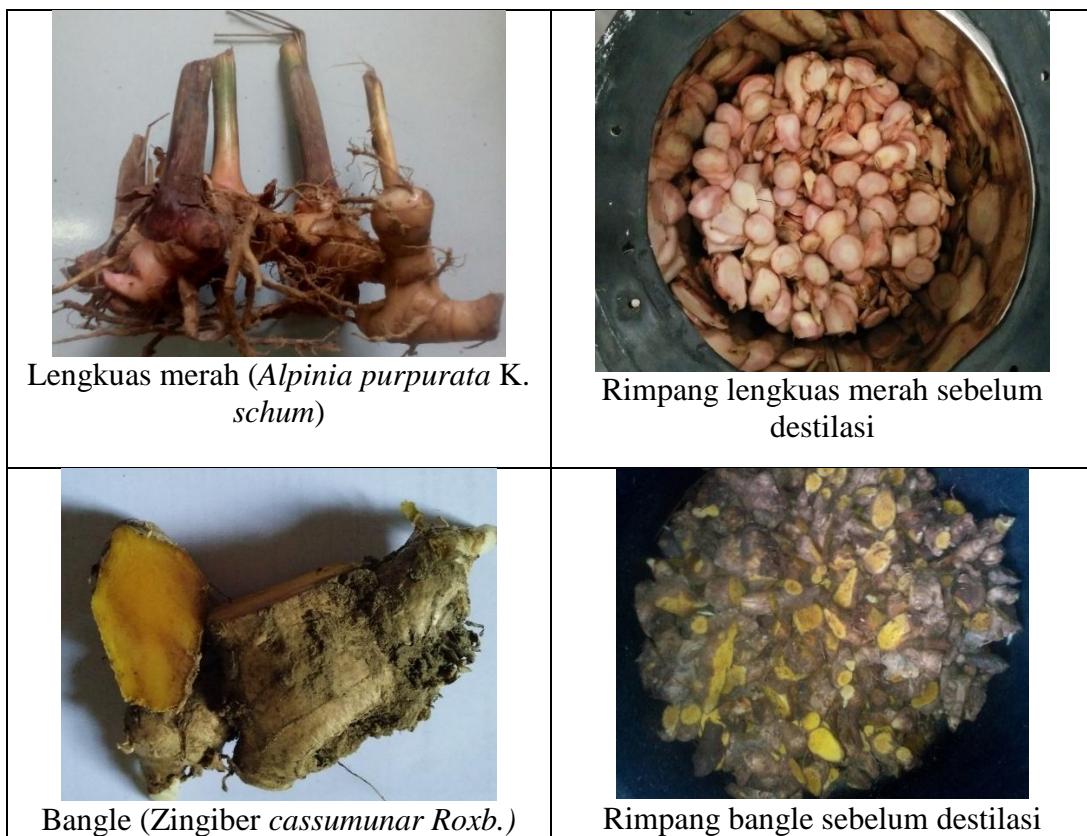
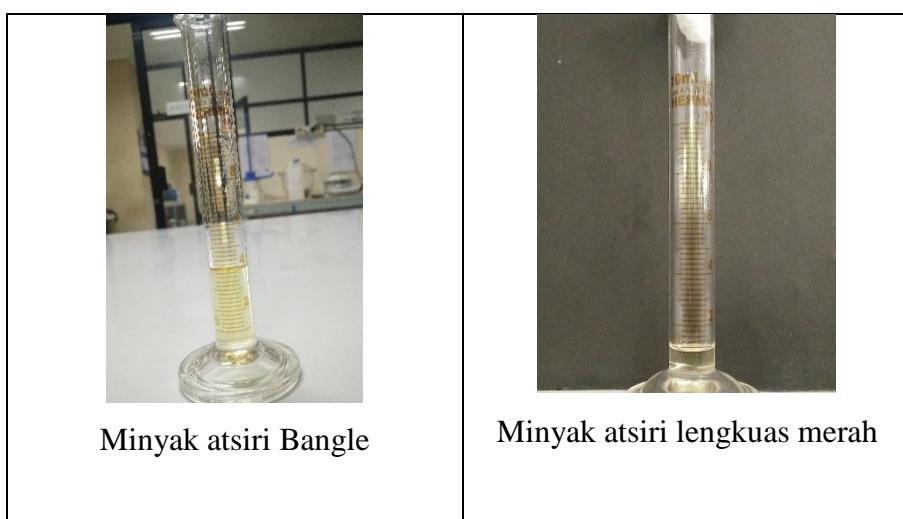
Kepala Lab. Program Studi Biologi

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

Penanggungjawab  
Determinasi Tumbuhan

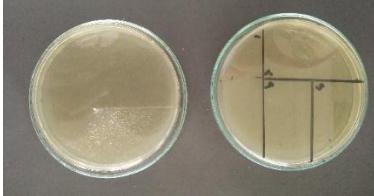
Suratman, S.Si., M.Si.  
NIP. 19800705 200212 1 002



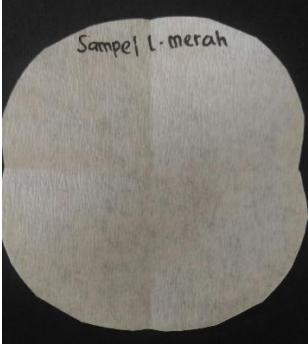
**Lampiran 3. Tanaman lengkuas merah dan bangle****Lampiran 4. Hasil Minyak atsiri**

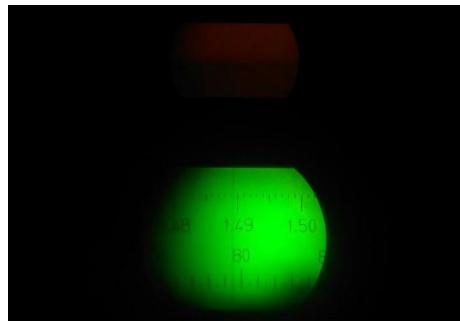
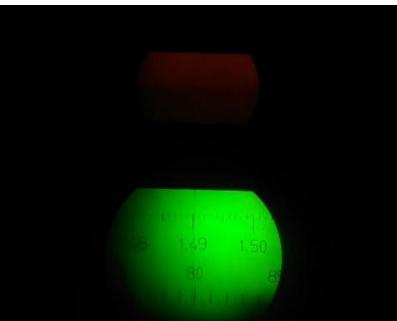
**Lampiran 5. Alat dan bahan untuk uji**

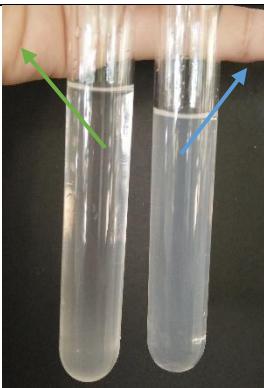
No.	Gambar	No.	Gambar
1	An autoclave, a large stainless steel pressure vessel used for sterilization.	5	A distillation unit consisting of a tall vertical column connected to a condenser and collection vessel.
2	A stainless steel incubator with two doors and control knobs.	6	A petri dish containing an agar plate with several white bacterial colonies.
3	A stainless steel incubator with a glass front door.	7	A laboratory mixer with a circular dial for speed, labeled "STUART SCIENTIFIC".
4	A stainless steel oven with a digital display showing "99.9" and a control panel with various buttons and a dial.	8	A long, thin glass tube filled with a yellowish-brown liquid, labeled "Suspensi jamur".

9	 <p>Media SGA</p>	11	 <p>Labu spiritus</p>
10	 <p>Jarum ose</p>		

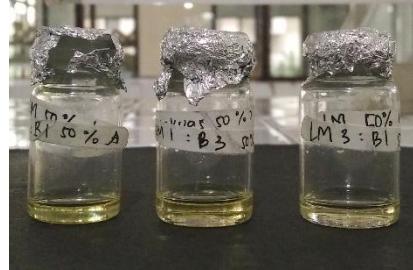
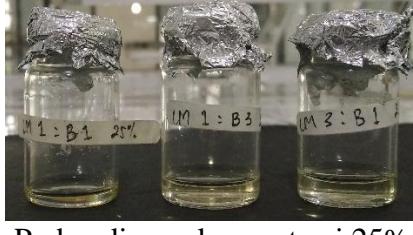
**Lampiran 6. Hasil identifikasi minyak atsiri**

<b>Hasil pengamatan organoleptik</b>			
No.	<b>Lengkuas merah</b>	<b>Bangle</b>	
1.			

<b>Hasil indeks bias minyak atsiri</b>		
No.	<b>Lengkuas merah</b>	<b>Bangle</b>
1.		

<b>Hasil kelarutan minyak atsiri lengkuas merah dan bangle dalam etanol</b>		
	<b>Keterangan:</b>	
	<b>Panah biru :</b> lengkuas merah <b>Panah hijau :</b> bangle	

**Lampiran 7. Minyak atsiri lengkuas merah, bangle, dan kombinasi**

Perbandingan MA	Lengkuas merah	bangle
 Perbandingan konsentrasi 50%		
 Perbandingan konsentrasi 25%		
 Perbandingan konsentrasi 12,5%		

**Lampiran 8. Perhitungan kadar minyak atsiri Lengkuas merah dan Bangle**  
**Minyak atsiri lengkuas merah**

Proses destilasi	Bobot basah (gram)	Volume minyak atsiri (ml)	Rendemen (% v/b)
Destilasi 1	15.000	15	0,1%
Destilasi 2	15.000	15	0,1%
Total	30.000	30	0,1%

**Perhitungan % Rendemen :**

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

$$\text{Destilasi I} = \boxed{\frac{15 \text{ ml}}{15.000 \text{ gram}} \times 100\% = 0,1\%}$$

$$\text{Destilasi II} = \boxed{\frac{15 \text{ ml}}{15.000 \text{ gram}} \times 100\% = 0,1\%}$$

$$\text{Total Rendemen} = \boxed{\frac{30 \text{ ml}}{30.000 \text{ gram}} \times 100\% = 0,1\%}$$

Jadi, total kadar minyak atsiri lengkuas merah (*Alpinia purpurata K. schum*) adalah 0,1%.

### Minyak atsiri bangle

Proses destilasi	Bobot basah (gram)	Volume minyak atsiri (ml)	Rendemen (% v/b)
Destilasi 1	5.000	15	0,3%
Destilasi 2	5.000	15	0,3%
Total	10.000	30	0,3%

**Perhitungan % Rendemen :**

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

$$\text{Destilasi I} = \boxed{\frac{15 \text{ ml}}{5.000 \text{ gram}} \times 100\% = 0,3\%}$$

$$\text{Destilasi II} = \boxed{\frac{15 \text{ ml}}{5.000 \text{ gram}} \times 100\% = 0,3\%}$$

$$\text{Total Rendemen} = \boxed{\frac{30 \text{ ml}}{10.000 \text{ gram}} \times 100\% = 0,3\%}$$

Jadi, total kadar minyak atsiri bangle (*Zingiber cassumunar* Roxb.) adalah 0,3%.

**Lampiran 9. Perhitungan bobot jenis minyak atsiri**

<b>Bobot timbang kosong (g)</b>	<b>Bobot timbang + air (g)</b>	<b>Bobot timbang + minyak (g)</b>		<b>Minyak atsiri (g)</b>	
		<b>Lengkuas merah</b>	<b>Bangle</b>	<b>Lengkuas merah</b>	<b>Bangle</b>
23,94	48,81	46,31	46,61	22,37	22,67
23,94	48,82	46,33	46,60	22,39	22,66
23,94	48,80	46,29	46,62	22,35	22,68
<b>Rata-rata</b>		<b>22,37</b>	<b>22,67</b>		

**Perhitungan bobot jenis**

1. **Bobot jenis lengkuas merah :**

$$\begin{aligned}
 \text{Bobot timbang + air} &= 48,81 \\
 \text{Bobot timbang kosong} &= \underline{23,94} \\
 \text{Bobot air} &= 24,87 \\
 \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{bobot minyak}}{\text{bobot air}} \\
 &= \frac{22,37}{24,87} = 0,8995
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Bobot timbang + air} &= 48,82 \\
 \text{Bobot timbang kosong} &= \underline{23,94} \\
 \text{Bobot air} &= 24,88 \\
 \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{bobot minyak}}{\text{bobot air}} \\
 &= \frac{22,39}{24,88} = 0,8999
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Bobot timbang + air} &= 48,80 \\
 \text{Bobot timbang kosong} &= \underline{23,94} \\
 \text{Bobot air} &= 24,86 \\
 \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{bobot minyak}}{\text{bobot air}} \\
 &= \frac{22,35}{24,86} = 0,8990
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Rata-rata bobot jenis minyak atsiri Lengkuas merah} &= \frac{0,8995+0,8999+0,8990}{3} \\ &= 0,8995\end{aligned}$$

## 2. Bobot jenis Bangle

$$\begin{aligned}\text{Bobot timbang + air} &= 48,81 \\ \text{Bobot timbang kosong} &= \underline{\underline{23,94}} \\ \text{Bobot air} &= 24,87 \\ \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{bobot minyak}}{\text{bobot air}} \\ &= \frac{22,67}{24,87} = 0,9115\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Bobot timbang + air} &= 48,82 \\ \text{Bobot timbang kosong} &= \underline{\underline{23,94}} \\ \text{Bobot air} &= 24,88 \\ \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{bobot minyak}}{\text{bobot air}} \\ &= \frac{22,66}{24,88} = 0,9108\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Bobot timbang + air} &= 48,80 \\ \text{Bobot timbang kosong} &= \underline{\underline{23,94}} \\ \text{Bobot air} &= 24,86 \\ \text{Bobot jenis minyak atsiri} &= \frac{\text{bobot minyak}}{\text{bobot air}} \\ &= \frac{22,68}{24,86} = 0,9123\end{aligned}$$

$$\text{Rata-rata berat jenis minyak atsiri bangle} = \frac{0,9115+0,9108+0,9123}{3} = 0,9115$$

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

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

Berat jenis minyak atsiri Lengkuas merah menurut praktek adalah 0,8995

Berat jenis minyak atsiri Bangle menurut praktek adalah 0,9115

Jadi berat jenis praktek sudah sesuai dengan berat jenis teoritis.

### Lampiran 10. Hasil perhitungan indeks bias minyak atsiri

Minyak atsiri	Nilai indeks bias	
	Hasil	Teoritis
Lengkuas merah	1,489	1,475
Bangle	1,490	1,3-1,7 (Guenther, 2006)

Perhitungan konversi suhu ruang dalam pemeriksaan indeks bias :

Faktor konversi setiap kenaikan  $1^{\circ}\text{C}$  = 0,0004

Indeks bias minyak atsiri lengkuas merah teoritis  $25^{\circ}\text{C}$  = 1,3 -1,7

Suhu ruang praktek  $30^{\circ}\text{C}$

Perhitungan:

$$\text{Konversi} = (30 - 25) \times 0,0004 = 0,002$$

$$\text{Indeks bias pada suhu } 30^{\circ}\text{C} = (1,3 + 0,002) - (1,7 + 0,002)$$

Jadi, indeks bias teoritis pada lengkuas merah adalah  $1,302 - 1,702$

$$\text{Konversi} = (30 - 25) \times 0,0004 = 0,002$$

$$\text{Indeks bias pada suhu } 30^{\circ}\text{C} = 1,475 + 0,002 = 1,477$$

Jadi, indeks bias teoritis pada bangle adalah 1,477

Indeks bias minyak atsiri lengkuas merah menurut praktek adalah 1,489

Indeks bias minyak atsiri bangle menurut prakrek adalah 1,490

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

**Lampiran 11. Pembuatan seri konsentrasi minyak atsiri lengkuas merah dan bangle metode difusi**

Konsentrasi tunggal

1. Konsentrasi 50%

$$\begin{aligned} V_1 \cdot N_1 &= V_2 \cdot N_2 \\ V_1 \cdot 100\% &= 2 \text{ ml} \cdot 50\% \\ V_1 &= \frac{100 \text{ ml}}{100} \\ V_1 &= 1 \text{ ml} \end{aligned}$$

Jadi, pipet 1 ml pada masing masing minyak atsiri lengkuas merah dan bangle, lalu di tambah 1 ml pelarut DMSO pada masing-masing minyak atsiri.

2. Konsentrasi 25%

$$\begin{aligned} V_1 \cdot N_1 &= V_2 \cdot N_2 \\ V_1 \cdot 100\% &= 2 \text{ ml} \cdot 25\% \\ V_1 &= \frac{50 \text{ ml}}{100} \\ V_1 &= 0,5 \text{ ml} \end{aligned}$$

Jadi, pipet 0,5 ml pada masing masing minyak atsiri lengkuas merah dan bangle, lalu di tambah 1,5 ml pelarut DMSO pada masing-masing minyak atsiri.

3. Konsentrasi 12,5%

$$\begin{aligned} V_1 \cdot N_1 &= V_2 \cdot N_2 \\ V_1 \cdot 100\% &= 2 \text{ ml} \cdot 12,5\% \\ V_1 &= \frac{25 \text{ ml}}{100} = 0,25 \text{ ml} \end{aligned}$$

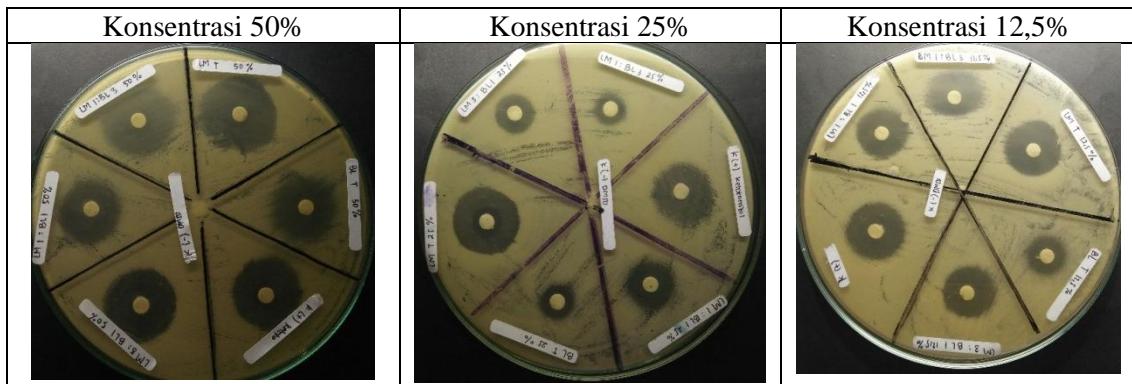
Jadi, pipet 0,25 ml pada masing masing minyak atsiri lengkuas merah dan bangle, lalu di tambah 1,75 ml pelarut DMSO pada masing-masing minyak atsiri.

Konsentrasi kombinasi

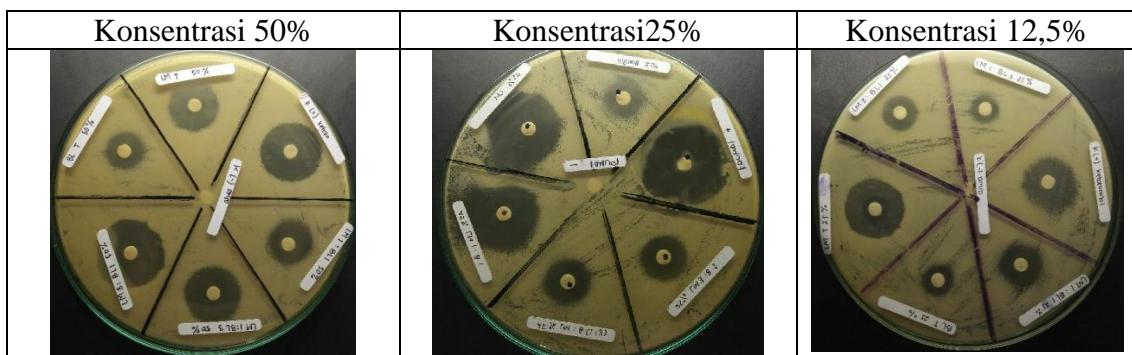
Konsentrasi	Lengkuas merah : Bangle (1 : 1)	Lengkuas merah : Bangle (1 : 3)	Lengkuas merah : bangle (3 : 1)
50%	1 ml : 1 ml	0,5 ml : 1,5 ml	1,5 ml : 0,5 ml
25%	1 ml : 1 ml	0,5 ml : 1,5 ml	1,5 ml : 0,5 ml
12,5%	1 ml : 1 ml	0,5 ml : 1,5 ml	1,5 ml : 0,5 ml

### Lampiran 12. Hasil uji difusi

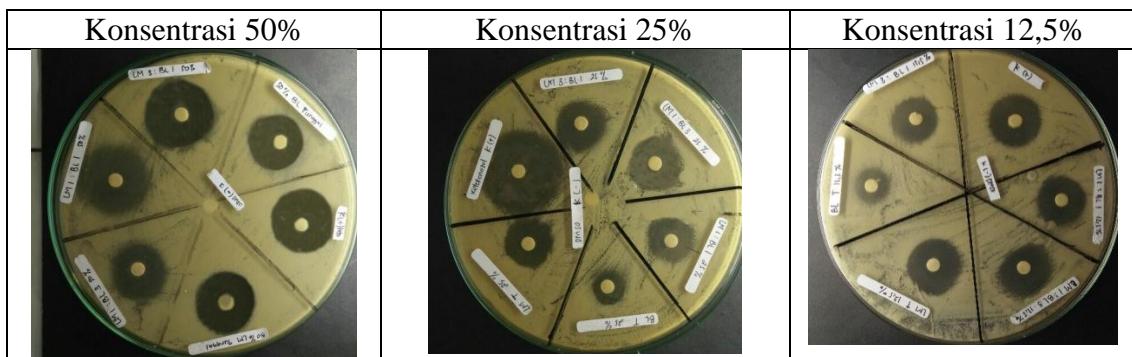
#### Uji difusi minyak atsiri tunggal dan kombinasi lengkuas merah : bangle replikasi 1



#### Uji difusi minyak atsiri tunggal dan kombinasi lengkuas merah : bangle replikasi 2

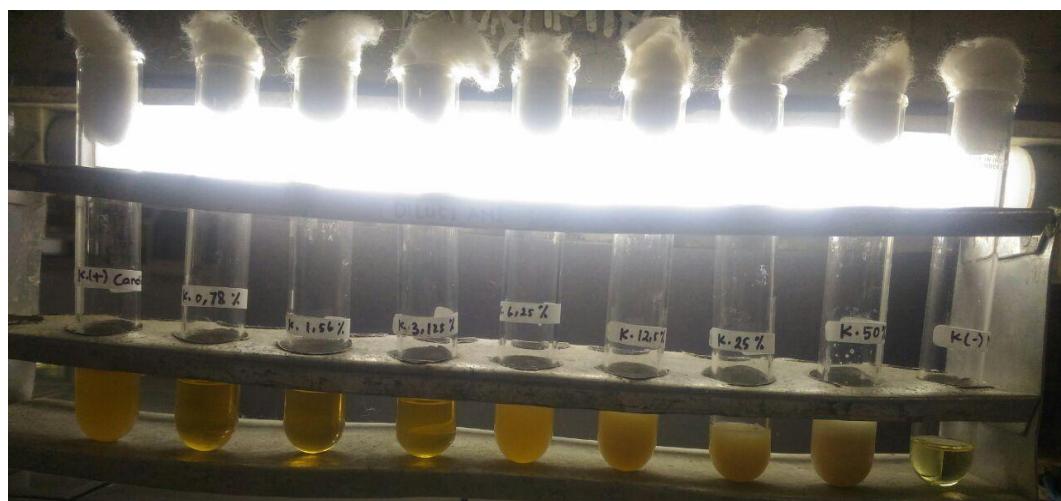


#### Uji difusi minyak atsiri tunggal dan kombinasi lengkuas merah : bangle replikasi 3

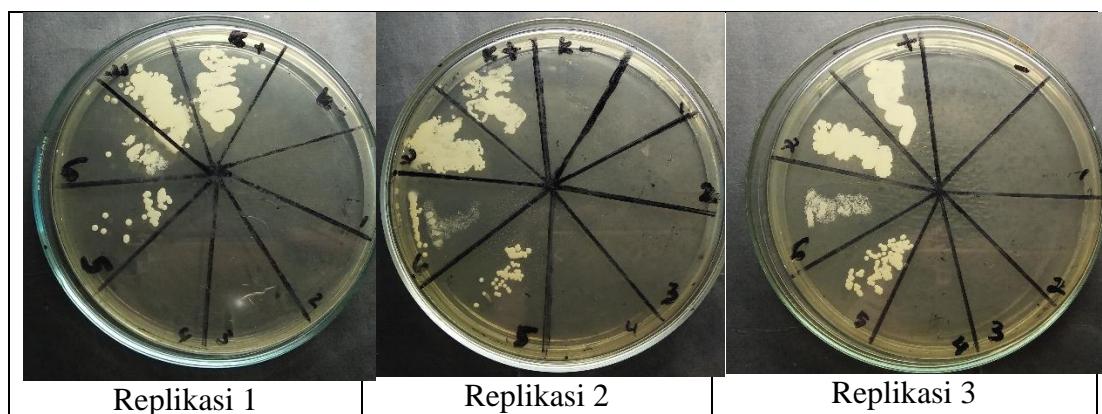


### Lampiran 13. Hasil uji dilusi

#### Uji dilusi dengan seri pengenceran konsentrasi dengan menggunakan media cair



#### Penentuan nilai KBM dengan penggoresan menggunakan media SGA



#### Keterangan :

K (-)	Kontrol sampel uji LM : BL	4	Konsentrasi 6,25%
K (+)	Kontrol suspensi jamur	5	Konsentrasi 3,125%
1	Konsentrasi 50%	6	Konsentrasi 1,56%
2	Konsentrasi 25%	7	Konsentrasi 0,78%
3	Konsentrasi 12,5%		

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

Replikasi	Konsentrasi (%)	Minyak atsiri tunggal (mm)		Kombinasi minyak atsiri (mm)		
		Lengkuas	bangle	1:1	1:3	3:1
1	50	26,05	20,13	24,52	20,97	26,38
2	25	22,32	18,08	22,98	19,4	21,77
3	12,5	18,80	14,08	19,23	18,62	20,62

Perhitungan rata-rata

- Kontrol obat (ketokonazole) 2%

$$\text{Replikasi I} = \frac{28,50+29,25+32,7}{3} = 30,15 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{30,30+31,35+33,20}{3} = 31,62 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{33,10+31,15+29,40}{3} = 31,22 \text{ mm}$$

- Kontrol DMSO 1%

$$\text{Replikasi I} = \frac{0+0+0}{3} = 0 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{0+0+0}{3} = 0 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{0+0+0}{3} = 0 \text{ mm}$$

- Tunggal Laos merah konsentrasi 12,5%, 25%, 50%

$$\text{Replikasi I} = \frac{18,25+19,85+18,30}{3} = 18,80 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{22,00+23,75+21,20}{3} = 22,32 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{24,80+26,35+27,00}{3} = 26,05 \text{ mm}$$

- Tunggal Bangle konsentrasi 12,5%, 25%, 50%

$$\text{Replikasi I} = \frac{14,20+12,60+15,45}{3} = 14,08 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{19,70+14,55+20,00}{3} = 18,08 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{16,05+20,35+22,40}{3} = 19,60 \text{ mm}$$

- Konsentrasi 12,5% perbandingan (1:1; 1:3; 3:1)

$$\text{Replikasi I} = \frac{18,00+20,00+19,70}{3} = 19,23 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{16,00 + 18,55 + 21,30}{3} = 18,61 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{19,25 + 22,60 + 20,00}{3} = 20,62 \text{ mm}$$

- Konsentrasi 25% perbandingan (1:1; 1:3; 3:1)

$$\text{Replikasi I} = \frac{26,25 + 19,50 + 23,20}{3} = 22,98 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{22,00 + 17,40 + 18,80}{3} = 19,40 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{21,40 + 20,90 + 23,00}{3} = 21,77 \text{ mm}$$

- Konsentrasi 50% perbandingan (1:1; 1:3; 3:1)

$$\text{Replikasi I} = \frac{27,25 + 24,00 + 22,05}{3} = 24,43 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi II} = \frac{24,00 + 17,10 + 21,80}{3} = 20,97 \text{ mm}$$

$$\text{Replikasi III} = \frac{22,90 + 28,65 + 27,60}{3} = 26,38 \text{ mm}$$

**Lampiran 15. Pembuatan media pada uji**

## 1. Sabouraud Glukose Agar

- SGA 65 g/l
- Aquadest 1 liter
- Kloramfenikol 200 mg/l

Menimbang sebanyak 65 gram SGA, dilarutkan ke dalam 1 liter aquadest, ditambah kloramfenikol 200 mg, dipanaskan sampai mendidih dan larut sempurna. Masukkan media SGA ke dalam erlenmeyer, tutup mulut erlenmeyer dengan kapas, kemudian disterilkan dengan autoklaf.

## 2. Sabouraud Glukose Cair

- SGC 30 g/l
- Aquadest 1 liter
- Koramfenikol 200 mg/l

Menimbang sebanyak 30 gram SGC, dilarutkan ke dalam 1 liter aquadest, ditambah koramfenikol 200 mg, dipanaskan sampai mendidih dan larut sempurna. Masukkan ke dalam tabung reaksi masing-masing 30 ml, tutup mulut tabung reaksi dengan kapas, sterilkan dengan autoklaf.

## 3. Media gula-gula

- Meat extract 3 g/l
- Pepton from gelatin 5 g/l
- Glukosa/Maltosa/Sukrosa/Laktosa 5 g/l

Menimbang semua bahan, dilarutkan dengan aquadest @20 ml dalam beaker glass . memindahkan ke dalam 5 tabung yang berisi tabung durham untuk reaksi fermentasi dan 5 tabung durham untuk reaksi asimilasi @10 ml, kemudian tambahkan 1 tetes fenol red, lalu disterilkan dengan autoklaf. Dinginkan dibawah air mengalir, menggores 1-2 ose *Candida albicans*. Mengamati adanya gas pada reaksi fermentasi atau perubahan warna dari merah menjadi kuning yang menandakan suatu asam pada reaksi fermentasi dan asimilasi.

Perhitungan :

$$\text{Meat extract } 3 \text{ g/l} = 3 \text{ g/1000 ml} \times 40 \text{ ml}$$

$$= 0,12 \text{ g}$$

$$\text{Pepton } 5 \text{ g/l} = 5 \text{ g/1000 ml} \times 40 \text{ ml}$$

$$= 0,2 \text{ g}$$

$$\text{Glukosa/Maltosa/Sukrosa/Laktosa } 5 \text{ g/l} = 5 \text{ g/1000ml} \times 40 \text{ ml}$$

$$= 0,2 \text{ g}$$

**Lampiran 16. Analisa hasil diameter hamabat pada uji difusi dengan ANOVA two way**

Tests of Normality

	bahan uji	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
diameter zona hambat	Kontrol obat ketokonazole	,162	9	,200	,935	9	,530
	Minyak atsiri Laos merah	,228	9	,195	,880	9	,156
	Minyak atsiri Bangle	,192	9	,200	,891	9	,207
	Kombinasi LM1 : BL1	,181	9	,200	,942	9	,603
	Kombinasi LM1 : BL3	,131	9	,200	,960	9	,801
	Kombinasi LM3 : BL1	,262	9	,074	,865	9	,109

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

a. Lilliefors Significance Correction

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

Dependent Variable: diameter zona hambat

F	df1	df2	Sig.
1,168	17	36	,337

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

a. Design: Intercept + konsentrasi + bahanuji + konsentrasi \* bahanuji

**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: diameter zona hambat

Tukey HSD

(I) konsentrasi	(J) konsentrasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
50%	25%	6,9556	,76378	,000	5,0887	8,8225
	12,5%	5,4000	,76378	,000	3,5331	7,2669
25%	50%	-6,9556	,76378	,000	-8,8225	-5,0887
	12,5%	-1,5556	,76378	,118	-3,4225	,3113
12,5%	50%	-5,4000	,76378	,000	-7,2669	-3,5331
	25%	1,5556	,76378	,118	-,3113	3,4225

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 5,250.

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

**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: zona hambat  
 Tukey HSD

(I) bahan uji	(J) bahan uji	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol obat minyak atsiri lengkuas merah ketokonazole	minyak atsiri lengkuas	8,6056*	1,17496	,000	5,0706	12,1405
	minyak atsiri bangle	13,0722*	1,17496	,000	9,5373	16,6072
	kombinasi LM 1: BL1	8,7167*	1,17496	,000	5,1817	12,2516
	kombinasi LM 1: BL 3	11,3333*	1,17496	,000	7,7984	14,8683
	kombinasi LM 3: BL 1	8,0722*	1,17496	,000	4,5373	11,6072
minyak atsiri lengkuas merah	kontrol obat ketokonazole	-8,6056	1,17496	,000	-12,1405	-5,0706
	minyak atsiri bangle	4,4667*	1,17496	,007	,9317	8,0016
	kombinasi LM 1: BL1	,1111	1,17496	,1,000	-3,4238	3,6461
	kombinasi LM 1: BL 3	2,7278	1,17496	,212	-,8072	6,2627
	kombinasi LM 3: BL 1	-,5333	1,17496	,997	-4,0683	3,0016
minyak atsiri bangle	kontrol obat ketokonazole	-13,0722*	1,17496	,000	-16,6072	-9,5373
	minyak atsiri lengkuas merah	-4,4667*	1,17496	,007	-8,0016	-,9317
	kombinasi LM 1: BL1	-4,3556*	1,17496	,008	-7,8905	-,8206
	kombinasi LM 1: BL 3	-1,7389	1,17496	,679	-5,2738	1,7961
	kombinasi LM 3: BL 1	-5,0000*	1,17496	,002	-8,5350	-1,4650
kombinasi LM 1: BL1	kontrol obat ketokonazole	-8,7167	1,17496	,000	-12,2516	-5,1817
	minyak atsiri lengkuas merah	-,1111	1,17496	,1,000	-3,6461	3,4238
	minyak atsiri bangle	4,3556*	1,17496	,008	,8206	7,8905
	kombinasi LM 1: BL 3	2,6167	1,17496	,251	-,9183	6,1516
	kombinasi LM 3: BL 1	-,6444	1,17496	,994	-4,1794	2,8905
kombinasi LM 1: BL 3	kontrol obat ketokonazole	-11,3333	1,17496	,000	-14,8683	-7,7984
	minyak atsiri lengkuas merah	-2,7278	1,17496	,212	-6,2627	,8072
	minyak atsiri bangle	1,7389	1,17496	,679	-1,7961	5,2738
	kombinasi LM 1: BL1	-2,6167	1,17496	,251	-6,1516	,9183
	kombinasi LM 3: BL 1	-3,2611	1,17496	,085	-6,7961	,2738
kombinasi LM 3: BL 1	kontrol obat ketokonazole	-8,0722*	1,17496	,000	-11,6072	-4,5373
	minyak atsiri lengkuas merah	,5333	1,17496	,997	-3,0016	4,0683
	minyak atsiri bangle	5,0000*	1,17496	,002	1,4650	8,5350
	kombinasi LM 1: BL1	,6444	1,17496	,994	-2,8905	4,1794
	kombinasi LM 1: BL 3	3,2611	1,17496	,085	-,2738	6,7961

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 6,212.

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

**diameter zona hambat**Tukey HSD<sup>a,b</sup>

Konsentrasi	N	Subset	
		1	2
25%	18	19,7361	
12,5%	18	21,2917	
50%	18		26,6917
Sig.		,118	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 5,250.

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

b. Alpha = ,05.

**zona hambat**Tukey HSD<sup>a,b</sup>

bahan uji	N	Subset		
		1	2	3
minyak atsiri bangle	9	17,9222		
kombinasi LM 1: BL 3	9	19,6611	19,6611	
kombinasi LM 1: BL1	9		22,2778	
minyak atsiri lengkuas merah	9		22,3889	
kombinasi LM 3: BL 1	9		22,9222	
kontrol obat ketokonazole	9			30,9944
Sig.		,679	,085	1,000

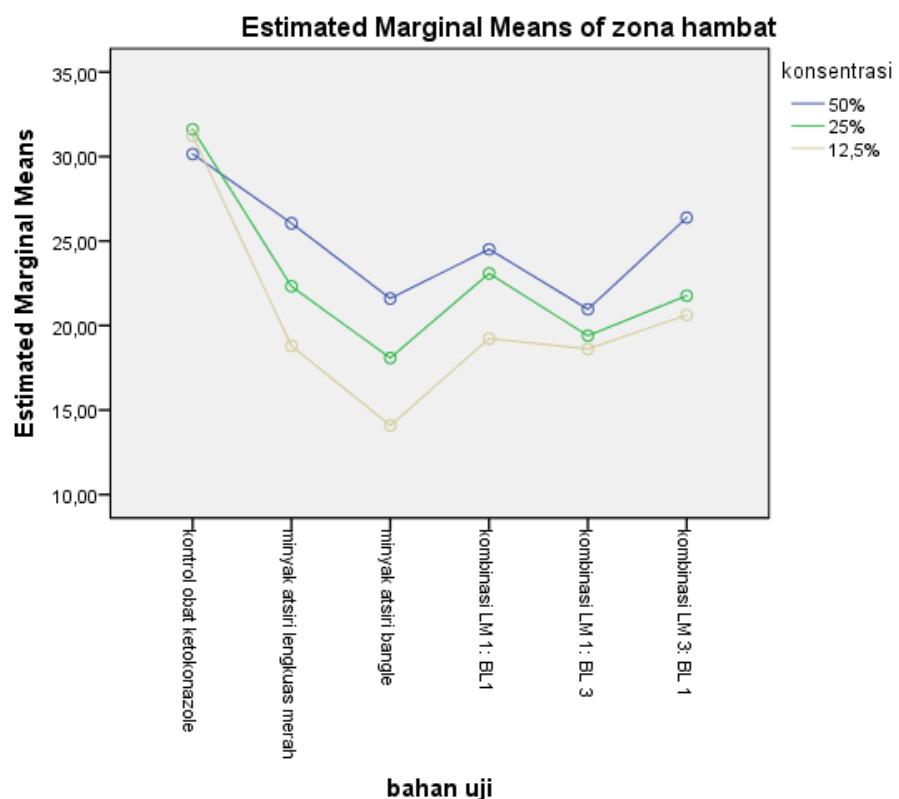
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 6,212.

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

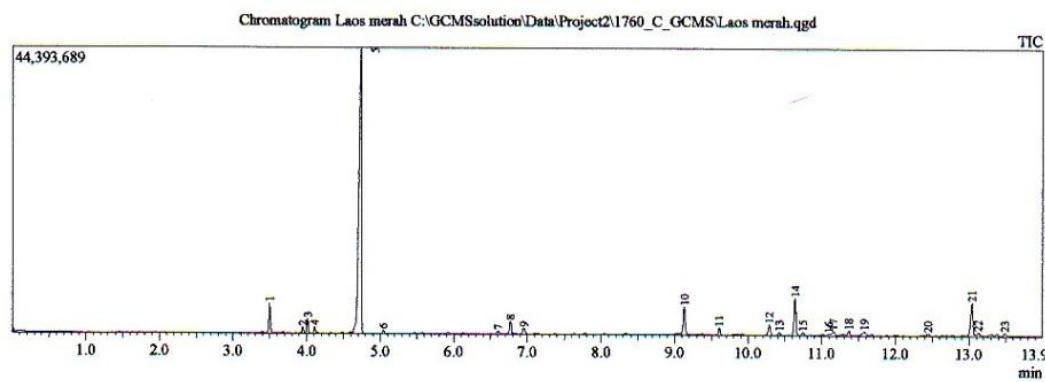
b. Alpha = ,05.



## Lampiran 17. Hasil analisa minyak atsiri dengan GC-MS

Sample Information

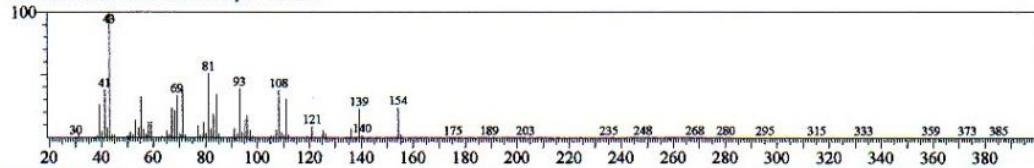
Analyzed by : Admin  
 Analyzed : 5/23/2018 9:46:23 AM  
 Sample Name : Laos merah  
 Sample ID : 1  
 Injection Volume : 0.10  
 Data File : C:\GCMSSolution\Project2\1760\_C\_GCMS\Laos merah.qgd  
 Tuning File : C:\GCMSSolution\System\Tune\Tuning 01082017.qgt



Peak Report TIC						
Peak#	R.Time	I.Time	F.Time	Area	Area%	Height
1	3.499	3.445	3.535	6240425	3.63	4612609
2	3.947	3.915	3.980	1309736	0.76	903374
3	4.012	3.980	4.060	3341901	1.95	2246302
4	4.109	4.075	4.140	1261339	0.73	948121
5	4.733	4.620	4.785	109605026	63.79	44259302
6	5.045	5.010	5.080	693837	0.40	467385
7	6.601	6.565	6.640	761100	0.44	397990
8	6.770	6.725	6.815	3412258	1.99	1949207
9	6.952	6.910	7.010	1925997	1.12	878490
10	9.133	9.075	9.180	8239960	4.80	4293497
11	9.607	9.565	9.645	1803804	1.05	1083327
12	10.288	10.240	10.335	3114175	1.81	1601303
13	10.423	10.385	10.460	719485	0.42	400033
14	10.637	10.585	10.690	10457653	6.09	5753038
15	10.745	10.690	10.790	816284	0.48	426129
16	11.095	11.070	11.135	620274	0.36	187591
17	11.160	11.135	11.220	1263676	0.74	628281
18	11.366	11.335	11.410	1205364	0.70	697647
19	11.574	11.515	11.635	1734279	1.01	569844
20	12.444	12.410	12.490	594428	0.35	297251
21	13.040	12.975	13.090	10816158	6.30	5116752
22	13.126	13.090	13.180	1106091	0.64	507741
23	13.488	13.455	13.530	770734	0.45	434978
				171813984	100.00	78660192

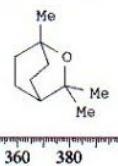
&lt;&lt; Target &gt;&gt;

Line#:5 R.Time:4.735(Scan#:948) MassPeaks:243  
 RawMode:Averaged 4.730-4.740(947-949) BasePeak:43.05(4934350)  
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



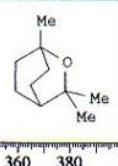
Hit#:1 Entry:43986 Library:WILEY7.LIB

SI:97 Formula:C10 H18 O CAS:470-82-6 MolWeight:154 RetIndex:0  
 CompName:1,8-Cineole \$\$ 2-Oxabicyclo[2.2.2]octane, 1,3,3-trimethyl- (CAS) Terpan \$\$ Zineol \$\$ Eucapur \$\$ p-Cineole \$\$ Cajeputol \$\$ Eucalyptol :



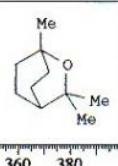
Hit#:2 Entry:43987 Library:WILEY7.LIB

SI:95 Formula:C10 H18 O CAS:470-82-6 MolWeight:154 RetIndex:0  
 CompName:1,8-Cineole \$\$ 2-Oxabicyclo[2.2.2]octane, 1,3,3-trimethyl- (CAS) Terpan \$\$ Zineol \$\$ Eucapur \$\$ p-Cineole \$\$ Cajeputol \$\$ Eucalyptol :



Hit#:3 Entry:43981 Library:WILEY7.LIB

SI:93 Formula:C10 H18 O CAS:470-82-6 MolWeight:154 RetIndex:0  
 CompName:1,8-Cineole \$\$ 2-Oxabicyclo[2.2.2]octane, 1,3,3-trimethyl- (CAS) Terpan \$\$ Zineol \$\$ Eucapur \$\$ p-Cineole \$\$ Cajeputol \$\$ Eucalyptol :



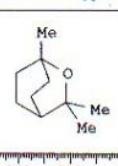
Hit#:4 Entry:43026 Library:WILEY7.LIB

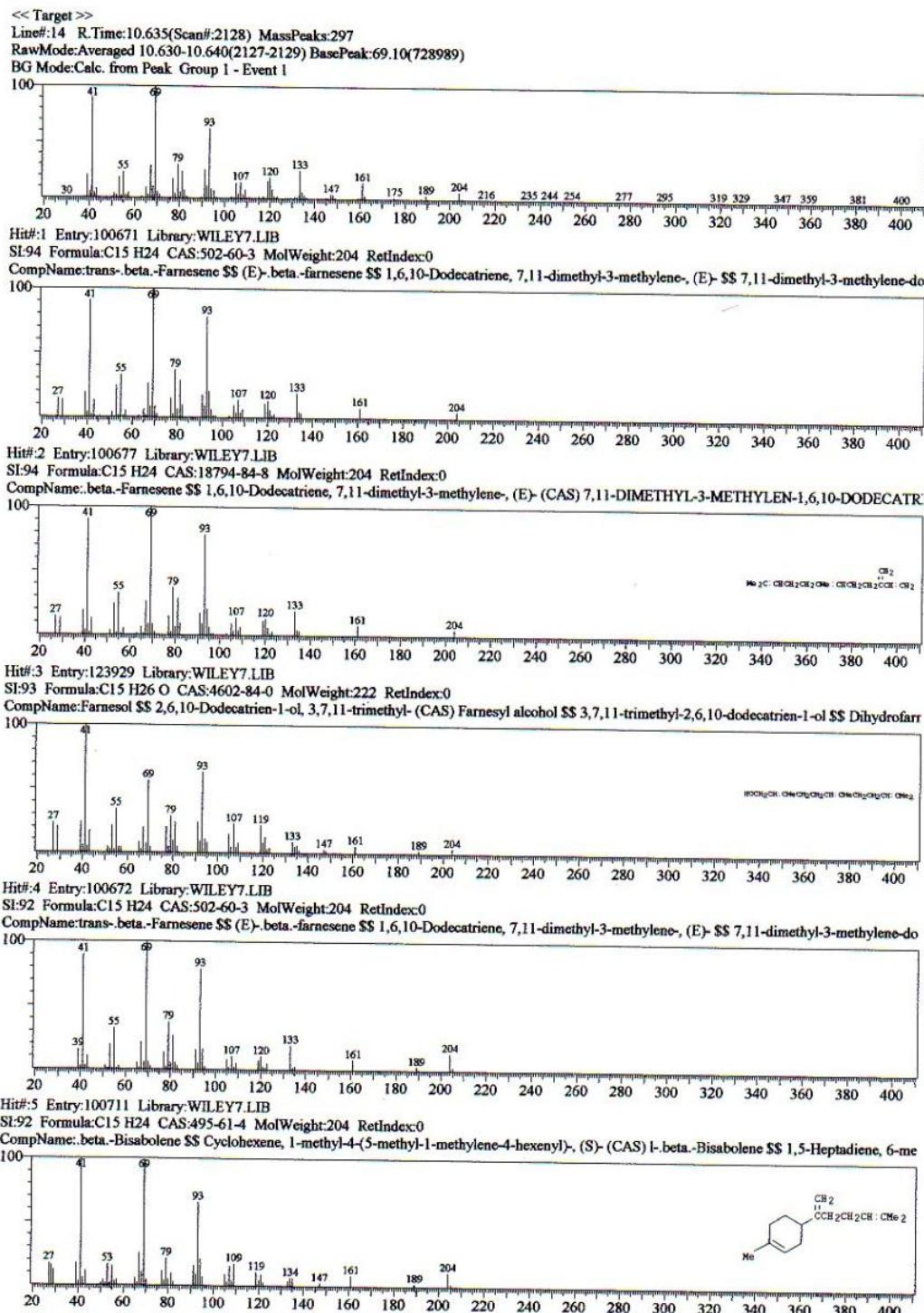
SI:93 Formula:C10 H18 O CAS:0-00-0 MolWeight:154 RetIndex:0  
 CompName:EUCA LYPTOL (1,8-CINEOLE) \$\$

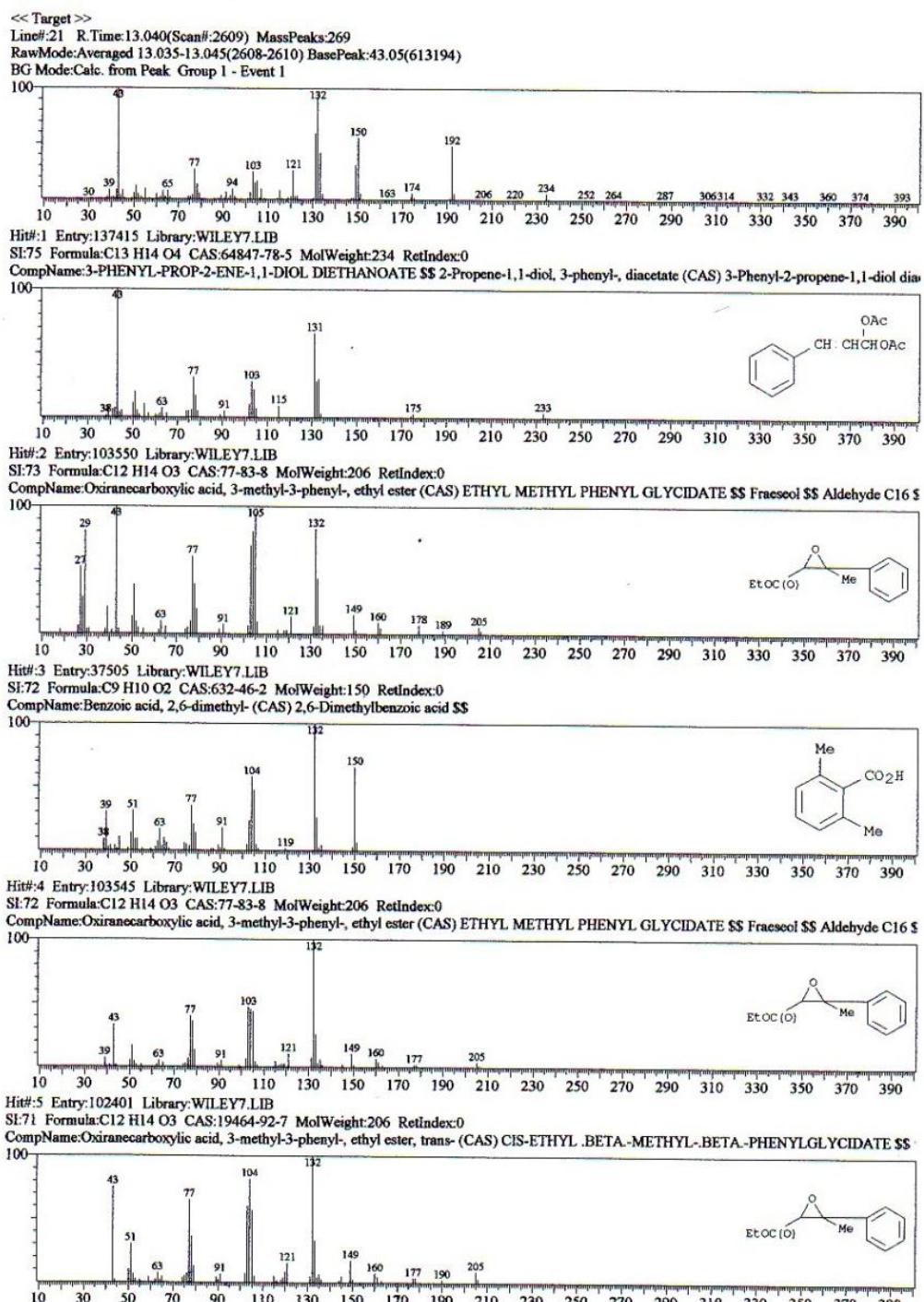


Hit#:5 Entry:43993 Library:WILEY7.LIB

SI:93 Formula:C10 H18 O CAS:470-82-6 MolWeight:154 RetIndex:0  
 CompName:1,8-Cineole \$\$ 2-Oxabicyclo[2.2.2]octane, 1,3,3-trimethyl- (CAS) Terpan \$\$ Zineol \$\$ Eucapur \$\$ p-Cineole \$\$ Cajeputol \$\$ Eucalyptol :

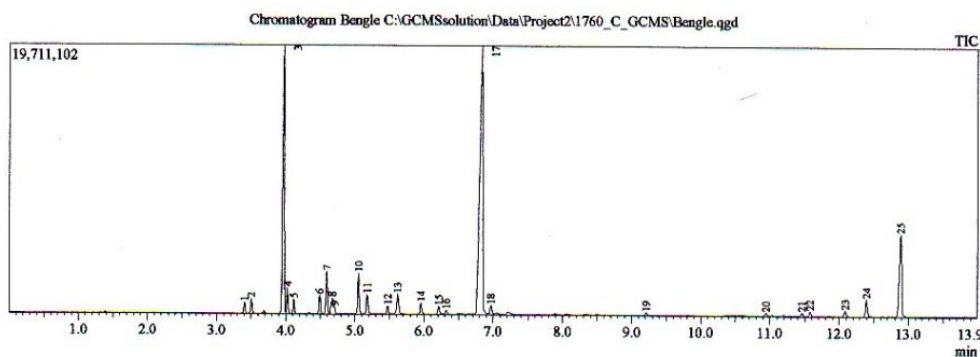






**Sample Information**

Analyzed by : Admin  
 Analyzed : 5/23/2018 10:38:57 AM  
 Sample Name : Bengle  
 Sample ID : 4  
 Injection Volume : 0.10  
 Data File : C:\GCMSsolution\Project2\1760\_C\_GCMS\Bengle.qgd  
 Tuning File : C:\GCMSsolution\System\Tune1\Tuning\_01082017.qgt



Peak#	R.Time	LTime	E.Time	Area	Area%	Height
1	3.408	3.375	3.445	1047587	0.73	783217
2	3.505	3.445	3.540	1417622	0.99	1058686
3	3.969	3.915	4.000	32217015	22.42	19569531
4	4.025	4.000	4.065	2525695	1.76	1884186
5	4.117	4.065	4.155	1424600	0.99	1044830
6	4.492	4.455	4.530	2035700	1.42	1346456
7	4.593	4.540	4.625	4821353	3.36	3128230
8	4.673	4.625	4.695	2470810	1.72	1146177
9	4.705	4.695	4.740	564992	0.39	497218
10	5.054	5.010	5.095	4607767	3.21	2990567
11	5.179	5.135	5.230	2363443	1.64	1424028
12	5.473	5.435	5.515	932832	0.65	580225
13	5.620	5.545	5.680	2825284	1.97	1427974
14	5.955	5.915	6.000	1417113	0.99	819950
15	6.212	6.175	6.260	1068198	0.74	566724
16	6.323	6.260	6.360	472338	0.33	254285
17	6.838	6.735	6.910	60898762	42.38	19637385
18	6.968	6.910	7.015	1165890	0.81	619950
19	9.209	9.180	9.245	295907	0.21	176528
20	10.943	10.910	10.985	382788	0.27	188288
21	11.460	11.430	11.500	401234	0.28	231491
22	11.579	11.520	11.620	610845	0.43	337414
23	12.087	12.050	12.130	777573	0.54	408788
24	12.395	12.350	12.445	2345109	1.63	1233572
25	12.891	12.815	12.945	14612784	10.17	6019131
				143703223	100.00	67374831

