

ISOLASI, IDENTIFIKASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI
MINYAK ATSIRI RIMPANG LEMPUYANG WANGI
(Zingiber aromaticum Val)



Disusun Oleh :
NIRUB WIJAYA BUDI RESPATI
M0305045

SKRIPSI

Ditulis dan diajukan untuk memenuhi sebagian
persyaratan mendapatkan gelar Sarjana Sains Kimia

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
SURAKARTA
2010

HALAMAN PENGESAHAN

Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas
Sebelas Maret telah mengesahkan skripsi mahasiswa:

Nirub Wijaya Budi Respati NIM M0305045, dengan judul "Isolasi, Identifikasi
dan Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Rimpang Lempuyang Wangi
(*Zingiber aromaticum* Val)"

Skripsi ini dibimbing oleh:

Pembimbing I

Pembimbing II

Nestri Handayani, M.Si, Apt.
NIP. 19701211 200501 2001

Muh. Widyo Wartono, M.Si.
NIP. 19760822 200501 1001

Dipertahankan di depan Tim Penguji Skripsi pada:

Hari : Selasa

Tanggal : 22 Juni 2010

Anggota tim Penguji :

1. Achmad Ainurofiq, M.Si, Apt.
NIP. 19780319 200501 1003

1.

2. Dr. Sayekti Wahyuningsih, M.Si
NIP. 19711211 199702 2001

2.

Ketua Jurusan Kimia

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Sebelas Maret Surakarta

Prof. Drs. Sentot Budi Rahardjo, Ph.D.
NIP. 19560507 198601 1001

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi saya yang berjudul “Isolasi, Identifikasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Rimpang Lempuyang Wangi (*Zingiber aromaticum* Val)” adalah benar – benar hasil penelitian sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat kerja atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surakarta, Juni 2010

Nirub Wijaya Budi Respati

**ISOLASI, IDENTIFIKASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI
MINYAK ATSIRI RIMPANG LEMPUYANG WANGI
(*Zingiber aromaticum* Val)**

NIRUB WIJAYA BUDI RESPATI

Jurusan Kimia. Fakultas MIPA. Universitas Sebelas Maret.

ABSTRAK

Isolasi, identifikasi dan uji aktivitas antibakteri minyak atsiri rimpang lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* Val) telah dilakukan. Minyak atsiri diisolasi dengan metode destilasi Stahl dan dianalisis dengan GC-MS. Kadar minyak atsiri yang dihasilkan 0,6% (v/b). Identifikasi komponen dilakukan dengan membandingkan spektrum massa masing-masing senyawa dengan spektrum massa senyawa standar dari literatur *Wiley 7. LIB*. Hasil analisa menunjukkan 27 senyawa teridentifikasi, dengan komponen utamanya antara lain zerumbon (31,05%), α -terpinolen (27,19%), kamfena (10,91%), α -humulen (7,53%), 1,8-sineol (2,75%), kamfor (2,71%), (*Z*)- β -osimen (2,70%), (-)-kariofilen oksida (2,07%), isobornil alkohol (1,51%) dan terpinen-4-ol (1,11%).

Uji aktivitas antibakteri minyak atsiri rimpang lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* Val) telah dilakukan terhadap *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus* dan *Salmonella typhi* dengan metode difusi agar menggunakan teknik sumuran. Hasil uji antibakteri menunjukkan bahwa minyak atsiri rimpang lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* Val) memiliki aktivitas antibakteri terhadap semua bakteri uji dengan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) 0,25% (v/v) untuk *Pseudomonas aeruginosa*, 0,075% (v/v) untuk *Bacillus cereus* dan 0,1% (v/v) untuk *Salmonella typhi*. Dibandingkan dengan amoksisilin, potensi antibakteri minyak atsiri rimpang lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* Val) pada ketiga bakteri uji adalah 0,001% dari potensi amoksisilin.

Kata kunci : *Zingiber aromaticum* Val, minyak atsiri, isolasi, identifikasi, aktivitas antibakteri.

ISOLATION, IDENTIFICATION AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ESSENTIAL OIL FROM *Zingiber aromaticum* Val RHIZOMES

NIRUB WIJAYA BUDI RESPATI

Department of Chemistry, Mathematics and Natural Sciences Faculty,
Sebelas Maret University.

ABSTRACT

Isolation, identification and antibacterial activity of essential oil from *Zingiber aromaticum* Val rhizomes have been done. The essential oil was isolated by Stahl distillation method and analyzed by gas chromatography and mass spectrometry (GC-MS). The yield of the essential oil was 0.6% (v/w) and the compounds were determined by comparing their mass spectrum with mass spectrum standart from the *Wiley 7. LIB*. Twenty seven compounds were identified, the major compounds were zerumbone (31.05%), α -terpinolene (27.19%), camphene (10.91%), α -humulene (7.53%), 1,8-cineole (2.75%), champor (2.71%), (Z)- β -ocimene (2.70%), (-)-caryophyllene oxide (2.07%), isobornyl alcohol (1.51%) and terpinene-4-ol (1.11%).

The antibacterial activity of essential oil from *Zingiber aromaticum* Val rhizomes was tested against *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus* and *Salmonella typhi* used a disc diffusion method with cup-plate technique. The results showed that the essential oil from *Zingiber aromaticum* Val rhizomes has antibacterial activity to of all tested bacteria with Minimal Inhibitory Concentration (MIC) was 0.25% (v/v) for *Pseudomonas aeruginosa*, 0.075% (v/v) for *Bacillus cereus* and 0.1% (v/v) for *Salmonella typhi*. Compared with amoxicillin, the antibacterial activity of essential oil from *Zingiber aromaticum* Val rhizomes was 0.001% of amoxicillin, at of all tested bacteria.

Keyword : *Zingiber aromaticum* Val, essential oil, isolation, identification, antibacterial activity

MOTTO

*“Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan.
Maka apabila kamu telah selesai dari suatu urusan, kerjakanlah dengan sungguh –
sungguh urusan yang lain”
(Q.S. Al-Insyirah : 6-7)*

*“Kesalahan terbesar adalah memiliki rasa takut akan berbuat salah”
(Elbert Hubbard)*

*“Jika engkau telah melakukan kesalahan, maka cobalah belajar dari kesalahan itu.
Kemudian tinggalkan kesalahan itu setelah mengambil pelajarannya”
(DR Aidh al Qarni)*

*“Sahabat,, ketika usahamu dinilai tak jua membuahakan hasil maka kau sedang belajar
arti keikhlasan. Ketika kau letih dan tak tau harus kemana melangkah, maka kau
sedang belajar arti pengorbanan. Ketika cobaan datang menyapamu, maka kau sedang
belajar untuk lebih bersyukur dan mendekat kepada-NYA”
Berusaha, Berdoa dan Tetap Semangaaat!!!
(Sahabat)*

PERSEMBAHAN

Aku persembahkan karya sederhanaku ini untuk:

- ❖ *Bapak dan Ibu tercinta yang tiada lelah mencurahkan kasih sayang, dukungan, kepercayaan, pengorbanan, do'a dan segalanya...*
- ❖ *Kakak-adikku tersayang, mas Iwan & Ria yang setia menemani lewati hitam putihnya hidup ini,*
- ❖ *Mas TrieMoy Thank's untuk do'a, motivasi & pengertiannya...*
- ❖ *Teman-teman Kimia'05
Ayo semangat !!!*

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah Robbil' alamin, puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah memberikan segala nikmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul "Isolasi, Identifikasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Rimpang Lempuyang Wangi (*Zingiber aromaticum* Val). Skripsi ini diajukan untuk memenuhi sebagian persyaratan guna mencapai gelar Sarjana Sains dari Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini tidak akan selesai tanpa adanya bantuan dari berbagai pihak. Untuk itu, penulis menyampaikan rasa terima kasih yang sedalam - dalamnya kepada:

1. Bapak Prof. Drs. Sutarno, Msc. Ph.D. selaku Dekan FMIPA UNS.
2. Bapak Prof. Drs. Sentot Budi Rahardjo, Ph.D. selaku Ketua Jurusan Kimia.
3. Ibu Nestri Handayani, M.Si., Apt. selaku Dosen Pembimbing I dan Bapak Muh. Widyo Wartono, M.Si. selaku Dosen Pembimbing II, yang telah meluangkan waktunya, selalu sabar memberikan arahan dan bimbingan serta motivasi dalam membimbing penulis selama menyelesaikan skripsi.
4. Bapak Patiha, MS selaku Pembimbing Akademik yang telah memberikan saran dan motivasi kepada penulis selama masa studi.
5. Bapak I.F. Nurcahyo, M.Si. selaku Ketua Laboratorium Kimia Dasar FMIPA UNS dan Ibu Sholichatun, M.Si. selaku Ketua Sub Laboratorium Biologi Laboratorium Pusat FMIPA UNS.
6. Bapak, Ibu Dosen F MIPA UNS atas semua ilmu yang berguna dalam penyusunan skripsi ini.
7. Para laboran di Laboratorium Kimia (Mbak Nanik & Mas Anang) dan Laboran di Sub Laboratorium Biologi (Pak Har, Pak Sus, Pak Setyono & Mas Lantip) terimakasih atas bantuan dan kerjasamanya dengan baik.
8. Sahabat-sahabatku: Dieni, Lani, Anti, Tinneke, dan Ovi terima kasih atas bantuan, doa dan *support*-nya.
9. Teman-teman kimia'05: Rina, Erna, Dwi, Ida, Syarif, Wahyu, Rahmat,

Kuala, Dian, Ocha, Hani, Handa, Ana, Sofi, Erma, Sulis, Arin, Lenia, Nia, Ijup, Okvli, Nindy, mbak Semi, Nurul, Aminah, Tita, Anggi terima kasih atas bantuan, doa dan dorongan temen-temen.

10. Teman-teman kimia'04: mbak Maratus, mbak Isah, mbak Qoshos, mbak Icha, mbak Indah, mas Tris dan mas Rizal yang telah memberikan tempat bertukar pikiran.

11. Semua pihak yang telah membantu penulisan skripsi ini, yang tidak dapat penulis sebutkan namanya satu persatu, terima kasih.

Semoga Allah SWT membalas jerih payah dan pengorbanan yang telah diberikan dengan balasan yang lebih baik. Amin.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh sebab itu, saran dan kritik yang membangun sangat diharapkan untuk perbaikan di masa mendatang. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat dan berguna bagi yang membacanya.

Surakarta, Juni 2010

Nirub Wijaya Budi Respati

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
MOTTO	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I. PENDAHULUAN	1
A. Latar belakang masalah	1
B. Perumusan masalah	3
1. Identifikasi masalah	3
2. Batasan masalah	5
3. Rumusan masalah	5
C. Tujuan Penelitian	5
D. Manfaat penelitian	6
BAB II. LANDASAN TEORI	7
A. Tinjauan pustaka	7
1. Tanaman <i>Zingiber aromaticum</i> Val.....	7
a. Klasifikasi tanaman.....	7
b. Nama daerah.....	8
c. Deskripsi tanaman.....	8
d. Rimpang	8
e. Khasiat.....	9
f. Kandungan kimia.....	9

2. Minyak atsiri.....	10
a. Monoterpenoid.....	11
b. Seskuiterpenoid.....	12
3. Isolasi Minyak Atsiri.....	12
4. Kromatografi Gas- Spektrometer Massa.....	16
5. Bakteri.....	18
6. Antibiotik.....	24
7. Uji aktivitas antibakteri.....	27
8. KHM dan uji potensi.....	29
B. Kerangka Pemikiran.....	30
C. Hipotesis.....	32
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN.....	33
A. Metode Penelitian.....	33
B. Waktu dan tempat penelitian.....	33
C. Alat dan bahan.....	33
1. Alat.....	33
2. Bahan.....	34
D. Prosedur penelitian	34
1. Identifikasi dan determinasi bahan awal.....	34
2. Persiapan sampel.....	34
3. Isolasi minyak atsiri	34
4. Analisis GC-MS.....	35
5. Uji aktivitas antibakteri.....	35
E. Teknik Pengumpulan dan Analisis Data	37
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	38
A. Persiapan sampel	38
B. Isolasi minyak atsiri	38
C. Hasil analisis GC-MS.....	39
D. Uji aktivitas antibakteri.....	49
1. Aktivitas antibakteri minyak atsiri.....	49
2. KHM minyak atsiri	53
3. KHM amoksisilin.....	55

4. Potensi antibakteri minyak atsiri dibanding amoksisilin.....	57
BAB V. PENUTUP	59
A. Kesimpulan	59
B. Saran	60
DAFTAR PUSTAKA	61
LAMPIRAN	67

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Fragmentasi senyawa puncak 3 dibandingkan dengan senyawa kamfena.....	40
Tabel 2. Fragmentasi senyawa puncak 13 dibandingkan dengan senyawa α -terpinolen	41
Tabel 3. Fragmentasi senyawa puncak 23 dibandingkan dengan senyawa α -humulen	43
Tabel 4. Fragmentasi senyawa puncak 13 dibandingkan dengan senyawa zerumbon	44
Tabel 5. Komponen minyak atsiri rimpang <i>Zingiber aromaticum</i> Val.....	45
Tabel 6. Data DDH minyak atsiri rimpang <i>Zingiber aromaticum</i> Val terhadap bakteri uji	50
Tabel 7. Data penentuan KHM minyak atsiri rimpang <i>Zingiber aromaticum</i> Val pada ketiga bakteri uji	54
Tabel 8. Data penentuan KHM amoksisilin terhadap ketiga bakteri uji	56
Tabel 9. Potensi minyak atsiri rimpang <i>Zingiber aromaticum</i> Val dibanding dengan amoksisilin	58

DAFTAR GAMBAR

		Halaman
Gambar 1.	Tanaman <i>Zingiber aromaticum</i> Val.....	7
Gambar 2.	Unit isoprena.....	10
Gambar 3.	Contoh senyawa monoterpen.....	11
Gambar 4.	Contoh senyawa seskuiterpen.....	12
Gambar 5.	Skema alat GC-MS.....	16
Gambar 6.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	18
Gambar 7.	<i>Salmonella typhi</i>	20
Gambar 8.	<i>Bacillus cereus</i>	21
Gambar 9.	Struktur amoksisilin	26
Gambar 10.	Kromatogram minyak atsiri rimpang <i>Zingiber aromaticum</i> Val	39
Gambar 11.	a. Spektra massa senyawa puncak 3.....	40
	b. Spektra massa senyawa kamfena	40
Gambar 12.	a. Spektra massa senyawa puncak 13.....	41
	b. Spektra massa senyawa α -terpinolen.....	41
Gambar 13.	a. Spektra massa senyawa puncak 23.....	42
	b. Spektra massa senyawa α -humulen.....	42
Gambar 14.	a. Spektra massa senyawa puncak 40.....	43
	b. Spektra massa senyawa zerumbon.....	44
Gambar 15.	Struktur senyawa monoterpen minyak atsiri rimpang <i>Zingiber aromaticum</i> Val.....	46
Gambar 16.	Struktur senyawa seskuiterpen minyak atsiri rimpang <i>Zingiber aromaticum</i> Val.....	47

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil determinasi rimpang <i>Zingiber aromaticum</i> Val....	67
Lampiran 2. Bagan alir penelitian.....	68
Lampiran 3. Perhitungan kadar minyak atsiri hasil destilasi.....	69
Lampiran 4. Hasil GC-MS komponen kimia minyak atsiri rimpang <i>Zingiber aromaticum</i> Val.....	70
Lampiran 5. Bagan kerja uji aktivitas antibakteri.....	99
Lampiran 6. Variasi konsentrasi amoksisilin.....	101
Lampiran 7. Hasil uji aktivitas antibakteri minyak atsiri.....	102
Lampiran 8. Gambar salah satu hasil uji antibakteri minyak atsiri rim pang <i>Zingiber aromaticum</i> Val.....	103
Lampiran 9. Output analisa One Way ANOVA pengaruh variasi konsentrasi minyak atsiri rimpang <i>Zingiber aromaticum</i> Val pada diameter daerah hambat.....	104
Lampiran 10. Output analisa One Way ANOVA pengaruh variasi jenis bakteri pada diameter daerah hambat.....	107
Lampiran 11. Hasil penentuan KHM minyak atsiri rimpang <i>Zingiber aromaticum</i> Val pada masing-masing bakteri uji.....	111
Lampiran 12. Output analisa One Way ANOVA pengaruh variasi bakteri pada masing - masing konsentrasi pada penentuan KHM minyak atsiri rimpang <i>Zingiber aromaticum</i> Val.....	112
Lampiran 13. Output analisa One Way ANOVA pengaruh variasi konsentrasi pada masing - masing bakteri uji pada penentuan KHM minyak atsiri rimpang <i>Zingiber aromaticum</i> Val.....	114
Lampiran 14. Hasil uji aktivitas antibakteri amoksisilin terhadap tiga bakteri uji.....	117

Lampiran 15	Output analisa One Way ANOVA pengaruh variasi bakteri pada diameter daerah hambat amoksisilin.....	119
Lampiran 16.	Output analisa One Way ANOVA pengaruh variasi konsentrasi amoksisilin pada diameter daerah hambat masing - masing bakteri uji.....	122
Lampiran 17.	Perhitungan potensi antibakteri minyak atsiri rimpang <i>Zingiber aromaticum</i> Val dibandingkan amoksisilin....	129

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Indonesia merupakan salah satu pusat keanekaragaman hayati dunia. Dari Sabang sampai Merauke tersebar sekitar 40.000 jenis tumbuhan yang mengandung berbagai jenis bahan kimia yang berpotensi sebagai bahan pangan, kosmetika dan obat-obatan (Agusta, 2000). Sejalan dengan semakin berkembangnya industri jamu, obat herbal, fitofarmaka dan kosmetika tradisional maka penggunaan bahan alam sebagai obat semakin diminati masyarakat.

Lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* Val) merupakan tanaman yang digunakan secara tradisional oleh masyarakat Jawa dan Sumatera. Rimpang tanaman ini sering digunakan untuk obat asma, mengurangi rasa nyeri, pembersih darah, menambah nafsu makan, pereda kejang, penyakit kuning, radang sendi, batuk rejan, kolera, anemia, malaria, penyakit syaraf, nyeri perut, mengatasi penyakit yang disebabkan cacing, dan masuk angin (Sudarsono dkk., 2002). Ekstrak air rimpang *Zingiber aromaticum* Val telah terbukti memiliki aktivitas penghambatan terhadap enzim CYP3A4 (Usia, 2005). Khasiat rimpang *Zingiber aromaticum* Val sebagai obat dipengaruhi oleh kandungan metabolit sekundernya. Rimpang *Zingiber aromaticum* Val mengandung saponin, flavonoid dan tanin, disamping minyak atsiri (Syamsuhidayat dan Hutapea, 1991).

Minyak atsiri bersifat mudah menguap pada suhu kamar, mempunyai rasa getir, serta berbau wangi sesuai dengan bau tanaman penghasilnya (Sudaryanti dan Sugiharti, 1990). Minyak atsiri banyak dimanfaatkan dalam industri farmasi, kosmetik, makanan dan minuman. Minyak atsiri beberapa tanaman telah diketahui memiliki aktivitas antibakteri (Inouye *et al.*, 2001; Pouvova *et al.*, 2008). Aktivitas antibakteri minyak atsiri disebabkan karena minyak atsiri mengandung senyawa yang dapat menghambat atau membunuh pertumbuhan bakteri. Komponen minyak atsiri yang mengandung gugus fenol seperti carvacrol berpotensi sebagai antibakteri (Yuksel *et al.*, 2006). Geraniol, menthol, terpinen-4-ol, linalol, kamfor, 1,8-sineol, menthon, D-limonen dan α -pinen memiliki aktivitas antibakteri

terhadap *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pyogens*, *Streptococcus pneumonia*, *Stapilococcus aureus* dan *Escherichia coli* (Inouye *et al.*, 2001). Aktivitas antibakteri minyak atsiri dipengaruhi oleh komposisi dan konsentrasi minyak atsiri serta jumlah dan jenis bakteri (Yuksel *et al.*, 2006).

Rimpang *Zingiber aromaticum* Val kering angin yang diisolasi dengan metode destilasi air mengandung minyak atsiri 0,93% (v/b) dengan komposisi α -pinen (7,86%), kamfen (31,27%), β -pinen (2,39%), β -cis-osimen (3,41%), α -terpinen (0,84%), 3-karena (1,80%), sineol (6,36%), 4-karena (1,25%), β -linalol (14,16%), DL-kamfor (2,92%), 4-metil-1(1-metilelil)-3-sikloheksen-1-ol (2,06%), isokariofilen (0,76%), patchulana (0,67%), α -farnesen (1,58%), α -kariofilen (9,49%), kariofilen oksida (3,13%), dan germakron (10,05%) (Agusta, 2000).

Hasil uji aktivitas antibakteri minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val yang dilakukan terhadap *Streptococcus beta hemolyticus* menunjukkan bahwa minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val pada konsentrasi 50% mampu menghambat pertumbuhan *Streptococcus beta hemolyticus* dengan Diameter Daerah Hambat (DDH) $14,30 \pm 0,1$ mm dan pada kadar yang lebih rendah dari 50% tidak menunjukkan penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri tersebut (Wulandari, 1986). Rata - rata DDH minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val konsentrasi 10% pada *Staphylococcus aureus* ($15,5 \pm 1,05$ mm) lebih besar bila dibandingkan pada *Escheriscia coli* ($14 \pm 0,89$ mm) (Widyowati, 1994).

Uji aktivitas antibakteri minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val terhadap bakteri patogen lainnya seperti *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Salmonella typhi* belum pernah dilakukan penelitian secara ilmiah. Penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri patogen seperti *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi* dan *Bacillus cereus* sampai saat ini masih menjadi masalah utama kesehatan masyarakat (Jawetz *et al.*, 2005; Norajit *et al.*, 2007; Pliego, 2007; Wijyantie, 2009). *Bacillus cereus* merupakan bakteri penyebab keracunan makanan, diare, infeksi mata, dan meningitis (Jawetz *et al.*, 2005). *Pseudomonas aeruginosa* dapat menyebabkan infeksi saluran kemih, infeksi saluran pernapasan, dermatitis, infeksi tulang dan sendi, infeksi saluran pencernaan, dan bermacam-macam infeksi sistemik, terutama pada penderita luka

bakar berat, kanker dan penderita AIDS yang mengalami penurunan sistem imun (Mayasari, 2005). Sedangkan *Salmonella typhi* sering kali menyebabkan radang usus, diare dan demam *typhoid* (Syahruracman *et al.*, 1994).

Berbagai macam antibiotik sintetis telah dikembangkan untuk melawan penyakit infeksi yang disebabkan bakteri, akan tetapi penggunaan antibiotik sintetis kadang-kadang memberikan efek samping terhadap tubuh yang tidak diinginkan (Aliero, 2008). Penggunaan antibiotik sebagai antiinfeksi yang berlebihan dan kurang terarah juga mendorong terjadinya perkembangan resistensi (Wardani, 2008). Tingginya kasus infeksi dan meningkatnya kasus resistensi, menunjukkan perlunya dilakukan penelitian untuk mengembangkan antibiotik baru khususnya dari bahan alam (Andayani *et al.*, 2006; Natta *et al.*, 2008).

Penelitian ini dilakukan untuk mengisolasi, mengidentifikasi komponen kimia dan mengetahui potensi antibakteri minyak atsiri rimpang lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* Val) dibandingkan dengan antibiotik sintetis yaitu amoksisilin terhadap *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Salmonella typhi*. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dan bukti ilmiah untuk mengembangkan antibiotik baru dari bahan alam khususnya minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val.

B. Perumusan masalah

1. Identifikasi Masalah

Minyak atsiri merupakan senyawa yang mudah menguap. Kadar dan komponen minyak atsiri dalam suatu bahan dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya adalah daerah asal simplisia. Perbedaan tempat hidup seperti perbedaan iklim, ketinggian dan kesuburan tanah memberikan peluang pembentukan komponen minyak atsiri berbeda pula. Semakin tinggi daerah tempat hidup, maka semakin memicu suatu tanaman untuk membentuk metabolit sekunder seperti minyak atsiri.

Isolasi minyak atsiri dari suatu bahan dapat dilakukan dengan beberapa metode yaitu: ekstraksi dan destilasi. Metode destilasi meliputi destilasi dengan

air, destilasi dengan uap, dan destilasi dengan uap dan air. Destilasi air seperti destilasi stahl, merupakan destilasi yang mudah dan efisien karena alat yang digunakan sederhana dan murah, tetapi diperlukan perbandingan yang tepat antara pelarut dan bahan yang akan didestilasi untuk menghindari terjadinya kegosongan dan hidrodifusi. Keuntungan isolasi minyak atsiri dengan destilasi uap adalah suhu dapat dijaga konstan 100°C tetapi perpanjangan waktu penyulingan dapat menyebabkan penggumpalan bahan sehingga minyak atsiri tidak dapat terisolasi secara sempurna. Sedangkan isolasi minyak atsiri dengan destilasi uap dan air, suhu dan tekanannya dapat disesuaikan dengan bahan yang akan didestilasi sehingga kualitas minyak atsiri yang dihasilkan lebih baik tetapi alat yang digunakan lebih rumit dan mahal.

Minyak atsiri umumnya bukan merupakan senyawa tunggal melainkan terdiri dari berbagai komponen kimia yang merupakan golongan terpenoid dan fenil propanoid sehingga diperlukan metode yang tepat untuk mengidentifikasi senyawa kimia tersebut. Identifikasi komponen kimia dapat dilakukan dengan analisis data dari Kromatografi Lapis Tipis, Spektrometer Infra Merah, UV-Vis dan Kromatografi Gas-Spektrofotometer Massa. Hasil analisa dari KLT dan Spektrometer Infra Merah hanya memberikan sedikit informasi karena minyak atsiri merupakan campuran dari senyawa golongan terpenoid, senyawa terpenoid dikenal tidak terlalu banyak mengandung gugus fungsi. Identifikasi minyak atsiri dengan UV-Vis jarang dilakukan karena struktur senyawa golongan terpenoid tidak menyerap sinar UV-Vis. Sedangkan dari hasil analisa Kromatografi Gas-Spektrofotometer Massa akan diperoleh informasi mengenai komposisi dan struktur komponen minyak atsiri.

Minyak atsiri dari beberapa tanaman telah terbukti mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen. Bakteri patogen dikelompokkan menjadi bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Bakteri yang termasuk kelompok bakteri gram positif antara lain *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus pyogenes* sedangkan bakteri yang termasuk dalam kelompok bakteri gram negatif misalnya *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Escherischia coli* dan *Moraxella catarrhalis*.

Uji aktivitas antibakteri minyak atsiri dapat dilakukan dengan beberapa metode yaitu metode difusi dan dilusi. Metode difusi merupakan metode yang mudah dan efisien. Pada metode difusi, dasar pengamatannya adalah terbentuk atau tidaknya zona hambatan di sekeliling cakram atau silinder yang berisi zat antibakteri. Pada metode dilusi padat, dasar pengamatannya berdasarkan pada jumlah bakteri yang tumbuh pada media sedangkan pada dilusi cair pengamatan aktivitas antibakteri didasarkan pada kekeruhan dengan mengukur serapannya dengan spektrofotometri.

Uji potensi suatu zat antibakteri bertujuan untuk mengetahui kekuatan antibakteri sampel bila dibandingkan terhadap suatu zat pembanding yaitu antibiotik lain. Berbagai jenis antibiotik sintetik telah dikembangkan untuk melawan penyakit infeksi. Antibiotik sintetik yang sering digunakan dalam pengobatan akibat infeksi bakteri antara lain antibiotik golongan β -laktam. Antibiotik β -laktam seperti ampisilin dan amoksisilin merupakan antibiotik yang berspektrum luas yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan bakteri gram negatif.

2. Batasan Masalah

Isolasi, identifikasi dan uji antibakteri minyak atsiri rimpang lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* Val) masalah dibatasi sebagai berikut:

- a. Rimpang *Zingiber aromaticum* Val diperoleh dari B2P2TO2T Tawangmangu.
- b. Isolasi minyak atsiri dilakukan dengan metode destilasi Stahl.
- c. Identifikasi komponen minyak atsiri dilakukan dengan menggunakan analisis data GC-MS.
- d. Pengujian aktivitas antibakteri minyak atsiri dilakukan terhadap *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi* dan *Bacillus cereus* yang dilakukan dengan metode *cup-plate technique* (teknik sumuran) serta dilakukan penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) terhadap masing-masing bakteri uji.
- e. Uji potensi dilakukan dengan membandingkan aktivitas antibakteri minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val dengan antibiotik sintetik yaitu amoksisilin.

3. Rumusan Masalah

- a. Berapakah kadar minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val dari B2P2TO2T, Tawangmangu yang diisolasi dengan metode destilasi Stahl?
- b. Komponen kimia apa sajakah yang teridentifikasi dalam minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val secara GC-MS?
- c. Apakah minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi* dan *Bacillus cereus* dan berapa Konsentrasi Hambat Minimum terhadap masing-masing bakteri?
- d. Bagaimanakah potensi antibakteri minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val bila dibandingkan dengan amoksisilin?

C. **Tujuan Penelitian**

1. Mengetahui kadar minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val dari B2P2TO2T, Tawangmangu yang diisolasi dengan metode destilasi Stahl.
2. Mengetahui komponen kimia minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val dengan analisis data GC-MS.
3. Mengetahui aktivitas antibakteri dan Konsentrasi Hambat Minimum minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val terhadap *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus* dan *Salmonella typhi*.
4. Mengetahui potensi antibakteri minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val dibandingkan dengan amoksisilin

D. **Manfaat Penelitian**

1. Segi teoritis, penelitian ini diharapkan bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan yaitu memberikan informasi tentang analisa kualitatif dan kuantitatif mengenai komponen kimia minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val.
2. Segi praktis, diharapkan dapat bermanfaat bagi industri pengembangan obat tradisional yaitu memberikan informasi tentang potensi minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val sebagai antibakteri.

BAB II LANDASAN TEORI

A. Tinjauan Pustaka

1. Lempuyang Wangi (*Zingiber aromaticum* Val)

Tanaman suku Zingiberaceae tersebar luas di berbagai negara tropis (Jasril, 2006). *Zingiber aromaticum* Val merupakan salah satu tanaman suku Zingiberaceae, dapat tumbuh pada daerah dengan ketinggian 1-1200 m di atas permukaan laut (Sudarsono, 2002). Tumbuhan ini tumbuh liar di hutan jati, tetapi juga sering ditanam di pekarangan sebagai tumbuhan obat (Tampubolon, 1981). Tanaman *Zingiber aromaticum* Val ditunjukkan pada gambar 1.



Gambar 1. Tanaman *Zingiber aromaticum* Val

a. Klasifikasi tanaman

Klasifikasi tanaman *Zingiber aromaticum* Val adalah sebagai berikut:

- 1) Divisi : Spermatophyta
- 2) Sub divisi : Angiospermae
- 3) Kelas : Monocotyledonae
- 4) Bangsa : Zingiberales
- 5) Suku : Zingiberaceae
- 6) Marga : Zingiber
- 7) Jenis : *Zingiber aromaticum* Val.

b. Nama daerah

Zingiber aromaticum Val disebut juga lempuyang wangi oleh masyarakat Jakarta, Jawa Tengah dan Sumatera. Masyarakat Sunda menyebut *Zingiber aromaticum* Val sebagai lempuyang ruum sedangkan masyarakat Madura menyebutnya sebagai lempuyang room (Heyne, 1987).

c. Deskripsi tanaman

Zingiber aromaticum Val merupakan tumbuhan terna, berbatang semu, tingginya kurang lebih 1 m. Daun berbentuk lanset dengan panjang 14-40 cm dan lebar 3-8,5 cm, bagian pangkal daun berbentuk bulat telur atau runcing, permukaan daun bagian atas berbulu dengan panjang bulu 4-5 mm. Bunganya berupa mayang tersembul di atas tanah, gagang bunga lebih panjang daripada mayang, ramping dan sangat kuat, bersisik, berbentuk lanset. Sisik berwarna merah dengan panjang sisik 3-6,5 cm. Daun pelindung lebih panjang daripada kelopak bunga, berbentuk jorong dengan ujung yang rata, berbulu rapat berwarna hijau kemerahan atau merah gelap, tetapi pada bagian tepi hampir tak berbulu, panjang daun pelindung 1,5-4 cm dan lebar 1,25-4 cm. Mayang berbentuk bulat telur, panjangnya 3,5-10,5 cm, lebar 1,75-5,5 cm, panjang kelopak bunga 13-17 mm. Mahkota bunga berwarna kuning terang atau putih kekuningan, tinggi tabung 2-3 cm, berbentuk bulat telur dan rata pada bagian ujung. Kepala sari berbentuk jorong, berwarna kuning terang panjangnya 8-10 mm (Aliadi, 1996).

d. Rimpang *Zingiber aromaticum* Val

Secara *makroskopis*: rimpang *Zingiber aromaticum* Val berupa kepingan, panjang tidak tertentu, tebal 1-2 cm, kadang-kadang bercabang, warna permukaan coklat muda sampai coklat tua, ujung kadang-kadang membengkok, parut daun terlihat jelas, warna kuning dengan bintik-bintik putih. Serbuk rimpang *Zingiber aromaticum* Val berwarna kuning dan secara *mikroskopis* memiliki parenkim dengan fragmen pengenalnya adalah butir pati tunggal berbentuk lonjong atau bulat telur dengan salah satu ujung mengecil dan mempunyai tonjolan, sel sekresi berwarna kuning sampai kuning kecoklatan yang terdapat diantara sel parenkim, pembuluh kayu dengan penebalan jala, tangga atau spiral serta perenkim dengan sel sekresi (Anonim, 1978).

d. Khasiat

Rimpang *Zingiber aromaticum* Val berkhasiat sebagai obat asma, merangsang membran mukosa lambung, mengurangi rasa nyeri, pembersih darah, menambah nafsu makan, pereda kejang, untuk mengobati penyakit empedu, penyakit kuning, radang sendi, batuk rejan, kolera, anemia, malaria, penyakit syaraf, nyeri perut, mengatasi penyakit yang disebabkan cacing, dan masuk angin. Pada pemakaian luar, digunakan untuk mengatasi rasa nyeri (Sudarsono dkk., 2002). Ekstrak air dan ekstrak metanol rimpang *Zingiber aromaticum* Val terbukti memiliki aktivitas penghambatan terhadap enzim CYP3A4 (Usia *et al.*, 2005). Selain itu, rimpang *Zingiber aromaticum* Val juga berperan dalam menghambat aktivitas HIV dan kanker (Dai *et al.*, 1997)

e. Kandungan kimia

Rimpang *Zingiber aromaticum* Val mengandung protein 3,8%, air 10,7 %, lemak 11,8 %, kadar abu 2,6 %, dan karbohidrat 70,9 % (Yasni *et al.*, 1991). Penelitian Subehan *et al.*, (2005) menunjukkan bahwa ekstrak metanol rimpang *Zingiber aromaticum* Val mengandung 16 senyawa yang terdiri atas lima senyawa seskuiterpen dan turunannya (zerumbon, zerumbon epoksida, (2*R*,3*S*,5*R*)-2,3-epoxy-6,9-humuladien-5-ol-8-one, (2*R*,3*R*,5*R*)-2,3-epoksi-6,9-humuladien-5-ol-8-one, (5*R*)-2,6,9-humulatrien-5-ol-8-one, tujuh glikosida kaempferol, dua flavonoid turunan kaempferol, (S)-6-gingerol dan *trans*-6-shogaol. Senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada rimpang *Zingiber aromaticum* Val antara lain: saponin, flavonoid dan tanin, disamping minyak atsiri (Syamsuhidayat dan Hutapea, 1991).

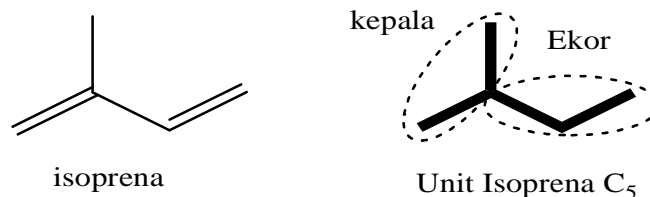
Agusta (2000) menyebutkan bahwa rimpang *Zingiber aromaticum* Val yang dikeringkan dengan diangin-anginkan dan diisolasi dengan metode destilasi air mengandung 0,93% (v/b) minyak atsiri dengan komposisi α -pinen (7,86%), kamfen (31,27%), β -pinen (2,39%), β -cis-osimen (3,41%), α -terpinen (0,84%), 3-karena (1,80%), 1,8-sineol (6,36%), 4-karena (1,25%), β -linalool (14,16%), DL-kamfor (2,92%), 4-metil-1(1-metilelil)-3-sikloheksen-1-ol (2,06%), isokariofilen (0,76%), α -kariofilen (9,49%), patchulana (0,67%), α -farnesen (1,58%), kariofilen oksida (3,13%), dan germakron (10,05%).

2. Minyak Atsiri

Minyak atsiri merupakan salah satu hasil metabolisme sekunder yang dihasilkan oleh tanaman, bersifat mudah menguap pada suhu kamar, mempunyai rasa getir, serta berbau wangi sesuai dengan bau tanaman penghasilnya (Sudaryanti dan Sugiharti, 1990).

Minyak atsiri dari suatu tanaman memiliki aroma yang berbeda dengan minyak atsiri tanaman lainnya. Berdasarkan perbedaan tersebut minyak atsiri dapat digunakan sebagai bahan pewangi, bahkan beberapa jenis minyak atsiri mampu bertindak sebagai bahan aroma terapi atau bahan obat suatu jenis penyakit. Pada industri farmasi, minyak atsiri dimanfaatkan karena berkhasiat sebagai karminatif, anestesi lokal dan analgesik. Sedangkan dalam industri makanan dan minuman, minyak atsiri digunakan untuk memberikan rasa dan aroma yang khas (Yuliani, 2006). Minyak atsiri beberapa tanaman juga terbukti bersifat aktif sebagai antibakteri (Inouye *et al.*, 2001; Chandarana *et al.*, 2005). Kegunaan minyak atsiri bagi tanaman sendiri adalah untuk menarik serangga, membantu proses penyerbukan dan mencegah kerusakan tanaman oleh serangga.

Secara kimia minyak atsiri bukan merupakan senyawa tunggal, tetapi tersusun dari berbagai macam komponen yang secara garis besar terdiri dari kelompok terpenoid dan fenil propanoid (Padmawinata, 1987). Senyawa terpenoid dibangun dari unit isoprena yang dibentuk dari asam asetat melalui jalur asam mevalonat dan rantai samping sehingga membentuk C_5 yang memiliki dua ikatan ganda sedangkan fenilpropanoid terbentuk dari asam amino melalui jalur biosintesis asam sikimat (Agusta, 2000). Struktur unit isoprena dapat dilihat pada gambar 2 berikut:

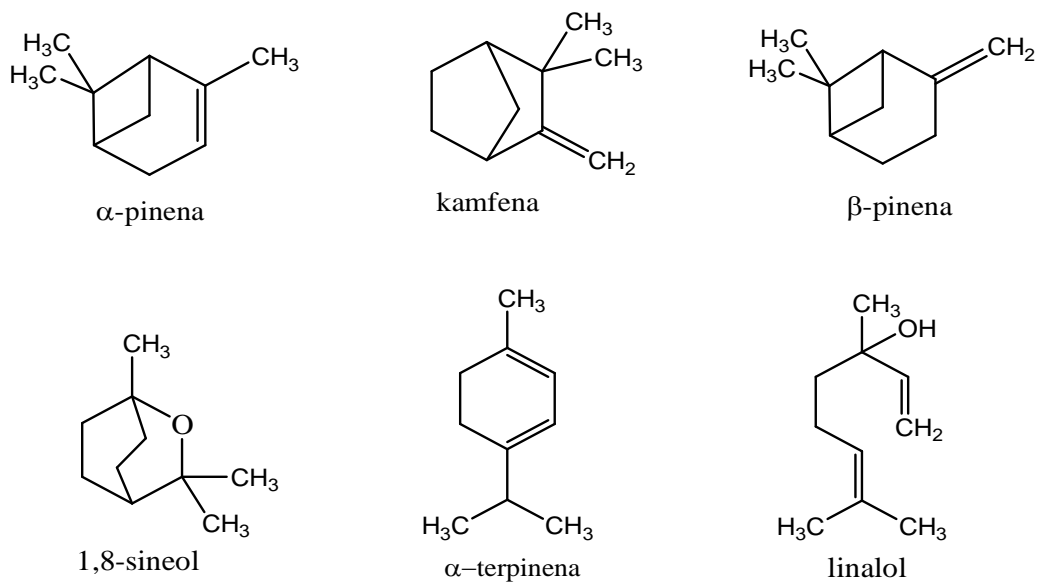


Gambar 2. Unit isoprena

Senyawa terpenoid tersusun dari dua unit isoprena atau lebih yang bergabung menurut kaidah kepala - ekor (Agusta, 2000). Penyusun minyak atsiri dari kelompok terpenoid terdiri dari monoterpenoid dan seskuiterpenoid dengan titik didih berbeda. Titik didih monoterpenoid 140-180 °C dan titik didih seskuiterpenoid lebih dari 200 °C (Padmawinata, 1987). Turunan terpenoid dapat berupa terpen siklik maupun asiklik, masing-masing dapat memiliki percabangan, gugus-gugus ester, alkohol, aldehida, dan keton. Sementara kelompok fenil propanoid juga memiliki percabangan rantai berupa gugus-gugus fenol (Gunawan, 2004).

a. Monoterpen

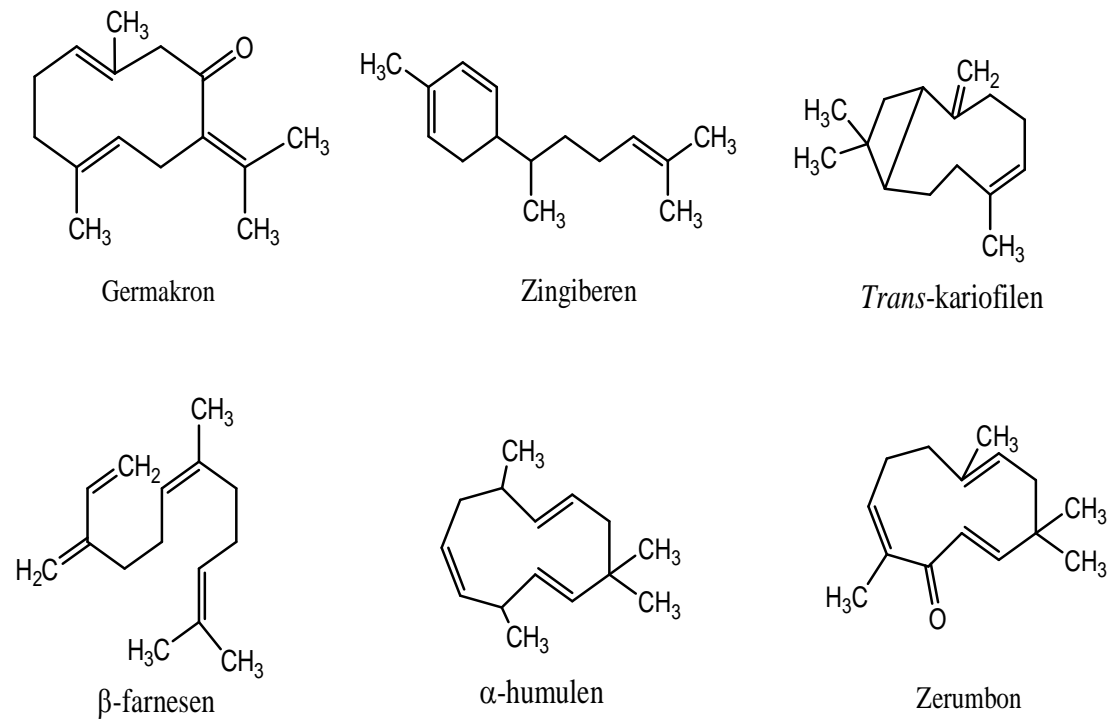
Monoterpenoid memiliki bau yang spesifik, dibangun oleh dua unit isoprena atau dengan jumlah atom karbon 10 (Lenny, 2006). Monoterpenoid berupa cairan tak berwarna, tidak larut dalam air, dan berbau harum. Dasar kerangka monoterpenoid dapat dibagi menjadi rantai terbuka (asiklik), sikloheksana (monosiklik dan bisiklik). Senyawa monoterpenoid dapat dimanfaatkan sebagai antibiotik, ekspektoran dan sedatif. Selain itu, monoterpenoid juga banyak dimanfaatkan sebagai pemberi aroma makanan dan parfum (Lenny, 2006). Contoh monoterpenoid ditunjukkan pada gambar 3.



Gambar 3. Contoh monoterpenoid

b. Seskuiterpen

Seskuiterpen merupakan senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari tiga satuan isoprena (Ketaren, 1987). Seskuiterpen dibagi menjadi empat turunan yaitu asiklik, monosiklik, bisiklik dan trisiklik (Padmawinata, 1987). Senyawa-senyawa seskuiterpenoid ini mempunyai bioaktivitas yang cukup besar, diantaranya adalah sebagai hormon, antibiotik, regulator pertumbuhan tanaman dan pemanis (Lenny, 2006). Beberapa contoh seskuiterpen ditunjukkan pada gambar 4.



Gambar 4. Contoh seskuiterpen

3. Isolasi Minyak Atsiri

Proses isolasi minyak atsiri adalah proses pemisahan minyak atsiri dari tanaman aromatik. Proses ini meliputi penanganan produk yang bersifat padat dan persiapan bahan dengan menjaga agar keadaan bahan cukup baik sehingga minyak atsiri yang dihasilkan dapat dijamin mutunya (Ketaren, 1987).

Perajangan, pelayuan atau pengeringan dan penyimpanan merupakan perlakuan yang sering dilakukan sebelum destilasi. Perajangan bertujuan agar kelenjar minyak dapat terbuka sebanyak mungkin, sehingga memudahkan penguapan minyak atsiri dalam herba saat destilasi berlangsung, karena minyak atsiri dikelilingi oleh kelenjar minyak, pembuluh-pembuluh dan kantung minyak. Apabila dibiarkan utuh, maka minyak atsiri tidak dapat terisolasi secara maksimal karena minyak atsiri hanya dapat diekstrak bila uap air berhasil melalui jaringan tumbuhan dan mendesak ke permukaan dengan perlahan. Pengeringan bertujuan untuk menjamin keawetan, mencegah tumbuhnya jamur, kerja enzim dan bakteri. Proses pengeringan dan penyimpanan mempengaruhi kehilangan minyak atsiri. Sebagian minyak atsiri dalam bahan akan menguap selama pengeringan. Kehilangan minyak atsiri selama proses pengeringan lebih besar dibanding pada saat penyimpanan, karena pada saat pengeringan tumbuhan masih mengandung sebagian besar air dalam sel dan dengan proses difusi akan membawa minyak ke permukaan, kemudian menguap. Kehilangan minyak atsiri ini dapat diminimalisir dengan menyuling bahan dengan segera. Apabila bahan harus disimpan sebelum didestilasi, maka penyimpanan dilakukan pada udara kering yang bersuhu rendah dan udara tidak disirkulasikan sehingga dapat mengurangi penguapan minyak dari bahan. Penyusutan minyak selama penyimpanan dalam udara kering tergantung dari beberapa faktor yaitu: kondisi bahan, metode penyimpanan, dan lama penyimpanan serta komposisi kimia minyak atsiri dalam bahan (Ketaren, 1987).

Minyak atsiri dapat diisolasi dengan metode destilasi. Destilasi adalah suatu proses yang terdiri atas beberapa tahap yang mengubah suatu senyawa menjadi bentuk uapnya, mengkondensasikan uap yang terbentuk menjadi cair kembali dan menampung hasil kondensasi ke dalam suatu penampung (Kristanti, N.A., 2006). Prinsip destilasi adalah pemisahan komponen yang berupa cairan atau padatan dari dua macam campuran atau lebih berdasarkan perbedaan titik didih. Pengambilan minyak atsiri dengan penyulingan dipengaruhi oleh tiga faktor yaitu: besarnya tekanan uap yang digunakan, bobot molekul masing-masing komponen dalam minyak atsiri dan kecepatan keluarnya minyak atsiri dari simplisia (Ketaren, 1987). Metode destilasi minyak atsiri ada tiga macam yaitu:

a. Destilasi dengan air

Prinsip metode destilasi dengan air (hidrodestilasi) adalah bahan yang akan didestilasi kontak langsung dengan air mendidih. Bahan tersebut mengapung di atas air atau terendam secara sempurna, tergantung dari berat jenis dan jumlah bahan yang didestilasi. Peristiwa pokok yang terjadi pada proses hidrodestilasi, yaitu: difusi minyak atsiri dan air panas melalui membran tanaman, hidrolisa terhadap beberapa komponen minyak atsiri dan dekomposisi yang disebabkan oleh panas. Proses hidrodestilasi bahan dan kecepatan penguapan minyak tidak hanya dipengaruhi oleh sifat menguapnya komponen-komponen minyak atsiri, melainkan juga dipengaruhi oleh derajat kelarutannya dalam air. Kelemahan metode destilasi dengan air adalah adanya air dalam jumlah besar dan pada suhu tinggi menyebabkan proses hidrolisa relatif lebih ekstensif, akibatnya rendemen minyak atsiri yang dihasilkan akan berkurang sedangkan keuntungannya adalah metode destilasi dengan air baik untuk menyuling bunga-bunga atau bahan yang mudah menggumpal jika terkena panas (Ketaren, 1987).

Peralatan pada metode destilasi dengan air (hidrodestilasi) pada umumnya terdiri dari tiga bagian utama. Tiga bagian utama tersebut adalah alat penyulingan, pendingin dan penampung kondensat. Alat penyulingan berfungsi sebagai tempat bahan tanaman yang akan diproses. Pendingin berfungsi mengubah uap air yang mengandung uap minyak atsiri menjadi cairan. Penampung kondensat berfungsi untuk memisahkan minyak atsiri dan air yang terkondensasi secara sempurna. Kondensat mengalir dari pendingin ke penampung kondensat dan akan terlihat minyak atsiri yang dihasilkan akan terpisah dari air dengan sendirinya, karena berat jenis minyak atsiri lebih ringan dari pada air (Sastrohamidjojo, 2004).

Destilasi Stahl merupakan metode yang sering digunakan untuk isolasi minyak atsiri. Prinsip kerja destilasi Stahl sama dengan destilasi dengan air (hidrodestilasi). Namun destilasi Stahl memiliki beberapa kelebihan. Kelebihan penggunaan destilasi Stahl untuk isolasi minyak atsiri antara lain; minyak atsiri yang dihasilkan tidak berhubungan langsung dengan udara luar sehingga tidak mudah menguap dan volume minyak atsiri yang dihasilkan dapat langsung diketahui jumlahnya karena alatnya dilengkapi dengan skala.

b. Destilasi dengan air dan uap

Prinsip destilasi dengan air dan uap adalah bahan diletakkan diatas saringan berlubang. Ketel suling diisi dengan air sampai permukaan air berada tidak jauh di bawah saringan. Air dapat dipanaskan dengan berbagai cara yaitu dengan uap jenuh yang basah dan bertekanan. Ciri khas metode ini adalah uap selalu dalam keadaan basah, jenuh dan tidak terlalu panas. Selain itu, bahan yang didestilasi hanya berhubungan dengan uap dan tidak berhubungan dengan air panas. Metode destilasi ini cocok digunakan untuk mengisolasi minyak dari daun-daunan atau rumput-rumputan. Keuntungan menggunakan sistem tersebut adalah uap dapat berpenetrasi secara merata ke dalam jaringan bahan dan suhu dapat dipertahankan sampai suhu 100°C sehingga rendemen minyak lebih besar dan mutunya lebih baik jika dibandingkan dengan minyak hasil penyulingan dengan air dan bahan yang disuling tidak dapat menjadi gosong. Kerugiannya adalah perpanjangan waktu penyulingan menyebabkan pembasahan bahan oleh kondensasi uap dan penggumpalan bahan dalam ketel menyebabkan minyak atsiri tidak dapat terisolasi dengan sempurna (Ketaren, 1987).

c. Destilasi dengan uap

Metode ini pada prinsipnya sama dengan destilasi dengan air dan uap kecuali air tidak diisikan dalam labu. Uap yang digunakan uap jenuh atau lewat panas pada tekanan lebih dari 1 atm. Uap dialirkan melalui pipa uap berlingkar yang berpori yang terletak di bawah bahan dan uap bergerak ke atas melalui bahan yang terletak diatas saringan. Sistem penyulingan ini baik digunakan untuk mengekstrak minyak dari biji-bijian, akar dan kayu-kayuan yang umumnya mengandung komponen minyak yang bertitik didih tinggi. Keuntungan dari metode ini adalah tekanan uap maupun suhu pemanasan dapat dimodifikasi sesuai dengan keadaan bahan.

Suhu saat penyulingan bahan tanaman sangat berpengaruh pada kualitas minyak atsiri yang dihasilkan. Pada dasarnya semua senyawa penyusun minyak atsiri tidak stabil atau peka terhadap suhu tinggi. Itulah sebabnya untuk memperoleh kualitas minyak atsiri diupayakan pada suhu pemanasan yang

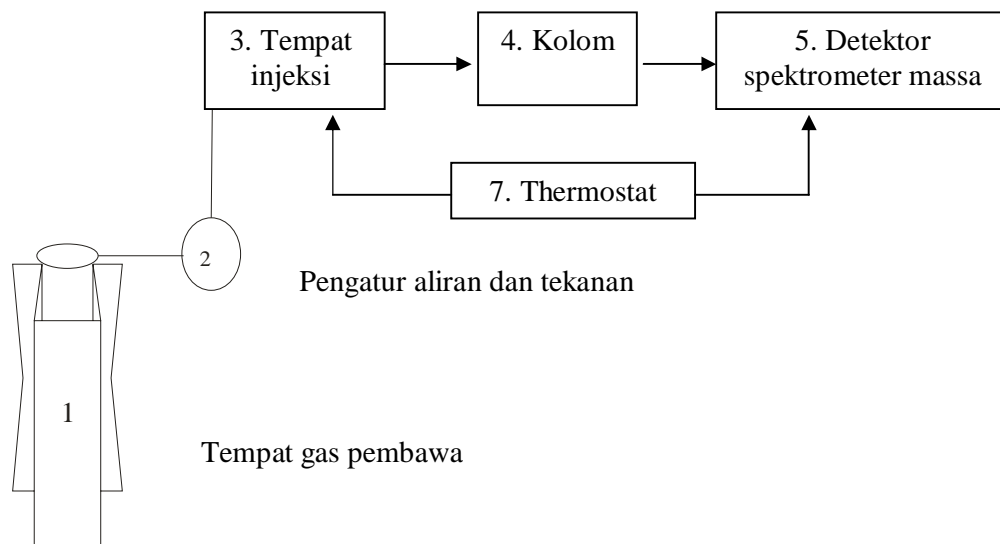
rendah. Namun, bila suhu pemanasan tinggi maka panas penyulingan diusahakan dalam waktu sesingkat mungkin (Ketaren, 1987).

4. Kromatografi Gas – Spektroskopi Massa

Perkembangan teknologi instrumentasi menghasilkan alat yang merupakan gabungan dari dua sistem dengan prinsip dasar yang berbeda satu sama lain tetapi dapat saling melengkapi, yaitu gabungan kromatografi gas dan spektrofotometri massa yang dapat memberikan informasi kualitatif dan kuantitatif tentang susunan atom dan molekul dalam zat organik. Kromatografi gas berfungsi sebagai alat pemisah berbagai komponen campuran dalam sampel, sedangkan spektrometer massa berfungsi untuk mendeteksi masing-masing komponen molekul yang telah dipisahkan pada sistem kromatografi gas.

Analisis GC-MS merupakan metode yang cepat dan akurat untuk memisahkan campuran yang rumit, mampu menganalisis campuran dalam jumlah kecil dan menghasilkan data yang berguna mengenai struktur serta identitas senyawa organik (Agusta, 2000).

Instrumen GC-MS terdiri dari gas pengangkut (*Carrier Gas*), pengatur aliran dan pengatur tekanan, tempat injeksi, kolom serta detektor spektrometer massa. Skema alat GC-MS dapat dilihat pada Gambar 5 .



Gambar 5. Skema Alat GC-MS

Prinsip GC-MS adalah kolom dipanaskan pada suhu tertentu, demikian juga tempat injeksi dan detektor. Cuplikan yang berupa cairan, dimasukkan dengan sistem injeksi ke dalam kamar pemanas melalui sekat karet silikon dengan *syringe*. Dari kamar pemanas, gas pengangkut (H_2 , N_2 , Ar atau He) akan membawa cuplikan yang telah teruapkan masuk ke dalam kolom. Kolom akan memisahkan komponen-komponen cuplikan. Kemudian komponen-komponen akan dideteksi oleh detektor (Sudjadi, 1991). Pada sistem GC-MS ini, yang berfungsi sebagai detektor adalah spektrometer massa itu sendiri yang terdiri atas sistem ionisasi dan sistem analisis (Agusta, 2000).

Ada beberapa sistem ionisasi untuk analisis spektrometer massa. *Electron Impact* ionization (EI) adalah metode ionisasi yang umum digunakan. Sistem ionisasi yang terjadi adalah suatu molekul berbentuk gas dalam sistem hampa pada tekanan 10^{-4} sampai 10^{-6} mmHg pada suhu tertentu, dibombardir dengan arus elektron berenergi tinggi sekitar 70 eV sehingga terbentuk ion molekul. Ion yang terbentuk dalam ruang pengion akan dipercepat oleh suatu lempeng pemercepat ke dalam suatu medan magnet. Dalam medan magnet, ion tersebut dibelokkan sesuai dengan besarnya ion (berdasarkan perbandingan massa/muatan). Masing-masing komponen ion akan melewati celah pengumpul dan akan menumbuk lempengan pengumpul. Arus yang timbul pada sistem pengumpul atau pendeteksi akan diperkuat dan akan terekam. Rekaman kelimpahan ion terhadap massa merupakan grafik spektrum yang terdiri atas sederetan garis yang intensitasnya berbeda-beda pada satuan massa yang berlainan (Agusta, 2000).

Sistem analisis yang umum digunakan adalah sistem kuadropol dengan empat buah batang yang mempunyai empat kutub dan terletak antara sumber ion dan detektor. Sistem pengolahan data dan identifikasi senyawa dilakukan secara komputerisasi. Hasil analisis ini diperoleh dua jenis data, yakni kromatogram dan spektra. Kromatogram memberikan informasi mengenai jumlah komponen kimia yang terdapat dalam campuran yang dianalisis (jika sampel merupakan campuran). Spektra massa merupakan gambaran mengenai jenis dan jumlah fragmen molekul yang terbentuk dari masing-masing puncak pada kromatogram. Pola pemecahan atau fragmentasi molekul yang terbentuk untuk setiap komponen

kimia sangat spesifik sehingga dapat dijadikan sebagai patokan untuk menentukan struktur molekul suatu komponen kimia yang diperoleh kemudian dibandingkan dengan spektrum massa yang terdapat dalam suatu bank data (Agusta, 2000).

5. Bakteri

Bakteri merupakan mikroba prokariotik uniseluler, berkembang biak secara aseksual dengan pembelahan sel. Semua bakteri memiliki struktur sel yang relatif sederhana. Berdasarkan komposisi dan struktur dinding sel, maka bakteri dibagi ke dalam dua golongan yaitu bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Bakteri gram positif memiliki dinding sel yang terdiri atas lapisan peptidoglikan yang tebal dan asam teikoat yang mengandung alkohol (gliserol atau ribitol). Ada dua asam teikoat, yaitu asam lipoteikoat yang merentang di lapisan peptidoglikon dan terikat pada membran plasma, dan asam teikoat dinding yang terikat pada lapisan peptidoglikon. Sedangkan dinding sel bakteri gram negatif mengandung satu atau beberapa lapis peptidoglikan dan membran luar (*outer membrane*). Peptidoglikan terikat pada membran luar dan periplasma terdapat diantara membran plasma dan membran luar (Pratiwi, 2008).

a. *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri gram negatif yang berbentuk batang, berukuran sekitar $0,6 \times 2 \mu$. Bakteri ini terlihat sebagai bakteri tunggal, berpasangan, dan kadang-kadang membentuk rantai yang pendek, tidak mempunyai spora, tidak mempunyai selubung serta mempunyai flagel monotrik (flagel tunggal pada kutub) sehingga selalu bergerak (Mayasari, 2005). Morfologi *Pseudomonas aeruginosa* ditunjukkan pada gambar 6.



Gambar 6. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Klasifikasi *Pseudomonas aeruginosa* adalah sebagai berikut:

Divisi : Protophyta
 Kelas : Schizomycetes
 Ordo : Eubacteriales
 Famili : Pseudomonadaceae
 Genus : *Pseudomonas*
 Spesies : *Pseudomonas aeruginosa* (Salle, 1961)

Bakteri ini bersifat oksidase positif dan tidak meragikan karbohidrat. Tetapi banyak strain yang mengoksidasi glukosa. Pengenalan biasanya berdasarkan morfologi, sifat oksidase positif, adanya pigmen yang khas dan pertumbuhan pada suhu 42°C. Untuk membedakan *P. aeruginosa* dari *Pseudomonas* yang lain berdasarkan pada aktivitas biokimiawinya yang membutuhkan berbagai substrat (Syahruracman *et al.*, 1994).

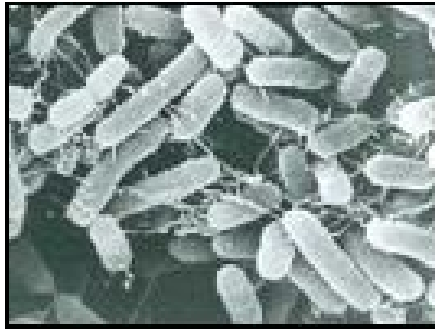
Pseudomonas aeruginosa adalah bakteri patogen oportunistik, yaitu memanfaatkan kerusakan pada mekanisme pertahanan inang untuk memulai suatu infeksi. Bakteri ini dapat menyebabkan infeksi saluran kemih, infeksi saluran pernapasan, dermatitis, infeksi jaringan lunak, bakteremia, infeksi tulang dan sendi, infeksi saluran pencernaan dan bermacam-macam infeksi sistemik, terutama pada penderita luka bakar berat, kanker dan penderita AIDS yang mengalami penurunan sistem imun (Mayasari, 2005).

Pseudomonas aeruginosa lebih resisten terhadap disinfektan dari pada kuman lain. Kebanyakan antibiotik dan antimikroba tidak efektif terhadap kuman ini. Fenol dan β -glutaradelhid biasanya merupakan disinfektan yang efektif. Selain itu, air mendidih juga dapat membunuh kuman ini (Syahruracman *et al.*, 1994).

b. *Salmonella typhi*

Salmonella typhi berbentuk batang lurus dengan ukuran 1-3,5 μm x 0,5-0,8 μm , merupakan bakteri garam negatif, tidak berspora, dan mempunyai flagel peritrikih. Bakteri ini tumbuh pada suasana aerob dan fakultatif anaerob, pada suhu 15-41°C (suhu pertumbuhan optimum 37,5°C) dan pH pertumbuhan 6-8.

Salmonella typhi dapat mati pada suhu 56 °C juga pada keadaan kering sedangkan dalam lingkungan air dapat bertahan selama 4 minggu (Syahruracman *et al.*, 1994). Morfologi *Salmonella typhi* ditunjukkan pada gambar 7.



Gambar 7. *Salmonella typhi*

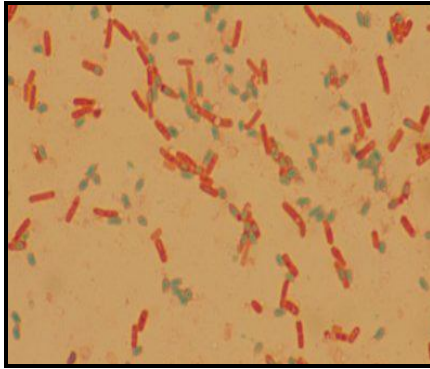
Klasifikasi *Salmonella typhi* adalah sebagai berikut:

Divisi	: Protophyta	
Kelas	: Schizomycetes	
Ordo	: Eubacteriales	
Famili	: Enterobacteriaceae	
Genus	: <i>Salmonellae</i>	
Spesies	: <i>Salmonella thypi</i>	(Salle, 1961)

Salmonella typhi kerap kali patogen terhadap manusia atau binatang apabila masuk melalui mulut, ditularkan dari binatang dan produk binatang kepada manusia sehingga dapat menimbulkan demam *typhoid*. Bakteri ini memiliki 3 macam antigen yaitu antigen O (somatik berupa kompleks polisakarida), antigen H (flagel), dan antigen Vi (Jawetz *et al.*, 1986). Antigen O tahan terhadap pemanasan 100° C, alkohol dan asam sedangkan antigen H rusak pada pemanasan 60° C, alkohol dan asam. Antigen Vi merupakan polimer dari polisakarida yang bersifat asam bagian yang paling luar kuman, dapat dirusak pada pemanasan 60°C dengan penambahan fenol dan asam (Syahruracman *et al.*, 1994). Serum penderita demam *typhoid* akan terbentuk antibodi terhadap ketiga macam antigen tersebut. Demam *typhoid* adalah penyakit infeksi akut yang biasanya terdapat pada saluran pencernaan dengan gejala demam yang lebih dari 7 hari, gangguan pada saluran pencernaan dengan atau tanpa gangguan kesadaran (Jawetz *et al.*, 1986).

c. *Bacillus cereus*

Bacillus cereus merupakan bakteri gram positif, aerob fakultatif dan dapat membentuk spora. Morfologi *Bacillus cereus* ditunjukkan pada gambar 8.



Gambar 8. *Bacillus cereus*

Klasifikasi *Bacillus cereus* adalah sebagai berikut:

Divisi	: Protophyta	
Kelas	: Schizophyta	
Orde	: Eubacteriales	
Familia	: Bacillaceae	
Genus	: <i>Bacillus</i>	
Spesies	: <i>Bacillus cereus</i>	(Salle, 1961)

Genus *Bacillus* lazim terdapat dalam tanah, air, udara, dan tumbuh-tumbuhan. Basil saprofit ini menggunakan sumber nitrogen dan karbon sederhana untuk pertumbuhannya. *Bacillus cereus* dapat tumbuh dalam makanan dan menghasilkan enterotoksin yang menyebabkan keracunan makanan. Keberadaan *Bacillus cereus* dalam jumlah besar (lebih dari 10^6 organisme/g) dalam makanan merupakan indikasi adanya pertumbuhan dan pembelahan sel bakteri secara aktif dan berpotensi membahayakan kesehatan. Keracunan makanan karena *Bacillus cereus* mempunyai dua bentuk yang berbeda, jenis muntah yang berkaitan dengan nasi yang tercemar dan jenis diare yang berkaitan dengan daging dan saus. Bakteri ini juga merupakan penyebab infeksi mata, *endoftalmitis* dan *panoftalmitis*. Spora bakteri ini resisten terhadap perubahan lingkungan, panas dan desinfektan kimia

tertentu dalam waktu yang cukup lama dan dapat bertahan selama bertahun-tahun pada tanah yang kering (Jawetz *et al.*, 2005).

Pertumbuhan bakteri dipengaruhi oleh beberapa faktor. Menurut Pratiwi (2008) faktor tersebut dapat dibedakan menjadi faktor fisika dan faktor kimia.

Faktor fisika yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri adalah faktor kondisi lingkungan hidup bakteri seperti temperatur, tekanan osmotik, pH dan oksigen.

1). Temperatur

Temperatur menentukan aktivitas enzim yang terlibat dalam aktivitas kimia. Pada temperatur yang sangat tinggi akan terjadi denaturasi protein yang tidak dapat balik, sedangkan pada temperatur yang sangat rendah aktivitas enzim akan terhenti. Bakteri membutuhkan temperatur tertentu agar pertumbuhannya optimal. Umumnya bakteri patogen membutuhkan temperatur sekitar 37⁰ C sesuai dengan temperatur tubuh.

2). Tekanan osmosis

Mengingat sifat-sifat bakteri juga sama seperti sifat-sifat sel yang lain terhadap tekanan osmosis, maka bakteri dalam pertumbuhannya membutuhkan media yang isotonis. Apabila sel berada pada media yang bersifat *hipertonis*, sel bakteri akan terhidrasi atau kerap disebut sebagai peristiwa *plasmolisis*. Bila sel berada pada media yang bersifat *hipotonis*, maka akan terjadi peristiwa *plasmoptilis* yaitu bahan yang memiliki tonisitas rendah akan masuk kedalam membran sel yang mengakibatkan sel menggelembung dan akhirnya pecah.

3). pH

pH merupakan indikasi konsentrasi ion hidrogen. Peningkatan dan penurunan konsentrasi ion hidrogen menyebabkan ionisasi gugus-gugus dalam protein, amino dan karboksilat. Hal ini dapat menyebabkan denaturasi protein yang mengganggu pertumbuhan sel.

Pada umumnya bakteri membutuhkan pH netral. Namun ada bakteri tertentu yang membutuhkan pH alkalis, yakni vibrio membutuhkan pH antara 8-10 untuk pertumbuhan yang optimal.

4). Oksigen

Berdasarkan kebutuhan oksigen, dikenal mikroorganisme yang bersifat *aerob* dan *anaerob*. Mikroorganisme *aerob* memerlukan oksigen untuk bernafas sedangkan mikroorganisme *anaerob* tidak memerlukan oksigen untuk bernafas. Adanya oksigen pada organisme *anaerob* akan menghambat pertumbuhannya.

Faktor kimia yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri adalah komponen-komponen kimia atau nutrisi dan media kultur.

1). Nutrisi

Suatu media yang digunakan untuk pertumbuhan haruslah ada air, sumber karbon, sumber nitrogen, vitamin dan garam.

2). Media kultur

Media adalah suatu bahan yang terdiri dari campuran zat makanan yang diperlukan untuk menumbuhkan suatu mikroorganisme dalam rangka isolasi memperbanyak perhitungan dan pengujian sifat fisiologik suatu mikroorganisme.

Menurut kandungan nutrisinya, media dapat dibedakan menjadi beberapa macam antara lain:

a). Media kompleks (*complex media*)

Media kompleks merupakan media yang umumnya diperlukan karena kebutuhan nutrisi organisme tertentu tidak diketahui. Contoh dari media ini adalah *Nutrient Agar (NA)*, *Nutrien Broth (NB)*, *Tryptic Soya Broth (TSB)*, dan *Tryptic Soya Agar (TSA)*.

b). Media selektif (*selective media*)

Media selektif merupakan media yang berfungsi mendukung pertumbuhan mikroorganisme tertentu dengan menghambat pertumbuhan mikroorganisme yang lain.

c). Media diferensial (*differential media*)

Media ini digunakan untuk membedakan suatu kelompok mikroorganisme dan bahkan dapat digunakan untuk identifikasi suatu mikroorganisme tertentu. Contoh media ini adalah media agar darah yang mampu membedakan antara bakteri hemolitik dan bakteri non hemolitik dengan mengetahui sifat lisis eritrosit dari mikroorganisme tersebut.

d). Media khusus

Media khusus adalah media untuk bakteri *anaerob*. Biasanya ke dalam media tersebut ditambahkan bahan yang dapat mereduksi O₂ seperti sistein dan asam askorbat dengan cara pengikatan kimiawi.

Sterilitas media merupakan suatu syarat yang penting dalam pengujian aktivitas antibakteri suatu bahan. Pemeriksaan mikrobiologi tidak mungkin dilakukan apabila media yang digunakan tidak steril, karena mikroorganisme yang diuji atau diisolasi tidak akan dapat dibedakan dengan pasti apakah mikroorganisme tersebut berasal dari material yang diperiksa atautkah hanya kontaminan (Jawetz *et al.*, 2005).

6. Antibiotik

Antibiotik merupakan sekelompok senyawa, baik alami maupun sintetik yang mempunyai efek menekan atau menghentikan suatu proses biokimia di dalam organisme, khususnya dalam proses infeksi. Beberapa kelompok utama antibiotik kimiawi adalah: fenol dan persenyawaan fenolat (fenol, *o*-kresol, *m*-kresol, *p*-kresol dan *o*-fenilfenol), alkohol (etil alkohol dan metil alkohol), halogen dan persenyawaannya (iodium, gas klor dan hipoklorit), logam berat dan persenyawaannya (merkuri, perak dan tembaga) serta aldehyd (glutaraldehyd dan formaldehyd) (Pelczar, 1988).

Menurut Heyne (1987), senyawa yang mengandung turunan hidrokarbon teroksigenasi merupakan antibiotik alami yang memiliki efek antibakteri. Penelitian Inouye *et al.*, (2001) menunjukkan bahwa senyawa terpen alkohol seperti geraniol, mentol, terpinen-4-ol dan linalol memiliki daya antibakteri yang kuat. Aktivitas antibakteri dari terpen keton seperti kamfor dan menton menunjukkan aktivitas yang sama dengan aktivitas antibakteri terpen eter (1,8-sineol) sedangkan terpen hidrokarbon seperti D-limonen dan α -pinen memiliki aktivitas antibakteri yang rendah.

Suatu antibiotik haruslah memiliki toksisitas yang selektif untuk digunakan sebagai zat kemoterapeutik. Artinya, zat tersebut harus dapat menghambat atau mematikan parasit dan tidak merusak sel inang. Persyaratan lain

ialah, harus mampu menembus sel dan jaringan inang serta tidak mengubah mekanisme pertahanan alamiah sel inang tersebut (Pelczar, 1988).

Toksisitas selektif mungkin merupakan fungsi reseptor spesifik yang dibutuhkan untuk melekatnya obat-obatan, atau bisa karena hambatan biokimia yang bisa terjadi bagi organisme namun tidak bagi inang. Berdasarkan mekanisme kerjanya, antibiotik dapat dibagi menjadi empat cara, yaitu :

1) Perusakan dinding sel

Sel bakteri dikelilingi oleh struktur yang kaku disebut dinding sel yang melindungi membran protoplasma dibawahnya terhadap trauma baik osmotik maupun mekanik (Chatim dan Suharto, 1994). Struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk (Pelczar, 1988). Dinding sel bakteri terdiri dari peptidoglikan dan komponen yang lain. Sel yang aktif secara konstan akan mensintesis peptidoglikan yang baru dan menempatkannya pada posisi yang tepat pada amplop sel. Antibakteri bereaksi dengan satu atau banyak enzim yang dibutuhkan pada proses sintesis, sehingga akan menyebabkan pembentukan dinding sel yang lemah dan akan menyebabkan pemecahan osmotik, sehingga bakteri akan mati.

2) Penghambatan terhadap fungsi membran sel.

Sitoplasma semua sel hidup dibatasi oleh membran sitoplasma yang berperan sebagai barrier permeabilitas selektif membawa fungsi transpor aktif dan kemudian mengontrol komposisi internal sel. Antibakteri akan berikatan dengan membran fosfolipid yang menyebabkan pemecahan protein dan basa nitrogen sehingga membran bakteri akan pecah yang menyebabkan kematian bakteri.

3) Penghambatan terhadap sintesis protein (penghambatan translasi dan transkripsi material genetik).

Kebanyakan obat menghambat translasi atau sintesis protein, bereaksi dengan ribosom-mRNA. Walaupun manusia mempunyai ribosom, tetapi ribosom eukariotik berbeda dalam ukuran dan struktur dari prokariotik, sehingga menyebabkan aksi yang selektif terhadap bakteri, bakteri mempunyai 70S ribosom, sedangkan sel mamalia mempunyai 80S ribosom. Subunit masing-masing tipe ribosom, komposisi kimianya, dan spesifikasi fungsinya berbeda, bisa

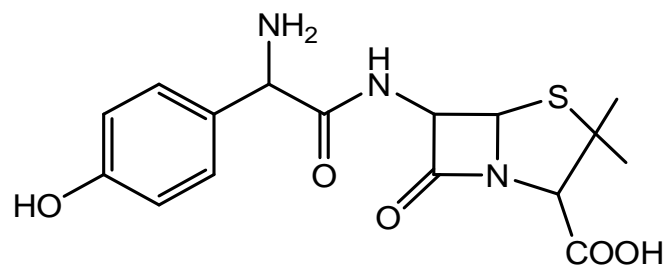
untuk menerangkan mengapa antibakteri dapat menghambat sintesis protein dalam ribosom bakteri tanpa berpengaruh pada ribosom mamalia.

4) Penghambatan terhadap sintesis asam nukleat.

Pembentukan DNA dan RNA bakteri merupakan perjalanan yang panjang dan membutuhkan enzim di beberapa proses. Penghambatan proses pembentukan dapat terjadi pada tempat-tempat tertentu. Antibakteri menginterferensi sintesis asam nukleat dengan menghambat sintesis nukleotida, menghambat replikasi, atau menghentikan transkripsi. Karena pembentukan DNA dan RNA sangat penting dan berefek dalam metabolisme protein, obat akan berikatan sangat kuat pada enzim *DNA Dependent RNA Polymerase* bakteri. Jadi ini menghambat sintesis RNA bakteri (Jawetz, Melnick, *et al*, 2005).

Berbagai jenis antibiotik sintetis telah dikembangkan untuk melawan infeksi bakteri. Masing-masing golongan antibiotik sintetis mempunyai target penghambatan yang berbeda. Antibiotik yang dapat mempengaruhi dinding sel adalah penisilin, monobaktam, karbapenem, vankomisin, sefalosporin, isoniazid dan basitrasin. Antibiotik sintetis yang dapat menghambat sintesis protein bakteri adalah kloramfenikol, tetrasiklin, aminoglikosida, dan makrolida. Antibiotik yang dapat menghambat fungsi membran sel adalah nistatin, dan polimiksin sedangkan antibiotik yang dapat menghambat sintesis asam nukleat diantaranya quinolon dan rifampin (Pratiwi, 2008).

Amoksisilin merupakan salah satu antibiotik sintetis turunan penisilin yang memiliki spektrum luas dimana aktif terhadap bakteri gram positif maupun gram negatif. Struktur kimia amoksisilin ditunjukkan pada gambar 9.



Gambar 9. Struktur kimia amoksisilin

Amoksisilin merupakan antibiotik yang tahan terhadap asam tetapi tidak tahan terhadap penisilinase. Beberapa keuntungan penggunaan amoksisilin dibanding ampisilin adalah absorpsi obat dalam saluran cerna lebih sempurna, sehingga kadar amoksisilin dalam darah lebih tinggi. Amoksisilin sering digunakan untuk pengobatan infeksi saluran pernafasan, saluran empedu, meningitis dan infeksi karena *Salmonella sp*, seperti demam tipoid. Efek terhadap *Bacillus dysentery* lebih rendah dibanding ampisilin karena lebih banyak obat yang diabsorpsi oleh saluran cerna (Siswandono dan Soekardjo, 2000). Difusi amoksisilin ke jaringan-jaringan dan cairan-cairan tubuh lebih baik. Amoksisilin dapat pula menyebabkan gangguan-gangguan usus dan kulit tetapi lebih jarang daripada ampisilin (Tjay dan Rahardja, 2002).

Amoksisilin dan ampisilin merupakan antibiotik turunan penisilin yang mempunyai aktivitas dan spektrum penghambatan yang sama, yaitu dapat menghambat kerja enzim transpeptidase dengan cara mengikat enzim melalui ikatan kovalen sehingga mencegah pembentukan dinding sel bakteri (Siswandono dan Soekardjo, 2000).

7. Uji Aktivitas Antibakteri

Menurut Pratiwi (2008), pengujian aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode sebagai berikut :

a. Metode difusi

1). Metode *disc diffusion* (tes Kirby & Bauer)

Piringan yang berisi sampel antibakteri diletakkan di atas permukaan agar yang telah ditanami bakteri, diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C kemudian diamati pertumbuhan bakteri, area jernih di sekitar piringan mengindikasikan adanya penghambatan pertumbuhan bakteri oleh sampel antibakteri.

2). Metode E-test

Strip plastik yang mengandung sampel antibakteri dari kadar terendah hingga tertinggi diletakkan pada permukaan media agar yang telah ditanami bakteri, diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Pengamatan dilakukan pada

area jernih disekitar strip plastik yang mengindikasikan adanya penghambatan pertumbuhan bakteri oleh sampel antibakteri.

3). *Ditch-plate technique*

Pada metode ini sampel uji berupa sampel antibakteri diletakkan pada parit yang dibuat dengan cara memotong media agar dalam cawan petri pada bagian tengah secara membujur. Bakteri uji digoreskan ke arah parit yang berisi sampel antibakteri, diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Aktivitas antibakteri ditunjukkan dengan daerah bening disekitar parit.

4). *Cup-plate technique*

Metode ini serupa dengan *disc diffusion*, dimana dibuat sumuran pada media agar yang telah ditanami bakteri uji. Sampel antibakteri dimasukkan ke dalam sumuran tersebut dengan jumlah tertentu dan konsentrasi tertentu pula. Plate diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C untuk memungkinkan agar sampel antibakteri berdifusi pada permukaan media agar. Aktivitas antibakteri ditunjukkan dengan daerah bening disekitar sumuran.

b. Metode Dilusi

1). Dilusi cair (*broth dilution test*)

Antibakteri disuspensikan pada media cair dengan pH 7-7,4 kemudian dilakukan pengenceran dengan menggunakan beberapa tabung reaksi. Selanjutnya dilakukan inokulasi bakteri uji yang telah disuspensikan dengan NaCl steril atau dengan TSB, yang tiap milimeternya mengandung kurang lebih 10^5 - 10^6 bakteri. Suspensi zat antibakteri dimasukkan ke dalam suspensi bakteri uji. Setelah itu, diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam dan diamati pertumbuhan bakteri. Pengamatan pertumbuhan bakteri berdasarkan pada kekeruhan suspensi. Tabung yang keruh menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri, sedangkan tabung yang lebih bening menunjukkan bahwa zat antibakteri dapat menghambat pertumbuhan bakteri yang diuji.

2). Dilusi padat (*solid dilution test*)

Zat antibakteri dicampur sampai homogen pada agar steril yang masih cair dengan suhu serendah mungkin dengan menggunakan berbagai konsentrasi aktif,

larutan tersebut dituangkan ke dalam cawan petri steril kemudian setelah memadat dioleskan bakteri uji pada permukaannya.

8. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Uji Potensi

Konsentrasi hambat minimum (KHM) adalah konsentrasi terkecil (pengenceran terbesar) suatu obat yang masih menghambat pertumbuhan bakteri. KHM sangat penting untuk menentukan dosis efektif terkecil dari obat dan memberikan indek perbandingan dengan obat yang lain.

Uji potensi suatu sampel (zat antibakteri) bertujuan untuk mengetahui sejauh mana kekuatan atau daya aktivitas antibakteri sampel tersebut bila dibandingkan terhadap suatu zat pembanding. Metode yang digunakan adalah dengan cara membandingkan respon yang dihasilkan oleh zat antibakteri yang diperiksa terhadap respon suatu zat antibakteri pembanding. Respon tersebut berupa hambatan terhadap pertumbuhan bakteri uji.

Uji potensi suatu sampel dapat dilakukan dengan cara membuat suatu grafik atau kurva standart dari zat pembanding, dimana logaritma konsentrasi zat pembanding diplotkan terhadap sumbu x dan diameter daerah hambat diplotkan terhadap sumbu y, sehingga diperoleh persamaan garis linier. Berdasarkan persamaan garis linier tersebut, nilai diameter daerah hambat pada konsentrasi yang telah ditetapkan disubstitusikan ke y maka akan diperoleh nilai x. Antilog dari nilai x merupakan nilai konsentrasi sampel yang setara dengan zat pembanding, sehingga dapat ditetapkan nilai uji banding sampel terhadap zat pembanding, yaitu dengan menggunakan rumus sebagai berikut.

$$\text{Nilai uji banding} = \frac{\text{Konsentrasi sampel dari kurva}}{\text{Konsentrasi sampel sebenarnya}} \times 100 \%$$

(Tristiyanto, 2009)

B. Kerangka Pemikiran

Rimpang lempuyang wangi (*Zingiber aromaticum* Val) digunakan sebagai obat tradisional mengandung saponin, flavonoid, tanin, dan minyak atsiri. Rimpang *Zingiber aromaticum* Val kering angin yang diisolasi dengan metode destilasi air mengandung minyak atsiri 0,93% (v/b), identifikasi komponen minyak atsiri dengan metode GC-MS menggunakan kolom kapiler Shimadzu CBP-5 yang panjangnya 20 m dan diameternya 0,25 mm menunjukkan adanya 17 senyawa yang meliputi: α -pinen (7,86%), kamfen (31,27%), β -pinen (2,39%), β -cis-osimen (3,41%), α -terpinen (0,84%), 3-karena (1,80%), sineol (6,36%), 4-karena (1,25%), β -linalool (14,16%), DL-kamfor (2,92%), 4-metil-1(1-metilelil)-3-sikloheksen-1-ol (2,06%), isokariofilen (0,76%), patchulana (0,67%), α -farnesen (1,58%), α -kariofilen (9,49%), kariofilen oksida (3,13%), dan germakron (10,05%) (Agusta, 2000). Faktor lingkungan, umur tanaman, proses pengeringan dan penyimpanan simplisia, metode isolasi serta metode identifikasi seperti pengkondisian alat dan jenis kolom berpengaruh pada kadar dan komponen kimia minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val.

Rimpang *Zingiber aromaticum* Val yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari B2P2TO2T Tawangmangu, Karanganyar. Pengeringan simplisia dengan pengovenan dan teknik isolasi minyak atsiri yang digunakan adalah metode destilasi Stahl. Prinsip kerja destilasi Stahl sama dengan destilasi dengan air tetapi destilasi Stahl mempunyai kelebihan dibandingkan destilasi dengan air, yaitu minyak atsiri yang dihasilkan tidak berhubungan dengan udara luar sehingga tidak mudah menguap, dengan demikian diharapkan kehilangan minyak atsiri selama proses penyulingan dapat diminimalkan.

Identifikasi komponen kimia minyak atsiri dilakukan dengan analisis GC-MS. Kolom yang digunakan dalam penelitian ini adalah jenis HP-5MS dengan panjang 30 m dan diameter kolom 0,25 mm. Jenis dan panjang kolom juga berpengaruh pada hasil pemisahan komponen minyak atsiri.

Mengacu pada Agusta (2000), dari 17 komponen minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val yang telah teridentifikasi, terdapat beberapa senyawa yang telah diketahui memiliki aktivitas antibakteri antara lain: α -pinen, β -pinen,

sineol, β -linalol, DL-kamfor dan α -kariofilen sebagaimana yang telah disebutkan dalam penelitian Inouye *et al* (2001) dan Sabulal *et al* (2006). Sehingga dapat dimungkinkan minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val berpotensi sebagai antibakteri. Hal ini diperkuat dengan hasil penelitian Wulandari (1986) dan Widyowati (1994) yaitu minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val pada konsentrasi 50% mampu menghambat pertumbuhan *Streptococcus beta hemolyticus* dengan Diameter Daerah Hambat (DDH) $14,30 \pm 0,1$ mm (Wulandari, 1986) dan rata-rata DDH minyak atsiri *Zingiber aromaticum* Val konsentrasi 10% pada *Staphylococcus aureus* ($15,5 \pm 1,05$ mm) lebih besar bila dibandingkan pada *Escheriscia coli* ($14 \pm 0,89$ mm) (Widyowati, 1994). Akan tetapi, aktivitas antibakteri minyak atsiri *Zingiber aromaticum* Val tergantung pada konsentrasi dan komponen minyak atsiri serta jenis dan jumlah bakteri.

Bacillus cereus merupakan bakteri gram positif sedangkan *Pseudomonas aeruginosa* dan *Salmonella typhi* merupakan bakteri gram negatif. *Bacillus cereus* merupakan bakteri penyebab diare, infeksi mata, dan meningitis (Jawetz *et al.*, 2005). *Pseudomonas aeruginosa* dapat menyebabkan infeksi saluran pernapasan, dermatitis, infeksi tulang dan sendi, serta infeksi saluran pencernaan. Sedangkan *Salmonella typhi* sering kali menyebabkan radang usus, diare dan demam *typhoid* (Syahruracman *et al.*, 1994). Penyakit akibat infeksi bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus* dan *Salmonella typhi* merupakan masalah utama kesehatan masyarakat. Masyarakat Jawa dan Sumatera secara empiris telah menggunakan rimpang *Zingiber aromaticum* Val sebagai obat penyakit yang disebabkan oleh bakteri tersebut diatas seperti asma, sakit perut dan nyeri sendi. Namun pengobatan secara medis menggunakan antibiotik sintetik seperti amoksisilin untuk pengobatan penyakit akibat infeksi bakteri. Oleh karena itu, dilakukan penentuan Konsentrasi Hambat Minimum untuk mengetahui potensi minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val sebagai antibakteri terhadap ketiga bakteri uji serta dilakukan uji potensi antibakteri minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val dibandingkan dengan potensi antibakteri amoksisilin.

C. Hipotesis

1. Minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val dapat diisolasi dengan metode destilasi Stahl dan kadarnya dapat ditentukan.
2. Komponen kimia minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val teridentifikasi dengan analisis data Kromatografi Gas-Spektrometer Massa (GC-MS) meliputi senyawa golongan monoterpen dan seskuiterpen.
3. Minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, dan *Bacillus cereus*.
4. Potensi minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val sebagai antibakteri dapat dibandingkan dengan amoksisilin dengan teknik sumuran.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Metode Penelitian

Penelitian dilakukan dengan menggunakan metode eksperimental di laboratorium. Isolasi minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val dilakukan dengan metode destilasi Stahl. Identifikasi komponen minyak atsiri dilakukan melalui pendekatan struktur dengan metode spektrometri. Spektrometer yang digunakan merupakan gabungan kromatografi gas dan spektrometer massa (GC-MS). Uji aktivitas minyak atsiri dilakukan dengan metode sumuran yang selanjutnya dilakukan penentuan KHM dan uji banding.

B. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan selama 5 bulan pada bulan Juli-November 2009 di Laboratorium Kimia FMIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta dan Sub Lab Biologi Laboratorium Pusat Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret.

C. Alat dan Bahan

1. Alat-alat yang digunakan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah destilasi stahl, labu alas bulat 750 ml (pyrex), gelas beker 250 ml (pyrex), gelas ukur 10 ml dan 50 ml (pyrex), selang air, *waterpump*, statif dan klem, *heating mantel*, GC-MS QP2010S SHIMADZHU, Inkubator suhu 4° C (J.P. SELECTA Hotcold M), Inkubator suhu 37° C (J.P. SELECTA Hotcold M), timbangan elektrik (Analytical Balance Denver Instrument), autoklaf (J.P. SELECTA Hotcold M), *hot plate-stirer* (IKA Labortechnik), *laminar air flow* (Minihelik II, dwyer), jangka sorong kaliber, mikro pipet digital 2-20 µl, 20-200 µl dan 100-1000 µl, cawan petri, botol duran, jarum ose, pembakar spirtus, eppendorf, perforator diameter 6 mm, *yellow tip*, *blue tip* dan spatula logam.

2. Bahan-bahan yang digunakan

a. Bahan penelitian

Bahan penelitian yang digunakan adalah rimpang *Zingiber aromaticum* Val yang diperoleh dari B2P2TO2T Tawangmangu, Karanganyar.

b. Bahan Kimia

Aquades, Na₂SO₄ anhidrous (Merck), *n*-heksana p.a (Merck), buffer fosfat pH 7 (Merck), alkohol 70%

c. Bakteri Uji

Bakteri uji yang digunakan adalah *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi* dan *Bacillus cereus*.

d. Media Bakteri

Media pertumbuhan bakteri yang digunakan adalah *Nutrien Agar* (Merck).

e. Zat pembanding Antibakteri

Zat pembanding yang digunakan adalah amoksisilin murni (Merck).

D. Prosedur Penelitian

1. Determinasi bahan awal

Determinasi tanaman yang digunakan dalam penelitian ini dilakukan di bagian Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada. Determinasi berdasarkan pada pengamatan ciri mikroskopis serbuk rimpang *Zingiber aromaticum* Val.

2. Persiapan sampel

Rimpang *Zingiber aromaticum* Val dicuci, dipotong-potong kemudian diangin-anginkan sampai layu kurang lebih satu hari dan dioven pada 40° C selama 72 jam. Rimpang *Zingiber aromaticum* Val kering kemudian diserbuk kasar dengan blender.

3. Isolasi Minyak Atsiri

Sebanyak 50 gram serbuk rimpang *Zingiber aromaticum* Val didestilasi Stahl dengan 250 mL akuades, selama kurang lebih 4 jam sampai volume minyak atsiri tidak bertambah lagi. Selanjutnya minyak atsiri dipisahkan. Minyak atsiri

yang masih bercampur dengan sedikit air dihilangkan dengan menambahkan natrium sulfat anhidrat sampai jenuh kemudian dipisahkan dan dihitung kadarnya.

4. Kromatografi Gas-Spektrometer Massa (GC-MS)

Uji GC-MS dilakukan untuk mengidentifikasi komponen minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val. Kondisi alat GC-MS sebagai berikut :

Jenis pengion	: EI (Electron Impact)
Jenis kolom	: HP-5MS
Panjang kolom	: 30 meter
Diameter kolom	: 0,25 milimeter
Suhu kolom	: 80 °C
Suhu injektor	: 290 °C

5. Uji aktivitas antibakteri minyak atsiri

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode sumuran dengan tahap kerja sebagai berikut :

a. Sterilisasi alat

Alat yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri disterilkan dalam autoklaf dengan temperatur 121°C selama kurang lebih 20 menit.

b. Pembuatan media agar miring

NA (*Nutrien Agar*) ditimbang sebanyak 1 g kemudian dilarutkan dalam 50 ml aquades, dipanaskan diatas *hotplate stirer* sampai mendidih dan terbentuk larutan agar yang berwarna kuning bening. Larutan agar tersebut dimasukan ke dalam 10 tabung reaksi masing-masing sebanyak 5 ml dan ditutup dengan kapas serta alumunium foil. Tabung yang berisi agar disterilisasi pada suhu 121°C selama 20 menit. Selanjutnya ditempatkan pada rak miring dan didiamkan sampai padat pada suhu kamar.

c. Pembuatan biakan bakteri

Sebanyak 1 ose isolat bakteri digoreskan pada media miring agar NA dengan pola zig-zag, masing-masing bakteri dibuat 3 biakan bakteri. Proses ini dilakukan dalam keadaan steril pada ruang isolasi dengan sinar UV. Biakan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18 sampai 24 jam.

d. Uji aktivitas antibakteri minyak atsiri

NA (*Nutrien Agar*) ditimbang sebanyak 3 g kemudian dilarutkan dalam 150 ml aquades, dipanaskan, distirer di atas *hotplate stirer* sampai mendidih sehingga terbentuk larutan agar yang berwarna kuning bening. Larutan nutrisi agar tersebut dimasukkan ke dalam botol duran. Tabung reaksi disiapkan, masing-masing diisi dengan 3 mL akuades dan ditutup rapat dengan kapas dan aluminium foil untuk pembuatan suspensi bakteri. *Nutrien Agar* yang telah dimasukkan dalam botol duran, akuades dalam tabung reaksi, cawan petri yang telah dibungkus kertas dan alat-alat yang akan digunakan dalam uji antibakteri (pervorator, tip, spatula) disterilisasi pada suhu 121 °C selama 20 menit.

Sebanyak 1 ose bakteri dimasukkan dalam aquades steril dan diaduk sampai larutan keruh. Suspensi bakteri sebanyak 100 µL dimasukkan ke dalam cawan petri steril ditambah dengan 15 mL NA steril pada suhu 40-42 °C, kemudian digoyang memutar supaya bakteri dan *Nutrien Agar* tercampur rata. Campuran agar dan suspensi bakteri didiamkan ± 15 menit sampai agar memadat. Agar padat dibuat sumuran dengan menggunakan perforator berdiameter 6 mm dengan jarak antar lubang yang sama, kemudian dimasukkan minyak atsiri dengan konsentrasi tertentu v/v dan larutan kontrol negatif (*n*-heksana) ke dalam tiap-tiap lubang sebanyak 20 µl dengan menggunakan mikropipet. Cawan kemudian diinkubasi di dalam inkubator bersuhu 37°C selama 18-24 jam.

Pengamatan zona penghambatan sampel terhadap pertumbuhan bakteri uji dilakukan dengan mengukur diameter zona bening disekitar sumuran dengan jangka sorong digital.

e. Penentuan KHM minyak atsiri

Minyak atsiri konsentrasi 100% yang menunjukkan adanya penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri, dibuat variasi konsentrasi secara menurun dengan pelarut *n*-heksana yang selanjutnya dilakukan uji aktivitas antibakteri dari masing-masing konsentrasi tersebut untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimumnya.

f. Penetapan KHM amoksisilin

Konsentrasi Hambat Minimum amoksisilin murni ditetapkan dengan cara yang sama dengan penetapan KHM minyak atsiri. Variasi konsentrasi amoksisilin dibuat dengan melarutkannya dalam buffer fosfat pH 7.

E. Teknik Pengumpulan dan Analisis Data

Penelitian ini akan menghasilkan beberapa data. Pada tahap isolasi minyak atsiri dengan menggunakan metode Stahl akan diperoleh kadar minyak atsiri. Kadar minyak atsiri dinyatakan sebagai berikut:

$$\text{Kadar minyak atsiri (v/b)} = \frac{\text{Volume minyak atsiri}}{\text{Berat serbuk awal}} \times 100\%$$

Data yang diperoleh pada saat analisis komponen minyak atsiri dengan GC-MS adalah sebagai berikut: dari kromatogram GC akan diperoleh informasi jumlah senyawa yang terdeteksi sedangkan dari spektra MS akan didapatkan struktur senyawa dengan membandingkannya dengan data sekunder dari literatur.

Uji antibakteri dengan metode sumuran akan diperoleh nilai diameter daerah hambat dari masing-masing bakteri uji kemudian dibuat variasi konsentrasi sampel secara menurun untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM). Uji potensi minyak atsiri dibandingkan dengan amoksisilin dilakukan dengan membuat kurva standar antara log konsentrasi amoksisilin (%) terhadap rata-rata diameter daerah hambat (mm) untuk setiap bakteri uji. Dari kurva standar diperoleh persamaan garis linear, kemudian nilai diameter daerah hambat pada konsentrasi tertentu disubstitusikan ke y sehingga nilai x dapat diketahui. Antilog nilai x merupakan konsentrasi minyak atsiri yang setara dengan amoksisilin. Nilai potensi sampel dibandingkan terhadap standar amoksisilin dapat dihitung dengan persamaan berikut:

$$\text{Nilai banding} = \frac{\text{Konsentrasi minyak atsiri yang setara amoksisilin}}{\text{Konsentrasi minyak atsiri yang sebenarnya}} \times 100\%$$

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Persiapan sampel

Rimpang *Zingiber aromaticum* Val dicuci, dipotong-potong kemudian diangin-anginkan sampai layu kurang lebih satu hari dan dioven pada 40° C selama 3 x 24 jam. Proses pengeringan ini bertujuan untuk mengurangi kadar air hingga kadar air dalam simplisia menjadi $\leq 10\%$, sehingga dapat meminimalkan pertumbuhan jamur selama proses penyimpanan simplisia.

Rimpang *Zingiber aromaticum* Val kering diserbuk kasar sebelum dilakukan penyulingan. Penghalusan simplisia bertujuan untuk membuka kelenjar minyak sebanyak mungkin sehingga mempermudah penguapan minyak atsiri saat proses destilasi. Hal ini dikarenakan minyak atsiri dikelilingi oleh kelenjar minyak, pembuluh-pembuluh, dan kantung minyak. Apabila dibiarkan utuh, maka proses difusi minyak atsiri berlangsung sangat lambat (Ketaren, 1987). Simplisia yang telah diserbuk sesegera mungkin didestilasi untuk mengurangi kehilangan minyak atsiri sebelum proses isolasi.

B. Isolasi minyak atsiri

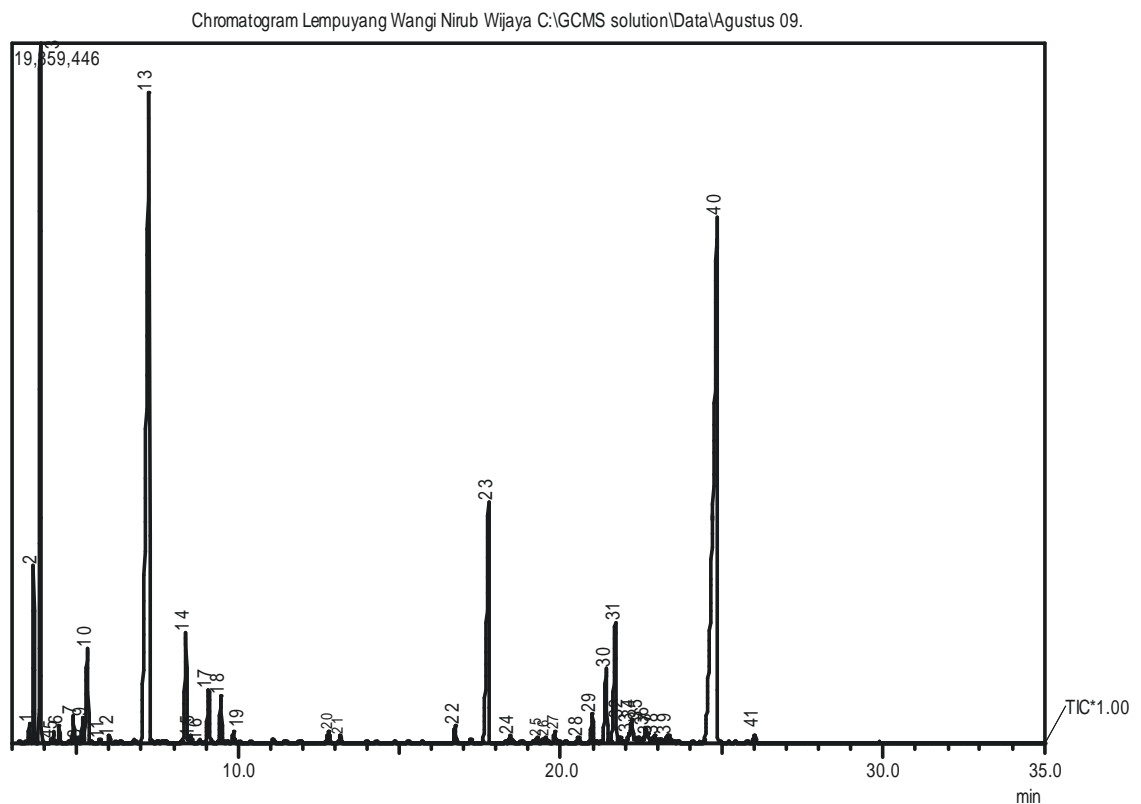
Isolasi minyak atsiri pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan alat destilasi Stahl karena memiliki beberapa kelebihan antara lain: minyak atsiri yang dihasilkan tidak berhubungan langsung dengan udara luar sehingga kehilangan minyak atsiri selama proses penyulingan dapat diminimalkan. Selain itu, volume minyak atsiri yang dihasilkan dapat langsung diketahui jumlahnya karena alatnya dilengkapi dengan pipa skala.

Prinsip kerja destilasi Stahl sama dengan destilasi air (hidrodestilasi) yaitu bahan yang didestilasi kontak langsung dengan air mendidih sehingga terjadi hidrodifusi atau penembusan air pada jaringan-jaringan tanaman. Kelenjar yang terpecah oleh uap air menyebabkan minyak atsiri lepas dan terbawa bersama-sama uap air. Uap air yang membawa minyak atsiri tersebut kemudian didinginkan dalam kondensor. Hasil pendinginan akan diperoleh lapisan minyak atsiri yang terpisah oleh air. Minyak atsiri yang masih bercampur dengan sedikit air ditambah

dengan natrium sulfat *anhydrous* untuk mengikat sisa-sisa air sehingga diperoleh minyak atsiri. Minyak atsiri yang diperoleh dari hasil penelitian ini berupa cairan berwarna kuning jernih dan berbau khas lempuyang wangi dengan kadar 0,60% (v/b) (perhitungan pada lampiran 3).

C. Hasil Analisis Kromatografi Gas-Spektrometer Massa

Hasil analisis dengan GC-MS akan diperoleh dua data yaitu kromatogram yang berasal dari hasil analisis GC dan spektra massa dari hasil analisis MS. Hasil kromatogram GC minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val menunjukkan adanya 41 puncak. Kromatogram GC minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val ditunjukkan pada gambar 10.



Gambar 10. Kromatogram minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val

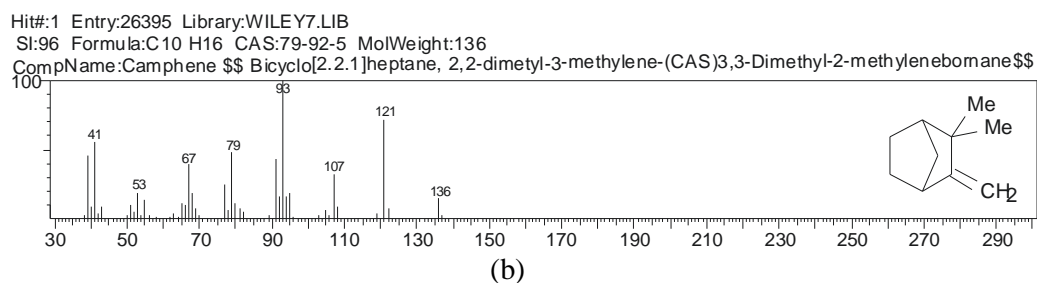
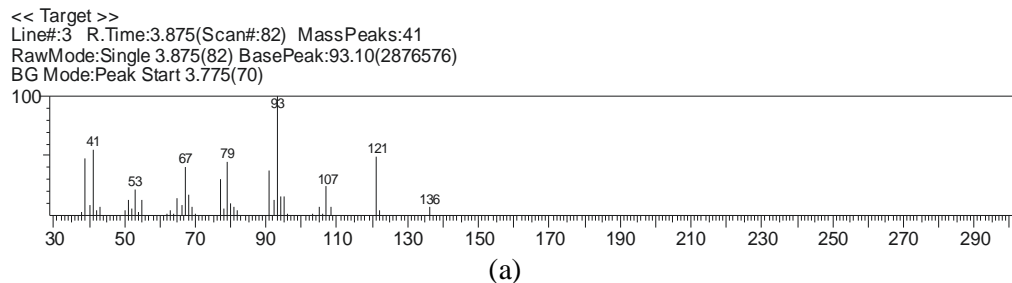
Identifikasi komponen lebih lanjut dilakukan dengan spektrometer massa, dari hasil spektrometer massa akan diperoleh spektra massa dari masing-masing puncak yang terdeteksi pada kromatogram GC. Analisa spektra massa didasarkan

pada nilai *Similarity Indeks (SI)*, *base peak* (puncak dasar), dan trend pecahan spektra massa yang dibandingkan dengan spektra dari library yaitu *Wiley 7.LIB*. Spektra massa senyawa yang teridentifikasi dan spektra massa senyawa standar dari *Wiley 7.LIB* ditunjukkan pada lampiran 4c.

Berikut ini beberapa contoh analisis spektra massa senyawa yang terdeteksi dengan GC-MS yang terkandung dalam minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val dan dibandingkan dengan spektra massa senyawa standar dari *Wiley 7 LIB*.

1. Senyawa puncak 3.

Spektra massa senyawa puncak 3 dengan waktu retensi 3,872 menit dan kelimpahan 10,91% ditampilkan pada gambar 11a, sedangkan spektra massa dari senyawa standar dari *library* ditampilkan pada gambar 11b.



Gambar 11. (a). Spektra massa senyawa 3, (b). Spektra massa senyawa kamfena

Spektra tersebut diatas dapat dibuat tabel fragmentasi sebagai berikut:

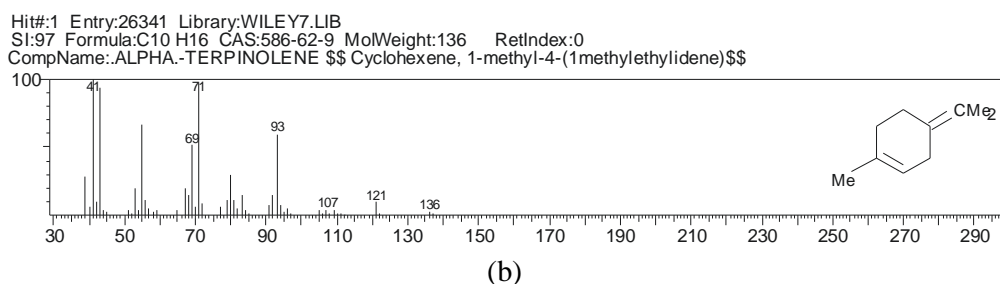
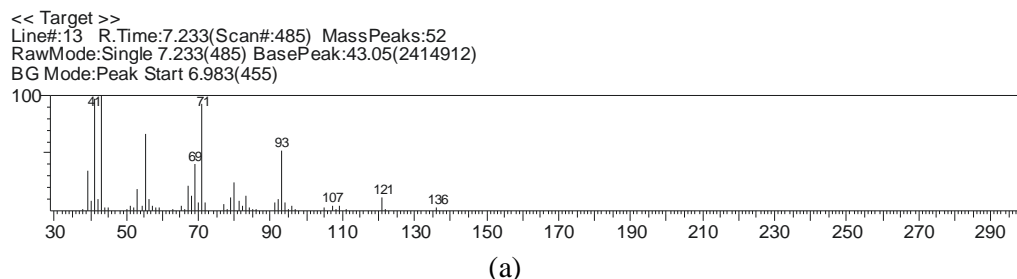
Tabel 1. Fragmentasi senyawa puncak 3 dibandingkan standar kamfena (*WILEY-7.LIB*)

No	Senyawa	Puncak Fragmentasi							
1	Senyawa puncak 3	41	53	67	79	93	107	121	136
2	Standar Kamfena	41	53	67	79	93	107	121	136

Tampak pada gambar 11a dan tabel 1, spektra massa senyawa puncak 3 mirip dengan gambar 11b yang merupakan spektra massa dari senyawa kamfena, dengan *Similarity Indeks* 96%. Kamfena merupakan golongan senyawa monoterpen hidrokarbon bisiklik dengan rumus molekul $C_{10}H_{16}$ dan m/z 136 yang berbau tajam dan pedas. Kamfena sering digunakan sebagai bahan *additive* dalam makanan tetapi kamfena tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Salmonella typhi* ([www.inchem.org/ documents/sids/sids/79925](http://www.inchem.org/documents/sids/sids/79925))

2. Senyawa puncak 13

Senyawa puncak 13 dengan waktu retensi 7,237 menit dan kelimpahan 27,19 % memiliki fragmen yang mirip dengan senyawa α -terpinolen. Spektra massa senyawa puncak 13 dapat dilihat pada gambar 12a dan spektra massa α -terpinolen dapat dilihat pada gambar 12b.



Gambar 12. (a) Spektra massa senyawa puncak 13, (b) Spektra massa α -terpinolen

Spektra tersebut diatas dapat dibuat tabel fragmentasi sebagai berikut:

Tabel 2. Fragmentasi senyawa puncak 13 dibandingkan standar α -Terpinolen (WILEY-7.LIB)

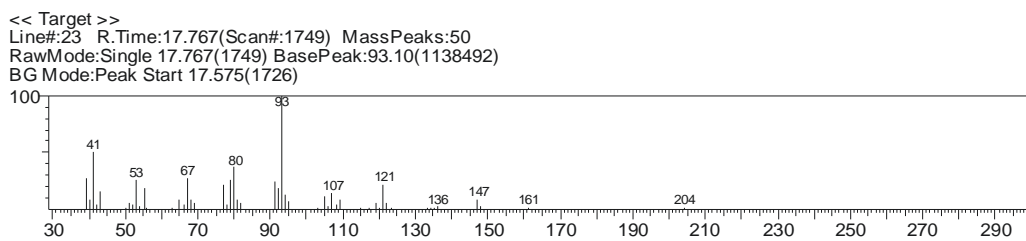
No	Senyawa	Puncak Fragmentasi						
1	Senyawa puncak 13	41	69	71	93	107	121	136
2	Standar α -Terpinolen	41	69	71	93	107	121	136

Tampak pada gambar 12 dan tabel 2, spektra massa senyawa puncak 13 mirip dengan spektra massa senyawa α -terpinolen dengan *Similiaryti indeks* 97%. Senyawa α -terpinolen merupakan golongan monoterpen hidrokarbon dengan rumus molekul $C_{10}H_{16}$ dan m/z 136.

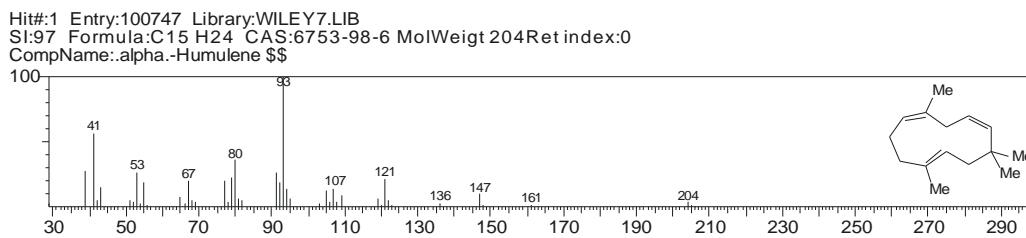
Senyawa α -terpinolen memiliki aroma khas, sehingga dalam suatu tanaman bertindak sebagai penarik serangga. Pada bidang industri, α -terpinolen digunakan sebagai pengemulsi dalam polimerisasi plastik akrilonitril-butadiena-stirena. Selain itu, juga digunakan sebagai bahan *additive* pada pembuatan sabun, deterjen, dan *lotion* karena aromanya yang harum dan memiliki aktivitas antibakteri. Hasil penelitian Kubo *et al* dalam Masten (1999) menunjukkan bahwa α -terpinolen efektif menghambat pertumbuhan bakteri penyebab jerawat, *Propionibacterium acnes* pada konsentrasi 50 $\mu\text{g/mL}$. Selain itu, α -terpinolen juga digunakan sebagai bahan pemberi aroma makanan dan *ice cream* (Masten, 1999).

3. Senyawa puncak 23

Spektra massa senyawa puncak 23 dengan waktu retensi 17,766 menit dan kelimpahan 7,53% memiliki fragmen yang mirip dengan spektra massa senyawa α -humulen. Spektra massa senyawa puncak 23 dapat dilihat pada gambar 13a dan spektra massa α -humulen dapat dilihat pada gambar 13b.



(a)



(b)

Gambar 13. (a) Spektra massa puncak 23, (b) Spektra massa senyawa α -humulen

Spektra tersebut diatas dapat dibuat tabel fragmentasi sebagai berikut:

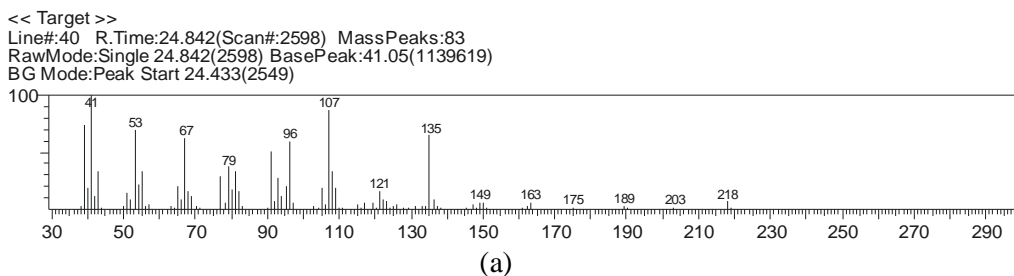
Tabel 3. Fragmentasi senyawa puncak 23 dibandingkan standar α -humulen (WILEY-7.LIB)

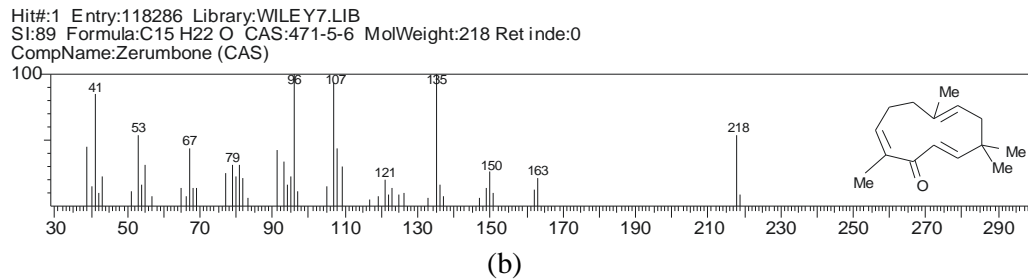
No	Senyawa	Puncak Fragmentasi									
1	Senyawa puncak 13	41	53	80	93	107	121	136	147	161	204
2	Standar α -Terpinolen	41	53	80	93	107	121	136	147	161	204

Tampak pada gambar 13 dan tabel 3, spektra massa senyawa puncak 23 mirip dengan spektra massa senyawa α -humulen dengan *Similiaryti indeks* 97%. Senyawa α -humulen termasuk golongan senyawa seskuiterpen hidrokarbon dengan rumus molekul $C_{15}H_{24}$ dan m/z 204. Senyawa α -humulen dikenal juga dengan juga sebagai α -kariofilen yang merupakan isomer dari β -kariofilen. Senyawa α -humulen dan β -kariofilen merupakan komponen utama penyusun minyak atsiri rimpang *Zingiber nimmonii* dengan komposisi β -kariofilen (42,2%) dan α -humulen (27,7%). Sebanyak 10 μ l minyak atsiri rimpang *Zingiber nimmonii* dalam 20 μ l DMSO dapat mengambat pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* dan *Stapilococcus aureus* dengan DDH pada masing-masing bakteri berturut-turut adalah $9,5 \pm 0.5$ mm, $11,3 \pm 06$ mm dan 9.0 ± 0.0 mm (Sabulal *et al.*, 2006). Selain memiliki aktivitas antibakteri, humulen juga memiliki efek *sedative* dan *anti-inflammatory* (Rayne, 2008).

4. Senyawa puncak 40

Spektra massa senyawa puncak 40 dengan waktu retensi 24,844 menit dan kelimpahan 31,05% memiliki fragmen yang mirip dengan spektra massa senyawa zerumbon. Spektra massa senyawa puncak 40 dapat dilihat pada gambar 14a dan spektra massa zerumbon dapat dilihat pada gambar 14b.





Gambar 14. (a) Spektra massa puncak 40, (b) Spektra massa senyawa zerumbon

Spektra tersebut diatas dapat dibuat tabel fragmentasi sebagai berikut:

Tabel 4. Fragmentasi senyawa puncak 40 dibandingkan standar zerumbon (*WILEY-7.LIB*)

Senyawa	Puncak Fragmentasi													
Senyawa puncak 40	41	53	67	79	96	107	121	135	149	163	175	189	203	218
Standar zerumbon	41	53	67	79	96	107	121	135	150	163	-	-	-	218

Tampak pada gambar 14 dan tabel 4, pola fragmentasi spektra massa senyawa puncak 40 hampir mirip dengan pola fragmentasi pada spektra massa senyawa zerumbon dengan *Similiarty indeks* 89%. Adanya zerumbon sebagai komponen dalam rimpang *Zingiber aromaticum* Val juga disebutkan dalam Subehan *et al.*, (2005). Hasil penelitian Subehan *et al.*, (2005) menunjukkan bahwa dari 10 gram ekstrak metanol rimpang *Zingiber aromaticum* Val mengandung zerumbon sebanyak 1,7 gram. Zerumbon merupakan golongan senyawa seskiterpen teroksigenasi dengan rumus molekul $C_{15}H_{22}O$ dan m/z 218.

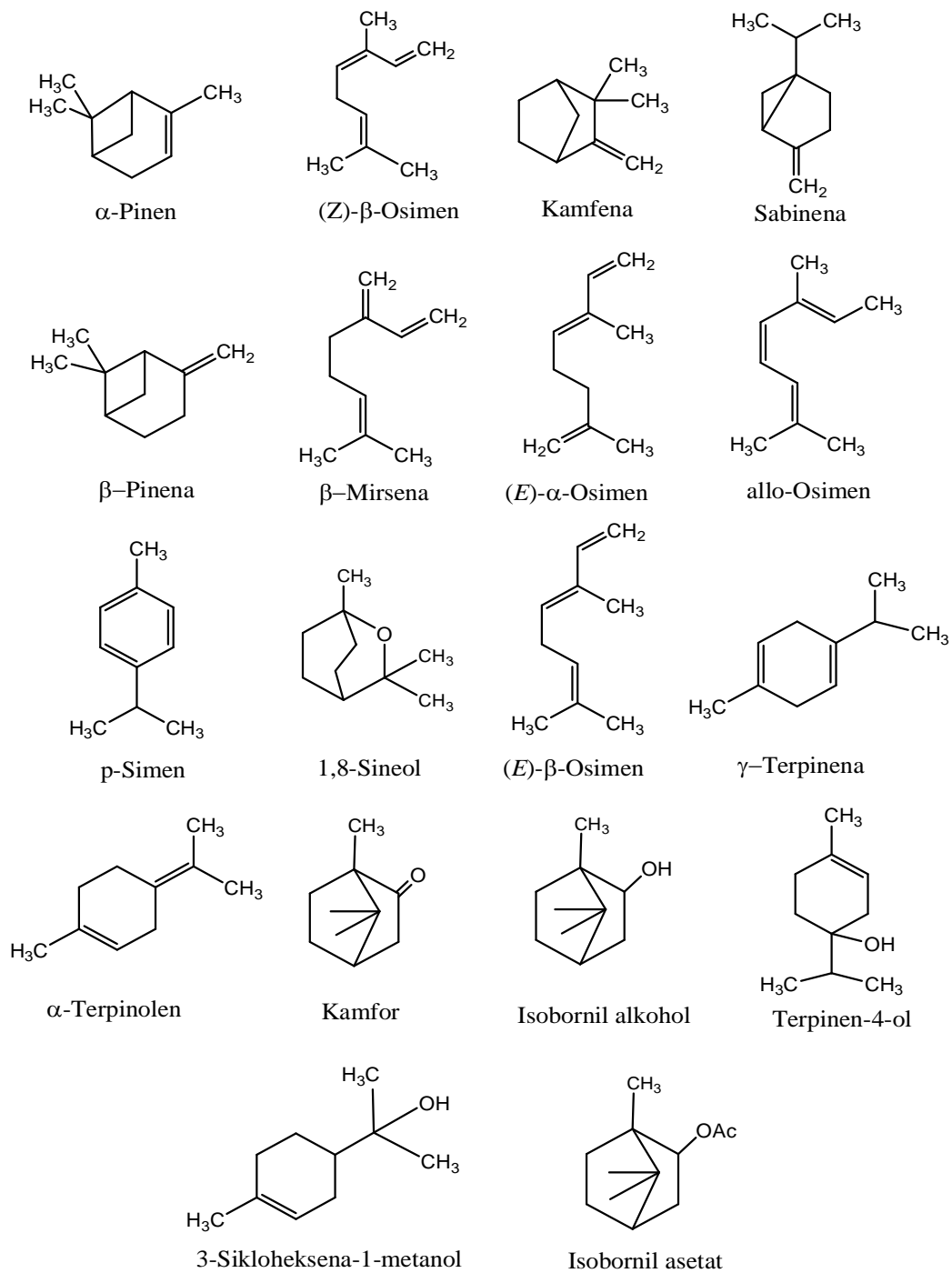
Zerumbon merupakan komponen utama minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val dalam penelitian ini. Hal ini didasarkan dari kromatogram GC yang ditunjukkan dengan puncak area yang paling tinggi, yakni 30,01%. Zerumbon merupakan senyawa bioaktif yang bersifat toksik yang dapat menghambat perkembangan sel kanker (Hawariah *et al.*, 2007). Zerumbon juga menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Salmonella choleraesuis*. Konsentrasi zerumbon sebesar 13 mg/ml dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella choleraesuis* dengan DDH $11 \pm 0,3$ mm, tetapi tidak menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap bakteri *P. aeruginosa*, *S. aureus* dan *B. subtilis* (Abdul *et al.*, 2008).

Analisis spektra massa senyawa lainnya dilakukan dengan cara yang sama seperti analisis senyawa yang telah dilakukan diatas. Hasil analisis spektra massa diperoleh 27 senyawa yang memiliki puncak dasar dan pola fragmentasi yang mirip dengan senyawa standar dari *Wiley 7 LIB*. Data 27 komponen minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val yang teridentifikasi disajikan pada Tabel 5.

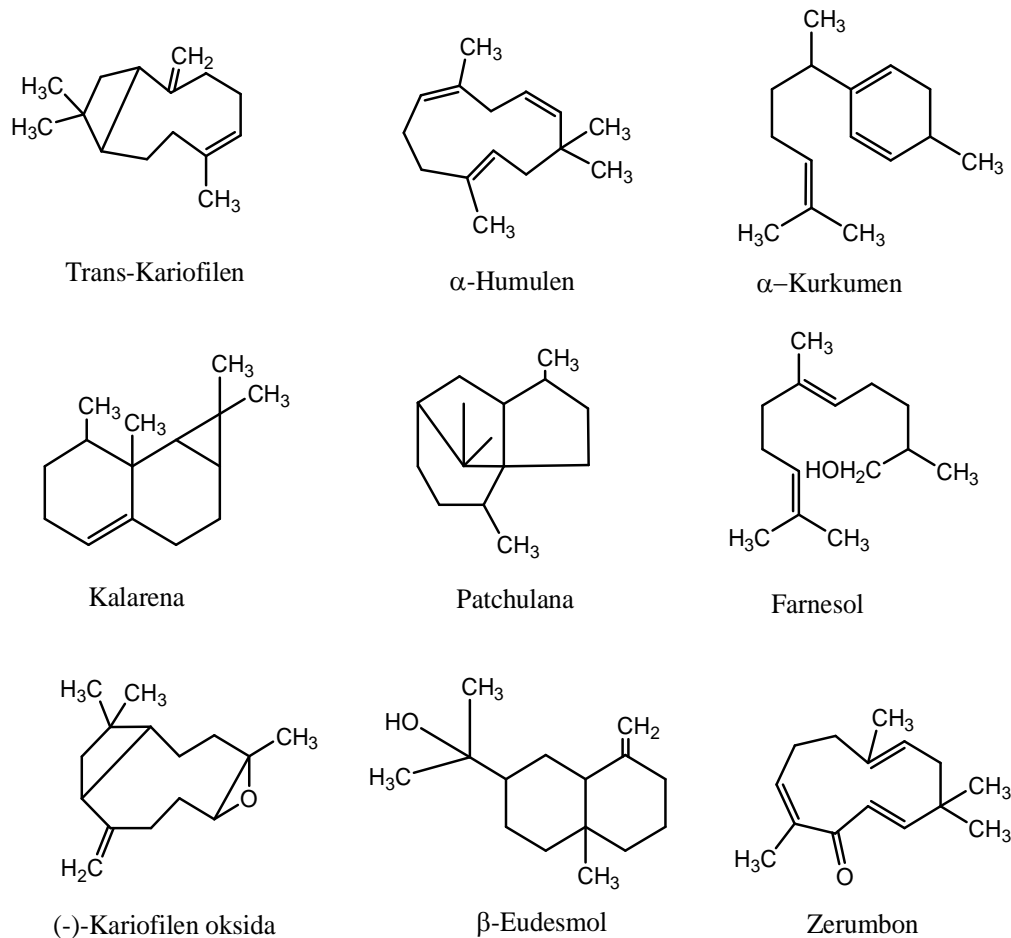
Tabel 5. Komponen minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val

Senyawa	tR (menit)	Puncak	Luas area (%)	SI	Berat Molekul	Perkiraan senyawa
1.	3,526	1	0,36	94	136	α -pinena
2.	3,655	2	2,70	96	136	(Z)- β -osimen
3.	3,872	3	10,91	96	136	kamfena
4.	4,202	4	0,07	94	136	sabinena
5.	4,283	5	0,18	97	136	β -pinena
6.	4,447	6	0,29	95	136	β -mirsena
7.	4,893	7	0,51	94	136	(E)- α -osimen
8.	5.018	8	0,08	89	136	<i>allo</i> -osimen
9.	5,176	9	0,50	93	134	<i>p</i> -simen
10.	5,334	10	2,75	93	154	1,8-sineol
11.	5.707	11	0,05	93	136	(E)- β -osimen
12.	6,004	12	0,14	96	136	γ -terpinena
13.	7,237	13	27,19	97	136	α -terpinolen
14.	8,382	14	2,71	96	152	kamfor
15.	9,093	17	1,51	89	154	isobornil alkohol
16.	9,463	18	1,11	96	154	terpinen-4-ol
17.	9,856	19	0,25	97	154	3-sikloheksena-1-methanol
18.	12,806	20	0,29	96	196	isobornil asetat
19.	16,732	22	0,42	96	204	trans-kariofilen
20.	17,766	23	7,53	97	204	α -humulen
21.	18.443	24	0,13	87	202	α -kurkumen
22.	19,266	25	0,10	88	204	kalarena
23.	19,819	27	0,25	88	206	patchulana
24.	20,553	28	0,11	96	222	farnesol
25.	21,415	30	2,07	86	220	(-)-kariofilen oksida
26.	22,634	36	0,29	86	222	β -eudesmol
27.	24,844	40	31,05	89	218	zerumbon
Total senyawa teridentifikasi						93,55%

Struktur 27 senyawa yang tergolong monoterpen dan seskuiterpen tersebut digambarkan pada Gambar 15 dan Gambar 16, sebagai berikut:



Gambar 15. Struktur monoterpen minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val



Gambar 16. Struktur seskuiterpen minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val

Hasil identifikasi di atas menunjukkan bahwa komponen minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val tersusun dari golongan monoterpen hidrokarbon (45,73%), turunan monoterpen teroksigenasi (5,87%), seskuiterpen hidrokarbon (8,43%), dan turunan seskuiterpen teroksigenasi (33,52%). Komponen minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val yang tergolong monoterpen hidrokarbon adalah α -pinena, (*Z*)- β -osimen, kamfena, sabinena, β -pinena, β -mirsena, (*E*)- α -osimen, *allo*-osimen, p-simen, 1,8-sineol, (*E*)- β -osimen, γ -terpinena dan α -terpinolen, sedangkan kamfor, isobornil alkohol, terpinen-4-ol, 3-sikloheksena-1-methanol dan isobornil asetat merupakan senyawa turunan monoterpena teroksigenasi. Golongan seskuiterpen hidrokarbon terdiri dari trans-

kariofilen, α -humulen, α -kurkumen, kalarena, serta patchulana sedangkan (-)-kariofilen oksida, farnesol, β -eudesmol dan zerumbon merupakan senyawa turunan seskuiterpen teroksigenasi.

Kadar dan komponen kimia minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val dari hasil penelitian ini menunjukkan adanya perbedaan dengan hasil penelitian terdahulu yang disebutkan dalam Agusta (2000). Dalam Agusta (2000) disebutkan bahwa rimpang *Zingiber aromaticum* Val kering angin yang diisolasi dengan metode destilasi air mengandung 0,93% (v/b) minyak atsiri. Identifikasi komponennya menggunakan metode GC-MS dengan kolom kapiler Shimadzu CBP-5 dengan panjang kolom 20 m dan diameter 0,25 mm menunjukkan 17 senyawa yang terkandung dalam minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val dengan komposisi α -pinena (7,86%), kamfena (31,27%), β -pinena (2,39%), β -cis-osimena (3,41%), α -terpinena (0,84%), 3-karena (1,80%), sineol (6,36%), 4-karena (1,25%), β -linalol (14,16%), DL-kamfor (2,92%), 4-metil-1(1-metilelil)-3-sikloheksen-1-ol (2,06%), kariofilena oksida (3,13%), isokariofilena (0,76%), α -kariofilena (9,49%), patchulana (0,67%), α -farnesena (1,58%) dan germakron (10,05%). Sedangkan dari hasil penelitian ini dapat diketahui bahwa rimpang *Zingiber aromaticum* Val yang berasal dari B2P2TO2T Tawangmangu, Karanganyar, yang diisolasi dengan metode destilasi Stahl mengandung 0,6% (v/b) minyak atsiri dan identifikasi komponen dengan GC-MS menggunakan kolom HP-5MS dengan panjang 30 m dan diameter 0,25 mm menunjukkan 27 senyawa yang teridentifikasi (tercantum pada tabel 5).

Adanya perbedaan komponen penyusun minyak rimpang *Zingiber aromaticum* Val yang teridentifikasi dapat disebabkan oleh beberapa faktor antara lain perbedaan daerah asal simplisia seperti ketinggian, kesuburan tanah dan iklim, umur simplisia, perlakuan simplisia seperti proses pengeringan dan penyimpanan, metode isolasi serta perbedaan kondisi operasional alat yang digunakan untuk mendeteksi komponen tersebut khususnya pengkondisian alat, jenis dan panjang kolom yang digunakan. Selain itu, komposisi minyak atsiri dapat berubah-ubah karena dapat mengalami penyusunan kembali secara intramolekuler (Ketaren, 1987).

Penelitian selanjutnya dilakukan untuk mengetahui potensi antibakteri minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val dibandingkan amoksisilin terhadap *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus* dan *Salmonella typhi*. Dari uraian sebelumnya telah disebutkan bahwa komponen utama minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val seperti zerumbon, α -terpinolen dan α -humulen memiliki aktivitas antibakteri. Komponen lain yang diduga memiliki aktivitas antibakteri adalah: α -pinen, β -pinena, terpinen-4-ol, kamfor, 1,8-sineol, isobornil alkohol, 3-sikloheksena-1-metanol, farnesol, β -eudesmol, (-)-kariofilen oksida, *trans*-kariofilen. Terpinen-4-ol merupakan komponen utama penyusun minyak batang teh yang bersifat antibakteri (Dewick, 2002).

D. Uji Aktvitas Antibakteri

1. Uji aktivitas antibakteri minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val

Pengujian aktivitas antibakteri minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val dilakukan terhadap tiga bakteri uji yaitu *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus* dan *Salmonella typhi* dengan metode difusi agar khususnya metode sumuran. Dalam teknik ini, media agar yang telah ditanami bakteri uji dibuat sumuran dengan perforator berdiameter 6 mm kemudian sumuran tersebut diisi dengan sampel yang akan diuji aktivitas antibakterinya. Sampel dalam sumuran akan berdifusi pada media agar yang telah ditanami bakteri. Dasar pengamatan dari metode ini adalah terbentuk atau tidaknya zona bening disekitar sumuran setelah media agar yang ditanami bakteri diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam, sehingga besarnya penghambatan terhadap bakteri uji dapat teramati dengan jelas. Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji, mengetahui konsentrasi hambat minimumnya dan mengetahui nilai banding potensi antibakteri minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val terhadap amoksisilin.

Variasi konsentrasi minyak atsiri dibuat dengan melarutkan minyak atsiri ke dalam *n*-heksana karena *n*-heksana dapat melarutkan minyak atsiri secara sempurna, harganya lebih murah dibandingkan pelarut organik lain dan *n*-heksana

tidak mempunyai aktivitas antibakteri sehingga keberadaan *n*-heksana sebagai pelarut minyak atsiri tidak berpengaruh pada besarnya aktivitas penghambatan minyak atsiri terhadap bakteri uji yang dibuktikan dengan uji kontrol negatif. Hasil uji aktivitas antibakteri minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val konsentrasi 100%, 75%, 50% dan 25% terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus* dan *Salmonella typhi* disajikan dalam tabel 6.

Tabel 6. Data penghambatan minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val

Konsentrasi minyak atsiri (v/b)	Rata-rata DDH \pm SD (mm)		
	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. cereus</i>	<i>S. typhi</i>
100%	12.13 \pm 0.41	13.9 \pm 0.14	12.56 \pm 0.13
75%	11.37 \pm 0.06	12.93 \pm 0.09	12.15 \pm 0.13
50%	11.16 \pm 0.16	12.03 \pm 0.22	11,63 \pm 0.44
25%	10.54 \pm 0.22	11.5 \pm 0.42	11.16 \pm 0.13

Keterangan: Rata-rata hasil 3x pengujian
Diameter sumuran = 6 mm
DDH = Diameter Daerah Hambat (mm)

Hasil uji diatas menunjukkan bahwa minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val mampu menghambat pertumbuhan ketiga bakteri uji. Aktivitas penghambatan minyak atsiri konsentrasi 100% > 75% > 50% > 25%. Hal ini disebabkan karena semakin besar konsentrasi minyak atsiri maka semakin besar pula konsentrasi zat aktif yang terkandung didalamnya sehingga semakin besar kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antibakteri pada tabel 6, selanjutnya dilakukan analisis data secara statistik untuk mengetahui secara pasti apakah terdapat perbedaan yang nyata terhadap aktivitas antibakteri minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val yang disebabkan oleh variasi konsentrasi minyak atsiri. Uji statistik dilakukan dengan menggunakan metode One-Way ANOVA dan analisis lebih lanjut dengan menggunakan LSD.

Uji ANOVA (lampiran 9) dilakukan untuk mengetahui pengaruh variasi konsentrasi terhadap DDH masing-masing bakteri. Hasil uji menunjukkan bahwa secara keseluruhan variasi konsentrasi menyebabkan perbedaan yang nyata terhadap aktivitas antibakteri minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val pada masing-masing bakteri uji.

Analisa lebih lanjut dengan LSD dilakukan untuk mengetahui pengaruh antar konsentrasi dalam menghambat pertumbuhan bakteri pada masing-masing bakteri. Hasil analisa dengan LSD menunjukkan ada beberapa konsentrasi yang tidak menunjukkan perbedaan secara nyata yaitu antara konsentrasi 75% dengan 50% terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Terhadap *Bacillus cereus*, semua konsentrasi menunjukkan perbedaan yang nyata sedangkan pada *Salmonella typhi* perbedaan yang tidak nyata ditunjukkan pada konsentrasi 100% dengan 75% dan 50% dengan 25%.

Selain dilakukan uji statistik untuk mengetahui pengaruh variasi konsentrasi pada Diameter Daerah Hambat, dilakukan juga uji statistik untuk mengetahui pengaruh variasi bakteri terhadap Diameter Daerah Hambat. Hasil uji ANOVA (lampiran 10) dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh yang berbeda secara nyata antara bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus* dan *Salmonella typhi* terhadap Diameter Daerah Hambat (DDH) minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val ($\text{sig} < 0,05$). Diameter Daerah Hambat minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val pada *Bacillus cereus* > *Salmonella typhi* > *Pseudomonas aeruginosa*. Perbedaan daerah hambatan pada pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus* dan *Salmonella typhi* dapat disebabkan oleh perbedaan komponen penyusun dinding sel antara bakteri gram positif dan gram negatif. *Bacillus cereus* merupakan bakteri gram positif sedangkan *Salmonella typhi* dan *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri gram negatif, dimana secara umum dinding bakteri gram negatif berbeda dengan bakteri gram positif dan hal ini dapat menjelaskan bahwa banyak zat antibakteri yang tidak sensitif terhadap bakteri gram negatif. Bakteri gram positif terdapat lapisan peptidoglikan 50-100 lapis dan selebihnya adalah membran dan sitoplasma. Sedangkan bakteri gram negatif hanya terdiri dari 1-2 lapisan peptidoglikan tetapi memiliki membran luar (*outer membrane*) dan lipopolisakarida (Chandarana, 2005; Siswandono dan Soekardjo, 2000). *Outer membrane* ini berfungsi sebagai lapisan pelindung pada bakteri gram negatif dari zat-zat yang bersifat racun termasuk zat antibakteri yang mempunyai target menghambat sintesis peptidoglikon, dengan adanya *outer membrane* tersebut maka penetrasi

antibakteri ke daerah sasaran (membran terdalam) untuk melakukan aktivitasnya dapat dicegah (Jawetz *et al*, 2005). Hal ini yang menyebabkan zat antibakteri kurang efektif terhadap beberapa bakteri gram negatif (Siswandono dan Soekardjo,2000).

Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa Diameter Daerah Hambat minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val terhadap *Salmonella typhi* lebih besar dibandingkan *Pseudomonas aeruginos* meskipun *Pseudomonas aeruginosa* dan *Salmonella typhi* sama-sama tergolong bakteri gram negatif. Hal ini dikarenakan setiap bakteri mempunyai sifat dan ketahanan yang berbeda-beda terhadap suatu antibakteri walaupun bakteri tersebut termasuk dalam satu golongan yang sama. *Pseudomonas aeruginosa* dan *Salmonella typhi* sama-sama merupakan golongan bakteri gram negatif, tetapi *Pseudomonas aeruginosa* memiliki selaput luar yang 100 kali kurang permeabel daripada *E. Coli* dan *Salmonella typhi* (Jawetz *et al.*, 2005). Semakin kurang permeabel suatu selaput luar dari bakteri maka semakin sulit suatu zat antibakteri untuk menembusnya. Oleh karena itu, ketahanan *Pseudomonas aeruginosa* terhadap antibiotik lebih besar dari pada *Salmonella typhi*.

Hasil uji statistik ANOVA dan LSD yang telah dilakukan, memberikan informasi bahwa besarnya daerah hambatan dipengaruhi oleh konsentrasi minyak atsiri serta jenis bakteri. Mekanisme penghambatan minyak atsiri terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, dan *Bacillus cereus* belum diketahui secara pasti karena minyak atsiri bukan merupakan senyawa tunggal melainkan merupakan campuran dari senyawa golongan monoterpen dan seskuiterpen. Banyaknya komponen kimia yang terkandung dalam minyak atsiri, memungkinkan aktivitas kerja antibakterinya tidak hanya melalui satu cara yang spesifik melainkan ada beberapa cara dan target pada sel bakteri.

Aktivitas kerja minyak atsiri dalam menghambat pertumbuhan atau mematikan bakteri melalui mengganggu proses terbentuknya dinding sel, merusak membran sel, menghambat kerja enzim dan atau menghancurkan material genetik yang ada pada bakteri. Mekanisme ini tidak semuanya terjadi secara terpisah,

melainkan ada beberapa mekanisme yang terjadi sebagai akibat dari mekanisme lain (Carson, 2002 ; Ajizah, 2004).

Dinding sel bakteri tersusun dari lapisan peptidoglikan. Adanya minyak atsiri dalam dinding sel bakteri menyebabkan meningkatnya tekanan osmosis dalam sel sehingga menyebabkan terjadinya lisis pada sel bakteri. Zat antibakteri pada minyak atsiri juga dapat melarutkan fosfolipid yang merupakan komponen penyusun membran sel bakteri. Hal ini disebabkan karena fosfolipid memiliki dua bagian yaitu: yang satu bersifat hidrofilik karena mengandung gugus posfat dan bagian lainnya bersifat hidrofob yang mengandung lemak. Komponen minyak atsiri yang mengandung percabangan gugus fenol maupun alkohol dapat melarutkan fosfolipid. Larutnya fosfolipid dalam minyak atsiri menyebabkan permeabilitas sel berkurang sehingga sel akan mengalami lisis serta menyebabkan denaturasi protein, menghambat pembentukan protein sitoplasma dan asam nukleat. Lebih lanjut dikatakan oleh Rupilu dan Lamapaha (2008), kerusakan fosfolipid menyebabkan kerusakan pada membran sel sehingga dapat menyebabkan kebocoran dan komponen-komponen penting di dalam sel bakteri seperti protein, asam nukleat dan nukleotida dapat mengalir keluar akibat dari terganggunya permeabilitas sel sehingga sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup dan pertumbuhan bakteri terhambat atau bahkan mati.

2. Penetapan KHM minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val

Penetapan Konsentrasi Hambat Minimum dilakukan dengan memvariasi konsentrasi minyak atsiri secara menurun dengan melarutkannya dalam *n*- heksan. Hal ini bertujuan untuk mengetahui KHM minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val terhadap masing-masing bakteri uji. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) merupakan konsentrasi penghambatan terkecil, dimana dibawah KHM minyak atsiri tidak mampu lagi menghambat pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa*, *S. typhi* dan *B. cereus*. Konsentrasi Hambat Minimum sangat penting untuk mengetahui potensi antibakteri minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val. Dari KHM juga dapat digunakan untuk menentukan dosis efektif terkecil minyak atsiri sebagai antibakteri. Data aktivitas antibakteri minyak atsiri

rimpang *Zingiber aromaticum* Val terhadap bakteri *P. aeruginosa*, *S. typhi* dan *B. cereus* ditunjukkan pada tabel 7.

Tabel 7. Data penentuan KHM minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val terhadap bakteri *P. aeruginosa*, *S. typhi* dan *B. cereus*.

Konsentrasi minyak atsiri (v/b)	Rat-rata DDH \pm SD (mm)		
	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. cereus</i>	<i>S. typhi</i>
0.75%	8.80 \pm 0.25	9.76 \pm 0.33	9.47 \pm 0.07
0.5%	8.36 \pm 0.13	9.01 \pm 0.37	8.76 \pm 0.25
0.25%	6.69 \pm 0.31	8.54 \pm 0.48	8.22 \pm 0.25
0.1%	6.00 \pm 0.00	8.02 \pm 0.25	6.97 \pm 0.22
0.075%	-	6.98 \pm 0.13	6.00 \pm 0.00
0.05%	-	6.00 \pm 0.00	-

Keterangan: Rata-rata hasil 3x pengujian
Diameter sumuran = 6 mm
DDH = Diameter Daerah Hambat (mm)

Semakin kecil Konsentrasi Hambat Minimum berarti minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val semakin berpotensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri tersebut. Hasil penelitian diperoleh bahwa KHM minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val adalah 0,25% terhadap *P. aeruginosa* dengan DDH 6,69 \pm 0,3 mm. terhadap *B. cereus* adalah 0,075% dengan DDH 6,98 \pm 0,13 mm dan 0,1% terhadap *S. typhi* dengan DDH 6,97 \pm 0,22. Ini berarti bahwa potensi minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val menghambat pertumbuhan bakteri *B. cereus* > *S. typhi* > *P. aeruginosa*.

Hasil diatas kemudian dilakukan analisis statistik dengan One-Way ANOVA untuk mengetahui perbedaan secara pasti pengaruh variasi konsentrasi minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val terhadap daerah hambatan pada masing-masing bakteri uji. Hasil analisis ditunjukkan pada lampiran 13, berdasarkan hasil analisis statistik dapat diketahui bahwa secara keseluruhan variasi konsentrasi minyak atsiri 0,75%, 0,5%, 0,25%, 0,1%, 0,075% dan 0,05% menunjukkan perbedaan yang nyata terhadap daerah hambatan pada masing-masing bakteri uji. Hasil analisis lebih lanjut dengan menggunakan metode LSD diketahui bahwa, perbedaan yang tidak nyata ditunjukkan oleh konsentrasi 0,5% dengan 0,25% dan 0,25% dengan 0,1% terhadap *Bacillus cereus*.

3. Penetapan KHM amoksisilin

Antibiotik pembanding yang digunakan dalam penelitian ini adalah amoksisilin. Pemilihan amoksisilin sebagai pembanding dikarenakan amoksisilin merupakan antibiotik yang memiliki spektrum penghambatan yang luas sehingga bisa digunakan untuk menghambat bakteri gram positif seperti *B. cerus* dan bakteri gram negatif seperti *P. aeruginosa* dan *S. typhi*.

Selain itu, amoksisilin mempunyai beberapa kelebihan bila dibandingkan dengan antibiotik lain seperti ampisilin. Amoksisilin dan ampisilin merupakan antibiotik turunan penisilin yang mempunyai aktivitas dan spektrum penghambatan yang sama tetapi amoksisilin diabsorpsi lebih baik dalam usus, sehingga kerja amoksisilin lebih efektif dibandingkan ampisilin (Katzung, 2001).

Penetapan KHM dilakukan dengan variasi konsentrasi amoksisilin. Variasi konsentrasi amoksisilin dibuat dengan melarutkannya ke dalam buffer fosfat pH 7. Buffer fosfat pH 7 merupakan pelarut yang sering digunakan sebagai pelarut obat-obatan dan produk makanan dalam uji antimikroba karena tidak memiliki aktivitas penghambatan terhadap mikroba sehingga dapat berfungsi sebagai kontrol negatif atau larutan blanko (Downes dan Ito, 2001). Pemakaian buffer fosfat sebagai pelarut amoksisilin telah dilakukan Harianto., dkk (2006). Buffer fosfat dapat melarutkan amoksisilin secara sempurna dan menjaga kestabilan pH larutan sehingga dapat mencegah terjadinya degradasi obat dan larutan obat dapat stabil dalam waktu yang lama serta tidak akan kehilangan aktivitasnya dalam waktu yang cepat.

Berbeda dengan minyak atsiri, amoksisilin merupakan senyawa tunggal sehingga mekanisme kerjanya telah diketahui secara pasti. Amoksisilin menghambat pertumbuhan bakteri dengan menghambat tahap spesifik dalam sintesis dinding sel bakteri. Dinding sel bakteri tersusun dari kompleks polimer silang kait peptidoglikon yang terdiri dari polisakarida dan polipeptida. Polisakarida tersusun dari asam N-asetilglukosamin dan asam N-asetilmuramat yang berikatan secara β -1-4 glukosida. Polipeptida terikat pada N-asetilmuramat dan tersusun dari tetrapeptida asam amino yang berakhir pada L-alanin-D-alanin. Protein-protein pengikat penisilin (PBPs) mengkatalisis reaksi transpeptidase

yang melepaskan alanin akhir untuk membentuk ikatan silang dengan ikatan peptida terdekat. Amoksisilin merupakan antibiotik semisintetik yang mengandung cincin β -Laktam. Cincin β -Laktam ini merupakan analog struktural dari L-alanin-D-alanin alami yang secara kovalen diikat oleh PBP pada situs aktif. Setelah amoksisilin terhubung pada PBP, reaksi transpeptidase dapat dihambat (Katzung, 2001). Akibatnya dinding sel menjadi lemah dan karena adanya tekanan dari dalam, dinding sel akan pecah atau lisis sehingga bakteri mati (Siswandono dan Soekardjo, 2000). Data hasil uji KHM amoksisilin ditunjukkan pada tabel 8.

Tabel 8. Data hasil pengujian KHM amoksisilin terhadap ketiga bakteri

Konsentrasi		Rata-Rata DDH \pm SD (mm)		
% (b/v)	ppm	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B. cereus</i>	<i>S. typhi</i>
$1,0 \cdot 10^{-4}$	1	$12,29 \pm 0,53$	$16,14 \pm 0,43$	$13,75 \pm 0,27$
$5,0 \cdot 10^{-5}$	0,5	$10,79 \pm 0,20$	$15,09 \pm 0,20$	$12,92 \pm 0,26$
$2,5 \cdot 10^{-5}$	0,25	$9,84 \pm 0,19$	$13,54 \pm 0,34$	$11,65 \pm 0,46$
$1,0 \cdot 10^{-5}$	0,1	$8,88 \pm 0,39$	$12,07 \pm 0,13$	$10,34 \pm 0,42$
$5 \cdot 10^{-6}$	0,05	$7,02 \pm 0,19$	$10,26 \pm 0,13$	$7,06 \pm 0,09$
$2,5 \cdot 10^{-6}$	0,025	$6,00 \pm 0,00$	$7,07 \pm 0,15$	$6,00 \pm 0,00$
$1 \cdot 10^{-6}$	0,01	$6,00 \pm 0,00$	$6,00 \pm 0,00$	$6,00 \pm 0,00$

Keterangan: Rata-rata hasil 3x pengujian

Diameter lubang = 6 mm

DDH = Diameter Daerah Hambat (mm)

Konsentrasi Hambat Minimum amoksisilin terhadap *Pseudomonas aeruginosa* adalah $5,0 \cdot 10^{-6}$ % dengan diameter daerah hambat $7,02 \pm 0,19$ mm, terhadap *Bacillus cereus* $2,5 \cdot 10^{-6}$ % dengan diameter daerah hambat $7,07 \pm 0,15$ mm sedangkan terhadap *Salmonella typhi* adalah $5,0 \cdot 10^{-6}$ % dengan diameter daerah hambat $7,06 \pm 0,09$ mm.

Berdasarkan uji statistik One-Way Anova (Lampiran 15) dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh yang berbeda antara bakteri *P. aeruginosa*, *B. cereus* dan *S. typhi* terhadap Diameter Daerah Hambat masing-masing bakteri uji ($\text{sig} < 0,05$). Hasil uji lebih lanjut dengan LSD menunjukkan secara keseluruhan antar bakteri mempunyai pengaruh yang berbeda nyata terhadap diameter daerah hambat.

Uji statistik One-Way ANOVA (lampiran 16) dilakukan untuk mengetahui pengaruh variasi konsentrasi amoksisilin pada diameter daerah hambat bakteri uji. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh bahwa, variasi konsentrasi mempunyai pengaruh yang berbeda secara nyata terhadap diameter daerah hambat pada masing-masing bakteri uji ($\text{sig} < 0,05$). Hasil analisa lebih lanjut dengan LSD menunjukkan bahwa antar konsentrasi amoksisilin mempunyai pengaruh yang berbeda nyata terhadap daerah hambat ($\text{sig} < 0,05$)

Berdasarkan hasil uji KHM baik terhadap minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val maupun amoksisilin, selanjutnya digunakan untuk penetapan potensi anti bakteri minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val dibandingkan terhadap amoksisilin.

4. Potensi antibakteri minyak atsiri dibanding amoksisilin

Penetapan nilai banding dilakukan untuk mengetahui potensi antibakteri minyak atsiri dibandingkan dengan antibiotik sintetis yaitu amoksisilin. Perhitungan nilai banding dilakukan dengan cara membuat grafik log konsentrasi amoksisilin vs rata-rata diameter daerah hambat amoksisilin. Dari grafik diperoleh persamaan garis linier. Salah satu diameter daerah hambat hasil pengujian aktivitas antibakteri minyak atsiri disubstitusikan ke persamaan garis linear tersebut. Diameter daerah hambat minyak atsiri pada konsentrasi tertentu disubstitusikan sebagai nilai y pada persamaan garis linear, sehingga diperoleh nilai x. Antilog nilai x merupakan nilai konsentrasi minyak atsiri yang setara dengan amoksisilin. Konsentrasi minyak atsiri yang setara dengan amoksisilin kemudian dibagi dengan konsentrasi minyak atsiri yang diplotkan dan dikalikan dengan faktor 100%, maka diperoleh nilai potensi antibakteri minyak atsiri dibandingkan terhadap amoksisilin untuk masing-masing konsentrasi minyak atsiri. Nilai banding potensi yang digunakan merupakan rata-rata dari nilai banding semua konsentrasi minyak atsiri. Hasil perhitungan penetapan potensi minyak atsiri dibandingkan terhadap amoksisilin pada masing-masing bakteri ditunjukkan pada tabel 9.

Tabel 9. Hasil perhitungan penetapan uji potensi minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val dibanding amoksisilin pada masing-masing bakteri

Bakteri	Potensi antibakteri minyak atsiri dibanding amoksisilin
<i>P. aeruginosa</i>	0,001 %
<i>B. cereus</i>	0,001 %
<i>S. typhi</i>	0,001 %

Hasil penetapan uji potensi diatas menunjukkan bahwa minyak atsiri terhadap amoksisilin pada bakteri *P. aeruginosa* adalah 0,001 %, pada *B. cereus* adalah 0,001 % dan pada *S. typhi* adalah 0,001 %. Berdasarkan hasil penetapan uji banding menunjukkan bahwa potensi antibakteri minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val sangat kecil bila dibanding amoksisilin, tetapi kemungkinan senyawa dalam minyak atsiri tersebut dapat digunakan sebagai alternatif senyawa yang bersifat antibakteri.

BAB V PENUTUP

A. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Kadar minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val dari B2P2TO2T Tawangmangu, Karanganyar yang diisolasi dengan metode destilasi Stahl sebesar 0,6 % (v/b), berupa cairan berwarna kuning bening, berbau khas lempuyang wangi.
2. Identifikasi komponen minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val dengan analisis data GC menunjukkan adanya 41 puncak dan analisis lebih lanjut dengan analisis spektra massa terdapat 27 senyawa yang memiliki spektra massa mirip dengan spektra massa senyawa standar. Senyawa yang teranalisa termasuk golongan monoterpen dan seskuiterpen. Komponen minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val yang tergolong monoterpen adalah α -pinen, (*Z*)- β -osimen, kamfen, sabinen, β -pinen, β -mirsen, (*E*)- α -osimen, allo-osimen, p-simen, 1,8-sineol, (*E*)- β -osimen, γ -terpinena dan α -terpinolen, kamfor, isobornil alkohol, terpinen-4-ol, 3-sikloheksena-1-metanol dan isobornil asetat sedangkan golongan seskuiterpen terdiri dari *trans*-kariofilen, α -humulen, α -kurkumen, kalaren, patchulana, farnesol, (-)-kariofilen oksida, β -eudesmol dan zerumbon.
3. Minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val mempunyai aktivitas antibakteri terhadap ketiga bakteri uji dengan konsentrasi hambat minimum 0,25% terhadap *P. aeruginosa*, 0,075% terhadap *B. cereus* dan 0,1% terhadap *S. typhi*. Ini berarti potensi antibakteri minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val terhadap *B. cereus* > *S. typhi* > *P. aeruginosa*
4. Potensi antibakteri minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val terhadap ketiga bakteri uji dibanding amoksisilin adalah 0,001 %. Potensi antibakteri minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val lebih kecil dibandingkan amoksisilin.

B. SARAN

Berdasarkan hasil penelitian dan percobaan yang telah dilakukan, penulis memberikan saran bahwa

1. Perlu dilakukan isolasi dan identifikasi komponen utama minyak atsiri rimpang *Zingiber aromaticum* Val beserta uji aktivitas antibakteri komponen utama tersebut.
2. Perlu dilakukan uji khasiat lain untuk mengetahui manfaat rimpang *Zingiber aromaticum* Val secara ilmiah.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdul, A.B., Murali, S.M., Abdelwaheb S.I., Al-zubairi, A., dan Elhassaan, M.M., 2008. Anticancer and Antimicrobial Activities of Zerumbone from the Rhizome of Zingiber zerumbet. *International Journal of Pharmacology*, 4(4) : 301-304.
- Agusta, 2000. *Minyak Atsiri Tumbuhan Tropika Indonesia*. ITB. Bandung.
- Ajizah, A. 2004. Sensitivitas *Salmonella typhimurium* terhadap ekstrak daun *Psidium guajava* L. *Journal Bioscientiae*, 1 (1) : 31-38.
- Aliero, A. A., Aliero, B.L. and Buhari, U. 2008. Preliminary phytochemical and antibacterial screening of *Scadoxus multiflorus*. *Int. Jor. P. App. Scs.* 2(4):13-17.
- Aliadi, 1996. *Tanaman Obat Pilihan*. Yayasan Sidowayah. Jakarta
- Anonim, 1978. *Materia Medika Indonesia*, Jilid II. Departemen Kesehatan RI. Jakarta.
- Anonim, 2010. *Camphene*. [www.inchem.org/ documents/sids/sids/79925](http://www.inchem.org/documents/sids/sids/79925), diakses pada 18 Maret 2010.
- Anonim, 2010. *Accessories and Supplies for Shimadzu Gas Chromatographs*. www.shimadzu.com, diakses pada 4 mei 2010.
- Andayani, SGD., Linar, ZU., Kardono, LBS., Hanafi, M., 2006. Antibiotika Baru dari *Actinomycetes* dan Jamur. *Prosiding Seminar Nasional Himpunan Kimia Indonesia*. Departemen Kimia FMIPA IPB. Bogor.
- Carson, C.F. Mee, B.J., Riley, T.V., 2002. Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage and salt tolerance assays and electron microscopy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 46(6): 1914-1920.
- Chandarana H, Baluja S, Chanda V.S, 2005. Comparison of Antibacterial Activities of Selected Species of Zingiberaceae Family and Some Synthetic Compounds. *Turk J Biol*, 29 : 83-97.
- Chatim dan Suharto, 1994. Sterilisasi dan Disinfeksi. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi Revisi. Binarupa Aksara. Jakarta.

- Dai, J.R., Cardellina, J.H., McMahan, J.B., and Boyd, H.R. 1997. Zerumbone, an HIV inhibitory and cytotoxic sesquiterpene of *Zingiber aromaticum* and *Z. zerumbet*. *Nat. Prod. Lett.*, 10:115-118.
- Dewick, M. 2002. *Medicinal Natural Products*, Second Edition. John Wiley & Sons. School of Pharmaceutical Sciences University of Nottingham.
- Downes dan Ito, 2001. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*, 4th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
- Erindyah. R.W dan Maryati. 2003. Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Pinus Terhadap *S. aureus* dan *E.coli*. *Jurnal Penelitian Sains dan Teknologi*, 3:130-139.
- Gunawan, D. dan Mulyani, 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi) Jilid 1*, Penebar Swadaya, Jakarta.
- Hariato, Sabarijah W., Transitawuri F., 2006. Perbandingan Mutu dan Harga Tablet Amoksisilin 500 mg Generik dengan Non Generik yang beredar di Pasaran. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, Vol. III, No. 3, 127-142.
- Hawariah, A., Handayani, S.T., Sakinah S.A.S., 2007. Zerumbone induced apoptosis in liver cancer cells via modulation of Bax/Bcl-2 ratio. *Cancer Cell International Journal*, 7:4.
- Heyne K, 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia II*, diterjemahkan oleh Badan Litbang Kehutanan. Yayasan Sarana Wana Jaya. Jakarta.
- Inouye, S., Takizawa, T., dan Yamaguchi, H., 2001. Antibacterial activity of essential oil and their major constituents against respiratory by gaseous contact. *Journal of Antimicrobial Chemoterapy*, 47:565-573.
- Jawetz, E., Melnick, J.L., Adelberg E.A. 1986. *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan*. EGC. Jakarta.
- Jawetz, E., Melnick, J.L., Adelberg E.A., 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Salemba Medika. Jakarta.
- Katzung, B.G., Trevor, A.J. (Eds.), 1994. *Buku Bantu Farmakologi*. EGC. Jakarta.

- Ketaren, 1987. *Minyak Atsiri*, UI Press, terjemahan: Guenther. E., 1947. *Essential Oils*, Vol 1, John Willey and Sons, New York.
- Kristanti, N.A., Aminah, N.S., Tanjung, M., Kurniadi, B., 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Airlangga University Press, Surabaya.
- Lenny, S., 2006. *Senyawa Terpenoida dan Steroida*. Universitas Sumatera Utara. Medan
- Masten, S., 1999. *Terpinolene, Review of Toxicological Literature*. National Institute of Environmental Health Sciences. North Carolina
- Mayasari, 2005. *Pseudomonas aeruginosa: Karakteristik, Infeksi dan Penanganan*. Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Natta, Orapin, Kritika dan Pantip, 2008. Essential Oil From five Zingiberaceae For Anti Food-Borne Bacteria. *International Food Research Journal*, 15(3): 337-346.
- Norajit K, Laohakunjit N, Kerdchoechuen O, 2007. Antibacterial Effect of Five Zingiberaceae Essential Oils. *Molecules*, 12: 2047-2060.
- Pauvova, D., Kokoskova, B., Pavela, R., 2008. Effectivity of Plant Essential Oils Against Clavibacter michiganensis, in Vitro. *Zemdirbyste-Agriculture*, vol. 95, No 3: 440–446.
- Padmawinata, K., dan Sudiro, I., 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, ITB. Bandung, Terjemahan: *Phytochemical Methods*, Harborne, J.B., 1973. Chapman and Hall 1 td, London.
- Pelczar, M. J., Chan. E. C. S, Pelczar, M. F., Penerjemah: Hadioetomo, R, S. dkk. 1988. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, Jilid 2. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta.
- Pliego, 2007. *Effect of Natural Antimicrobials Against Salmonella, Escherichia coli O157:H7 and Listeria monocytogenes*. Thesis Food Science and Technology Texas A&M University.
- Pratiwi, S., 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Gelora Aksara Pratama. Jakarta

- Rayne, S. 2008. Chemical profiles of essential oils and non-polar extractables from Sumac (*Rhus spp*) : a mini-review. *Electronic Journal of Food and Plants Chemistry*, 3 (1) : 5-9.
- Rupilu, N.S dan Lamapaha, Y.F., 2008. *Potensi Lengkuas Sebagai Antimikroba (Studi in vitro pada bakteri gram negatif)*. Universitas Negeri Malang. Malang.
- Sabulal, B., Dan, M., John, J., Kurup, R., Pradep, N.S., Valsamaa, R.K., George, 2006. Caryophyllene-rich rhizome oil of *Zingiber nimmoni* from South India: Chemical characterization and antimicrobial activity. *Phytochemistry*, 67:2469–2473.
- Salle, A., 1961. *Fundamental Principle of Bacteriology*, 5th Ed, Mc Graw Hill Book Company, Inc, New York.
- Satrohamidjojo, H, 2004. *Kimia Minyak Atsiri*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. Hal : 13-14.
- Siswandono dan Soekardjo, 2000. *Kimia Medicinal*. Airlangga University Press. Surabaya.
- Sjahrurachman, A, 1996. Resistensi Bakteri terhadap Aminoglikosida. *Cermin Dunia Kedokteran*, 108: 49
- Subehan, Usia T., Kadota S., Tezuka Y., 2005. Constituents of *Zingiber aromaticum* and Their CYP3A4 and CYP2D6 Inhibitory Activity. *Chem. Pharm. Bull.* 53(3): 333-335
- Sudarsono, Gunawan, D., dan Wahyuono, S., 2002. *Tumbuhan Obat II : Hasil Penelitian, Sifat- sifat dan Penggunaan*, 187. Pusat Studi Obat Tradisional UGM. Yogyakarta.
- Sudaryanti, T dan Sugiharti, E., 1990. *Budidaya dan Penyulingan Nilam*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Syahruracman, Chatim, Soebandrio, Karuniawati, Santosa, dan Harun, 1994. Kokus positif gram dan Batang negatif gram. *Buku ajar Mikrobiologi Kedokteran*, Edisi Revisi, 103-111, 163-165, Penerbit Bina Aksara. Jakarta.

- Syamsuhidayat, S.S. dan Hutapea. J.R.. 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (I)*. Departemen Kesehatan RI. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Jakarta.
- Tampubolon, 1981. *Tumbuhan Obat*. Penerbit Bhatara Karya. Jakarta.
- Tjay, TH dan Rahardja, K., 2002. *Obat-Obat Penting, Khasiat, Penggunaan, dan Efek Sampingnya*. Edisi ke empat. Gramedia. Jakarta.
- Tristiyanto, 2009. *Studi Aktivitas Antibakteri dan Identifikasi Golongan Senyawa Ekstrak Aktif Antibakteri Buah Gambas (*Luffa acutangula* Roxb)*. Skripsi FMIPA UNS. Surakarta.
- Usia, T., Watabe, Kadota, S., dan Tezuka, Y., 2005. Mechanism-Based Inhibition of CYP3A4 by Constituent of *Zingiber aromaticum*. *Biol.Pharm.Bull.* 28 (3): 495-499.
- Wardani, K.A., 2008. *Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Residu Ekstrak Etanolik Daun Arbenan (*Duchesnea indica* (Andr.) Focke.) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Multi Resisten Antibiotika Beserta Profil Kromatografi Lapis Tipis*. Skripsi Fak.Farmasi, UMS. Surakarta.
- Widyowati, R., 1994. *Daya Antibakteri Rimpang Lempuyang Wangi (*Zingiber aromaticum* Val) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli**. Tesis Fakultas Kedokteran, UGM. Yogyakarta.
- Wijyantie, D.E., 2009. *Isolasi dan Uji Aktivitas Antimikroba dari isolat *Streptomyces* Terhadap *Escherichia coli**. Skripsi Fak. Farmasi, UMS. Surakarta.
- Wulandari, V.S., 1986. *Isolasi dan Pemeriksaan Minyak Atsiri dari *Zingiber aromaticum* Val*. Skripsi Fak. Farmasi, UGM. Yogyakarta.
- Yasni, S., Imaiumi, K., dan Sugano, M., 1991. Effects of an Indonesian Medical Plant, *Curcuma xanthorrhiza* Roxb on the Levels of Serum Glucose and Triglyceride Fatty Acid Desaturation, and Bile Acid Excretion in Streptozotocin-induced Diabetic Rats. *Agric. Biol. Chem.*, 55 (12), 3005-3010.

Yuksel, Ucan S.U., Kartal M., Altun L.M., Aslan S, Sayar E, dan Ceyhan T, 2006. GC-MS Analysis and Antibacterial Activity of Cultivated *Satureja cuneifolia* Ten Essential Oil. *Turk J Chem*, 30 : 253 – 259.

Yuliani, S dan Mulyono, M., 2006. *Pemanfaatan Minyak Atsiri Untuk Aromaterapi*. Prosiding Minyak Atsiri 2006.