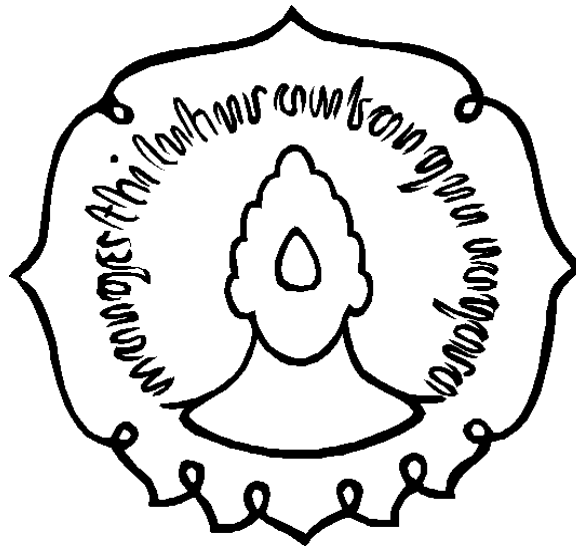


**IDENTIFIKASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI MINYAK
ATSIRI DAUN SIRIH MERAH (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) ASAL
MAGELANG**



**Disusun oleh :
SITI NGAISAH
M 0304064**

SKRIPSI

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

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
SURAKARTA**

Juli, 2010

HALAMAN PENGESAHAN

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

Siti Ngaisah NIM M0304064, dengan judul “ Identifikasi dan Uji Aktivitas
Antibakteri Minyak Atsiri Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) Asal
Magelang”

Skripsi ini dibimbing oleh :

Pembimbing I

Pembimbing II

Soerya Dewi Marliyana, M.Si.
NIP. 19690313 199702 2 001

Nestri Handayani, M.Si.
Apt
NIP. 19701211 200501 2 001

Dipertahankan didepan TIM Penguji Skripsi pada :

Hari : Senin

Tanggal : 12 Juli 2010

Anggota TIM Penguji :

- | | |
|---------------------------------|---------|
| 1. M. Widyono W., M.Si. | 1. |
| NIP. 19760822 200501 1 001 | |
| 2. Ahmad Ainurofiq, M.Si., Apt. | 2. |
| NIP. 19780319 200501 1 003 | |

Disahkan oleh

Jurusan Kimia

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Sebelas Maret Surakarta

Ketua Jurusan Kimia,

Prof. Drs. Sentot Budi Rahardjo, Ph.D.

NIP. 19560507 198601 1001

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi saya yang berjudul “IDENTIFIKASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI MINYAK ATSIRI DAUN SIRIH MERAH (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) ASAL MAGELANG“ 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 dibutuhkan dalam daftar pustaka.

SURAKARTA, Juli 2010

SITI NGAISAH

IDENTIFIKASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI MINYAK ATSIRI DAUN SIRIH MERAH (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) ASAL MAGELANG

SITI NGAISAH

Jurusan Kimia. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

ABSTRAK

Telah dilakukan identifikasi dan uji aktivitas antibakteri minyak atsiri daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) yang berasal dari Magelang. Isolasi minyak atsiri dilakukan dengan metode destilasi Stahl, dan dianalisis dengan menggunakan GC-MS. Kadar minyak atsiri yang diperoleh sebesar 0,727 % (v/b). Komponen yang teridentifikasi dikelompokkan menjadi dua golongan yaitu monoterpen dan sesquiterpen. Golongan Monoterpen terdiri dari senyawa α -pinena, α -tuyan, sabinen, β -mirsena, serta kamfen sedangkan sesquiterpen terdiri dari senyawa trans-kariofillen.

Pengujian aktivitas antibakteri minyak atsiri daun sirih merah menggunakan metode difusi agar untuk bakteri *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* (gram positif) and *Eschericia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* (gram negatif). KHM *B. cereus* dan *S. aureus* berurutan sebesar 1% dan 0,25%, sedangkan *E. coli* dan *P. aeruginosa* sama – sama mempunyai KHM sebesar 0,75%. Potensi antibakteri minyak atsiri daun sirih merah dibanding amoksisilin pada *B. cereus*, *S. aureus*, *E. coli*, dan *P. aeruginosa* berurutan adalah 0,0008%; 0,0013%; 0,0015%, 0,0016%. Sehingga potensi antibakteri daun sirih merah terhadap keempat bakteri uji jauh lebih kecil dibandingkan dengan antibiotik sintesis amoksisilin.

Kata Kunci : Minyak atsiri, *Piper crocatum* Ruiz & Pav., aktivitas antibakteri.

**IDENTIFICATION AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF THE
ESSENTIAL OIL OF *Piper crocatum* Ruiz & Pav. LEAVES FROM
MAGELANG**

SITI NGAISAH

Department Of Chemistry. Mathematics And Natural Sciences Faculty.
Sebelas Maret University

ABSTRACT

Identification and antibacterial activity of the essential oil of leaves *Piper crocatum* Ruiz & Pav from Magelang were carried out. The oil was obtained by hydrodistillation and analyzed by GC-MS. The essential oil yield 0.727% (v/w). Identified compounds were classified in two groups monoterpene and sesquiterpene. Monoterpenes were α -pinene, α -thujene, sabinene, β -mirsene, and also camphene, while sesquiterpene was trans-caryophyllene.

Antibacterial activity of the essential oil tested with an agar diffusion method against *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* (gram positive) and *Eschericia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* (gram negative). MIC for *B. cereus*, *S. aureus* were 1% , 0.25%, respectively, while MIC both *E. coli* dan *P. aeruginosa* were 0.75%. Antibacterial activities of the essential oil compared with amoxixilin for *B. cereus*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* and *E. coli* were 0.0008%, 0.0013%, 0.0015%, and 0.0016%, respectively. The essential oil showed less antibacterial activities than antibiotic synthetic amoxixilin.

Keywords: Essential oil, *Piper crocatum* Ruiz & Pav., antibacterial activity.

MOTTO

Sesungguhnya sesudah kesulitan ada kemudahan. Maka apabila engkau telah selesai (dari suatu urusan), maka kerjakan urusan yang lain dengan sungguh-sungguh

(Q.S. Al-Insyirah: 6-7)

Wahai orang-orang yang beriman ! Mohonlah pertolongan (kepada Allah) dengan sabar dan sholat. Sesungguhnya Allah beserta orang-orang yang sabar

(Q.S. Al-Baqarah: 153)

Your beliefs become your thoughts

Your thoughts become your words

Your words became your actions

Your actions become your habits

Your habits become your values

Your values become your destiny

~ Mahatma Gandhi ~

PERSEMBAHAN

Karya kecil ini kupersembahkan kepada:

- ❖ Bapak dan Ibu tercinta. Terimakasih untuk cinta, kasih sayang, kesabaran dan sgalanya.... Hanya Allah SWT yang mampu membalas semuanya...
- ❖ Adekku Desi tersayang yang senantiasa memberi semangat untuk kelulusanku. Ayo, cepet nyusul....
- ❖ Untuk mutiara – mutiaraku Zalfā ‘n Zakiy yang suatu saat nanti akan bersinar lebih terang ... I LOVE U all....
- ❖ “oztoxic” dan “wawantiyan”....makasie atas semangatnya....
- ❖ Keluarga besarku terimakasih atas dukungan dan doanya selama ini...
- ❖ Thang’s banget to all my best friend NH, Icha, PJ, Nirub, Al Qoshash....dan seluruh temen-temen KIMIA '2004 atas bantuan dan semangatnya selama pengerjaan skripsi ini

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada ALLAH SWT atas segala limpahan anugerah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi dengan judul IDENTIFIKASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI MINYAK ATSIRI DAUN SIRIH MERAH (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) ASAL MAGELANG². Dalam penyusunan skripsi ini banyak sekali bantuan, bimbingan, dan pengarahan dari berbagai pihak. Oleh karena itu penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Sentot Budi Rahardjo, Ph.D, Ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
2. Ibu Soerya Dewi Marliyana, M.Si, selaku pembimbing I atas bantuan, arahan dan kesabarannya membimbing selama melakukan penelitian dan penyusunan skripsi ini.
3. Ibu Nestri Handayani, M.Si, Apt., selaku pembimbing II atas bimbingan dan pengarahan dalam penyusunan skripsi.
4. Bapak I.F. Nurcahyo, selaku pembimbing akademik dan Ketua Laboratorium Kimia Dasar FMIPA UNS beserta staffnya.
5. Bapak dan Ibu Dosen di Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sebelas Maret atas semua ilmu yang berguna dalam penyusunan skripsi.
6. Para laboran di Laboratorium Kimia FMIPA dan Sub Laboratorium Biologi atas bantuan dan kerjasama yang baik.
7. Semua pihak yang telah membantu, yang tidak bisa disebutkan satu-persatu.

Penulis menyadari bahwa banyak kekurangan dalam penulisan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran untuk menyempurnakannya. Akhir kata penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat bagi pembaca.

Surakarta, Juli 2010

SITI NGAISAH

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	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GRAFIK	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB I.PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Perumusan Masalah	3
1. Identifikasi Masalah	3
2. Batasan Masalah	4
3. Rumusan Masalah	5
C. Tujuan Penelitian	5
D. Manfaat Penelitian	5
BAB II. LANDASAN TEORI	
A. Tinjauan Pustaka	6
1. Sirih merah (<i>Piper crocatum</i> Ruiz & Pav)	6
2. Minyak Atsiri	8
3. Isolasi Minyak Atsiri	13
4. Kromatografi Gas – Spektroskopi Massa	14
5. Bakteri dan Klasifikasi Bakteri Uji	17

a. <i>Staphylococcus aureus</i>	20
b. <i>Bacillus cereus</i>	21
c. <i>Escherichia coli</i>	22
d. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	24
6. Antibakteri	25
7. Media	26
8. Antibiotik	28
9. Metode Pengujian Aktivitas Antibakteri	30
B. Kerangka Pemikiran	31
C. Hipotesis	32
 BAB III. METODOLOGI PENELITIAN	
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. Determinasi Bahan Awal	34
2. Persiapan Sampel Daun Sirih Merah	34
3. Isolasi Minyak Atsiri	35
4. Kromatografi Gas – Spektroskopi Massa	35
5. Uji Antibakteri Minyak Atsiri	35
E. Teknik Pengumpulan Data dan Analisis Data	37
 BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Determinasi Bahan Awal	38
B. Persiapan Sampel	38
C. Isolasi Minyak Atsiri	38
D. Identifikasi Komponen Minyak Atsiri Daun Sirih Merah.....	41
E. Uji Antibakteri	47
1. Uji Antibakteri Minyak Atsiri Daun Sirih Merah	47

2. Penentuan KHM Minyak Atsiri Daun Sirih Merah	50
3. Penetapan KHM Amoksisilin dan Uji Potensi Antibakteri Minyak Atsiri Daun Sirih Merah	52
BAB V. PENUTUP	
A. KESIMPULAN	57
B. SARAN	57
DAFTAR PUSTAKA	58
LAMPIRAN	63

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Beberapa ciri bakteri gram positif dan gram negatif	19
Tabel 2. Data komponen kimia penyusun minyak atsiri daun sirih merah	42
Tabel 3. Fragmentasi senyawa IV dibandingkan fragmentasi Sabinen (WILEY7.LIB) dengan SI = 93	43
Tabel 4. Fragmentasi senyawa V dibandingkan fragmentasi β -mirsen (WILEY7.LIB) dengan SI = 93	44
Tabel 5. Data penghambatan minyak atsiri daun sirih merah	48
Tabel 6. Nilai KHM minyak atsiri daun sirih merah terhadap masing – masing bakteri uji	51
Tabel 7. Hasil pengujian KHM amoksisilin	53
Tabel 8. DDH minyak atsiri daun sirih merah konsentrasi 100%	54
Tabel 9. Nilai banding minyak atsiri daun sirih merah terhadap amoksisilin	55

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Tanaman sirih merah	6
Gambar 2. Contoh senyawa monoterpen	9
Gambar 3. Contoh senyawa sesquiterpen	9
Gambar 4. Reaksi Biosintesis terpenoid	12
Gambar 5. Skema alat GC – MS	17
Gambar 6. Anatomi umum dari bakteri	18
Gambar 7. <i>Staphylococcus aureus</i>	20
Gambar 8. <i>Bacillus cereus</i>	21
Gambar 9. <i>Escherichia coli</i>	22
Gambar 10. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	24
Gambar 11. Struktur amoksisilin	30
Gambar 12. Kromatogram hasil pemisahan kromatografi gas	
Gambar 12. sampel minyak atsiri daun sirih merah	41
Gambar 13. Struktur senyawa penyusun minyak atsiri daun sirih	
merah	42
Gambar 14. Spektra massa Senyawa IV dan Sabinena.....	43
Gambar 15. Spektra massa Senyawa V dan β -mirsen.....	44
Gambar 16. Grafik log konsentrasi vs DDH amoksisilin bakteri <i>S.</i>	
<i>aureus</i> , <i>B. cereus</i> , <i>E. coli</i> dan <i>P. aeruginosa</i>	54

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil determinasi daun sirih merah	63
Lampiran 2. Diagram alir cara kerja	64
Lampiran 3. Perhitungan kadar minyak atsiri hasil destilasi (v/b) ..	66
Lampiran 4. Hasil analisis GC – MS	67
Lampiran 5. Perhitungan konversi satuan ppm ke %	76
Lampiran 6. Gambar hasil uji antibakteri minyak atsiri daun sirih merah	77
Lampiran 7. Perhitungan Analisis One-Way Anova Pengaruh Variasi Bakteri Minyak Atsiri Daun Sirih Merah Konsentrasi 100% - 25% pada Masing – masing Bakteri	78
Lampiran 8. Perhitungan Analisis One-Way Anova Pengaruh Variasi Konsentrasi Minyak Atsiri Daun Sirih Merah Konsentrasi 100% - 25% pada Masing – masing Bakteri	80
Lampiran 9. Perhitungan Analisis One-Way Anova Pengaruh Variasi Bakteri Minyak Atsiri Daun Sirih Merah pada Masing – masing Bakteri untuk KHM	83
Lampiran 10. Perhitungan Analisis One-Way Anova Pengaruh Variasi Konsentrasi Minyak Atsiri Daun Sirih Merah pada Masing – masing Bakteri untuk KHM	86
Lampiran 11. Perhitungan Analisis One-Way Anova Pengaruh Variasi Bakteri Minyak Atsiri Daun Sirih Merah untuk KHM Amoksisilin Masing – masing Bakteri ...	92
Lampiran 12. Perhitungan Analisis One-Way Anova Pengaruh Variasi Konsentrasi Minyak Atsiri Daun Sirih Merah untuk KHM Amoksisilin Masing – masing Bakteri	95
Lampiran 13. Perhitungan nilai banding minyak atsiri daun sirih merah pada bakteri uji terhadap amoksisilin	99

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Indonesia terletak di daerah khatulistiwa sehingga menyebabkan Indonesia beriklim tropis. Salah satu manfaat dari iklim tropis ini menyebabkan keanekaragaman hayati yang terdapat di hutan tropika Indonesia karena tanaman bisa tumbuh dan berkembang dengan baik. Keanekaragaman hayati ini merupakan sumber produksi dan sumber tumbuhan yang berkhasiat obat yang potensinya perlu digali sehingga dapat digunakan untuk kepentingan masyarakat. Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai obat adalah famili Piperaceae. Sirih merah bersifat antiseptik seperti sirih hijau, misalnya dapat digunakan untuk obat kumur, pembersih kewanitaan, obat untuk radang mata. Daun sirih merah dapat juga digunakan untuk mengobati diabetes, kanker, peradangan, hipertensi, hepatitis, dan ambeien. Jika dibuat teh herbal bisa mengobati asam urat, darah tinggi, kencing manis, maag, atau kelelahan (Sudewo, 2005).

Khasiat sirih merah itu disebabkan oleh adanya sejumlah senyawa aktif yang dikandungnya, antara lain flavonoid, alkaloid, plevenolad, tanin, dan minyak atsiri. Senyawa flavonoid dan plevenolad bersifat antioksidan, antidiabetik, antikanker, antiseptik, dan antiinflamasi. Sedangkan senyawa alkaloid mempunyai sifat antineoplastik yang juga ampuh menghambat pertumbuhan sel-sel kanker (Sudewo, 2005).

Minyak atsiri merupakan senyawa yang pada umumnya berwujud cairan, yang diperoleh dari bagian tanaman, akar, kulit, batang, daun, buah, biji maupun dari bunga dengan cara penyulingan. Disamping itu juga, untuk memperoleh minyak atsiri dapat dilakukan dengan menggunakan cara lain seperti ekstraksi menggunakan pelarut organik atau dengan cara dipres (Sastrohamidjojo, 2004). Aktivitas antibakteri minyak atsiri disebabkan karena minyak atsiri mengandung senyawa yang dapat menghambat atau membunuh pertumbuhan bakteri (Kan, *et al.*, 2006).

Sekarang ini banyak terdapat penyakit yang disebabkan oleh bakteri. Bakteri tersebut bersifat patogen sehingga berbahaya bagi sel inangnya. *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan bermacam – macam infeksi seperti seperti jerawat, bisul, meningitis, osteomielitis, pneumonia dan mastitis pada manusia (Supardi, 1999). *Bacillus cereus* merupakan penyebab keracunan makanan, diare, infeksi mata, dan meningitis (Jawetz *et al.*,2005). *Escherichia coli* dapat menyebabkan penyakit seperti diare, infeksi saluran kemih, pneumonia, meningitis pada bayi yang baru lahir dan infeksi luka (Karsinah, dkk, 1994). *Pseudomonas aeruginosa* menginfeksi darah, kulit, telinga, mata, saluran kemih, pada luka bakar akan menyerang darahnya menghasilkan nanah (<http://www.pseudomonas.com>). Uji aktivitas antibakteri minyak atsiri daun sirih merah terhadap bakteri patogen *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas aeruginosa* belum pernah dilakukan.

Aktivitas antibakteri dari tumbuhan disebabkan oleh adanya senyawa metabolisme sekunder yaitu senyawa fenolik dengan molekul rendah. Uji aktivitas antibakteri famili Piperaceae telah banyak dilakukan. Berdasarkan penelitian Lakshmi Arambewela (2005) minyak atsiri daun sirih (*Piper betel*) dari Srilanka mempunyai nilai KHM yaitu sebesar $5,00 \times 10^3$ µg/ml terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, $1,00 \times 10^4$ µg/ml terhadap bakteri *Staphylococcus epidermidis*, $1,00 \times 10^4$ µg/ml terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, $3,12 \times 10^2$ µg/ml terhadap bakteri *Escherichia coli*, $2,50 \times 10^3$ µg/ml terhadap *Streptococcus pyogenes*. Minyak atsiri daun sirih pada konsentrasi 50%, 25%, 12,5% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Streptococcus agalactiae*, tetapi hanya dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 25% dan 50% (Poeloengan, Masniari dkk, 2006).

Ekstrak etanol sirih merah mempunyai kemampuan antibakteri terhadap bakteri gram positif dan bakteri gram negatif khususnya terhadap *Staphylococcus aureus* dengan KHM 25% dan *Escherichia coli* dengan KHM 6,25% (Juliantina, 2009). Selain famili piperaceae juga banyak dilakukan penelitian tentang uji antibakteri dari minyak atsiri yaitu minyak atsiri daun kayu manis mempunyai nilai KHM sebesar 1,67% terhadap bakteri *Escherichia coli*, 3,33% terhadap

Staphylococcus aureus, 3,33% terhadap *Bacillus subtilis*, 3,33% terhadap *Pseudomonas aeruginosa* (Sukandar, dkk, 1999). Solichah (2009) juga telah melakukan uji antibakteri dari minyak atsiri daun secang (*Caesalpinia sappan* L) terhadap terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*, dengan nilai diameter hambatannya masing-masing adalah 12,42 mm (KHM = 5000 ppm) dan 13,40 mm (KHM = 1000 ppm).

Akhir – akhir ini, banyak mikroorganismenya menyebabkan penyakit pada manusia menunjukkan resistensi obat karena penggunaan antibiotik yang tidak tepat (Sartoratto, *et al.*, 2004). Hal tersebut menyebabkan bahan antibiotik sintesis menjadi tidak efektif lagi dan bahkan terkadang memberikan efek samping (Nwinyi *et al.*, 2009). Karena itu, diperlukan penelitian untuk mengembangkan antibiotik dari bahan alam, khususnya tanaman.

Penelitian tentang aktivitas antibakteri pada minyak atsiri daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) belum banyak dilakukan. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengidentifikasi dan mengetahui aktivitas antibakteri minyak atsiri daun sirih merah dan juga untuk mengetahui bagaimanakah potensi minyak atsiri daun sirih merah dibandingkan dengan antibiotik sintesis yaitu amoksisilin terhadap bakteri gram positif : *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, dan gram negatif : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*.

B. Perumusan Masalah

1. Identifikasi Masalah

Sirih merah dapat tumbuh dan beradaptasi dengan baik pada semua jenis tanah. Yang terpenting selama pertumbuhannya mendapatkan pengairan yang baik dan cahaya matahari yang diterima sebesar 60 – 75 %. Bagian tumbuhan sirih merah terdiri dari daun, akar, dan batang yang masing – masing mempunyai kandungan senyawa kimia yang berbeda – beda. Kadar minyak atsiri tumbuhan dipengaruhi oleh daerah tempat tumbuh, waktu pemetikan, serta pengambilan bagian tumbuhan sehingga pemilihannya harus spesifik.

Komponen kimia minyak atsiri merupakan senyawa yang volatil, maka diperlukan suatu metode yang efektif dalam mengisolasi. Isolasi minyak atsiri dari suatu bahan dapat dilakukan dengan cara ekstraksi dan destilasi. Destilasi dapat dilakukan dengan menggunakan destilasi air, destilasi uap, dan destilasi dengan uap dan air.

Minyak atsiri terdiri dari berbagai komponen senyawa kimia yang merupakan golongan terpenoid, sehingga diperlukan suatu metode yang tepat untuk mengidentifikasi senyawa kimia tersebut. Identifikasi komposisi senyawa kimia minyak atsiri dapat dilakukan dengan analisis data dari Kromatografi Lapis Tipis (KLT), Kromatografi Gas (GC), Kromatografi Gas – Spektrofotometer Massa (GC-MS), Spektrometer Infra Merah (IR), Resonansi Magnetik Inti (NMR).

Minyak atsiri mempunyai keaktifan biologis sebagai antibakteri, sehingga diperlukan metode yang tepat untuk mengetahui keaktifan biologis dari minyak atsiri tersebut. Uji aktifitas antibakteri minyak atsiri dapat dilakukan dengan metode difusi, dilusi. Pada metode difusi dapat dilakukan dengan difusi agar yaitu dengan menggunakan lubang (perforasi) dan gores silang.

Bakteri dibagi dalam 2 kelompok berdasarkan komposisi dan struktur dinding selnya, yakni bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Beberapa bakteri gram positif misalnya *Enterococcus faecalis*, *Bacillus substilis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumonia*, *Streptococcus pyogenes*, *Bacillus cereus* sedangkan bakteri gram negatif misalnya *Enterobacter cloacae*, *Legionella*, *pneumophila*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Moraxella catarrhalis*.

Antibiotika digunakan untuk mengobati berbagai jenis infeksi akibat kuman atau juga untuk prevensi infeksi, misalnya pada pembedahan besar (Tjay dan Rahardja, 2008). Salah satu antibiotik yang umum digunakan adalah amoksisilin. Amoksisilin adalah turunan penisilin yang tahan asam tetapi tidak tahan terhadap penisilinase. Amoksisilin merupakan antibiotika dengan spektrum luas yang efektif baik terhadap bakteri gram positif maupun gram negatif (Siswandono dan Soekardjo, 2000).

2. Batasan Masalah

- a. Daun sirih merah didapat dari daerah Magelang yang mempunyai ketinggian 500 m diatas permukaan air laut.
- b. Isolasi dilakukan dengan destilasi stahl (destilasi air).
- c. Identifikasi komponen minyak atsiri pada daun sirih merah dilakukan dengan menggunakan analisis data GC – MS.
- d. Pengujian aktivitas antibakteri pada minyak atsiri daun sirih merah dilakukan dengan metode difusi dengan penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan uji potensi antibakteri dengan pembanding amoksisilin.
- e. Pengujian aktivitas antibakteri minyak atsiri dari daun sirih merah terhadap empat bakteri, yaitu bakteri gram positif : *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* dan bakteri gram negatif : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*.

3. Rumusan Masalah

- a. Berapa kadar minyak atsiri yang didapat dari hasil destilasi stahl daun sirih merah dari Magelang?
- b. Bagaimana komponen minyak atsiri daun sirih merah yang berasal dari daerah Magelang dengan analisis data GC – MS?
- c. Apakah minyak atsiri daun sirih merah mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri gram positif : *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* dan bakteri gram negatif : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* dan berapa Konsentrasi Hambat Minimum terhadap masing – masing bakteri?
- d. Bagaimanakah potensi antibakteri minyak atsiri daun sirih merah dibandingkan dengan amoksisilin?

C. Tujuan Penelitian

- a. Mengetahui kadar minyak atsiri yang didapat dari hasil destilasi stahl daun sirih merah dari Magelang.
- b. Mengetahui komponen senyawa kimia minyak atsiri daun sirih merah dari daerah Magelang dengan analisis data GC – MS.
- c. Mengetahui aktivitas antibakteri dan Konsentrasi Hambat Minimum minyak atsiri daun sirih merah terhadap bakteri gram positif : *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* dan bakteri gram negatif : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*.
- d. Mengetahui potensi minyak atsiri daun sirih merah dibandingkan dengan amoksisilin.

D. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini, diharapkan dapat memberikan informasi tentang komponen senyawa kimia dan aktivitas antibakteri minyak atsiri daun sirih merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav.*) dan diharapkan dapat memberikan informasi tentang potensi minyak atsiri daun sirih merah sebagai antibakteri.

BAB II

LANDASAN TEORI

A. Tinjauan Pustaka

1. Sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav)



Gambar 1. Tanaman Sirih Merah

a. Klasifikasi Tanaman

Tanaman sirih merah ini merupakan famili Piperaceae. Kedudukan tanaman sirih merah dalam taksonomi tumbuhan adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Sub Kingdom	: Tracheobionta
Super Divisio	: Spermatophyta
Divisio	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub Kelas	: Magnolidae
Ordo	: Piperales
Familia	: Piperaceae
Genus	: Piper
Species	: <i>Piper crocatum</i> Ruiz & Pav.

(<http://plantamor.com>)

b. Deskripsi Tanaman

Tanaman sirih merah tumbuh merambat seperti halnya sirih hijau, dengan bentuk daun menyerupai hati dan bertangkai, yang tumbuh berselang-seling dari batangnya serta penampakan daun yang berwarna merah keperakan dan

mengkilat. Sirih merah tumbuh merambat di pagar atau pohon. Ciri khas tanaman ini adalah berbatang bulat berwarna hijau keunguan dan tidak berbunga. Yang membedakan dengan sirih hijau adalah selain daunnya berwarna merah keperakan, bila daunnya disobek maka akan berlendir serta aromanya lebih wangi.

Sirih merah dapat beradaptasi dengan baik di setiap jenis tanah dan tidak terlalu sulit dalam pemeliharaannya. Selama ini umumnya sirih merah tumbuh tanpa pemupukan. Yang penting selama pertumbuhannya di lapangan adalah pengairan yang baik dan cahaya matahari yang diterima sebesar 60 - 75% (<http://balitro.litbang.deptan.go.id>, 2007). Sirih merah yang tumbuh di tempat teduh, daunnya akan melebar. Warna merah marunnya yang cantik akan segera terlihat bila daunnya dibalik. Batangnya pun tumbuh gemuk. Bila terkena banyak sinar matahari, batangnya cepat mengering. Sebaliknya bila terlalu banyak kena air akar dan batangnya akan membusuk. Budidaya sirih merah bisa lewat pembibitan atau perbanyakan. Bisa melalui stek, cangkok, dan memanfaatkan setiap runduk batang. Bagi para pemula, sebaiknya memilih cara pertama dan kedua. Sedangkan runduk batang bisa dilakukan bila tanaman sirih merah sudah mulai menjalar atau berkembang pesat (Sudewo, 2005).

c. Kandungan dan Manfaat Tanaman

Dalam daun sirih merah terkandung senyawa fitokimia yakni minyak atsiri, alkaloid, saponin, tanin dan flavonoid. Kandungan kimia lainnya yang terdapat di daun sirih merah adalah minyak atsiri, hidrosikavikol, kavikol, kavibetol, karvakrol, eugenol, p-simen, sineol, kariofilen, kadimen estragol, terpenena, dan fenil propanoid (<http://balitro.litbang.deptan.go.id>, 2007). Karena banyaknya kandungan zat/senyawa kimia bermanfaat inilah, daun sirih merah memiliki manfaat yang sangat luas sebagai bahan obat. Karvakrol bersifat desinfektan, antijamur, sehingga bisa digunakan untuk obat antiseptik pada bau mulut dan keputihan. Eugenol dapat digunakan untuk mengurangi rasa sakit, sedangkan tanin dapat digunakan untuk mengobati sakit perut. Banyak pengalaman bahwa menggunakan sirih merah dalam bentuk segar, simplisia maupun ekstrak kapsul dapat menyembuhkan penyakit diabetes militus, hepatitis, batu ginjal, menurunkan kolesterol, mencegah stroke, asam urat, hipertensi,

radang liver, radang prostat, radang mata, keputihan, maag, kelelahan, nyeri sendi dan memperhalus kulit (Anonim, 2007).

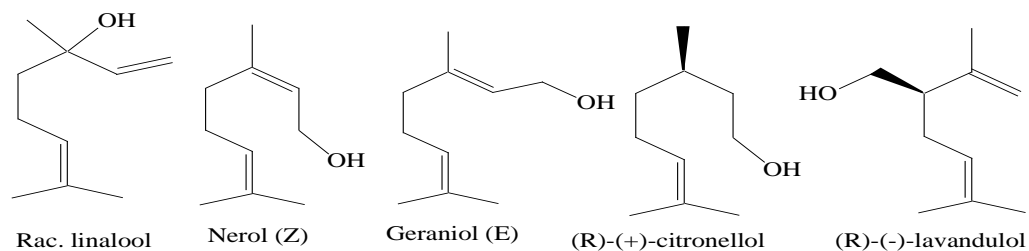
2. Minyak Atsiri

Minyak atsiri merupakan senyawa yang pada umumnya berwujud cairan, yang diperoleh dari bagian tanaman, akar, kulit, batang daun, buah, biji, maupun dari bunga dengan cara penyulingan. Meskipun kenyataan untuk memperoleh minyak atsiri dapat menggunakan cara lain seperti ekstraksi dengan menggunakan pelarut organik atau dengan cara dipres (Sastrohamidjojo, 2004). Pada umumnya minyak atsiri larut dalam etanol atau pelarut organik polar lainnya dan kelarutannya akan menurun jika kadar etanol kurang dari 70%. Bila minyak atsiri mengandung fraksi terpen (senyawa non polar) dalam jumlah besar maka kelarutannya dalam etanol relatif kecil. Kegunaan minyak atsiri bagi tanaman sendiri untuk menarik serangga yang membantu proses penyerbukan, sebagai cadangan makanan, untuk mencegah kerusakan tanaman oleh serangga dan mempengaruhi proses transpirasi. Dalam industri sering digunakan sebagai zat tambahan dalam sediaan kosmetik, obat, makanan, rokok, dan sebagainya. Selain itu minyak atsiri dapat digunakan sebagai obat antikuman dan kapang.

Minyak atsiri sebagian besar terdiri dari senyawa – senyawa monoterpen dan seskuioterpen, berupa isoprenoid C_{10} dan C_{15} yang jangka titik didihnya berbeda monoterpen $140 - 180^{\circ}C$, seskuioterpen $>200^{\circ}C$ (Padmawinata, 1987). Minyak atsiri selain mengandung terpenoid juga mengandung fenilpropanoid, yaitu senyawa fenol alam yang mempunyai cincin aromatik dengan rantai samping terdiri atas tiga karbon. Secara biosintesis senyawa ini turunan asam amino protein aromatik yaitu fenilalanin (Padmawinata, 1987).

a. Monoterpen

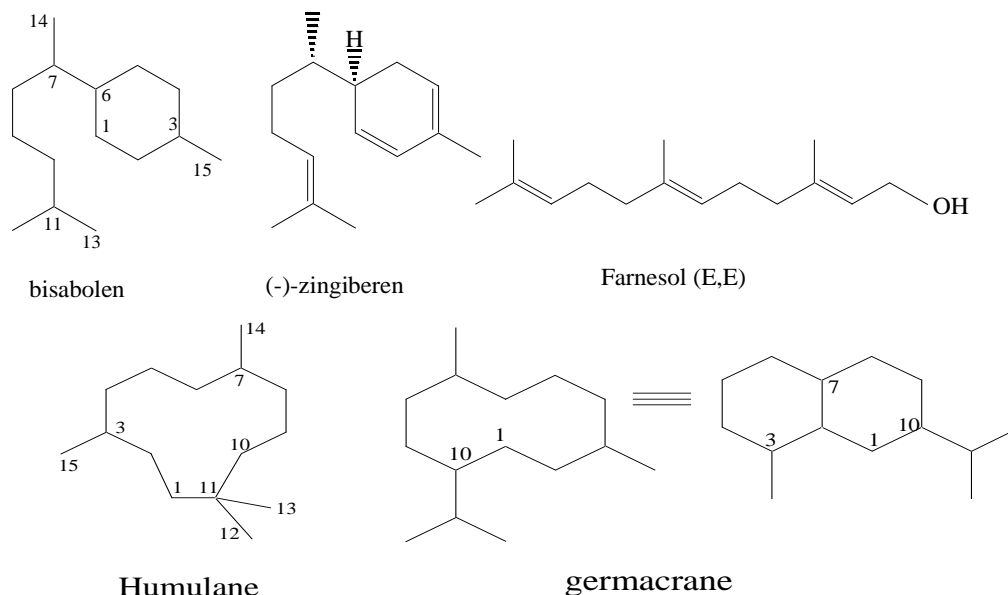
Monoterpen merupakan senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari dua satuan isoprena. Monoterpen dapat berupa hidrokarbon tidak jenuh atau dapat mempunyai gugus fungsi, dan berupa alkohol, aldehyd, atau keton. Monoterpen dibagi jadi tiga golongan : asiklik, monosiklik, dan bisiklik (Padmawinata, 1987). Beberapa contoh monoterpen ditunjukkan gambar 2:



Gambar 2. Contoh senyawa monoterpen

b. Sesquiterpen

Sesquiterpen merupakan senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari tiga satuan isoprena (Ketaren, 1987). Sesquiterpen dibagi menjadi empat golongan, yaitu asiklik, monosiklik, bisiklik, dan trisiklik. Beberapa contoh sesquiterpen ditunjukkan pada gambar 3 :



Gambar 3. Contoh senyawa sesquiterpen

Lintasan biosintesis dari berbagai kelompok senyawa telah dibukukan demikian pula prekursor atau senyawa induk dan zat antara telah diidentifikasi. Reaksi yang dikatalisis oleh enzim dalam sel telah dipindahkan dalam pekerjaan *in vitro* dan mekanismenya dapat dikorelasikan dengan mekanisme reaksi organik yang telah diketahui.

Sebagian besar dan berbagai klas senyawa organik bahan alam yang terdapat dalam sekunder metabolisme tanaman merupakan terpena yang mencakup mono, sesqui, di, tri dan senyawa politerpenoid. Nama terpen diberikan

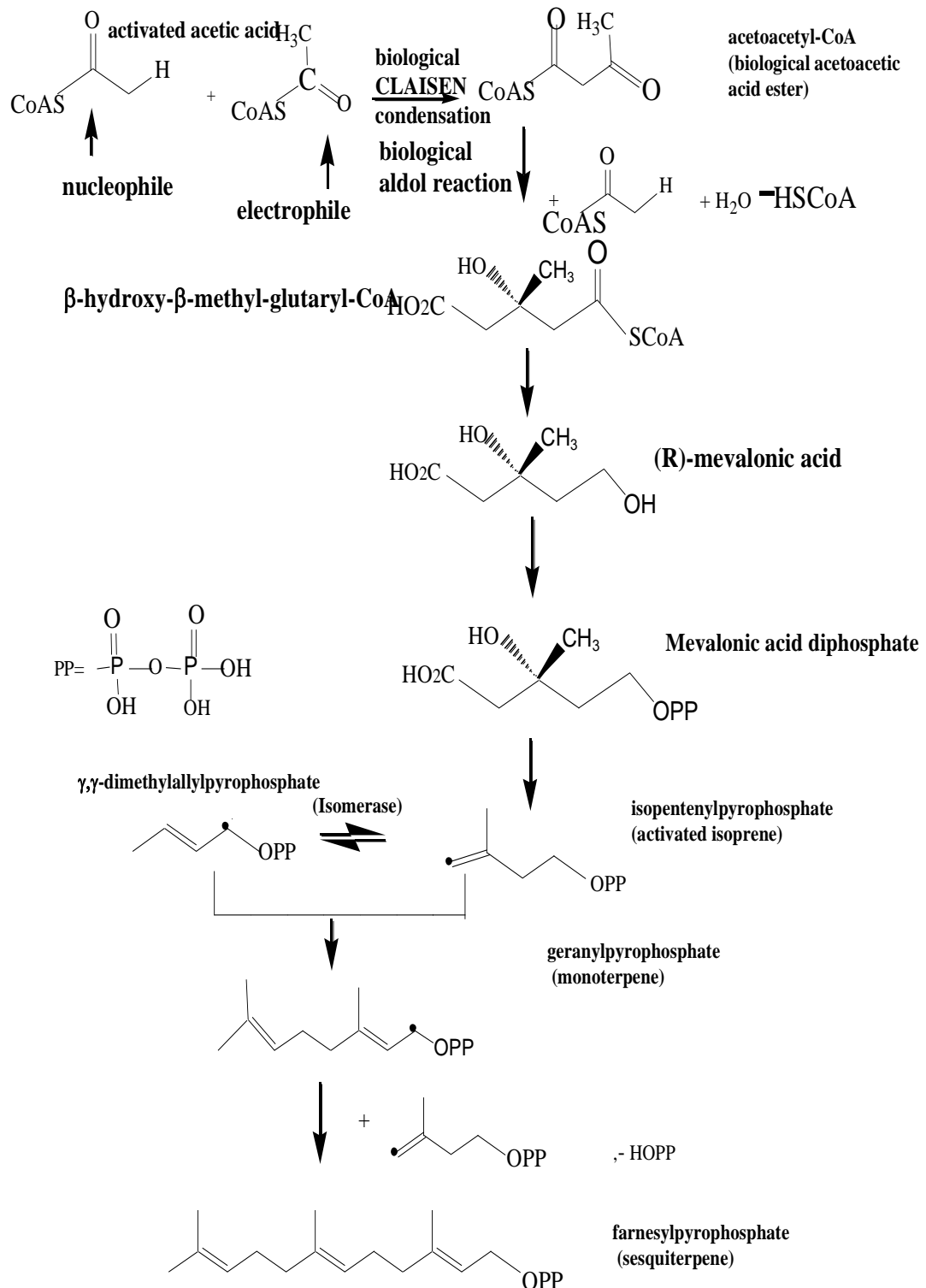
terhadap senyawa yang mempunyai perumusan molekul $C_{10}H_{16}$ yang secara etimologi berasal dari pohon terebinth, *Pistacia terebinthus*.

Senyawa terpenoid dikaitkan terhadap bentuk strukturnya. Komposisi senyawa terpenoid (C_{10} , C_{15} , C_{20} , C_{30} , dan sebagainya) dapat dipandang merupakan kelipatan satuan lima-atom karbon dan satuan tersebut mempunyai kerangka karbon isopentil (Sastrohamidjojo, 1996).

Penemuan peranan asam mevalonat (asam 3-metil-3,5 dihidroksi pentanoat) dalam biosintesis senyawa steroid membuka jalan para peneliti untuk menguak sintesis segala senyawa terpenoid. Asam mevalonat, senyawa enam-atom karbon yang diturunkan dari kondensasi tiga molekul asam asetat merupakan progenitor pokok dan universal senyawa terpenoid yang membentuk "satuan isoprena" dengan cara pelepasan air dan karbondioksida secara bersamaan (Sastrohamidjojo, 1996). Hanya bentuk R dari asam mevalonat yang digunakan oleh organisme untuk memproduksi terpena, sedang yang bentuk S, bersifat metabolik inert. Hal ini menguntungkan, karena resolusi optik dari rasemat yang diperoleh dari sintesis sangat sukar dilaksanakan (Manitto, 1992).

Asam asetat, atau turunannya asetil Ko-A, merupakan satu-satunya sumber atom karbon dari asam mevalonat (Manitto, 1992). Asetil Ko-A, juga dikenal dengan asam asetat teraktivasi, merupakan prekursor biogenetik dari terpena. Dengan kondensasi Claisen, 2 asetil Ko-A berpasangan dengan asetil Ko-A, yang menunjukkan analog biologi asetoasetat. Diikuti dengan reaksi aldol, asetoasetil Ko-A bereaksi dengan asetil Ko-A sebagai karbon nukleofil untuk menghasilkan β -hidroksi- β -metilglutaril Ko-A, diikuti dengan reduksi enzimatik dengan dihidronikotinamida adenin dinukleotida ($NADPH + H^+$) dalam air, menyerang (*R*)-asam mevalonat. Fosforilasi asam mevalonat oleh adenosin trifosfat (ATP) melalui monofosfat menghasilkan difosfat asam mevalonat yang terdekarboksilasi dan terhidrasi ke isopentenilpirofosfat (isopentenildifosfat, IPP). Isomerasi menghasilkan isomer γ,γ -dimetilalilpirofosfat. Gugus elektrofil alilik CH_2 dari γ,γ -dimetilalilpirofosfat (DMAPP) dan gugus nukleofilik metilen dari isopentenilpirofosfat berhubungan membentuk geranilpirofosfat sebagai monoterpen. Reaksi lanjut dari geranildifosfat dengan isopentenildifosfat

menghasilkan farnesildifosfat sebagai sesquiterpen. Reaksi biosintesis dapat ditunjukkan oleh Gambar 4.



Gambar 4. Reaksi biosintesis terpenoid

Penggabungan terjadi karena serangan elektron dari ikatan rangkap IPP terhadap atom karbon dari DMAPP yang kekurangan elektron, diikuti penghilangan ion pirofosfat yang menghasilkan geranil pirofosfat (GPP), yaitu senyawa prekursor bagi monoterpenoid. Penggabungan selanjutnya antara satu unit IPP dan GPP dengan mekanisme yang sama, menghasilkan farnesil pirofosfat (FPP) yang merupakan senyawa prekursor bagi seskuiterpen (Lenny, 2006).

3. Isolasi Minyak Atsiri

Isolasi minyak atsiri dari suatu bahan alam dapat dilakukan dengan cara ekstraksi menggunakan pelarut organik atau dengan destilasi, tapi yang paling umum dilakukan dengan cara destilasi.

Metode destilasi minyak atsiri ada tiga macam yaitu:

a. Destilasi dengan air (*Water Destillation*).

Metode destilasi dengan air, bahan yang akan didestilasi dikontak langsung dengan air mendidih. Bahan tersebut mengapung diatas air atau secara sempurna, tergantung dari berat jenis dan bahan yang didestilasi. Peristiwa pokok yang terjadi pada proses ini yaitu: difusi minyak atsiri dan air panas melalui membran tanaman, hidrolisa terhadap beberapa komponen minyak atsiri dan dekomposisi yang disebabkan oleh panas. Bahan tanaman yang digunakan pada cara ini adalah bunga dan daun yang mudah bergerak di dalam air dan tidak mudah rusak oleh panas uap air.

Destilasi stahl mempunyai prinsip kerja yang sama dengan destilasi air. Akan tetapi, destilasi stahl mempunyai kelebihan yaitu, minyak atsiri yang dihasilkan tidak berhubungan langsung dengan udara luar sehingga minyak atsiri tidak mudah menguap dan minyak atsiri yang dihasilkan dapat langsung diketahui jumlahnya karena alatnya dilengkapi skala.

b. Destilasi dengan air dan uap (*Water and Steam Distillation*).

Pada metode destilasi air dan uap, bahan diletakkan diatas saringan berlubang. Ketel suling diisi dengan air sampai permukaan air tidak berada jauh dibawah saringan. Air dapat dipanaskan dengan berbagai cara yaitu

dengan uap jenuh yang basah dan bertekanan rendah. Ciri khas metode ini adalah uap yang selalu dalam keadaan basah, jenuh dan tidak terlalu panas.

c. Destilasi dengan uap (*Steam Distillation*).

Metode ini pada prinsipnya sama dengan air dan uap kecuali air tidak diisikan dalam labu. Uap yang digunakan uap jenuh pada tekanan lebih dari 1 atmosfer. Uap dipisahkan melalui pipa uap bertingkat yang berpori yang terletak di bawah bahan dan uap bergerak keatas melalui bahan terletak di atas saringan (Ketaren, 1987).

4. Kromatografi Gas – Spektroskopi Massa

Perkembangan teknologi instrumentasi menghasilkan alat yang merupakan gabungan dari 2 sistem dengan prinsip dasar yang berbeda satu sama lainnya tetapi dapat saling melengkapi, yaitu gabungan kromatografi gas dan spektroskopi massa. Perubahan utama dalam GC adalah sifat fasa diam dalam kolom dan suhu kerja. Keduanya diubah menurut keatsirian senyawa yang dipisahkan. Pada fasa diam terjadi pemisahan komponen – komponen dan cuplikan. Dasar kerjanya adalah partisi antara fase diam dan fase gerak (gas). Jadi untuk pemisahan senyawa – senyawa organik berlaku aturan “*like dissolve like*”. Polaritas dari komponen cuplikan harus sama dengan fase diam untuk memperoleh pemisahan terbaik, sehingga senyawa polar akan terpisah pada fasa diam yang polar dan senyawa non polar akan terpisah pada senyawa diam yang non polar (Sudjadi,1991).

Analisis kualitatif yang dilakukan dalam Kromatografi Gas adalah analisa terhadap waktu retensi (tR) yaitu jarak dalam cm sepanjang garis dasar antara titik penyuntikan sampel dan titik proyeksi puncak kurva yang dihasilkan oleh standart internal yang tertera pada kromatogram. Analisa kuantitatif dengan perhitungan luas puncak (Sastrohamidjojo, 1996).

Spektroskopi massa tidak seperti metode spektroskopi lainnya, tidak melibatkan interaksi antara cahaya dengan materi. Spektroskopi massa dikembangkan berdasarkan prinsip dengan memutus sesuatu menjadi bagian-bagiannya untuk dilihat dari apa suatu materi tersusun. Pada spektroskopi massa,

sampel pada keadaan uap diionisasi dengan bombardir elektron yang berenergi tinggi (10-70 eV). Elektron bertumbukan dengan materi sampel dan menyebabkan pelepasan elektron dari kulit terluar suatu sampel.

Molekul yang kekurangan satu elektron akan menjadi kation radikal yang mengandung semua atom dari molekul awalnya, dan dinamakan ion molekul. Sebagai akibat dari tumbukan elektron berenergi tinggi membuat ion molekul mempunyai kelebihan energi yang memungkinkan untuk terjadinya pemutusan ikatan menghasilkan kation yang lebih kecil, radikal dan molekul netral. Kation yang dibebaskan pada peristiwa ini dipisahkan dan dianalisa berdasarkan perbandingan massa terhadap muatan (m/z) dengan menggunakan kombinasi medan magnet dan medan listrik. Molekul tidak terpecah secara acak, tetapi mengikuti beberapa prinsip. Kemudian hanya fragmen tertentu saja yang dapat diberikan ion molekul.

Senyawa yang menguap dalam ruang hampa di dalam MS ditembak dengan elektron sehingga elektron dalam molekul akan terlempar keluar dan akan didapat kation molekul bermuatan positif tunggal dan ganda. Bagian dari kation molekul ini pada waktu bertemu dengan elektron akan menerima energi yang tinggi yang akan menyebabkan penguraian lebih lanjut kation molekul menjadi fragmen yang lebih kecil (fragmentasi). Kation molekul dan fragmen yang bermuatan positif akan dipercepat oleh tegangan tarikan dan dibelokkan dalam ruang pengurai. Bagian ini terdiri dari tabung logam yang terdapat diantara dua kutub magnet. Medan magnet akan membelokkan bagian yang bermuatan dari arah garis lurus aliran menjadi pita yang melengkung yang dengan perubahan kontinyu medan magnet atau tegangan tarikan kation sesuai dengan massanya akan diregistrasi berurutan sebagai spektrum massa.

Instrumen GC-MS terdiri dari gas pengangkut (*Carrier Gas*), pengatur aliran dan pengatur tekanan, tempat injeksi, kolom serta detektor.

a. Gas pengangkut

Gas pengangkut yang sering dipakai dalam GC-MS adalah H_2 , N_2 , Ar dan He. Gas ini berfungsi sebagai fase gerak, gas membawa cuplikan yang telah teruapkan untuk masuk ke dalam kolom, dalam GC-MS gas pengangkut yang

digunakan harus memenuhi persyaratan dan dasar pemilihannya antara lain: inert atau tidak bereaksi dengan sampel, pelarut dan material dalam kolom, murni dan mudah dipengaruhi serta murah, sesuai dengan detektor dan harus dapat mengurangi difusi gas (Sastrohamidjojo, 2005).

b. Pengatur aliran dan tekanan

Pengatur aliran dan tekanan berfungsi untuk mengalirkan uap sampel masuk ke dalam kolom.

c. Tempat injeksi

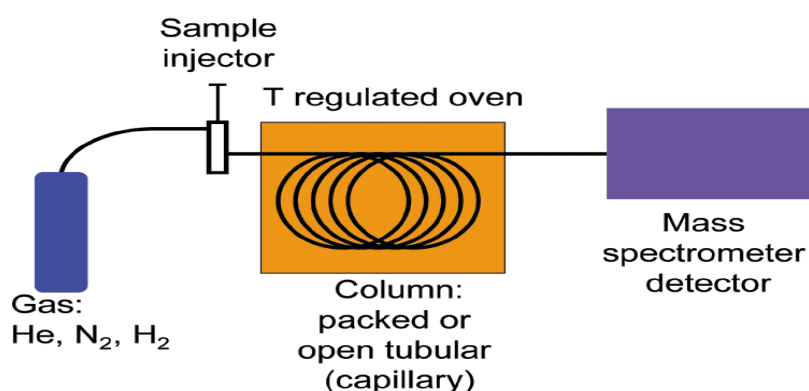
Pemisahan dengan GC sampel harus berada dalam fase uap. Teknik menginjeksi tergantung pada jenis sampel, adapun jenis teknik injeksi sampel dalam GC antara lain: *split*, dalam teknik injeksi ini sampel tidak langsung dimasukkan dalam kolom tetapi sebagian besar dibuang, sampel yang dimasukkan hanya sekitar : 0.1-1 % secara umum teknik ini banyak digunakan, *split less* dalam teknik injeksi ini sampel semuanya di masukkan kedalam kolom, biasanya digunakan untuk sampel yang tidak diisolasi dalam jumlah yang besar serta memiliki konsentrasi rendah, *On column* pada teknik ini merupakan tempat injeksi untuk sampel yang mudah rusak atau sampel yang tidak tahan pada suhu tinggi jadi sampel tidak melewati suhu injektor yang tinggi tetapi hanya melewati suhu kolom, *Wet needle* merupakan salah satu teknik injeksi dimana sampel diuapkan di dalam injektor sehingga sampel yang masuk ke dalam kolom sudah berada dalam bentuk gas.

d. Kolom

Kolom merupakan jantung kromatografi, keberhasilan atau kegagalan analisis tergantung dari pemilihan kolom dan kondisi kerja yang tepat, dalam GC ini kolom dibedakan menjadi 2 yaitu : *Packed* dan *capillary*. Pada kolom jenis *packed* sangat bagus untuk sampel dalam skala besar namun kelemahannya lambat dan tidak efisien, diameter partikel berukuran < 100-300 μm sedangkan pada *capillary* keuntungannya adalah cepat dan efisien karena menggunakan sampel dalam jumlah yang sedikit.

e. Detektor

Detektor berfungsi sebagai pendeteksi komponen-komponen cuplikan yang telah terpisah. Detektor yang baik memiliki sensitivitas yang tinggi, respon linier yang lebar bersifat non destruktif serta memiliki respon yang sama terhadap semua jenis senyawa. Jenis-jenis detektor antara lain: 1) *Flame Ionization Detector* (FID) , detektor jenis ini efluen gas yang keluar dan kolom dicampur dengan gas H₂ serta dibakar dengan O₂, sehingga menjadi ion. Ion-ion tersebut akan menyebabkan peningkatan arus, perubahan arus selanjutnya diukur dan dikonversikan dalam GC-MS. Dalam FID ini memiliki sifat tidak sensitif terhadap H₂O, CO₂, SO₂ dan NO_x selain itu destruktif dan respon dipengaruhi oleh jumlah atom C, FID ini memiliki sensitivitas 10⁻¹³ g/s, 2) *Thermal Conductivity Detector* (TCD) detektor jenis ini memiliki sifat nondestruktif dan tidak sensitif dengan sensitivitas 10⁻⁸ g/s, 3) *Mass Spektrometri* (MS) detektor jenis ini diset untuk mendeteksi ion fragmen tunggal yang spesifik untuk senyawa yang dianalisa. Berdasarkan kecepatan pompa dari MS, lebih kurang 1-5% efluen GC displit ke dalam MS, selanjutnya komponen yang telah terpisah ditembaki dengan elektron terfragmentasi menjadi ion-ion radikal. Pada MS bagian dari molekul yang paling mudah terfragmentasi adalah yang memiliki kerapatan elektron yang paling tinggi (Sastrohamidjojo, 2004). Skema alat GC-MS digambarkan dalam Gambar 8 berikut :



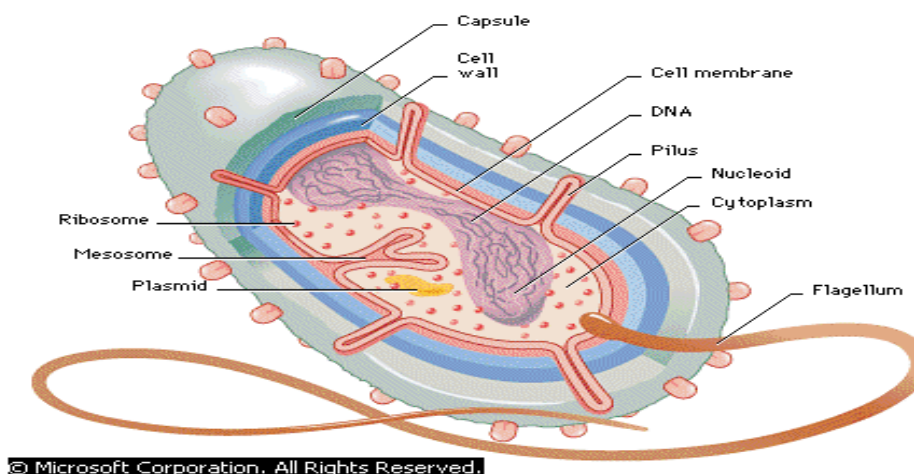
Gambar 5. Skema alat GC – MS

5. Bakteri dan Klasifikasi Bakteri Uji

Bakteri merupakan mikrobia prokariotik uniselular, termasuk kelas Schizomycetes, berkembang biak secara aseksual dengan pembelahan sel. Bakteri tidak berklorofil kecuali beberapa yang bersifat fotosintetik. Cara hidup bakteri ada yang dapat hidup bebas, parasitik, saprofitik, patogen pada manusia, hewan dan tumbuhan. Habitatnya tersebar luas di alam, dalam tanah, atmosfer (sampai ± 10 km di atas bumi), di dalam lumpur, dan di laut. Bakteri mempunyai bentuk dasar bulat, batang, dan lengkung. Bentuk bakteri juga dapat dipengaruhi oleh umur dan syarat pertumbuhan tertentu.

Sel-sel bakteri secara khas, berbentuk bola seperti batang atau spiral. Bakteri yang khas berdiameter sekitar 0,5 sampai 1,0 μm dan panjangnya 1,5 sampai 2,5 μm . Beberapa dapat tumbuh pada suhu 0 °C, ada yang tumbuh baik pada sumber air panas yang suhunya 90 °C atau lebih. Kebanyakan tumbuh pada berbagai suhu di antara kedua ekstrim ini (Pelzar, 1986).

Bakteri dapat mengalami involusi, yaitu perubahan bentuk yang disebabkan faktor makanan, suhu, dan lingkungan yang kurang menguntungkan bagi bakteri. Selain itu dapat mengalami pleomorfi, yaitu bentuk yang bermacam-macam dan teratur walaupun ditumbuhkan pada syarat pertumbuhan yang sesuai (Sumarsih, 1993). Anatomi bakteri dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Anatomi Umum dari Bakteri
Dikutip dari : Microsoft Encarta Reference Library Premium, 2005

Bakteri secara tradisional dibagi dalam dua golongan besar: *patogen*, menunjuk pada bakteri penyebab penyakit, dan *nonpatogen*, menunjuk pada mereka yang tidak menyebabkan penyakit. Patogen secara klasik diduga memiliki sifat-sifat tertentu yang memperkuat kemampuan mereka menimbulkan penyakit (Shulman, 1994). Suatu sifat taksonomi utama bakteri adalah reaksi pewarnaan Gram. Bakteri dibagi menjadi dua golongan yaitu bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Perbedaan kedua jenis bakteri ini ditunjukkan pada Tabel 1. Bakteri Gram positif adalah bakteri yang tahan terhadap alkohol tetapi dapat mengikat warna pertama (kristal violet) sehingga berwarna ungu, sedangkan bakteri Gram negatif adalah bakteri yang tidak tahan terhadap alkohol sehingga warna pertama yang diberikan luntur dan akan mengikat warna kedua sehingga bakteri berwarna merah (Jawetz, Melnick, *et al.*, 1986).

Tabel 1. Beberapa ciri bakteri gram positif dan gram negatif.

Ciri	Perbedaan Relatif	
	Gram positif	Gram negatif
Struktur dinding sel	<ul style="list-style-type: none"> • Tebal (15 - 80 nm) • Berlapis tunggal (mono) 	<ul style="list-style-type: none"> • Tipis (10 - 15 nm) • Berlapis tiga (multi)
Komposisi dinding sel	<ul style="list-style-type: none"> • Kandungan lipid rendah (1 - 4%) • Peptidoglikan ada sebagai lapisan tunggal; komponen utama merupakan lebih dari 50% berat kering pada beberapa sel bakteri. • Memiliki asam teikoat 	<ul style="list-style-type: none"> • Kandungan lipid tinggi (11 - 22%) • Peptidoglikan ada di dalam lapisan kaku sebelah dalam; jumlahnya sedikit; merupakan sekitar 10% berat kering • Tidak memiliki asam teikoat
Kerentanan terhadap penisilin	<ul style="list-style-type: none"> • Lebih rentan 	<ul style="list-style-type: none"> • Kurang rentan
Persyaratan nutrisi	<ul style="list-style-type: none"> • Relatif rumit pada banyak spesies 	<ul style="list-style-type: none"> • Relatif sederhana
Resistensi terhadap gangguan fisik	<ul style="list-style-type: none"> • Lebih resisten 	<ul style="list-style-type: none"> • Kurang resisten

(Pelczar dan Chan, 1986)

Bakteri dan mikroorganisme lain menyesuaikan diri dengan lingkungan, termasuk manusia dan binatang, dimana mereka secara normal bertempat tinggal dan hidup. Dalam bekerja, bakteri meningkatkan kemampuannya untuk bertahan

dan meningkatkan kemungkinan penyebaran. Bagian didalam tubuh, dimana bakteri harus menempel atau melekat pada sel inang biasanya adalah sel epitel. Setelah bakteri mempunyai kedudukan yang tetap untuk menginfeksi, mereka mulai memperbanyak diri dan menyebar secara langsung melalui jaringan atau lewat sistem limfatik ke aliran darah. Infeksi ini dapat sementara atau menetap (Jawetz, Melnick, *et al.*, 2005).

Toksin

Toksin adalah senyawa yang diproduksi oleh mikroorganisme tertentu. Kemampuan mikroorganisme untuk memproduksi toksin disebut toksigenisitas. Toksin yang dibawa oleh darah atau limpa dapat menyebabkan efek yang serius bahkan fatal.

Eksotoksin

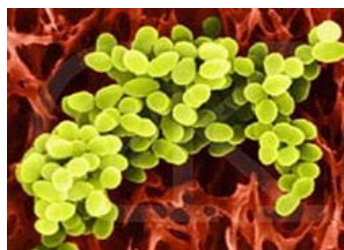
Eksotoksin diproduksi oleh beberapa bakteri sebagai bagian dari pertumbuhan dan metabolisme dan dikeluarkan di daerah medium. Eksotoksin adalah protein dan beberapa enzim yang mengkatalisa reaksi biokimia tertentu. Bakteri yang menghasilkan eksotoksin adalah bakteri gram positif.

Endotoksin

Endotoksin berbeda dengan eksotoksin. Endotoksin adalah bagian luar dari dinding sel dari bakteri gram negatif. Bakteri gram negatif punya membran luar disekitar lapisan peptidoglikan dari dinding sel. Membran luar ini terdiri dari lipoprotein, fosfolipida dan lipopolisakarida. Efek endotoksin bekerja ketika bakteri gram negatif mati dan dinding selnya mengalami lisis kemudian melepaskan endotoksin (Tortono, Gerard J.,dkk, 1994).

Klasifikasi bakteri yang digunakan untuk uji

a. Staphylococcus aureus



Gambar 7. *Staphylococcus aureus*

Klasifikasi :

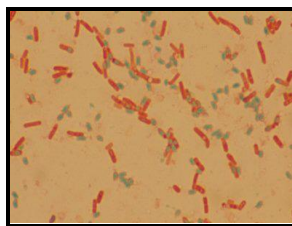
Divisi	: Protophyta
Kelas	: Schizomycetes
Bangsa	: Eubacteryales
Suku	: Mycrococcaceae
Marga	: Staphylococcus
Jenis	: <i>Staphylococcus aureus</i> (Salle, 1961)

S. aureus termasuk bakteri Gram positif, berbentuk bulat, berdiameter 0.1 – 0.5 μm , satu-satu atau berpasangan, tidak bergerak, dinding sel mengandung dua komponen utama, peptidoglikan dan asam-asam teikoat. Metabolisme aerob dan anaerob biasanya peka terhadap panas terutama di permukaan kulit, kelenjar kulit dan selaput lendir. *S. aureus* mudah tumbuh pada berbagai pembenihan atau metabolisme yang aktif, meragikan banyak karbohidrat dengan lambat, menghasilkan asam laktat tetapi tidak menghasilkan gas dan meragikan pigmen yang bervariasi dari putih sampai kuning tua. *Staphylococcus* patogen sering menghemolisis darah dan mengkoagulasi plasma, beberapa diantaranya tergolong flora normal kulit dan selaput lendir manusia (Jawetz dkk, 1986).

S. aureus hidup sebagai saprofit didalam membran mukosa dari tubuh manusia dan hewan seperti hidung, mulut dan tenggorokan dan dapat mengeluarkan batuk dan bersin. Bakteri ini juga sering terdapat pada pori – pori permukaan kulit, kelenjar keringat dan saluran usus. Selain dapat menyebabkan intoksikasi, *S. aureus* juga dapat menyebabkan bermacam – macam infeksi seperti seperti jerawat, bisul, meningitis, osteomielitis, pneumonia dan mastitis pada manusia (Supardi, 1999).

S. aureus dapat menyebabkan penyakit berkat kemampuannya melakukan pembelahan, dan menyebar luas ke dalam jaringan serta mampu memproduksi bahan ekstra seluler seperti katalase, koagulase, eksotoksin, lekosidin, toksin eksfoliatif, Toksin Sindroma Syok Toksik (Toxic Shock Syndrome Toxin), enterotoksin dan enzim lain (Juliantina, 2009).

b. *Bacillus cereus*



Gambar 8. *Bacillus cereus*

Klasifikasi

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Firmicutes
Class	: Bacilli
Order	: Bacillales
Family	: Bacillaceae
Genus	: Bacillus
Spesies	: <i>Bacillus cereus</i>

Bacillus cereus merupakan bakteri gram-positif, aerob fakultatif, dan dapat membentuk spora. Selnya berbentuk batang besar dan sporanya tidak membengkakkan sporangiumnya. Genus *Bacillus* lazim terdapat dalam tanah, air, udara, dan tumbuh – tumbuhan. Basil saprofit ini menggunakan sumber nitrogen dan karbon sederhana untuk pertumbuhannya.

B. cereus dapat tumbuh dalam makanan dan menghasilkan enterotoksin yang menyebabkan keracunan makanan. Keberadaan *B. 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 *B. 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, keratitis berat, endoftalmitis dan panoftalmitis. Sporanya resisten terhadap perubahan lingkungan, tahan terhadap panas kering dan desinfektan kimia tertentu dalam waktu yang cukup lama dan dapat bertahan selama bertahun – tahun pada tanah yang kering (Jawetz *et al.*, 2005).

c. *Escherichia coli*



Gambar 9. Bakteri *Escherichia coli*

Klasifikasi

Divisi	: Protophyta
Subdivisi	: Schizomycetea
Kelas	: Schizomycetes
Bangsa	: Eubacteriales
Suku	: Enterobacteriaceae
Marga	: Escherichia
Jenis	: <i>Escherichia coli</i>

E. coli adalah bakteri gram negatif, berbentuk batang pendek, berderet seperti rantai, dapat memfermentasi glukosa dan laktosa membentuk asam dan gas. *E. coli* dapat tumbuh baik pada media Mc Conkey dan dapat memecah laktosa dengan cepat, juga dapat tumbuh pada media agar. Dapat merombak karbohidrat dan asam lemak menjadi asam dan gas serta dapat menghasilkan gas karbondioksida dan hidrogen (Pelczar dan Chan, 1998). *E. coli* berbentuk batang pendek (cocobasil), gram negatif dengan ukuran 0,4 – 0,7 μm x 1,4 μm . Sebagian besar bersifat motil (bergerak) dan beberapa strain memiliki kapsul (Supardi, 1999).

E. coli banyak ditemukan di dalam usus halus manusia sebagai flora normal, tetapi bila kesehatan menurun, bakteri ini dapat bersifat patogen terutama akibat toksin yang dihasilkan. *E. coli* umumnya tidak menyebabkan penyakit bila masih berada dalam usus, tetapi dapat menyebabkan penyakit pada saluran kencing, paru – paru, saluran empedu dan saluran otak (Jawetz, et all, 2005). Bakteri ini dapat menyebabkan penyakit seperti diare, infeksi saluran kemih,

pneumonia, meningitis pada bayi yang baru lahir dan infeksi luka (Karsinah, dkk, 1994).

E. coli dapat menyebabkan berbagai penyakit tergantung dari tempat infeksi, seperti infeksi saluran kemih (ISK) dan diare. Beberapa strain *E. coli* menyebabkan diare yaitu Enteropathogenic *E. coli* (EPEC), Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC) merupakan penyebab umum diare pada musafir. Enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC) dihubungkan dengan hemoragic colitis, Enteroinvasif *E. coli* (EIEC) menyebabkan penyakit mirip shigellosis sedangkan Enteroagregatif *E. coli* (EAEC) menyebabkan diare yang akut dan kronis (Juliantina,2009).

d. *Pseudomonas aeruginosa*



Gambar 10. *Pseudomonas aeruginosa*

Klasifikasi

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gamma Proteobacteria
Order	: Pseudomonadales
Family	: Pseudomonadaceae
Genus	: Pseudomonas
Spesies	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>

P. aeruginosa merupakan bakteri gram negatif batang, tidak meragi laktosa, dapat hidup di lingkungan seperti tempat – tempat basah, pada instrumen-instrumen kedokteran rumah sakit, kamar mandi, tempat tidur, tinja, dan kulit manusia dapat menyebabkan infeksi nosokomial. Koloni bakteri *P. aeruginosa* dapat dilihat pada gambar 10. *P. aeruginosa* merupakan penyebab penyakit pada orang tertentu dan resisten pada antibiotik. Bakteri ini menginfeksi darah, kulit,

telinga, mata, saluran kemih, pada luka bakar akan menyerang darahnya menghasilkan nanah. Penyakit yang serius yang ditimbulkan adalah komplikasi *cystic fibrosis* merupakan saluran pernafasan. Kanker dan luka bakar pada pasien sering diinfeksi dengan serius oleh bakteri ini (<http://www.pseudomonas.com>).

6. Antibakteri

Antibakteri adalah zat yang membunuh atau menekan pertumbuhan atau reproduksi bakteri (Dorland, 2002). Suatu obat antibakteri memperlihatkan toksisitas selektif jika obat ini lebih toksik terhadap organisme yang menyerang daripada sel hospes (Katzung & Trevor, 1994). 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. Mekanisme kerja antimikroba dapat dibagi menjadi lima cara, yaitu :

a. Penghambat sintesis dinding sel

Antibakteri berperan sebagai penghambat pembentukan peptidoglikan pada dinding sel bakteri. Hal ini menyebabkan terjadinya kerusakan sel akibat tidak adanya lapisan pelindung. Kerja antibakteri ini dapat dilihat pada penisilin dan sefalosporin.

b. Perusak membran sel

Antibakteri ini berperan merusak permeabilitas membran sel yang menyebabkan penghambatan transport nutrisi dari dalam menuju sel. Hal ini menyebabkan pertumbuhan sel terhambat. Model antibakteri ini dapat dilihat pada polimiksin dan tirosidin.

c. Penghambat sintesis protein

Antibakteri ini bekerja untuk mencegah pembentukan polipeptida dengan cara menghambat pembentukan molekul sederhananya berupa peptida, contohnya aminoglikosida dan tetrasiklin.

d. Penghambat sintesis asam nukleat

Dengan cara merusak enzim – enzim persintesis asam nukleat.

e. Antimetabolit

Menghambat reaksi metabolisme sel bakteri dengan menghasilkan *inhibitory enzyme competition*.

Beberapa kelompok utama bahan antibakteri kimiawi adalah fenol dan persenyawaan fenolat (fenol, *o*-Kresol, *m*-Kresol, *p*-Kresol, *o*-fenilfenol, heksilresorsinol dan heksaklorofen), alkohol (etil alkohol dan metil alkohol), halogen dan persenyawaannya (iodium, gas klor, hipoklorit dan kloramin), logam berat dan persenyawaannya (merkuri, perak tembaga, mertiolat, merkurokrom dan metafen), deterjen (deterjen anionik dan kationik), aldehid (glutaraldehid dan formaldehid), kemosterilisator gas (Etilenoksid) (Pelczar dan Chan,1988).

7. Media

Media adalah suatu bahan yang terdiri dari campuran zat makanan yang di perlukan untuk menumbuhkan suatu mikroorganisme dalam rangka isolasi memperbanyak perhitungan dan pengujian sifat fisiologik suatu mikroorganisme. Untuk mendapatkan lingkungan hidup yang cocok bagi pertumbuhan bakteri atau jamur, maka media harus memilih syarat dalam hal sebagai berikut :

a. Susunan makanan.

Suatu media yang digunakan untuk pertumbuhan harus ada air, sumber karbon, sumber nitrogen, mineral, vitamin dan gas.

b. Tekanan Osmosa

Disini antara sel mikroba dengan media harus memiliki tekanan osmosa yang sama, oleh karena itu untuk pertumbuhannya bakteri atau jamur membutuhkan media yang isotonis. Bila sel di tempatkan pada media yang bersifat hipertonis, sel bakteria akan terhidrasi atau kerap disebut sebagai peristiwa plasmolisis. Bila sel di tempatkan 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.

c. Derajat keasaman (pH)

Umumnya mikroorganisme membutuhkan pH sekitar 7 yaitu pH netral.

d. Temperatur

Pertumbuhan yang optimal membutuhkan temperatur tertentu. Pada umumnya mikroorganisme yang patogen membutuhkan temperatur tertentu sekitar 37 °C sesuai dengan temperatur tubuh.

e. Sterilitas

Sterilitas media merupakan suatu syarat yang sangat penting. Pemeriksaan mikrobiologis tidak mungkin dilakukan bila media yang digunakan tidak steril, Karena mikroorganisme yang diidentifikasi atau diisolasi tidak akan dibedakan dengan pasti apakah mikroorganisme tersebut berasal dari material yang diperiksa ataukah hanya kontaminan. Untuk mendapatkan media yang steril maka setiap tindakan (pengambilan media, penuangan media, dan lain-lain) dikerjakan secara aseptik dan alat yang digunakan harus steril (Anonim, 2004).

Menurut penggunaannya media di bagi menjadi 4 yaitu :

a. Media kaya

Media ini digunakan untuk mendapatkan pertumbuhan jenis bakteri tertentu yang tidak dapat tumbuh pada media sederhana, misalnya *Gonococcus*, *Pneumococcus*, *Sterptococcus*, *Basterioidea*, *Fusobacterium*, *Clostridia*, dan lain-lain. Contoh media adalah media agar darah, Brucella agar darah, agar coklat, kaldu darah.

b. Media selektif

Media ini dibuat sedemikian rupa sehingga kuman yang dicari akan tumbuh dengan koloni yang khas sedang kuman lain kurang khas. Contoh media endo, Mc Conkey agar, DCLS (*Deoxycholate Citrate Lactose Sucrose*) agar yang digunakan untuk mengisolasi kuman perut dimana kuman yang memecah laktosa akan berwarna merah, sedangkan kuman yang tidak memecah laktosa akan terlihat transparan.

c. Media Eksklusif

Media ini dibuat sedemikian rupa sehingga hanya bakteri tertentu yang hidup. Hal ini dapat dilakukan dengan membuat pH sangat alkalis (pada media cair alkali pepton yang digunakan untuk isolasi vibrio) atau menambahkan

antibiotik tertentu. Misal penambahan kloramfenikol untuk *Sabourraud*, koramisin pada brucella agar darah dan untuk bakteri anaerob tertentu.

d. Media pembiakan

Media ini digunakan dengan tujuan menumbuhkan jenis kuman yang dicari dan menghambat pertumbuhan bakteri lain. Contoh Media SC (Selenite Cystein) broth yang digunakan untuk penyubur pada salmonella.

Media yang digunakan untuk mempelajari sifat biokimiawi dari bakteri terhadap berbagai macam zat. Contohnya media gula, media darah, media KIA (*Klidger Iron Agar*), TSI (*Triple Sugar Iron*), MIO (*Motility Indol Ornithine*) (Anonim 2004).

Menurut isi media di bagi menjadi 2 yaitu :

a. Media basal

Media ini digunakan sebagai bahan dasar untuk membuat media lain yang lebih kompleks. Media basal dibedakan menjadi 2, yaitu :

- i. Media basal padat : kaldu agar, TSA (*Tryptone Soya Agar*).
- ii. Media basal cair : air peton, kaldu pepton, NA (*Nutrien Agar*).

Komposisi dari Nutrien Agar adalah ekstrak beef, pepton, agar, NaCl, air desitilat dan berada pada PH 6,8 – 7,0.

b. Media campuran

Adalah media selain media basal juga ditambahkan berbagai macam zat baik organik maupun anorganik, sesuai dengan kebutuhan bakteri.

8. Antibiotik

Antibiotika adalah senyawa kimia khas yang dihasilkan oleh organisme hidup, termasuk turunan senyawa dan struktur analognya yang dibuat secara sintetik, dan dalam kadar rendah mampu menghambat proses penting dalam kehidupan satu spesies atau lebih mikroorganisme. Pada awalnya antibiotika diisolasi dari mikroorganisme, tetapi sekarang beberapa antibiotika telah didapatkan dari tanaman tinggi atau binatang. Antibiotika berasal dari sumber – sumber berikut, yaitu *Actinomycetales* (58,2%), jamur (18,1%), tanaman tinggi

(12,1%), *Eubacteriales* terutama *Bacilli* (7,7%), binatang (1,8%), *Pseudomonales* (1,2%) dan ganggang atau lumut (0,9%) (Siswandono, 2000).

Antibiotika yang mempunyai efek menekan atau menghentikan suatu proses biokimia di dalam organisme, khususnya dalam proses infeksi oleh bakteri. Penggunaan antibiotika khususnya berkaitan dengan pengobatan penyakit infeksi, meskipun dalam bioteknologi dan rekayasa genetika juga digunakan sebagai alat seleksi terhadap mutan atau transforman. Antibiotika bekerja seperti pestisida dengan menekan atau memutus satu mata rantai metabolisme, hanya saja targetnya adalah bakteri. Antibiotika berbeda dengan desinfektan karena cara kerjanya. Disinfektan membunuh kuman dengan menciptakan lingkungan yang tidak wajar bagi kuman untuk hidup (Jawetz, et al, 2005).

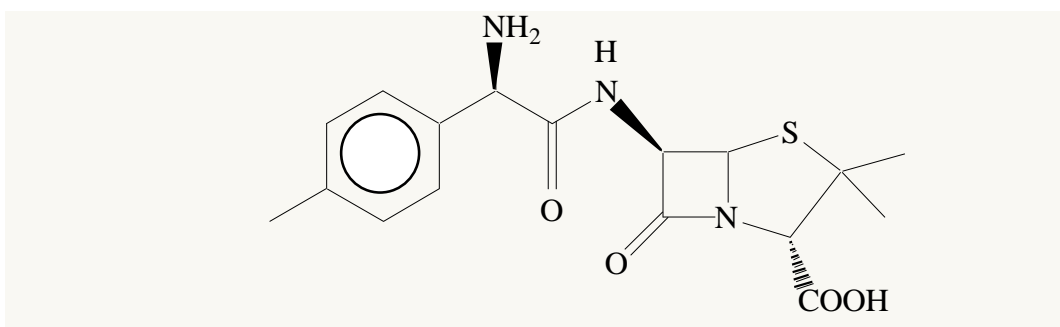
Penggolongan antibiotika berdasarkan spektrum aktivitasnya :

1. Antibiotik dengan spektrum luas, efektif baik terhadap bakteri gram positif maupun gram negatif, contohnya : turunan tetrasiklin, turunan amfenikol, turunan amino glikosida, turunan makrolida, rifampisin, beberapa turunan penisilin, seperti ampisilin, amoksisilin, bakampisilin, karbenisilin, hetasilin, pivampisilin, sulbesilin dan tikarsilin, dan sebagian besar turunan sefalosporin.
2. Antibiotika yang aktivitasnya lebih dominan terhadap bakteri gram positif, contoh : basitrasin, eritromisin, sebagian besar turunan penisilin, seperti benzilpenisilin, penisilin G prokain, penisilin V, fenitasilin K, metisilin Na, nafsilin Na, oksasilin Na, kloksasilin Na, dikloksasilin Na dan floksasilin Na, turunan linkosamida, asam fusidat dan beberapa turunan sefalosporin.
3. Antibiotika yang aktivitasnya lebih dominan terhadap bakteri gram negatif, contoh : kolistin, polimiksin B sulfat dan sulfomisin.
4. Antibiotika yang aktivitasnya lebih dominan terhadap *Mycobacteriae* (antituberkulosis), contoh : streptomisin, kanamisin, sikloserin, rifampisin, viomisin dan kapreomisin.
5. Antibiotika yang aktif terhadap jamur (antijamur), contoh : griseofulvin dan antibiotika polien, seperti nistatin, amfoterisin B dan kandisidin

6. Antibiotika yang aktif terhadap neoplasma (antikanker), contoh :
 aktinomisin, bleomisin, daunorubisin, mitomisin dan mitramisin

Berdasarkan struktur kimianya antibiotika dibagi menjadi sebelas kelompok yaitu : antibiotika β – laktam (turunan penisilin, sefalosporin dan β – laktam nonklasik), turunan amfenikol, turunan tetrasiklin, turunan aminoglikosida, turunan makrolida, turunan polipeptida, turunan linkosamida, turunan polien, turunan ansaminin, turunan antrasiklin dan fosfomisin

Amoksisilin adalah antibiotik dengan spektrum luas, digunakan untuk pengobatan infeksi pada saluran napas, saluran empedu, dan saluran seni, gonorhu, gastroenteritis, meningitis dan infeksi karena *Salmonella sp.*, seperti demam tipoid. Amoksisilin adalah turunan penisilin yang tahan terhadap asam tetapi tidak tahan terhadap penisilinase. Beberapa keuntungan dibanding ampisilin adalah absorpsi obat dalam saluran cerna lebih sempurna, sehingga kadar darah dalam plasma dan saluran seni lebih tinggi, absorpsi obat. Efek terhadap *Bacillus dysentery* lebih rendah dibanding ampisilin karena lebih banyak obat yang diabsorpsi oleh saluran cerna. Kadar darah maksimalnya dicapai dalam 1 jam setelah pemberian oral, dengan paro waktu \pm 1 jam. Dosis oral : 250 -500 mg 3 dd (Siswandono, Bambang Soekardjo. 2000).



Gambar 11. Struktur Amoksisilin (Siswandono, Bambang Soekardjo. 2000)

9. Metode Pengujian Aktivitas Antibakteri

Aktivitas antibakteri ditentukan oleh spektrum kerja (spektrum luas, spektrum sempit), cara kerja (bakterisidal atau bakteriostatik) dan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) serta potensi pada KHM. Suatu antibakteri dikatakan mempunyai aktivitas yang tinggi apabila KHM terjadi pada kadar antibiotik yang

rendah tetapi mempunyai daya bunuh atau daya hambat yang besar. Metode yang umum digunakan untuk menguji daya antibakteri diantaranya:

1. Metode difusi

a. Metode lubang (perforasi)

Bakteri uji yang umurnya 18-24 jam disuspensikan ke dalam media agar pada suhu sekitar 45 °C. Suspensi bakteri dituangkan ke dalam cawan petri steril. Setelah agar memadat, dibuat lubang-lubang dengan diameter 6-8 mm. Kedalam lubang tersebut dimasukkan larutan zat yang akan diuji aktivitasnya sebanyak 20µL, kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Aktivitas antibakteri dapat dilihat dari daerah bening yang mengelilingi lubang perforasi.

b. Metode cakram kertas

Zat yang akan diuji diserapkan ke dalam cakram kertas dengan cara meneteskan pada cakram kertas kosong larutan antibakteri sejumlah tertentu dengan kadar tertentu pula. Cakram kertas diletakkan diatas permukaan agar padat yang telah diolesi bakteri, diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Aktivitas antibakteri dapat dilihat dari daerah hambat di sekeliling cakram kertas.

2. Metode Dilusi

a. Metode pengenceran tabung

Antibakteri disuspensikan dalam agar *Tryptic Soy Broth* (TSB) dengan pH 7,2-7,4 kemudian dilakukan pengenceran dengan menggunakan beberapa tabung reaksi. Selanjutnya dilakukan inokulasi bakteri uji yang telah disuspensikan dengan NaCl fisiologis steril atau dengan TSB, yang tiap mililiternya mengandung kurang lebih 10^5 - 10^6 bakteri. Setelah diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam, tabung yang keruh menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri, sedangkan tabung yang bening menunjukkan zat antibakteri yang bekerja.

b. Metode pengenceran agar

Zat antibakteri dicampur sampai homogen pada agar steril yang masih cair dengan suhu terendah mungkin ($\pm 45^\circ\text{C}$) dengan menggunakan berbagai

konsentrasi aktif, larutan tersebut dituangkan ke dalam cawan petri steril kemudian setelah memadat dioleskan bakteri uji pada permukaannya. (Yuliani, 2001).

B. Kerangka Pemikiran

Tanaman sirih merah merupakan tanaman obat yang berkhasiat untuk pengobatan tradisional. Daun sirih merah mengandung golongan senyawa flavonoid, alkohol, senyawa polifenolat, tanin dan minyak atsiri. Minyak atsiri yang terkandung dalam suatu bahan tergantung dari umur tanaman dan kandungan mineral tempat hidupnya. Dari penelitian Setyowati (2009) telah berhasil diisolasi minyak atsiri daun sirih merah dari Karanganyar. Pada penelitian ini minyak atsiri yang diisolasi dari daun sirih merah berasal dari Magelang. Karanganyar (± 320 m dpl) dan Magelang (± 500 m dpl) merupakan daerah yang berbeda ketinggian sehingga dimungkinkan adanya perbedaan komposisi dari minyak atsiri daun sirih merah.

Sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) terutama daun memiliki kemampuan sebagai obat bagi beberapa penyakit termasuk juga sebagai antibakteri. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari minyak atsiri daun sirih merah. Terutama aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen gram positif : *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* dan bakteri gram negatif : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aerogenensis*.

Tahapan yang dilakukan mengisolasi, mengidentifikasi kemudian dilanjutkan dengan uji aktivitas antibakteri minyak atsiri daun sirih merah. Metode isolasi yang digunakan adalah metode destilasi Stahl. Dalam tahap ini terjadi difusi minyak atsiri dan air melalui membran tanaman, hidrolisis terhadap komponen minyak atsiri yang sudah dibebaskan oleh jaringan tanaman terbawa uap air. Untuk mengidentifikasikan komponen minyak atsiri digunakan analisa data GC – MS. Dari data GC – MS akan diperoleh informasi jumlah komponen dan struktur senyawa yang terdeteksi dalam minyak atsiri daun sirih merah.

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar sehingga diperoleh diameter zona hambat. Hasil uji difusi yang menunjukkan adanya suatu

hambatan pada pertumbuhan bakteri, kemudian dilanjutkan dengan membuat variasi konsentrasi minyak atsiri sehingga akan diperoleh Konsentrasi Hambat Minimum (KHM). Aktivitas antibakteri dari minyak atsiri daun sirih merah dibandingkan terhadap standar amoksisilin sehingga diperoleh data nilai uji banding. Data-data diameter hambat dan variasi konsentrasi hasil pengujian aktivitas antibakteri dilakukan analisa data dengan One-Way Anova.

C. Hipotesis

Daun sirih merah mengandung senyawa minyak atsiri yang dapat diisolasi secara destilasi stahl dan berpotensi untuk menghambat pertumbuhan bakteri patogen gram positif : *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* dan bakteri gram negatif : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aerogenensis*.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Metode Penelitian

Penelitian dilakukan dengan menggunakan metode eksperimental di laboratorium. Isolasi minyak atsiri daun sirih merah dilakukan dengan metode destilasi air. Identifikasi dilakukan dengan analisis data GC-MS. Uji aktivitas minyak atsiri dilakukan dengan metode difusi dan selanjutnya dilakukan penentuan KHM.

B. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan mulai bulan Agustus 2009 – Maret 2010 di Laboratorium Kimia Dasar FMIPA UNS dan laboratorium Mikrobiologi FMIPA UNS Surakarta.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat – alat yang digunakan sebagai berikut :

- a. Destilasi Stahl.
- b. Labu Alas Bulat 750 ml (pyrex).
- c. Statif.
- d. Klem.
- e. Selang air.
- f. Timbangan Elektrik (AND GF-300).
- g. Heating mantel (J.P. SELETA., s.a).
- h. Water pump.
- i. Gelas Beker (pyrex).
- j. Inkubator suhu 37°C (J.P. SELECTA Hotcold M).
- k. Inkubator suhu 0 – 10 °C (J.P. SELECTA Hotcold M).
- l. Gelas Ukur 10 ml & 50 ml (pyrex).
- m. Mikropipet 20 ml & 100 ml.
- n. Cawan petri.
- o. Pervorator.

- p. Tabung reaksi (pyrex).
- q. Autoklaf (J.P. SELECTA Hotcold M).
- r. Jarum Ose.
- s. Botol duran (pyrex).
- t. GC-MS.

2. Bahan

- a. Daun Sirih Merah dari Magelang
- b. Na₂SO₄ Anhidrous (E. merck).
- c. Aquades.
- d. Kertas payung.
- e. Isolat *Escherichia coli*.
- f. Isolat *Staphylococcus aureus*.
- g. Isolat *Pseudomonas aeruginosa*
- h. Isolat *Bacillus cereus*
- i. Kapas.
- j. Alumunium foil.
- k. Media NA (Nutrien Agar).
- l. Amoksisilin
- m. Alkohol 75%.
- n. N-heksan

D. Prosedur Penelitian

1. Determinasi bahan awal

Determinasi tanaman yang akan digunakan dilakukan berdasarkan ciri fisiologis tanaman seperti daun, bunga, batang serta akar. Identifikasi dan determinasi dilakukan di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Fakultas Biologi UGM.

2. Persiapan sampel daun sirih merah

Daun sirih merah yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari daerah Magelang. Daun sirih dibersihkan, dicuci, kemudian dikeringkan pada suhu kamar atau diangin-anginkan kurang lebih 1 minggu.

3. Isolasi Minyak Atsiri

Sebanyak 25 gram simplisia daun sirih merah didestilasi stahl dengan aquades 2/3 volume labu selama kurang lebih 4 jam, selanjutnya minyak atsiri dipisahkan. Minyak atsiri yang masih bercampur dengan sedikit air dihilangkan dengan menambahkan Na_2SO_4 anhidrous sampai jenuh kemudian dipisahkan. Minyak atsiri yang diperoleh digunakan sebagai sampel untuk proses selanjutnya.

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

Kondisi operasi GC-MS saat analisis sampel minyak atsiri daun sirih merah sebagai berikut:

Jenis pengion	: EI (<i>Electron Impact</i>)
Gas pembawa	: Helium 14,0 Kpa
Jenis kolom	: HP-5MS
Panjang kolom	: 30 meter
Diameter kolom	: 0,25 mm
Suhu kolom	: 60 – 290°C
Suhu injektor	: 290°C
Suhu detektor	: 250°C
Kecepatan kenaikan suhu	: 5°C / menit

5. Uji antibakteri minyak atsiri

a). Sterilisasi alat

Alat yang digunakan untuk aktivitas antibakteri disterilkan dalam autoklaf dengan temperatur 121°C selama kurang lebih 15 menit.

b). Pembuatan media agar miring

Sebanyak 1 gram NA (Nutrien Agar) dilarutkan dalam 50 ml aquades, kemudian dipanaskan dengan stirer sampai warna kuning bening. Masukkan ke dalam tabung reaksi masing – masing sebanyak 5 ml. Tutup tabung reaksi dengan kapas dan alumunium foil. Sterilisasi pada suhu 121°C selama 20 menit. Tempatkan ditempat yang miring dan diamkan sampai padat pada suhu kamar.

c). Pembuatan biakan bakteri

Sebanyak 1 ose isolat bakteri ditempelkan pada media miring agar NA dengan pola zig zag, masing – masing bakteri dibuat 3 biakan bakteri. Lakukan

dalam keadaan steril pada ruang isolasi dengan sinar UV. Kemudian inkubasi biakan pada suhu 37 °C selama 24 jam.

d). Penyediaan larutan standar
amoksisilin.

Sebanyak 100 mg amoksisilin dilarutkan dalam 10 mL n-heksan. Larutan ini merupakan larutan amoksisilin 0,01 mg/μL. Larutan tersebut diambil menggunakan mikropipet dan dengan metode pengenceran dibuat berbagai konsentrasi standar amoksisilin yang diinginkan.

e). Uji antibakteri minyak atsiri

Sebanyak 1 gram NA dilarutkan dalam aquades 50 ml., panaskan sampai kuning bening. Masukkan ke dalam botol duran masing – masing sebanyak 15 ml. Siapkan aquades steril untuk membuat bakteri dalam bentuk suspensi dengan memasukkan 3 ml aquades ke dalam tabung reaksi dan tutup rapat dengan kapas, dengan catatan 1 tabung untuk 1 bakteri. Sterilisasi aquades, cawan petri yang telah dibungkus kertas, media NA dalam duran dan alat – alat yang dibutuhkan dalam uji antibakteri (pervorator, tip, spatula) pada suhu 121°C selama 20 menit.

Untuk membuat suspensi bakteri, ambil 1 ose bakteri kemudian masukkan dalam aquades steril dan aduk, sampai larutan keruh. Ambil 100 μl suspensi bakteri lalu taruh dalam cawan petri yang steril. Ke dalam cawan petri yang berisi suspensi bakteri, kemudian tuangkan media NA steril dalam suhu tubuh sekitar 30 - 37°C (tidak terlalu panas dan tidak terlalu dingin), goyangkan cawan petri dengan pola angka delapan sehingga kedua larutan tercampur rata. Diamkan campuran tersebut sampai beku (diamkan ±15 menit). Setelah itu, buatlah sumuran dengan ukuran 6 mm dengan alat pervorator dan spatula. Isikan sumuran tersebut dengan 20 μl sampel atau bahan yang diujikan. Bungkus kembali dengan kertas dan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

f). Pengamatan hasil

Pengamatan penghambatan pertumbuhan bakteri dilakukan dengan mengukur diameter zona bening disekitar sumuran yang merupakan diameter zona penghambatan sampel.

g). **Penentuan KHM**

Minyak atsiri yang menunjukkan adanya penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri kemudian dibuat dengan variasi konsentrasi 75%, 50% dan 25% dengan pelarut n-heksan yang selanjutnya dilakukan uji antibakteri masing – masing konsentrasi untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM).

h). **Penentuan nilai banding**

Sebagai pembanding digunakan standar dengan perlakuan yang sama seperti sampel uji. Standar yang digunakan adalah amoksisilin. Dari hasil yang diperoleh kemudian dibuat kurva standar antara log konsentrasi (ppm) terhadap diameter hambatan (mm). Kurva ini digunakan sebagai pembanding bagi sampel yang memiliki aktivitas antibakteri tertinggi dengan cara menarik garis lurus yang memotong kurva standar dan diameter hasil pengamatan sehingga diperoleh harga log konsentrasi dan kemudian dihitung antilognya untuk mendapatkan konsentrasi yang sebenarnya. Nilai banding sampel terhadap baku amoksisilin dapat dihitung dengan persamaan:

$$\text{nilai banding} = \frac{\text{konsentrasi sampel dari kurva}}{\text{konsentrasi sampel sebenarnya}} \times 100\%$$

E. Teknik Pengumpulan dan Analisis Data

Dari isolasi minyak atsiri menggunakan metode stahl akan diperoleh kadar minyak atsiri. Kadar minyak atsiri dinyatakan sebagai berikut (v/b %) :

$$\frac{\text{volume minyak atsiri daun sirih merah (ml)}}{\text{berat simplisia (g)}} \times 100\%$$

Dari kromatogram GC diperoleh informasi jumlah senyawa yang terdeteksi dan dari spektra GC – MS didapatkan struktur senyawa yang terdeteksi dalam minyak atsiri sirih dengan membandingkan dengan data sekunder dari literatur.

Dari uji antibakteri dengan metode difusi akan didapat nilai diameter zona hambatan pertumbuhan bakteri dan kemudian akan dibandingkan dengan zona hambat antibiotik sintesis.

Adanya hambatan yang ditunjukkan dengan diameter zona hambatan, maka dilanjutkan dengan menentukan nilai KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) dan uji potensi. Pada uji potensi, aktivitas antibakteri minyak atsiri daun sirih merah dibandingkan terhadap standar amoksisilin sehingga diperoleh data nilai banding. Data-data diameter hambat hasil pengujian aktivitas antibakteri dilakukan analisa data dengan One-Way Anova dilanjutkan analisa LSD. Analisa data dengan Anova bertujuan untuk menguji ada tidaknya perbedaan secara signifikan diameter daya hambat diantara keempat bakteri uji dan juga perbedaan secara signifikan diameter daya hambat masing-masing bakteri uji pada variasi konsentrasi. Analisa LSD bertujuan untuk mengetahui adanya perbedaan signifikan diameter daya hambat antara bakteri yang satu dengan yang lain dan juga antara konsentrasi yang satu dengan yang lain.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAAN

A. Determinasi Bahan Awal

Hasil determinasi sampel tanaman yang dilakukan oleh Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Fakultas Biologi Universitas Gajah Mada menyatakan bahwa sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah benar *Piper crocatum* Ruiz & Pav atau sirih merah (Lampiran 1).

B. Persiapan Sampel

Daun sirih merah yang telah dibersihkan dan dicuci kemudian dikeringkan selama \pm 3 hari pada suhu kamar dan tidak boleh terkena matahari langsung. Tujuan dari pengeringan ini untuk mengurangi kadar air dalam daun sirih merah sehingga tidak ada jamur yang tumbuh selama penyimpanan daun sirih merah dan tidak boleh terkena sinar matahari langsung karena akan menyebabkan kehilangan minyak atsiri. Apabila bahan harus disimpan sebelum destilasi maka penyimpanan dilakukan pada udara kering yang bersuhu rendah dan udara tidak disirkulasikan sehingga dapat mengurangi penguapan minyak dari bahan (Ketaren, 1987).

C. Isolasi Minyak Atsiri

Daun sirih merah sebelum didestilasi perlu diperlakukan dengan cara perajangan. Perajangan bertujuan agar kelenjar minyak dapat terbuka sebanyak mungkin, sehingga memudahkan penguapan minyak atsiri saat destilasi berlangsung, karena minyak atsiri dikelilingi oleh kelenjar minyak, pembuluh-pembuluh, dan kantung minyak. Menurut Yuliani (2006) perajangan dimaksudkan untuk memecahkan sel minyak dan memperluas permukaan bahan, sehingga mempercepat proses difusi dan minyak mudah terekstraksi oleh uap air. Perajangan daun sirih merah ini dilakukan sesaat sebelum didestilasi atau setelah pengeringan untuk menghindari agar selama pengeringan minyak atsiri yang menguap tidak banyak.

Isolasi minyak atsiri pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan alat destilasi Stahl. Prinsip kerja destilasi stahl sama dengan destilasi dengan air (hidrodestilasi). Namun destilasi stahl memiliki beberapa kelebihan. Kelebihan penggunaan destilasi stahl 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.

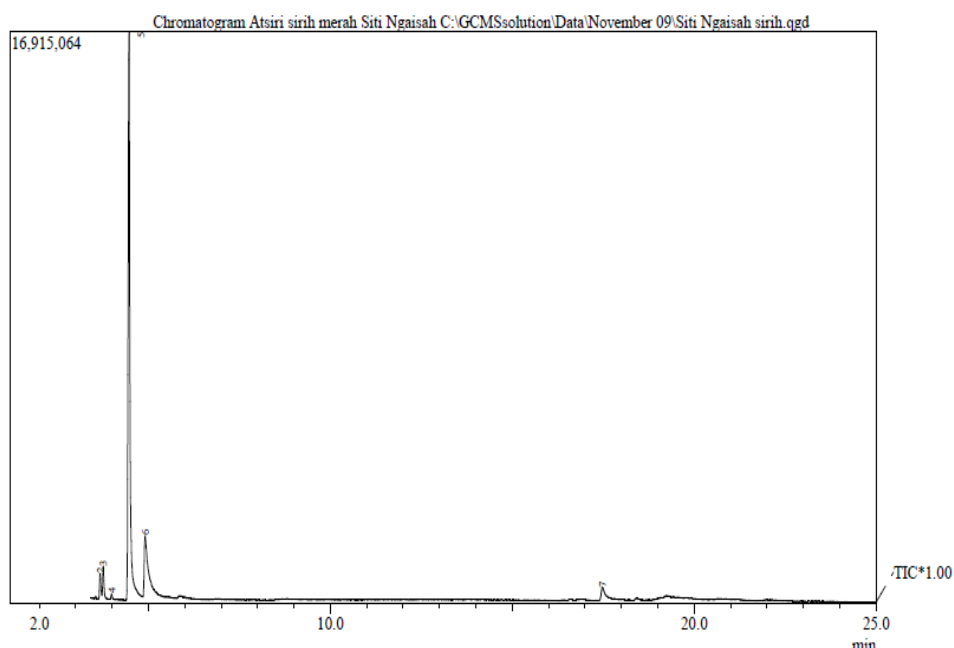
Minyak atsiri yang diperoleh dari destilasi stahl berupa cairan berwarna kuning jernih dan berbau khas sirih merah dengan kadar 0,727 % (v/b) (perhitungan terlampir pada lampiran 2). Hasil ini berbeda jauh dengan hasil penelitian sebelumnya dimana kadar minyak atsiri daun sirih merah yang berasal dari Karanganyar sebesar 0,27 % (Setyowati,2009). Kandungan minyak atsiri dalam suatu bahan tergantung dari umur tanaman dan kandungan mineral tempat hidupnya. Faktor fisika dan kimia juga dapat berpengaruh. Faktor fisika disebabkan oleh proses pengeringan dan penyimpanan. Selama proses pengeringan, minyak atsiri yang menguap lebih besar dibanding pada saat penyimpanan. Karena pada saat pengeringan daun masih mengandung sebagian besar air di dalam sel dan dengan proses difusi akan membawa minyak ke permukaan kemudian menguap karena sinar matahari. Menurut Gusmalini dalam Sembiring (2003) kadar dan mutu minyak dipengaruhi oleh kesuburan tanah, umur panen (daun muda dan daun tua), bibit tanaman apakah bagus atau tidak, penanganan bahan sebelum disuling, cara penyulingan, pemisahan minyak dengan air destilatnya serta penyimpanan minyak. Ukuran rajangan juga berpengaruh terhadap rendemen minyak sirih. Semakin kecil ukuran rajangan maka rendemennya cenderung semakin meningkat (Novalhy, 2006)

Menurut Ketaren (1987) lingkungan juga bisa mempengaruhi kadar dan kualitas minyak yang dihasilkan. Penyimpanan pada tempat yang terbuka menyebabkan sejumlah minyak akan menguap disertai pula oleh proses oksidasi sehingga menyebabkan penurunan mutu minyak tersebut. Faktor kimia disebabkan oleh komponen dalam minyak atsiri sebagian terdiri dari senyawa yang mengandung heteroatom oksigen seperti alkohol, aldehid, dan oksida,

beberapa minyak atsiri bahkan mengandung senyawa-senyawa tersebut dalam jumlah besar. Adanya heteroatom oksigen menyebabkan senyawa-senyawa tersebut mudah terurai (Ketaren, 1987).

D. Identifikasi Komponen Minyak Atsiri Daun Sirih Merah

Hasil kromatogram dari data GC-MS pada minyak atsiri daun sirih merah menunjukkan terdapat 7 komponen (7 puncak) yang terdeteksi. Kromatogram GC – MS ditunjukkan pada Gambar 12.



Gambar 12. Kromatogram Hasil Pemisahan Kromatografi Gas Sampel Minyak Atsiri Daun Sirih Merah

Analisis kandungan minyak atsiri daun sirih merah pada penelitian ini dilakukan dengan analisis spektra massa yang didasarkan pada "base peak" (puncak dasar) dan SI (*Similarity Index*) dengan perbandingan spektra dari Wiley 7.LIB. Jika nilai $SI > 90$ maka senyawa yang terdeteksi sesuai dengan data pembanding sedangkan "base peak" merupakan puncak yang paling besar limpahannya dalam spektrum dan diberi harga 100%.

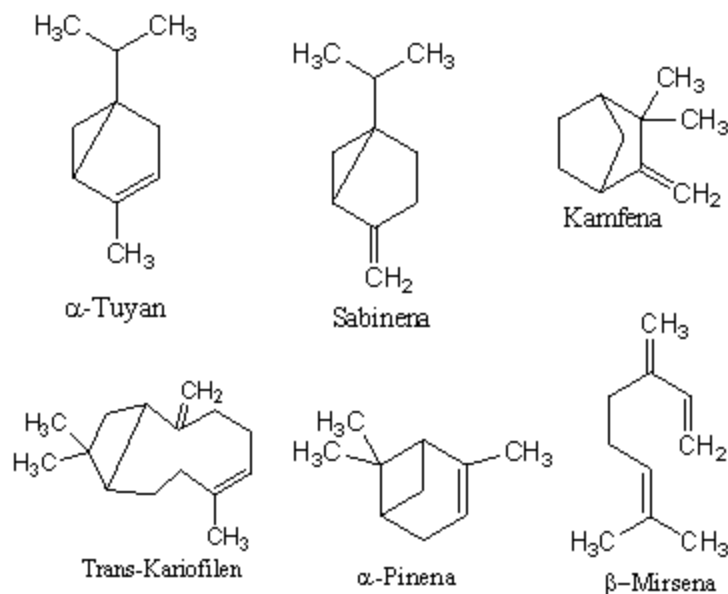
Hasil analisis dari GC-MS terdapat 6 spektra yang mempunyai nilai $SI > 90$ serta mempunyai "base peak" dan tren pecahan spektra massanya sesuai

dengan data pembanding. Spektra massa GC-MS dari 6 komponen yang dianalisis ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Data komponen kimia penyusun minyak atsiri daun sirih merah

No.	Senyawa	Waktu retensi	Puncak (% area)	SI	BM	Perkiraan senyawa
1	I	3,671	2 (2,42)	93	136	α -tuyan
2	II	3,756	3 (3,16)	95	136	α -pinen
3	III	3,987	4 (0,49)	92	136	Kamfen
4	IV	4,464	5 (74,73)	94	136	Sabinen
5	V	4,908	6 (17,12)	97	136	β -mirsen
6	VI	17,477	7 (1,88)	94	204	Trans-kariofilen

Dari tabel tersebut dapat diketahui bahwa minyak atsiri daun sirih merah terdiri dari golongan monoterpen yaitu α -tuyan, α -pinen, kamfen, sabinen, β -mirsen dan golongan seskuiterpen yaitu trans-kariofilen. Struktur senyawa penyusun minyak atsiri daun sirih merah dapat dilihat pada Gambar 13 dibawah ini.

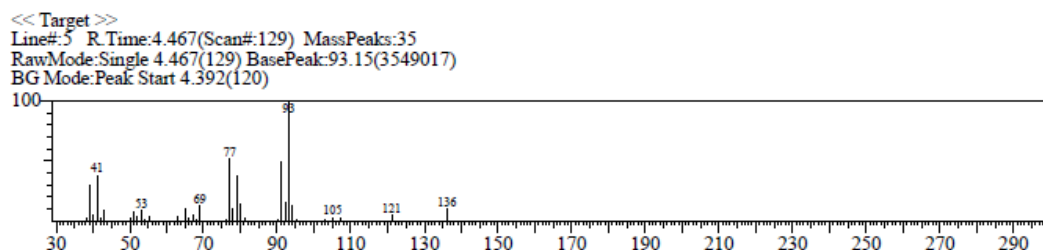


Gambar 13. Struktur senyawa penyusun minyak atsiri daun sirih merah

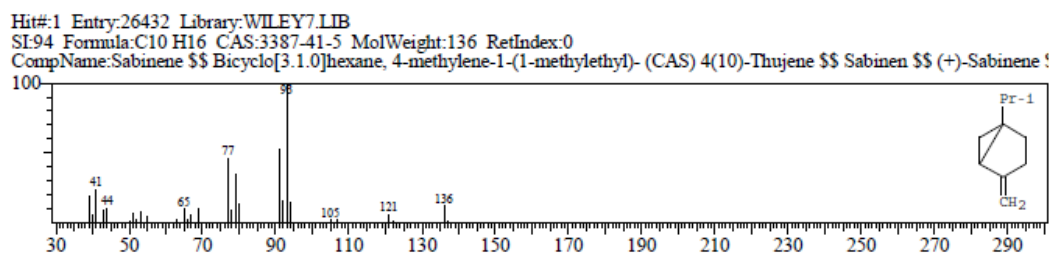
Secara kimia, minyak atsiri terdiri dari golongan monoterpen dan seskuiterpen yang berupa isoprena C_{10} dan C_{15} dengan titik didih yang berbeda (titik didih monoterpen $140 - 180$ °C, titik didih seskuiterpen > 200 °C) (Padmawinata, 1987).

Senyawa IV

Senyawa pada puncak dasar 5 dengan waktu retensi 4,464 menit dan SI = 94 mirip dengan senyawa Sabinen dengan rumus molekul $C_{10}H_{16}$ dengan m/z 136. Spektra massa senyawa IV dan spektra massa senyawa Sabinen dapat dilihat pada Gambar 14.



(a)



(b)

Gambar 14. (a) Spektra Massa Senyawa IV, (b) Spektra Massa Sabinen

Tabel fragmentasi dari spektra tersebut dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Fragmentasi senyawa IV dibandingkan fragmentasi Sabinen (WILEY7.LIB) dengan SI = 93

Senyawa	Fragmentasi							
Senyawa IV	41	-	65	77	93*	105	121	136
Sabinen	41	43	65	77	93*	105	121	136

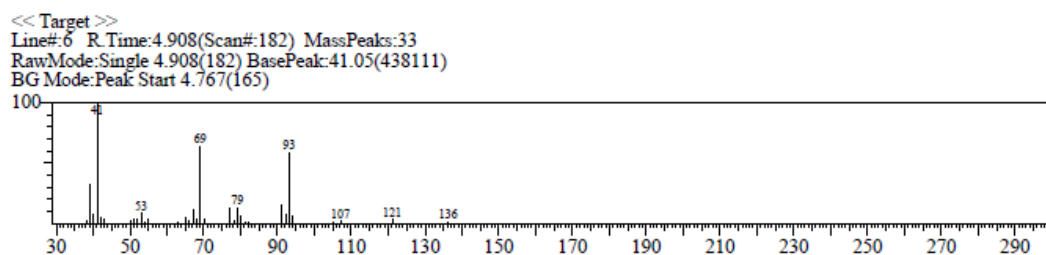
Ket : * = "base peak" spektra massa

Berdasarkan analisis data GC-MS, senyawa IV mempunyai indeks kemiripan (SI) = 94 dengan Sabinen, sehingga senyawa IV adalah Sabinen. Spektra senyawa IV dibandingkan dengan Sabinen memiliki nilai $SI > 90$ sehingga dapat dikatakan bahwa tingkat kemiripannya cukup tinggi, maka tidak perlu untuk ditampilkan pola fragmentasinya. Dengan demikian, senyawa IV

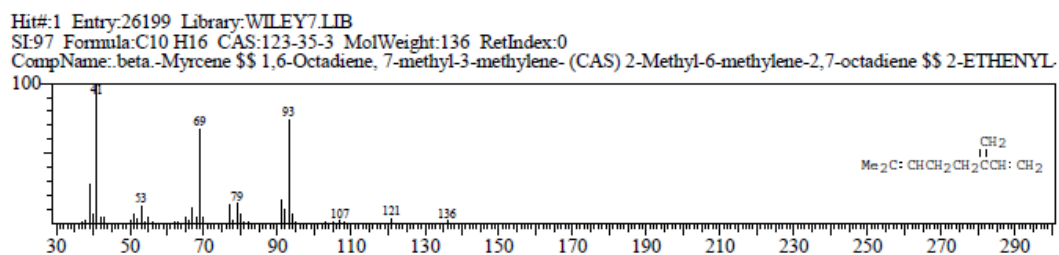
dapat dikatakan sebagai Sabinen, yang merupakan senyawa golongan monoterpen.

Senyawa V

Senyawa pada puncak dasar 6 dengan waktu retensi 4,908 menit dan SI = 97 mirip dengan β -mirsen dengan rumus molekul $C_{10}H_{16}$ dengan m/z 136. Spektra massa senyawa V dan spektra massa senyawa sabinen dapat dilihat pada Gambar 15.



(a)



(b)

Gambar 15. (a) Spektra Massa Senyawa V, (b) Spektra Massa β -mirsen
 Tabel fragmentasi dari spektra tersebut dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Fragmentasi senyawa V dibandingkan fragmentasi β -mirsen
 (WILEY7.LIB) dengan SI = 93

Senyawa	Fragmentasi							
Senyawa V	41	53	69	79	93*	107	121	136
β -mirsen	41	53	69	79	93*	107	121	136

Ket : * = "base peak" spektra massa

Berdasarkan analisis data GC-MS, senyawa V mempunyai indeks kemiripan (SI) = 97 dengan senyawa β -mirsen, sehingga senyawa V adalah β -mirsen. Spektra senyawa V dibandingkan dengan β -mirsen memiliki nilai SI > 90 sehingga dapat dikatakan bahwa tingkat kemiripannya cukup tinggi, maka tidak

perlu untuk ditampilkan pola fragmentasinya. Dengan demikian, senyawa V dapat dikatakan sebagai β -mirsen, yang merupakan senyawa golongan monoterpen.

Analisis spektra massa GC-MS untuk 4 senyawa lainnya dilakukan dengan cara yang sama seperti analisis senyawa IV dan V yang telah dilakukan sebelumnya. Pada senyawa-senyawa tersebut tidak perlu untuk ditampilkan pola fragmentasinya karena spektra senyawa – senyawa tersebut memiliki SI > 90, sehingga dapat dikatakan mempunyai kemiripan yang tinggi.

Hasil analisis GC-MS menunjukkan bahwa 2 komponen utama dari minyak atsiri daun sirih merah yang berasal dari Magelang sama dengan komponen utama minyak atsiri daun sirih merah yang berasal dari Karanganyar yaitu Sabinen dan β -mirsen (Setyowati,2009) meskipun berbeda kelimpahannya. Untuk sabinen minyak atsiri daun sirih merah dari Magelang (74,73%) mempunyai konsentrasi yang lebih besar daripada minyak atsiri daun sirih merah yang berasal dari Karanganyar (44,91%), sedangkan untuk β -mirsen minyak atsiri daun sirih merah dari Magelang mempunyai konsentrasi yang lebih kecil (17,12%) daripada minyak atsiri daun sirih merah dari Karanganyar (18,88%). Selain itu, terdapat beberapa komponen minyak atsiri daun sirih merah dari Karanganyar yang tidak terdeteksi pada minyak atsiri daun sirih merah dari Magelang.

Perbedaan hasil analisis GC-MS kedua minyak atsiri daun sirih merah ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor. Antara lain : perbedaan tempat/daerah pengambilan sampel, perlakuan pasca panen misalnya pengeringan dan penyimpanan, serta kondisi operasional alat yang digunakan dalam mendeteksi komponen tersebut khususnya kolom yang digunakan.

Komponen kimia dari minyak atsiri bervariasi tergantung daerah geografi, umur tanaman, iklim lokal, musim dan kondisi eksperimen juga perbedaan genetik bertanggungjawab pada perubahan komponen kimia (Yuksel *et al.* 2006; Senthilkumar, 2009). Selain itu juga perlakuan panen dan pasca panen dapat mempengaruhi komposisi minyak atsiri (Olonisakin *et al.*, 2006).

Magelang (\pm 500 m dpl) dan Karanganyar (\pm 320 m dpl) merupakan dua daerah yang mempunyai ketinggian yang berbeda akan tetapi pada dasarnya

mempunyai iklim yang tidak jauh berbeda, akan tetapi agroekologi dan kondisi kesuburan tanahnya yang sedikit berbeda. Hal ini memberikan peluang pembentukan komponen utama yang berbeda di kedua tempat tersebut (Arniputri, 2007). Minyak atsiri mempunyai sifat yang mudah menguap. Pada keadaan (musim) yang terlalu panas (kering), metabolisme tidak berjalan dengan sempurna sehingga menyebabkan pembentukan metabolit primer terganggu. Hal tersebut dapat menyebabkan terganggunya pembentukan metabolit sekunder yang mengakibatkan pembentukan sel minyak akan berkurang. Disamping itu, pada keadaan yang sangat kering (kemarau panjang) minyak pada daun akan cepat menguap, sehingga kadar minyaknya akan menurun (Nuryani, 2006).

Penjemuran bahan yang tidak teratur berpengaruh terhadap rendemen dan kualitas minyak yang dihasilkan. Dengan penyulingan uap dan air bahan berhubungan langsung dengan uap panas sehingga dapat merubah struktur jaringan tanaman dan mempermudah keluarnya minyak. Pada permulaan penyulingan sebagian besar minyak yang tersuling terdiri atas fraksi minyak yang mempunyai titik didih rendah, selanjutnya disusul fraksi minyak yang mempunyai titik didih yang tinggi. Suhu tinggi dan waktu penyulingan yang terlalu lama dapat menyebabkan minyak atsiri teroksidasi (Ketaren, 1987).

Analisis data GC-MS minyak atsiri daun sirih merah dari Magelang menggunakan jenis kolom semipolar HP-5MS dengan panjang kolom 30 meter, sedangkan analisis GC-MS minyak atsiri daun sirih merah dari Karanganyar menggunakan jenis kolom semipolar Rtx-5MS dengan panjang kolom 30 meter (Setyowati, 2009). Jika dalam minyak atsiri digunakan kolom yang lebih polar, sejumlah puncak yang dihasilkan menjadi lebar (tidak tajam) dan sebagian puncak tersebut juga membentuk ekor. Begitu juga dengan garis dasarnya tidak rata dan terlihat bergelombang. Bahkan kemungkinan besar komponen yang bersifat non polar tidak akan terdeteksi sama sekali (Agusta, 2000). Menurut Stanley *et al.* dalam Sembiring (2003) beberapa molekul tertentu tidak memperlihatkan puncak dalam analisis spektrum massa karena ion pecah sama sekali sebelum terdeteksi. Puncak dapat terdeteksi dengan cara menurunkan voltase pengionan elektron. Ion molekul yang tidak pecah menyebabkan terjadinya puncak.

Piperaceae secara tradisional sering digunakan sebagai pestisida dan aktivitas biologinya berpengaruh kuat sebagai aktivitas antibakteri (Parthasarathy *et al.*, 2008). Komponen penyusun minyak atsiri daun sirih merah sangat berpengaruh pada aktivitas antimikroba dari daun sirih merah tersebut. Adanya komponen penyusun minyak atsiri daun sirih merah yang berpotensi sebagai antimikroba ini, maka penelitian dilanjutkan untuk mengetahui aktivitas biologi minyak atsiri daun sirih merah terhadap bakteri yang bersifat patogen pada manusia.

E. Uji Antibakteri

1. Uji antibakteri minyak atsiri daun sirih merah

Metode yang digunakan dalam uji antibakteri minyak atsiri daun sirih merah ini adalah metode difusi dengan teknik sumuran dimana bakteri yang digunakan yaitu bakteri gram positif *B. cereus* dan *S. aureus* serta bakteri gram negatif *E. coli* dan *P. aeruginosa* yang merupakan bakteri yang bersifat patogen pada manusia. Uji antibakteri ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan minyak atsiri daun sirih merah dalam menghambat pertumbuhan bakteri dan mengetahui Kadar Hambat Minimal (KHM) suatu antibakteri. Pengujian aktivitas antibakteri minyak atsiri daun sirih merah dilakukan pada konsentrasi 100%, 75%, 50%, 25%.

Metode difusi dipilih karena pada metode ini ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri dapat teramati dengan jelas, sehingga dapat memudahkan dalam pengamatan terhadap bakteri uji. Diameter hambat pertumbuhan bakteri ini ditandai dengan adanya zona bening disekitar sumuran, sedangkan warna keruh pada media menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri sehingga bisa disimpulkan bahwa minyak atsiri daun sirih merah positif menghambat pertumbuhan bakteri *B. cereus*, *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*. Pengujian antibakteri ini juga dilakukan pada kontrol negatif yang berupa pelarut dari sampel yaitu n-heksan, dan juga pada kontrol positif yaitu amoksisilin. Pemilihan n-heksan dikarenakan n-heksan tidak mempunyai efek antibakteri sehingga tidak mempengaruhi hasil uji antibakteri. Selain itu, dipilih pelarut n-heksan dikarenakan minyak atsiri terdiri dari senyawa-senyawa terpenoid yang bersifat nonpolar dan n-heksan merupakan

pelarut yang bersifat nonpolar, sehingga kedua senyawa tersebut dapat saling larut sesuai prinsip “*like dissolved like*”. N-heksan ini telah digunakan sebagai pelarut minyak atsiri umbi teki (*Cyperus rotundus L.*) (Solihah, 2008). Data aktivitas penghambatan minyak atsiri daun sirih merah dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Data penghambatan minyak atsiri daun sirih merah

Konsentrasi minyak atsiri (v/b)	Rata – rata DDH			
	<i>B.cereus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
100%	13,69 ± 0,21	17,76 ± 0,23	19,56 ± 0,81	15,42 ± 0,62
75%	12,54 ± 0,38	17,03 ± 0,08	17,68 ± 0,22	15,17 ± 0,66
50%	12,16 ± 0,16	16,39 ± 0,15	12,60 ± 0,58	14,39 ± 0,11
25%	11,04 ± 0,06	15,05 ± 0,10	10,11 ± 0,11	12,19 ± 0,16

Keterangan : Rata – rata hasil 3x pengujian
Diameter lubang = 6 mm
DDH = Diameter Daya Hambat (mm)

Menurut Elganjar (2001) kekuatan antibakteri digolongkan menjadi 3 yaitu kuat jika menghasilkan diameter zona hambat lebih dari 8 mm, aktivitas sedang jika menghasilkan diameter zona hambat 7-8 mm, dan aktivitas lemah jika memiliki diameter zona hambat kurang dari 7 mm. Hasil uji diatas menunjukkan bahwa minyak atsiri daun sirih merah mempunyai aktivitas antibakteri yang kuat karena diameter zona hambatnya lebih dari 8 mm.

Aktivitas kerja minyak atsiri dalam menghambat pertumbuhan atau mematikan bakteri yaitu dengan cara mengganggu proses terbentuknya membran dan atau dinding sel, membran atau dinding sel tidak terbentuk atau terbentuk secara tidak sempurna (Ajizah, 2004). Supaya dapat membunuh mikroorganisme, bahan uji harus masuk ke dalam sel melalui dinding sel.

Zat antibakteri menyebabkan membran sel berada dalam lingkungan yang hipertonik. Suatu keadaan hipertonik dapat menyebabkan penghambatan pembentukan dinding sel sehingga sel hanya dibatasi oleh membran sel yang tipis (Jawetz dkk, 2005). Membran sel bakteri gram negatif tersusun atas lapisan peptidoglikan yang tipis, sedangkan lapisan fosfolipid lebih tebal. Senyawa antibakteri dapat melisiskan membran sel dengan melarutkan lapisan fosfolipid dari membran sel bakteri (Kusumaningrum, 2002).

Data dari aktivitas penghambatan minyak atsiri selanjutnya dianalisis menggunakan analisis statistik. Metode analisis menggunakan One-Way Anova dan dilanjutkan dengan analisa LSD. Berdasarkan uji statistik One-Way Anova variasi bakteri (Lampiran 7), terdapat pengaruh yang berbeda secara nyata dari bakteri uji terhadap Diameter Daya Hambat (DDH) ($\text{sig} < 0,05$). Pada hasil pengujian dapat dilihat bahwa kemampuan penghambatan minyak atsiri daun sirih merah pada bakteri gram positif relatif lebih kecil daripada bakteri gram negatif. Perbedaan nyata dalam komposisi dan struktur dinding sel antara bakteri gram negatif dan bakteri gram positif menyebabkan kedua respon terhadap berbagai perlakuan dan bahan, seperti pewarnaan gram dan antibiotik-antibiotik tertentu. Bakteri gram negatif mengandung lipid, lemak, atau substansi seperti lemak dalam prosentase lebih tinggi daripada yang dikandung bakteri gram positif. Dinding sel bakteri juga lebih tipis daripada dinding bakteri gram positif (Pelzar dan Chan, 1986). Bagian terluar dinding sel bakteri gram negatif adalah membran luar. Struktur membran luar terdiri dari fosfolipid (lapisan dalam) dan lipopolisakarida (bagian luar) (Purwoko, 2007). Karena itu, antibakteri akan mudah menyerang bakteri gram negatif dengan melarutkan lapisan fosfolipid yang berada pada membran luar pada dinding sel.

Permeabilitas dinding sel bakteri dipengaruhi oleh tebal tipisnya lapisan peptidoglikan dalam dinding sel. Perbedaan permeabilitas diantara dua kelompok dinding sel bakteri juga dapat menyebabkan perbedaan daya hambat antara bakteri gram positif dengan bakteri gram negatif. Dinding sel bakteri gram negatif mengandung peptidoglikan jauh lebih sedikit, dan peptidoglikan ini mempunyai ikatan silang yang jauh kurang ekstensif dibandingkan dengan yang dijumpai pada dinding bakteri gram positif (Pelzar dan Chan, 1986). Sehingga permeabilitas bakteri gram positif lebih rendah dibandingkan permeabilitas bakteri gram negatif. Dengan permeabilitas yang rendah maka zat aktif dari minyak atsiri akan mengalami kesulitan untuk menembus membran sel bakteri gram positif sehingga efek bakterinya kurang optimal. Dengan terganggunya sintesis peptidoglikan maka pembentukan dinding sel tidak sempurna karena tidak mengandung peptidoglikan sehingga sel hanya dilapisi oleh membran sel. Keadaan ini

menyebabkan sel bakteri mudah mengalami lisis karena tekanan osmotik yang menyebabkan sel bakteri mati (Prihnawati, 2009).

Analisa Anova kemudian dilakukan uji lanjut dengan LSD untuk mengetahui pengaruh variasi bakteri uji terhadap aktivitas antibakteri minyak atsiri sirih merah. Dari analisa ini diketahui bahwa variasi bakteri menyebabkan perbedaan nyata terhadap diameter hambat pada masing-masing konsentrasi kecuali pada bakteri *E. coli* terhadap *S. aureus* pada konsentrasi 75% dan bakteri *B. cereus* dan *E. coli* pada konsentrasi 50%.

Hasil analisa One-Way Anova pengaruh variasi konsentrasi pada masing-masing bakteri (Lampiran 8) menunjukkan bahwa variasi konsentrasi menyebabkan perbedaan nyata terhadap diameter hambat pada masing-masing bakteri uji. Aktivitas antibakteri minyak atsiri pada konsentrasi 100% > 75% > 50% > 25%. Hal ini sesuai dengan Ajizah (2004) dimana semakin kecil konsentrasi maka semakin sedikit jumlah zat aktif yang terkandung didalamnya, sehingga semakin rendah kemampuan dalam menghambat pertumbuhan suatu bakteri. Sehingga, aktivitas antibakteri minyak atsiri daun sirih merah tergantung dari konsentrasi yang digunakan.

Analisa lebih lanjut dengan LSD dilakukan untuk mengetahui pengaruh antar konsentrasi dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Pada *B. cereus*, *S. aureus*, *E. coli* variasi konsentrasi 100% menunjukkan perbedaan yang nyata pada semua konsentrasi. Perbedaan yang tidak nyata ditunjukkan oleh konsentrasi 100% dengan 75%, dan 75% dengan 50% terhadap bakteri *P. aeruginosa*.

2. Penentuan KHM Minyak Atsiri Daun Sirih Merah

Hasil uji yang menunjukkan bahwa minyak atsiri positif menghambat pertumbuhan bakteri kemudian dilanjutkan uji untuk mengetahui nilai Kadar Hambat Minimum (KHM) dengan memvariasi konsentrasi minyak atsiri. Variasi konsentrasi yang digunakan mulai dari konsentrasi 12,5% sampai 0,1%. Nilai KHM dari minyak atsiri daun sirih merah dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Nilai KHM minyak atsiri daun sirih merah terhadap masing – masing bakteri uji

Konsentrasi (v/b)	Rata – rata DDH ± SD			
	<i>B.cereus</i>	<i>S.aureus</i>	<i>E.coli</i>	<i>P.aeruginosa</i>
12,5%	10,45 ± 0,43	14,63 ± 0,43	9,61 ± 0,23	10,41 ± 0,13
6,25%	10,01 ± 0,23	12,07 ± 0,05	9,30 ± 0, 23	10,12 ± 0,09
3%	9,45 ± 0,07	11,23 ± 0,10	8,56 ± 0,44	9,35 ± 0,16
1%	8,13 ± 0,10*	10,01 ± 0,12	7,48 ± 0,09	8,64 ± 0,16
0,75%	6,00 ± 0,00	9,26 ± 0,20	6,78 ± 0,27*	6,97 ± 0,11*
0,5%	6,00 ± 0,00	8,47 ± 0,21	6,00 ± 0,00	6,00 ± 0,00
0,25%	6,00 ± 0,00	7,44 ± 0,37*	6,00 ± 0,00	6,00 ± 0,00
0,1%	6,00 ± 0,00	6,00 ± 0,00	6,00 ± 0,00	6,00 ± 0,00

Keterangan : Rata – rata hasil 3x pengujian
 Diameter lubang = 6 mm
 DDH = Diameter Daya Hambat (mm)
 * = nilai KHM dari bakteri

Dari tabel tersebut dapat dilihat bahwa semakin kecil konsentrasi maka semakin kecil juga penghambatan pertumbuhan bakteri. Menurut Plezart (1986) semakin besar konsentrasi zat yang terdapat pada cakram akan memperbesar kemampuan difusi zat tersebut pada media sehingga mempermudah penetrasi zat dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

Nilai KHM minyak atsiri daun sirih merah bila dibandingkan dengan KHM ekstrak etanol daun sirih merah (Juliantina, R., 2009) maka nilai KHM untuk *S. aureus* dan *E. coli* lebih kecil KHM pada minyak atsiri. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas gabungan dari beberapa golongan senyawa antibakteri kurang efektif dibandingkan dengan kerja minyak atsiri yang hanya mengandung golongan terpena saja. Aktivitas kerja gabungan dari beberapa senyawa antibakteri dapat juga kurang efektif dibandingkan dengan kerja masing – masing senyawa (Kusumaningrum, 2002).

Hasil analisa One-Way Anova variasi konsentrasi ditunjukkan pada Lampiran 10. Pada *B.cereus*, *S.aureus*, *P.aeruginosa* variasi konsentrasi menunjukkan perbedaan yang nyata ($\text{sig} < 0,05$) pada daerah hambat masing-masing bakteri uji, sedangkan pada *E. coli* mempunyai perbedaan yang nyata pada

hampir semua konsentrasi kecuali pada konsentrasi 12,5% terhadap konsentrasi 6,25% .

KHM pada *B. cereus* adalah 1% dengan diameter hambatnya $8,13 \pm 0,10$ mm, atau sekitar 2,13 mm dari tepi sumuran. Pada konsentrasi dibawah 1% sudah tidak terdapat zona bening disekitar sumuran, sehingga dapat dikatakan pada konsentrasi tersebut minyak atsiri sudah tidak dapat menghambat bakteri. Nilai KHM bakteri *S. aureus* adalah 0,25% dengan diameter hambatan $7,44 \pm 0,37$ mm atau sekitar 1,44 mm dari tepi sumuran. Pada *E. coli* dan *P. aeruginosa* nilai KHMnya sama yaitu 0,75% dengan diameter hambat masing-masing adalah $6,37 \pm 0,27$ mm dan $6,75 \pm 0,11$ mm atau sekitar 0,37 dan 0,75 mm dari tepi sumuran.

3. Penetapan KHM Amoksisilin dan Uji Potensi Antibakteri Minyak Atsiri Daun Sirih Merah

Uji potensi antibakteri minyak atsiri sirih merah dilakukan terhadap antibiotik amoksisilin. Pemilihan amoksisilin ini dikarenakan amoksisilin merupakan antibiotik yang berspektrum penghambatan yang luas sehingga dapat digunakan untuk semua bakteri uji. Selain itu, meskipun amoksisilin mempunyai aktivitas yang sama dengan ampisilin akan tetapi resorpsinya lebih lengkap dan pesat dengan kadar darah dua kali lipat. PP (persentase pengikatan) dan plasma- $t_{1/2}$ -nya lebih kurang sama dengan ampisilin, tetapi difusinya ke jaringan dan cairan tubuh lebih baik (Tjay dan Rahardja, 2008).

Amoksisilin merupakan antibiotika bakterisid yang bekerja terhadap fase tumbuh yaitu pada saat sintesis dinding sel bakteri. Dinding sel bakteri terdiri dari suatu jaringan peptidoglikan (Tjay dan Rahardja, 2008). Peptidoglikan adalah suatu kompleks yang terdiri dari polipeptida dan polisakarida. Polisakarida tersusun atas N-asetilglusamin dan N-asetilmuramat. Polipeptida terikat pada N-asetilmuramat dan tersusun dari tetrapeptida asam amino yang berakhir pada L-alanin-D-alanin. Tahap akhir sintesis dinding sel adalah reaksi hubungan melintang (*crosslinking*) antar unit – unit peptidoglikan dengan katalisator enzim transpeptidase. Karena amoksisilin mempunyai bagian struktur yang mirip dengan gugus ujung D-alanil-D-alanin dari bagian pentapeptida unit peptidoglikan, maka

amoksisilin dapat menghambat kerja enzim transpeptidase dengan cara mengikat enzim, melalui ikatan kovalen, sehingga mencegah pembentukan dinding sel bakteri (Siswandono dan Soekardjo, 2000). Selain itu amoksisilin merupakan pengasilasi kuat, dimana reaksi asilasi menyebabkan kekuatan dinding sel bakteri menjadi lemah dan mudah terjadi lisis sehingga bakteri mengalami kematian (Jawetz, et all 2005).

Pengujian aktivitas antibakteri terhadap amoksisilin dilakukan dengan variasi konsentrasi 15 ppm ($15 \times 10^{-4}\%$) sampai 2,5 ppm ($2,5 \times 10^{-4}\%$). Hasil pengujian aktivitas KHM amoksisilin dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil Pengujian KHM amoksisilin.

Konsentrasi amoksisilin (ppm)	Konsentrasi amoksisilin % (b/v)	Rata – rata DDH \pm SD			
		<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
15	15×10^{-4}	$20,23 \pm 0,19$	$18,83 \pm 0,54$	$20,68 \pm 0,19$	$16,14 \pm 0,23$
12,5	$12,5 \times 10^{-4}$	$16,62 \pm 0,20$	$18,29 \pm 0,43$	$18,64 \pm 0,27$	$14,16 \pm 0,40$
10	10×10^{-4}	$14,29 \pm 0,13$	$15,08 \pm 0,61$	$14,39 \pm 0,30$	$13,52 \pm 0,28$
7,5	$7,5 \times 10^{-4}$	$12,66 \pm 0,15$	$11,79 \pm 0,39$	$11,26 \pm 0,35$	$10,22 \pm 0,13$
5	5×10^{-4}	$9,61 \pm 0,18^*$	$10,08 \pm 0,15^*$	$9,20 \pm 0,34^*$	$8,63 \pm 0,17^*$
2,5	$2,5 \times 10^{-4}$	$6,00 \pm 0,00$	$6,00 \pm 0,00$	$6,00 \pm 0,00$	$6,00 \pm 0,00$

Keterangan : Rata – rata hasil 3x pengujian
 Diameter lubang = 6 mm
 DDH = Diameter Daya Hambat (mm)
 * = nilai KHM

Nilai KHM amoksisilin terhadap semua bakteri uji adalah sama yaitu 5 ppm atau $5 \times 10^{-4}\%$ tetapi DDH bakteri uji tersebut berbeda-beda. DDH dari *B. cereus* sebesar $9,61 \pm 0,18$ mm, *S. aureus* sebesar $10,08 \pm 0,15$ mm, *E. coli* sebesar $9,20 \pm 0,34$ mm dan *P. aeruginosa* sebesar $8,63 \pm 0,17$ mm.

Berdasarkan uji statistik One-Way Anova (Lampiran 10) dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh yang berbeda antara semua bakteri uji terhadap diameter hambat masing-masing bakteri uji ($\text{sig} < 0,05$). Uji lanjut dengan LSD menunjukkan perbedaan yang tidak nyata pada konsentrasi 15 ppm, 10 ppm, 7,5 ppm bakteri *B. cereus* terhadap *E. coli*, konsentrasi 12,5 ppm, 7,5 ppm *S. aureus* terhadap *P. aeruginosa*.

Uji statistik One-Way Anova (Lampiran 11) menunjukkan bahwa variasi konsentrasi mempunyai pengaruh yang berbeda terhadap diameter daya hambat

pada masing – masing bakteri uji. Hasil uji lebih lanjut dengan LSD menunjukkan bahwa antar konsentrasi amoksisilin mempunyai pengaruh berbeda yang nyata terhadap diameter hambat kecuali pada konsentrasi 15 ppm terhadap konsentrasi 12,5 ppm pada *S. aureus*.

Penetapan nilai banding bertujuan untuk mengetahui potensi minyak atsiri sebagai antibiotik alami dibandingkan dengan amoksisilin sebagai antibiotik sintesis. Konsentrasi minyak atsiri yang digunakan untuk menetapkan nilai banding adalah 100% yang merupakan konsentrasi tertinggi untuk penentuan KHM (Tabel 8.)

Tabel 8. DDH minyak atsiri daun sirih merah konsentrasi 100%.

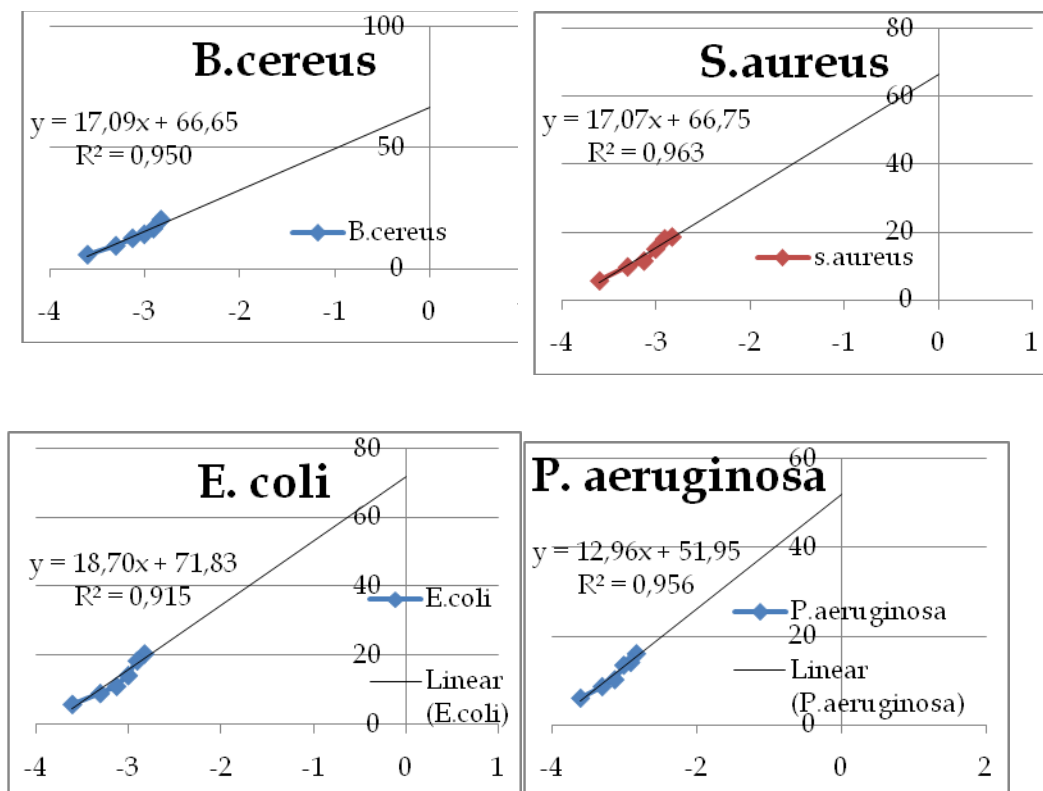
Konsentrasi (v/b)	Rata-rata DDH			
	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
100%	13,69	17,76	19,56	15,42

Keterangan : Hasil 3x pengujian

Diameter lubang = 6mm

DDH = Diameter Daerah Hambat (mm)

Penetapan nilai banding minyak atsiri dilakukan dengan membuat kurva hubungan antara logaritma konsentrasi amoksisilin (% b/v) dengan rata-rata DDH (mm) untuk setiap bakteri uji. Dari grafik akan didapat persamaan garis untuk masing – masing bakteri uji. Persamaan garis tersebut digunakan untuk menetapkan nilai banding minyak atsiri terhadap amoksisilin. Grafik logaritma konsentrasi (% b/v) dengan rata-rata DDH (mm) untuk setiap bakteri uji dapat dilihat pada Gambar 16.



Gambar 16. Grafik log konsentrasi vs DDH amoksisilin bakteri *B. cereus*, *S. aureus*, *E. coli* dan *P. aeruginosa*

DDH rata-rata minyak atsiri 100% pada masing-masing bakteri dimasukkan ke persamaan garis linier dari grafik amoksisilin sehingga akan didapatkan harga x. Harga x ini kemudian dicari antilog x nya. Dari harga antilog x ini dapat dicari nilai banding minyak atsiri daun sirih merah terhadap amoksisilin. Nilai banding tersebut dapat dilihat pada Tabel 9. dibawah ini.

Tabel 9. Nilai Banding Minyak Atsiri Daun Sirih Merah terhadap Amoksisilin

Bakteri	Nilai Banding
<i>B. cereus</i>	0,0008%
<i>S. aureus</i>	0,0013%
<i>E. coli</i>	0,0016%
<i>P. aeruginosa</i>	0,0015%

Dari nilai banding ternyata minyak atsiri daun sirih merah sebagai antibakteri mempunyai potensi yang relatif kecil terhadap bakteri *B. cereus*, *S. aureus*, *E. coli* dan *P. aeruginosa* dibandingkan dengan antibiotik sintesis (amoksisilin). Menurut Olonisakin *et al.* (2006) komposisi dari minyak atsiri

tanaman, konfigurasi struktur penyusun, gugus fungsionalnya dan komposisi persentase relatif dalam minyak atsiri tanaman mempunyai efek dalam aktivitas antimikrobia pada organisme. Aktivitas antibakteri dari minyak atsiri tergantung pada komposisi dan konsentrasi minyak atsiri juga tipe dan konsentrasi dari mikroorganisme target (Kan, 2006).

Hasil identifikasi komponen utama minyak atsiri sirih merah tersusun atas senyawa terpenoid yaitu monoterpen dan seskuiterpen. Aktivitas antibakteri pada minyak atsiri ini sulit dihubungkan dengan komponen atau senyawa yang khusus, hal ini dikarenakan kompleksitas dan variabilitas senyawa-senyawa yang terkandung di dalamnya. Secara umum aktivitas antibakteri berhubungan dengan struktur terpen C_{10} dan C_{15} serta gugus hidroksil yang memiliki kemampuan untuk membentuk ikatan hidrogen dengan sisi aktif enzim target meskipun senyawa aktif lain seperti alkohol, aldehyd dan ester juga dapat berkontribusi sebagai antibakteri minyak atsiri (Bullei, 2004).

Komponen minyak atsiri yang diduga berperan aktif sebagai antibakteri adalah sabinen, β -mirsen, α -pinen, α -tuyan, trans-kariofilen, β -pinen. Senyawa α -pinen dan β -pinen merupakan senyawa terpenoid yang dikenal mempunyai efek antimikroba (Lee, 2000; Erindyah dan Maryati, 2002; Filipowes, 2003; Senthilkumar dan Venketesalu, 2009). Menurut Filipoiwes (2003) α -pinena dan β -pinena memiliki kemampuan untuk merusak integritas seluler dan respon penghambatan serta dapat merusak proses transport.

Senyawa α -tuyan dan sabinen merupakan komponen utama penyusun batang teh yang bersifat antibakteri (Dewick, 2002). Sedangkan mirsen sendiri digunakan secara luas dalam industri makanan dan kosmetik, yang juga dikenal sebagai analgesik dan bahan antimikroba (Patzernheim, M. *et al.* 2006).

Senyawa trans-kariofilen merupakan senyawa golongan seskuiterpen yang punya efek antiinflamasi, antibakteri, dan pencegah kuman selain itu juga dikenal mempunyai aktivitas anastesik lokal (Erindyah dan Maryati, 2002; Parthasarathy *et al.*, 2008). Adanya kandungan senyawa yang bersifat antibakteri tersebut memungkinkan minyak atsiri daun sirih merah ini mempunyai efek penghambatan terhadap bakteri *B. cereus*, *S. aureus*, *E. coli*, dan *P. aeruginosa*.

BAB V

PENUTUP

1. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Kadar minyak atsiri daun sirih merah dari Magelang sebesar 0,727 % (v/b), berupa cairan berwarna kuning bening, berbau khas daun sirih merah.
2. Komponen minyak atsiri daun sirih merah teridentifikasi 6 senyawa yang terdiri dari golongan monoterpen yaitu: α -pinen, α -tuyan, sabinen, β -mirsen, kamfen dan golongan seskuiterpen yaitu trans-kariofilen.
3. Minyak atsiri daun sirih merah mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri gram positif *B. cereus* dengan KHM sebesar 1%, *S. aureus* dengan KHM 0,25%, sedangkan bakteri gram negatif *E. coli* dan *P. aeruginosa* sama – sama mempunyai KHM sebesar 0,75%.
4. Potensi minyak atsiri daun sirih merah dibanding amoksisilin untuk masing – masing bakteri adalah *B. cereus* 0,0008%, *S. aureus* 0,0013%, *P. aeruginosa* 0,0015%, *E. coli* 0,0016%, menunjukkan bahwa potensi antibakteri minyak atsiri daun sirih merah jauh lebih kecil dibandingkan dengan antibiotik sintesis amoksisilin.

2. SARAN

Perlu dilakukan isolasi zat aktif dalam minyak atsiri sirih merah dan dilakukan uji aktivitas antibakteri masing – masing komponen sehingga diketahui senyawa aktif yang bersifat antibakteri dalam minyak atsiri daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.).

DAFTAR PUSTAKA.

- Achmad, S.A. 1986. *Kimia Organik dan Bahan Alam*. Modul 1-6, Karunka, Jakarta.
- Agusta, A. 2000. *Minyak Atsiri Tumbuhan Tropik*. Penerbit ITB, Bandung.
- Ajizah, Aulia. 2004. Sensitivitas Salmonella tyhimurium terhadap ekstrak daun Psidium guajava L.. *Journal Bioscientiae*. Volume 1 Nomor 1.
- Anonim, 1994, Buku Ajar, *Mikrobiologi kedokteran*, Edisi revisi, Staff, Pengajar Fakultas Kedokteran, UI, 103 – 111, 163 – 165, Binarupa Aksara, Jakarta.
- Anonim, 2004, *Petunjuk Praktikum Mikrobiologi*, Edisi kedua, Fakultas Farmasi, UMS, Surakarta.
- Anonim, 2007, *Sirih Merah sebagai Tanaman Obat Multifungsi*. <http://baliitro.litbang.deptan.go.id>. diakses tanggal 30 Mei 2009.
- Arambawela, Laksmi, *et al.*, 2005. *Studies on Piper betle of Srilanka*. J. Natn.Sci.Foundation Sri Lanka. Vol. 33(2):133-139.
- Arniputri, Retna B., dkk. 2007. Identifikasi Komponen Utama Minyak Atsiri Temu Kunci (*Kaemferia pandurata* Roxb.) pada Ketinggian Tempat yang Berbeda. *Biodiversitas* Vol.8, No.2. Hal. 136-137.
- Bulleti. N, Guerzoni ME, Gardini F, Lanciotti R, Ndagihimana M, *et all*. 2004. Evaluation of The Antimicrobial activity of Citrus Essences on *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol 52, 6932-6938.
- Dewick, Paul M. 2002. *Medicinal Natural Products*. New York: John Wiley & Sons, hal. 167 – 204.
- Elganyar. 2006. Dalam Prosiding Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia tahun 2006. *Identifikasi dan Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Bunga Legetan (Spilanthes paniculata Wall)*. Departemen Perindustrian RI dan Institut Pertanian Bogor.
- Erindyah. R.W dan Maryati. 2003. Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Pinus Terhadap *S. aureus* dan *E.coli*. *Jurnal Farmasi Indonesia. Pharmacon* Vol 4. No.1
- Fillpowiez N, 2003. Antibacterial and antifungal activity of *Juniper Berry* oil and its selected component. *J. ACS*. 17, 227-231.

<http://plantamor.com> diakses tanggal 30 Mei 2009.

<http://www.pseudomonas.com> diakses tanggal 30 Mei 2009.

Jawetz, E., Melnick, J.L., Adelberg E.A. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta : Salemba Medika.

Juliantina R., Farida, dkk. 2009 . Manfaat Sirih Merah (*Piper crocatum*) Sebagai Agen Antibakterial Terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia* Vol.1

Kan, Yuksel., Uçan, Uçkun Sait., Kartal, Murat., Altun, M.L., Aslan, S., Sayar, E., Ceyhan, T. 2006. GC-MS Analysis and Antibacterial Activity of Cultivated *Satureja cuneifolia* Ten. Essential Oil. *Turkey Journal Chemistry* 30, 253 – 259.

Karsinah, Lucky, H. M., Soehanto, Mardiasuti, H. W., 1994, *Kokus positif Gram dan Batang negatif gram dalam buku ajar Mikrobiologi Kedokteran*, Edisi Revisi, 103 – 111, 163 – 165, Penerbit Bina Aksara, Jakarta.

Katzung, B.G., Trevor, A.J. (Eds.). 1994. *Buku Bantu Farmakologi*. Jakarta : EGC.

Ketaren. 1987. *Minyak Atsiri*, UI Press, terjemahan : Guenther. E., 1947. *Essential Oils*, Vol 1, John Willey and Sons, New York, Hal : 21- 25, 90, 132 – 134, 244-245.

Kusumaningrum, G.D, 2002. *Aktivitas Penghambatan Minyak atsiri dan Ekstrak Kasar Biji Pala terhadap Pertumbuhan Bakteri Xanthomonas campestris Oammel*. Skripsi FMIPA UNS. Surakarta.

Lee, J.R. 2000. *The Nutrition Notebook*, springboard.

Lenny, S. 2006. *Senyawa Terpenoid dan Steroid*. USU Repository.

Manitto, Paolo., Penerjemah: Koensoemardiyah. 1991. *Biosintesis Produk Alami*. Semarang: IKIP Semarang Press.

Novalny, D. 2006. *Pengaruh Ukuran Rajangan Daun dan Lama Penyulingan Terhadap Rendemen dan Karakteristik Minyak Sirih (Piper betle L.)*. Skripsi F Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor.

Nuryani, Yang, dan Hobir. 2006. *Prosiding Konferensi Nasional Minyak Atsiri 2006 Stabilitas Hasil, Kadar Minyak dan Kadar Patchoulli Alkohol*

Beberapa Nomor Nilam (Pogosternon cablin Benth). Departemen Perindustrian RI dan Institut Pertanian Bogor.

- Nwinyi et al. 2009. Antibacterial effects of extracts of *Ocimum gratissimum* and *Piper guineense* on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *African Journal of Food Science* Vol. 3(3). pp. 077-081. Nigeria
- Olonisakin, A., Oladimeji, M. O., Lajide, L. 2006. Chemical Composition And Antimicrobial Activity of Steam Distilled Oil of Ashanti Pepper (*Piper guineense*) Fruits (Berries). *Electronic Journal Of Experimental, Agricultural, and Food Chemistry*. 5 (5). Pages 1531-1535.
- Padmawinata, K., dan Sudiro, I., 1987, *Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modern Menalisis Tumbuhan*, ITB, Bandung, Terjemahan : Phytochemical Methods, Harborne, J.B., 1973, Chapman and Hall 1 td, London.
- Parthasarathy, U. et al.. 2008. *Spatial influence on the important volatile oils of Piper nigrum leaves*. Current science. Vol.94. No.12.
- Pelczar, M. J., Chan. E. C. S, Pelczar, M. F., Penerjemah: Hadioetomo, R, S.Dkk. 1986. *Dasar-dasar Mikrobiologi*, Jilid I. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta.
- Poeloengan, Masniari dkk. 2006. *Aktivitas Air Perasan, Minyak Atsiri dan Ekstrak Etanol daun sirih Terhadap Bakteri yang Diisolasi dari Sapi Mastitis Subklinis*. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Jakarta
- Potzernheim, M.; Bizzo, H. R. ; Agostini-Costa, T. S.; Vieira, R. F.; Carvalho-Cilva, M.; Gracindo, L.A. M. B. 2006. *Chemical characterization of seven Piper species (Piperaceae) from Federal District, Brazil, based on volatile oil constituents*. Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu, v.8, n.esp., p.10-12.
- Prihnawati, T.W. 2009. *Isolasi dan Uji Antibakteri Daun Lampes (Ocimum sanctum L.)*. Surakarta: Skripsi FMIPA UNS.
- Purwoko, C. 2007. *Fisiologi Mikroba*. Edisi I. Jakarta : PT Bumi Akasara.
- Ritschel WA. *Handbook of Basic Pharmacokinetics*. Hamilton : Drug Intelligence Publication. Inc., 1976.
- Salle, A., 1961, *Fundamental Principle of Bacteriology*, 5th Ed, Mc Graw Hill Book Company, Inc, New York.

- Sartoratto, A., Machado, Ana Lúcia M., Delarmelina, C., Figueira G. M., Marta Cristina T. Duarte, Vera Lúcia G. Rehder. 2004. Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oil From Aromatic Plants Used In Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology* (2004) 35:275-280.
- Satrohamidjojo, H, 1996. *Sintesis Bahan Alam*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Satrohamidjojo, H, 2004. *Kimia Minyak Atsiri*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. Hal : 13-14.
- Sembiring, B.Sofiana, dkk. 2003. Identifikasi Komponen Kimia Minyak Daun Salam (*Eugenia polyantha*) dari Sukabumi dan Bogor. *Buletin TRO* Vol. XIV No. 2
- Senthilkumar, A. dan Venketesalu, V. 2009. *Phytochemical analysis and antibacterial activity of the essential oil of Clausena anisata L. willd. Hook. F.ex.Benth*. International Journal of Integrative Biologi Vol.5 No.2.
- Setyowati, E.N. 2009. Studi Komparatif Komponen Kimia Penyusun Minyak Atsiri Daun Piper *crocatum* Ruiz & Pav, *Piper betle* L, *Piper ningrum* L dan *Piper cubeba* L. Skripsi FMIPA UNS.
- Shulman, S.T., Phair, S.P., Sommers, H.M. 1994. *Dasar Biologis dan Klinis Penyakit Infeksi (4th ed)* (Penerjemah S. Wahab). Yogyakarta : Fakultas Kedokteran UGM.
- Siswandono dan Bambang Soekardjo. 2000. *Kimia Medisinal*. Airlangga University Press. Surabaya.
- Solichah, M..2009. *Identifikasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Secang (Caesalpinia sappan (L))*. Surakarta : Skripsi FMIPA UNS.
- Solihah, A..2008. *Isoalasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Umbi Teki (Cyperus rotundus L.) dari Daerah Kartasura Sukoharjo*. Skripsi FMIPA UNS.
- Sudewo, B. 2005. *Basmi Penyakit dengan Sirih Merah*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Sudjadi, Drs. 1991. *Metode Pemisahan*. Fakultas Farmasi UGM, Yogyakarta
- Supardi, 1999. *Mikrobiologi dalam pengolahan dan keamanan pangan*, Penerbit Alumni Bandung.

- Tjay dan Rahardja. 2008. *Obat – Obat Penting : Khasiat, Penggunaan, dan Efek Samping*. PT. Elex Media Komputindo. Jakarta.
- Tortono, Gerard J. 1994. *Microbiology, an Introduction*, Fifth Edition, The Benjamins/Cummings Publishing Company Inc.
- Yuliani, Sri. Dan Mulyono, Edi. 2006. Prosiding Konferensi Nasional Minyak Atsiri 2006 *Pemanfaatan Minyak Atsiri untuk Aromaterapi*. Departemen Perindustrian RI dan Institut Pertanian Bogor.
- Yuliani, Y. 2001. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Ekstrak Rimpang Temu Putri (Curcuma Petiolata Roxb.)*. Jurusan Farmasi, FMIPA, Universitas Padjajaran

LAMPIRAN

LAMPIRAN 1. Hasil Determinasi Daun Sirih Merah



UNIVERSITAS GADJAH MADA
FAKULTAS BIOLOGI
LABORATORIUM TAKSONOMI TUMBUHAN

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

SURAT KETERANGAN

Nomer : 0137/ T.Tb. / X / 2009

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

nama : Siti Ngaisah
NIM : M 0304064
asal instansi : Fakultas MIPA - UNS

telah melakukan identifikasi tumbuhan dengan hasil sebagai berikut,

Familia : Piperaceae
Genus : *Piper*
Species : *Piper crocatum* Ruiz & Pav
Nama Daerah : Sirih Merah

identifikasi tersebut dibantu oleh Dra. Slamet Sutanti Budi Rahayu, M.Sc.
Demikian surat keterangan ini diberikan untuk dapat dipergunakan seperlunya.

Yogyakarta, 23 Oktober 2009

Mengetahui,
Dekan Fakultas Biologi
Universitas Gadjah Mada

Dr. Retno Peni Sancayaningsih, M. Sc.
NIP. 195509291982032002

Kepala Laboratorium
Taksonomi Tumbuhan
Fakultas Biologi UGM

Dr. Rina Sri Kasiamdari
NIP. 196712101994032001

LAMPIRAN 2. Diagram Alir Cara Kerja

Isolasi minyak atsiri daun sirih merah

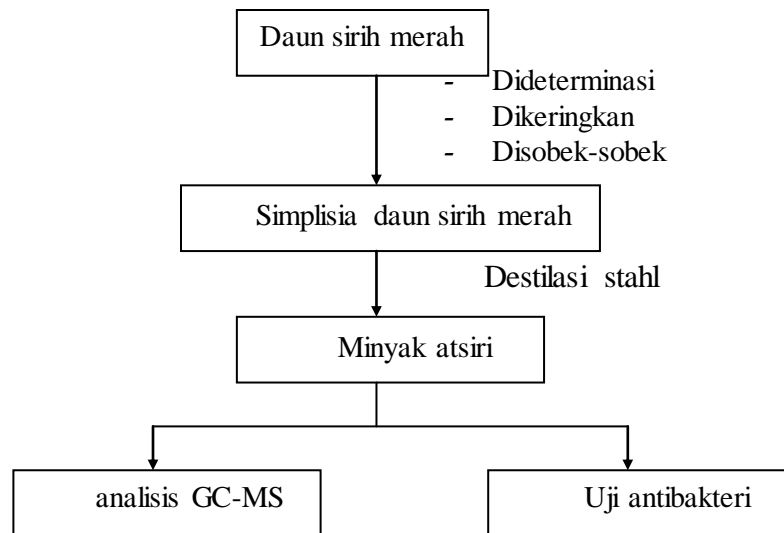
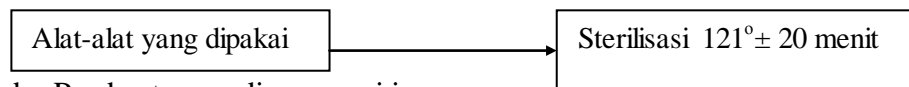
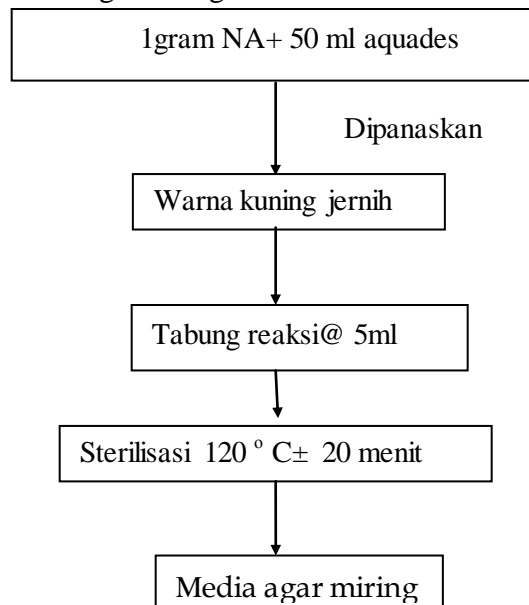


Diagram Uji Antibakteri

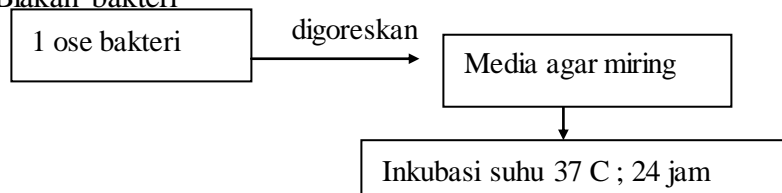
a. Sterilisasi alat



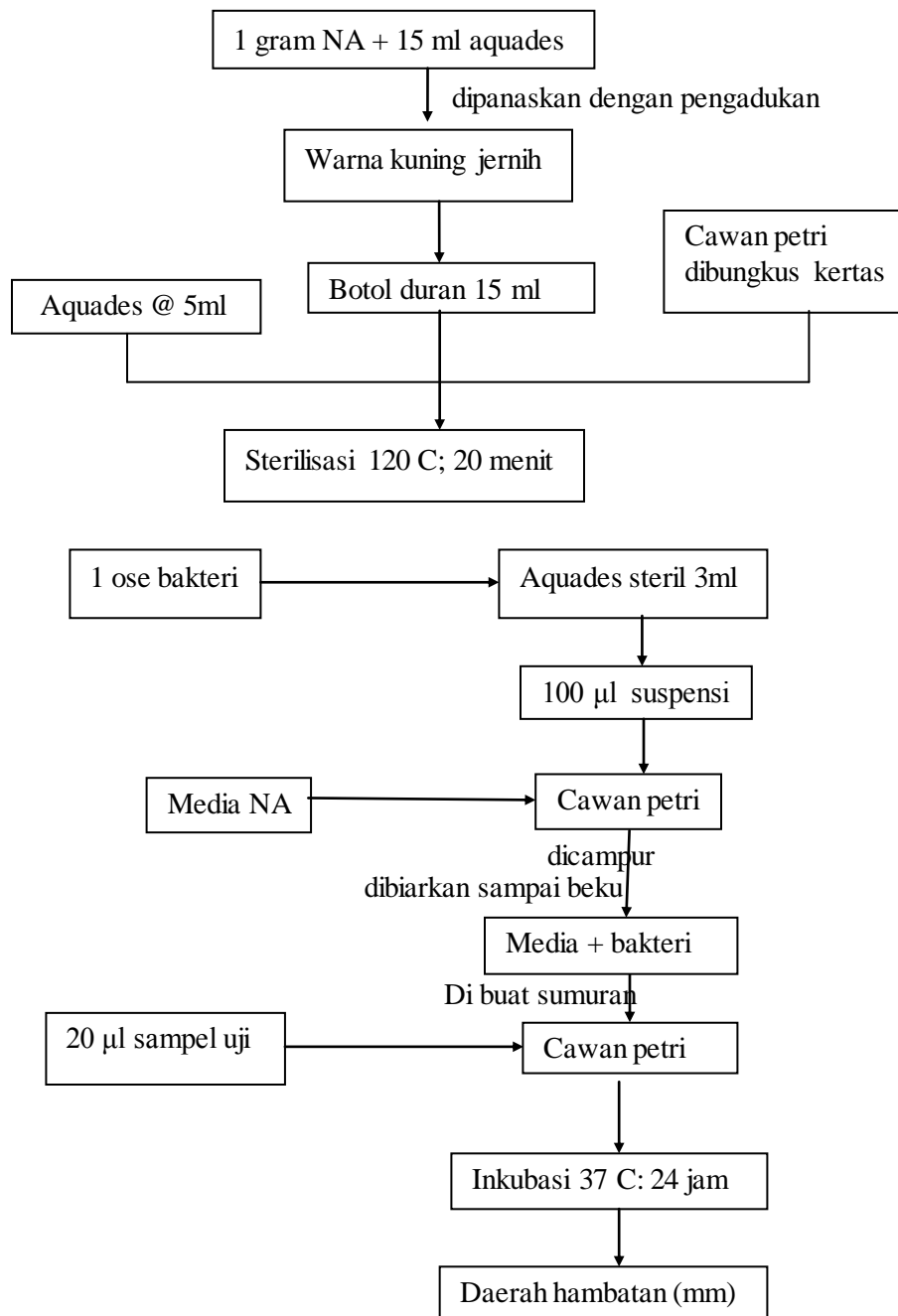
b. Pembuatan media agar miring



c. Biakan bakteri



d. Uji antibakteri



LAMPIRAN 3. Perhitungan kadar minyak atsiri hasil destilasi (v/b)

Berat simplisia daun sirih merah = 915,121 g

Volume minyak atsiri = 6,65 ml

$$\begin{aligned}\text{kadar minyak atsiri} &= \frac{\text{volume minyak atsiri}}{\text{berat simplisia}} \times 100 \\ &= \frac{6,65 \text{ ml}}{915,121 \text{ g}} \times 100 \\ &= 0,727 \% \text{ ml/g} \\ &= 0,727 \% \text{ v/b}\end{aligned}$$

LAMPIRAN 4. Hasil analisis GC – MS

C:\GCMSsolution\Data\November 09\Siti Ngaisah sirih.qgd



Lab Kimia Organik FMIPA - UGM

GCMS-QP2010S SHIMADZU
 Kolom : HP-5MS
 Panjang : 30 meter
 ID : 0.25 mm
 Gas pembawa : Helium
 Pengionan : EI
 70 Ev

Method

[Comment]

===== Analytical Line 1 =====

[GC-2010]

Column Oven Temp. : 60.0 °C
 Injection Temp. : 290.00 °C
 Injection Mode : Split
 Flow Control Mode : Pressure
 Pressure : 10.9 kPa
 Total Flow : 80.0 mL/min
 Column Flow : 0.50 mL/min
 Linear Velocity : 25.8 cm/sec
 Purge Flow : 3.0 mL/min
 Split Ratio : 153.1
 High Pressure Injection : OFF
 Carrier Gas Saver : OFF
 Splitter Hold : OFF

Oven Temp. Program	Rate	Temperature(°C)	Hold Time(min)
-		60.0	5.00
5.0		280.0	11.00

< Ready Check Heat Unit >

Column Oven : Yes
 SPL1 : Yes
 MS : No

< Ready Check Detector(FID) >

< Ready Check Baseline Drift >

< Ready Check Injection Flow >

SPL1 Carrier : Yes
 SPL1 Purge : Yes

< Ready Check APC Flow >

< Ready Check Detector APC Flow >

External Wait : No
 Equilibrium Time : 1.0 min

[GC Program]

[GCMS-QP2010]

IonSourceTemp : 250.00 °C
 Interface Temp. : 300.00 °C
 Solvent Cut Time : 3.20 min
 Detector Gain Mode : Relative
 Detector Gain : 0.00 kV
 Threshold : 0

[MS Table]

Group : 1
 Start Time : 3.40min
 End Time : 60.00min
 ACQ Mode : Scan
 Interval : 0.50sec
 Scan Speed : 1250
 Start m/z : 33.00
 End m/z : 600.00

Sample Inlet Unit : GC

[MS Program]

Use MS Program : OFF

C:\GCMSsolution\Data\November 09\Siti Ngaisah sirih.qgd

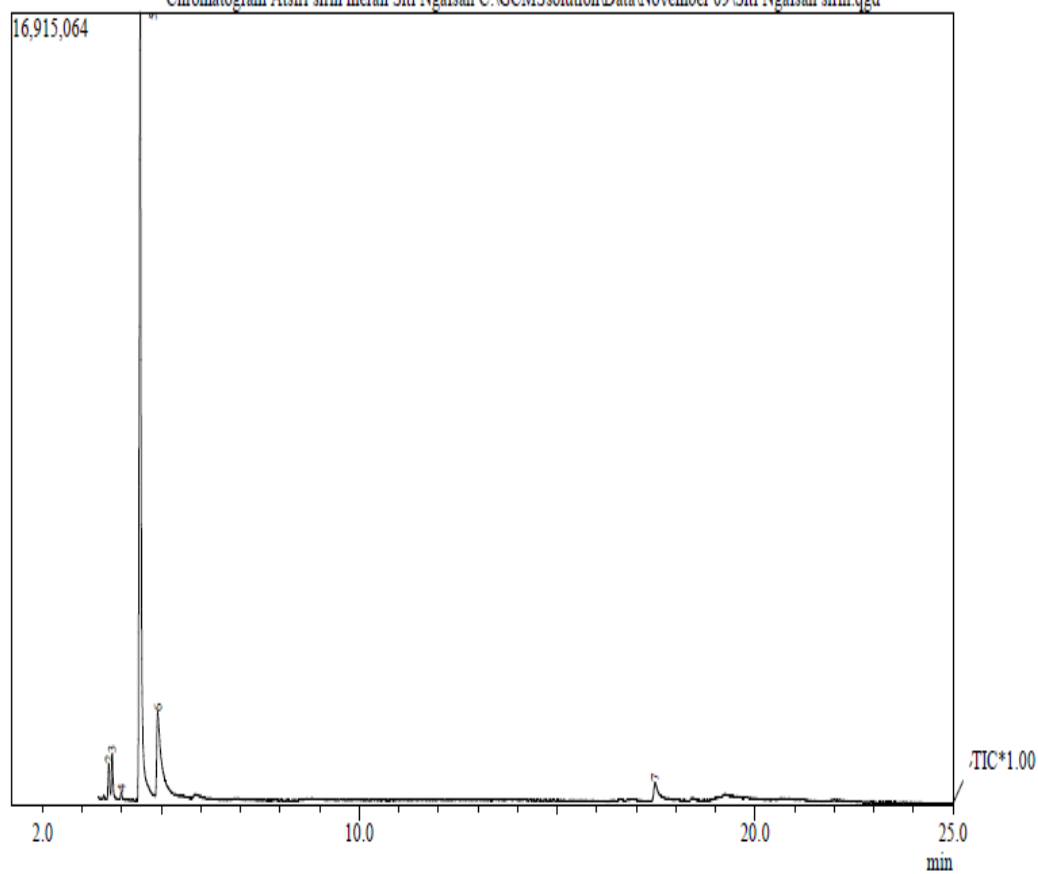


Lab Kimia Organik FMIPA - UGM

Sample Information

Analyzed by : Admin
 Sample Name : Atsiri sirih merah Siti Ngaisah
 Sample ID : 1131
 Data File : C:\GCMSsolution\Data\November 09\Siti Ngaisah sirih.qgd
 Method File : C:\GCMSsolution\Data\November 09\Siti Ngaisah.qgm
 Tuning File : C:\GCMSsolution\System\Tune1\okrober 09.qgt

Chromatogram Atsiri sirih merah Siti Ngaisah C:\GCMSsolution\Data\November 09\Siti Ngaisah sirih.qgd

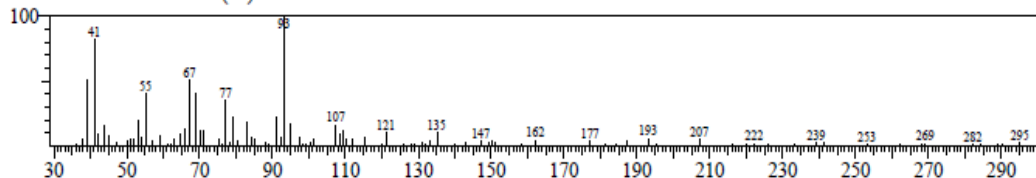


Peak#	R.Time	I.Time	F.Time	Area	Area%	Height
1	3.542	3.517	3.625	162858	0.20	58900
2	3.671	3.625	3.717	1941011	2.42	755281
3	3.756	3.717	3.833	2539222	3.16	971711
4	3.987	3.833	4.050	392118	0.49	144549
5	4.464	4.392	4.767	59986065	74.73	16797573
6	4.908	4.767	5.250	13742278	17.12	1788873
7	17.477	17.408	17.567	1506354	1.88	309042
				80269906	100.00	20825929

Library

<< Target >>

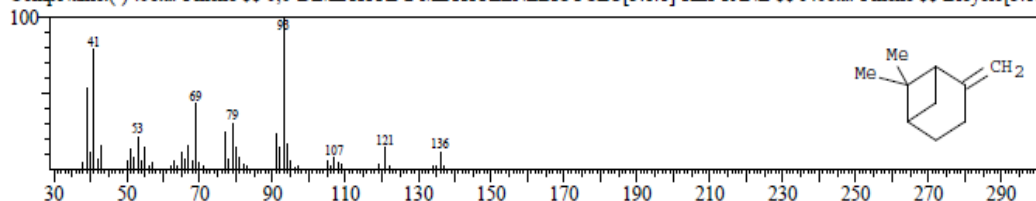
Line#:1 R.Time:3.542(Scan#:18) MassPeaks:91
 RawMode:Single 3.542(18) BasePeak:93.15(8627)
 BG Mode:Peak Start 3.517(15)



Hit#1 Entry:26461 Library:WILEY7.LIB

SI:78 Formula:C10 H16 CAS:18172-67-3 MolWeight:136 RetIndex:0

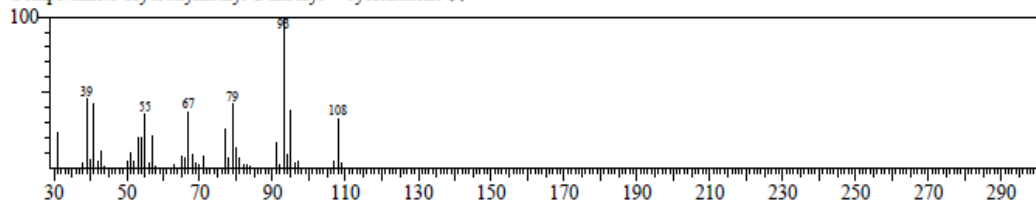
CompName:(-)-beta-Pinene \$\$ 6,6-DIMETHYL-2-METHYLENEBICYCLO[3.1.1]HEPTANE \$\$ 1-beta-Pinene \$\$ Bicyclo[3.1.



Hit#2 Entry:18495 Library:WILEY7.LIB

SI:77 Formula:C8 H14 O CAS:0-0-0 MolWeight:126 RetIndex:0

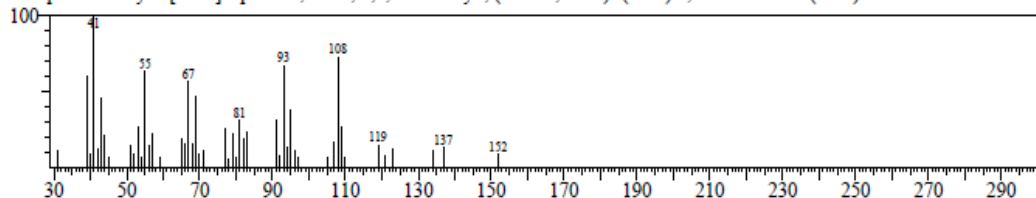
CompName:1-Hydroxymethyl-2-methyl-4-cyclohexene \$\$



Hit#3 Entry:60480 Library:WILEY7.LIB

SI:75 Formula:C10 H18 O2 CAS:10359-41-8 MolWeight:170 RetIndex:0

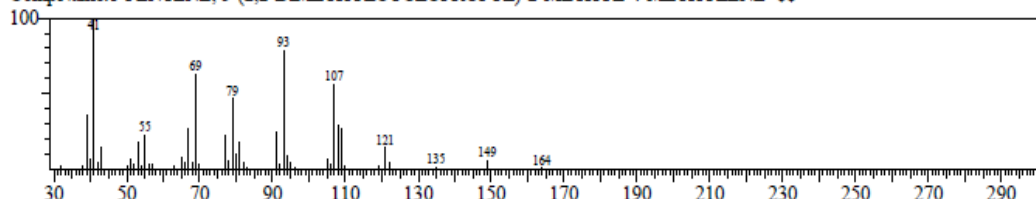
CompName:Bicyclo[2.2.1]heptane-2,5-diol, 1,7,7-trimethyl-, (2-endo,5-exo)- (CAS) 2,5-Bomanediol (CAS)



Hit#4 Entry:53288 Library:WILEY7.LIB

SI:75 Formula:C12 H20 CAS:0-0-0 MolWeight:164 RetIndex:0

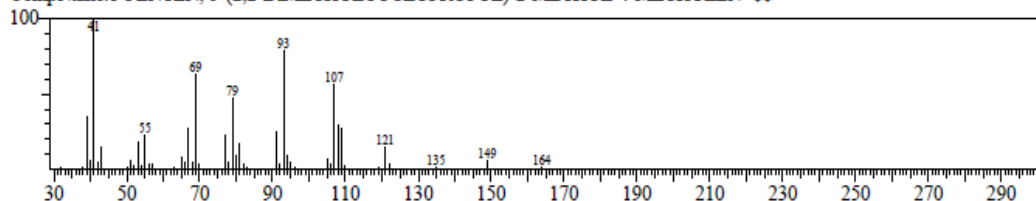
CompName:1-PENTENE, 5-(2,2-DIMETHYLCYCLOPROPYL)-2-METHYL-4-METHYLENE- \$\$



Hit#5 Entry:53353 Library:WILEY7.LIB

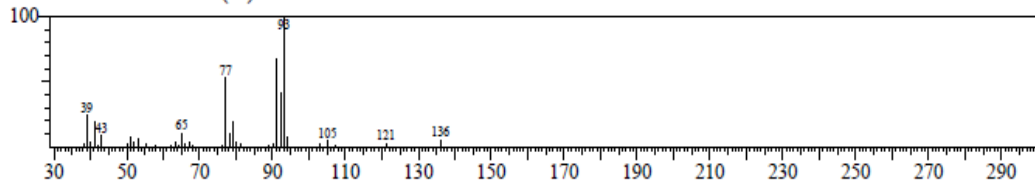
SI:75 Formula:C12 H20 CAS:0-0-0 MolWeight:164 RetIndex:0

CompName:1-PENTEN, 5-(2,2-DIMETHYLCYCLOPROPYL)-2-METHYL-4-METHYLEN- \$\$



<< Target >>

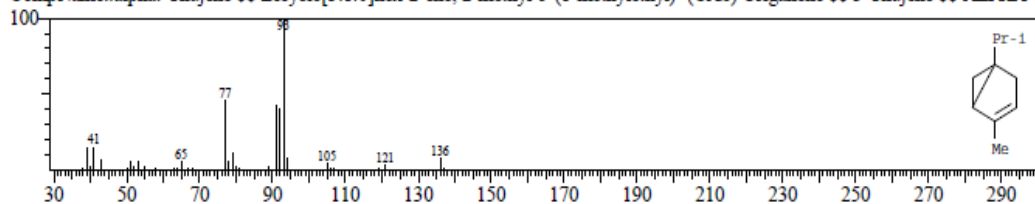
Line#:2 R.Time:3.675(Scan#:34) MassPeaks:36
 RawMode:Single 3.675(34) BasePeak:93.15(171868)
 BG Mode:Peak Start 3.625(28)



Hit#:1 Entry:26413 Library:WILEY7.LIB

SI:93 Formula:C10 H16 CAS:2867-5-2 MolWeight:136 RetIndex:0

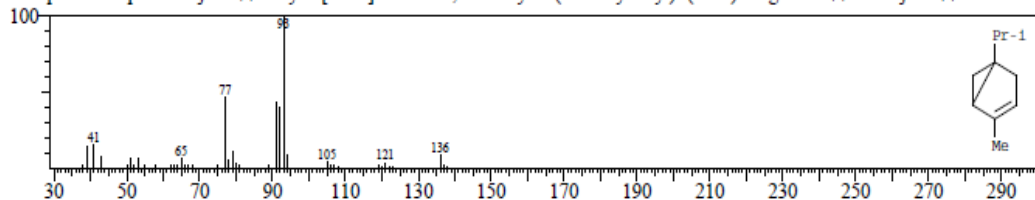
CompName:.alpha.-Thujene \$\$ Bicyclo[3.1.0]hex-2-ene, 2-methyl-5-(1-methylethyl)- (CAS) Origanene \$\$ 3-Thujene \$\$ ALPHA-I



Hit#:2 Entry:26416 Library:WILEY7.LIB

SI:93 Formula:C10 H16 CAS:2867-5-2 MolWeight:136 RetIndex:0

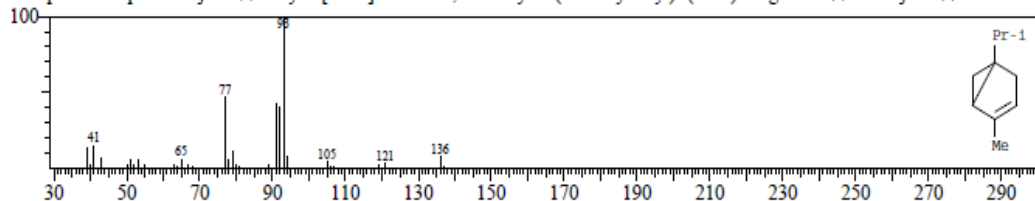
CompName:.alpha.-Thujene \$\$ Bicyclo[3.1.0]hex-2-ene, 2-methyl-5-(1-methylethyl)- (CAS) Origanene \$\$ 3-Thujene \$\$ ALPHA-I



Hit#:3 Entry:26415 Library:WILEY7.LIB

SI:92 Formula:C10 H16 CAS:2867-5-2 MolWeight:136 RetIndex:0

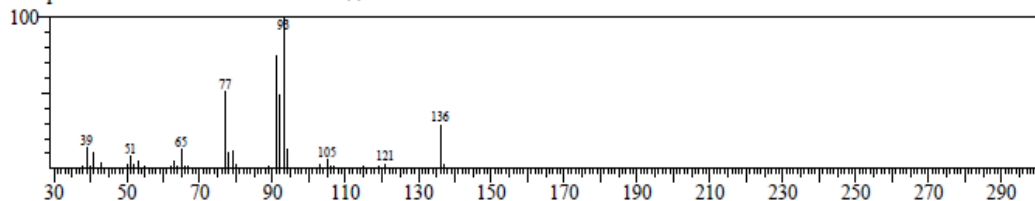
CompName:.alpha.-Thujene \$\$ Bicyclo[3.1.0]hex-2-ene, 2-methyl-5-(1-methylethyl)- (CAS) Origanene \$\$ 3-Thujene \$\$ ALPHA-I



Hit#:4 Entry:25509 Library:WILEY7.LIB

SI:92 Formula:C10 H16 CAS:1529-99-3 MolWeight:136 RetIndex:0

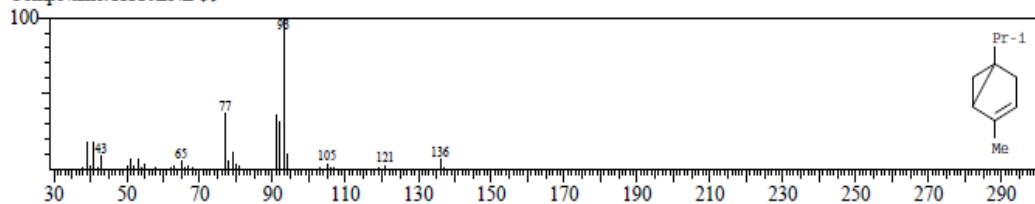
CompName:.ALPHA. PHELLANDRENE \$\$



Hit#:5 Entry:25470 Library:WILEY7.LIB

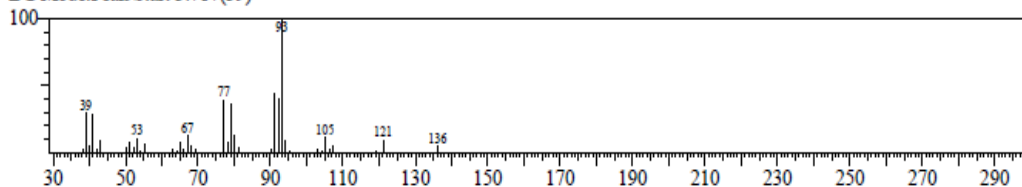
SI:92 Formula:C10 H16 CAS:2867-5-2 MolWeight:136 RetIndex:0

CompName:THUJENE \$\$



<< Target >>

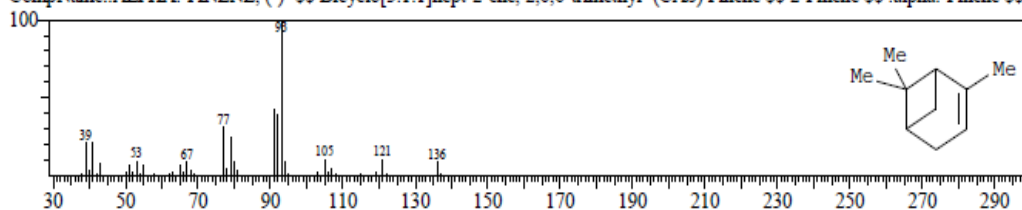
Line#:3 R.Time:3.758(Scan#:44) MassPeaks:38
 RawMode:Single 3.758(44) BasePeak:93.15(179294)
 BG Mode:Peak Start 3.717(39)



Hit#1 Entry:26444 Library:WILEY7.LIB

SI:95 Formula:C10 H16 CAS:80-56-8 MolWeight:136 RefIndex:0

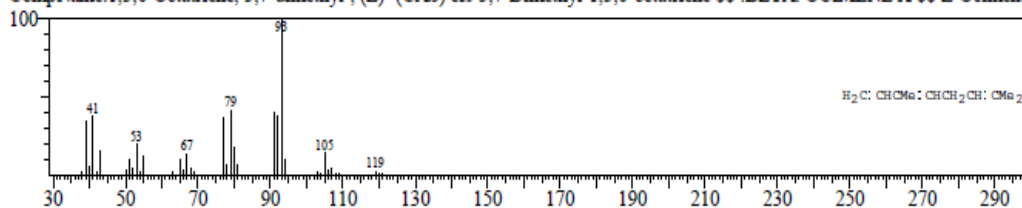
CompName:ALPHA.-PINENE, (-)- \$\$ Bicyclo[5.1.1]hept-2-ene, 2,6,6-trimethyl- (CAS) Pinene \$\$ 2-Pinene \$\$.alpha.-Pinene \$\$ 2



Hit#2 Entry:26152 Library:WILEY7.LIB

SI:95 Formula:C10 H16 CAS:3338-55-4 MolWeight:136 RefIndex:0

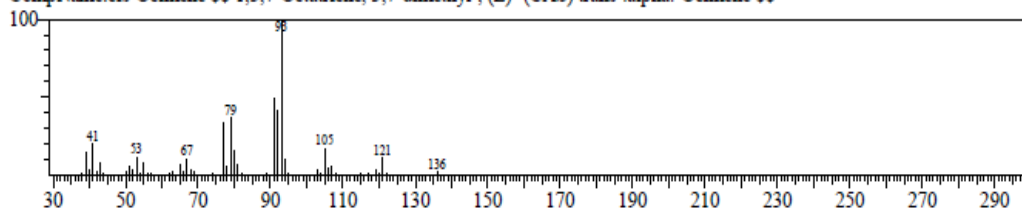
CompName:1,3,6-Octatriene, 3,7-dimethyl-, (Z)- (CAS) cis-3,7-Dimethyl-1,3,6-octatriene \$\$.BETA. OCIMENE X \$\$ Z-OCimene



Hit#3 Entry:26174 Library:WILEY7.LIB

SI:94 Formula:C10 H16 CAS:6874-10-8 MolWeight:136 RefIndex:0

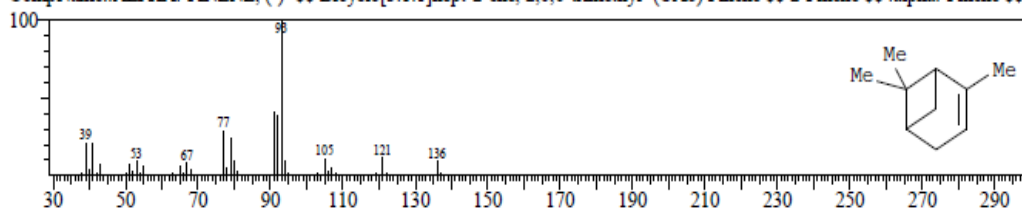
CompName:cis-OCimene \$\$ 1,3,7-Octatriene, 3,7-dimethyl-, (E)- (CAS) trans-.alpha.-Ocimene \$\$



Hit#4 Entry:26447 Library:WILEY7.LIB

SI:94 Formula:C10 H16 CAS:80-56-8 MolWeight:136 RefIndex:0

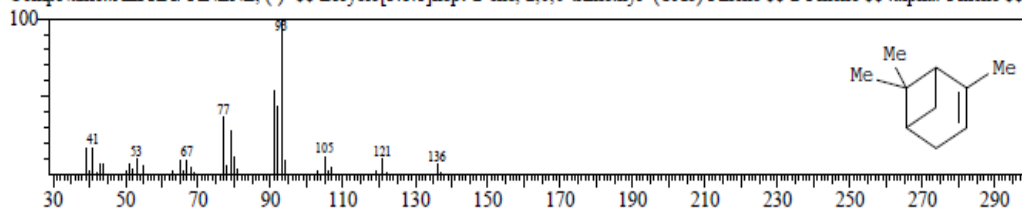
CompName:ALPHA.-PINENE, (-)- \$\$ Bicyclo[5.1.1]hept-2-ene, 2,6,6-trimethyl- (CAS) Pinene \$\$ 2-Pinene \$\$.alpha.-Pinene \$\$ 2



Hit#5 Entry:26449 Library:WILEY7.LIB

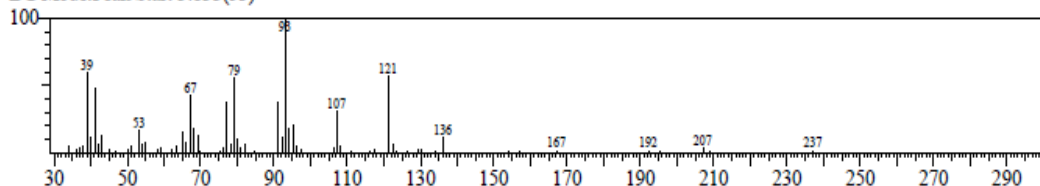
SI:94 Formula:C10 H16 CAS:80-56-8 MolWeight:136 RefIndex:0

CompName:ALPHA.-PINENE, (-)- \$\$ Bicyclo[5.1.1]hept-2-ene, 2,6,6-trimethyl- (CAS) Pinene \$\$ 2-Pinene \$\$.alpha.-Pinene \$\$ 2



<< Target >>

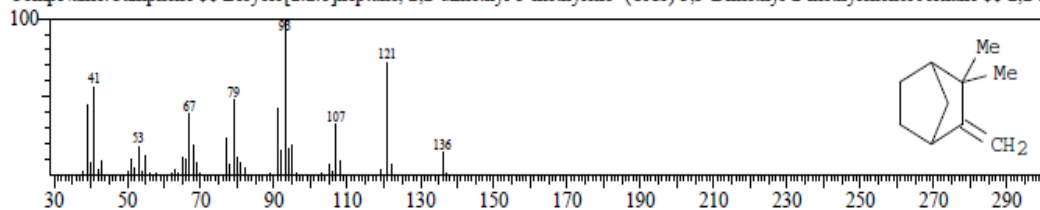
Line#:4 R.Time:3.983(Scan#:71) MassPeaks:64
 RawMode:Single 3.983(71) BasePeak:93.10(18115)
 BG Mode:Peak Start 3.833(53)



Hit#:1 Entry:26395 Library:WILEY7.LIB

SI:92 Formula:C10 H16 CAS:79-92-5 MolWeight:136 RetIndex:0

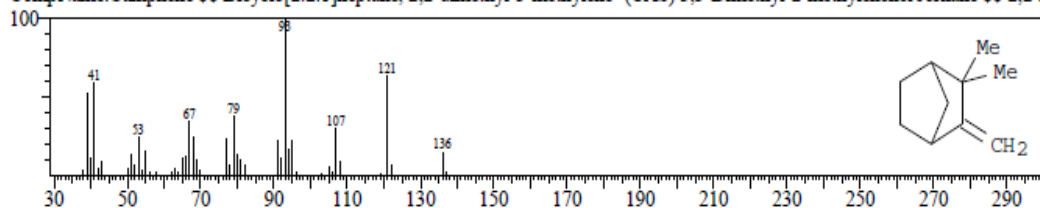
CompName:Camphene \$\$ Bicyclo[2.2.1]heptane, 2,2-dimethyl-3-methylene- (CAS) 3,3-Dimethyl-2-methylenenorbornane \$\$ 2,2-I



Hit#:2 Entry:26392 Library:WILEY7.LIB

SI:90 Formula:C10 H16 CAS:79-92-5 MolWeight:136 RetIndex:0

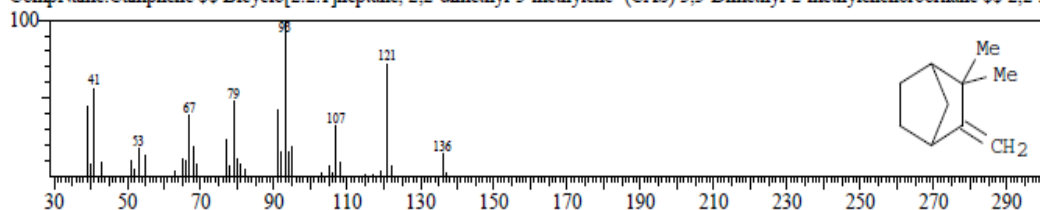
CompName:Camphene \$\$ Bicyclo[2.2.1]heptane, 2,2-dimethyl-3-methylene- (CAS) 3,3-Dimethyl-2-methylenenorbornane \$\$ 2,2-I



Hit#:3 Entry:26398 Library:WILEY7.LIB

SI:90 Formula:C10 H16 CAS:79-92-5 MolWeight:136 RetIndex:0

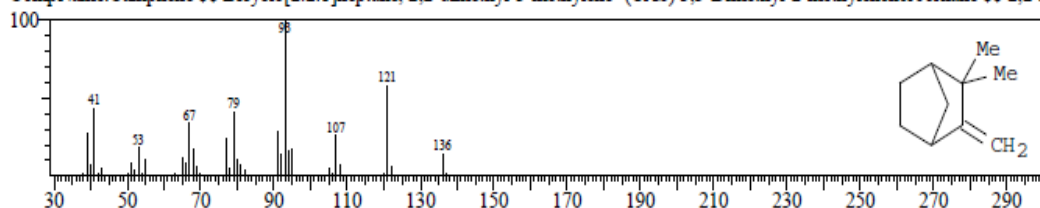
CompName:Camphene \$\$ Bicyclo[2.2.1]heptane, 2,2-dimethyl-3-methylene- (CAS) 3,3-Dimethyl-2-methylenenorbornane \$\$ 2,2-I



Hit#:4 Entry:26400 Library:WILEY7.LIB

SI:90 Formula:C10 H16 CAS:79-92-5 MolWeight:136 RetIndex:0

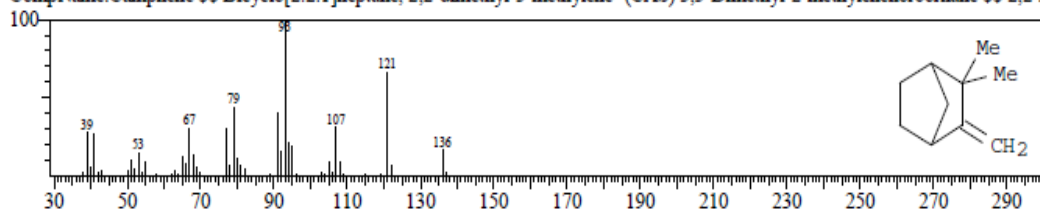
CompName:Camphene \$\$ Bicyclo[2.2.1]heptane, 2,2-dimethyl-3-methylene- (CAS) 3,3-Dimethyl-2-methylenenorbornane \$\$ 2,2-I



Hit#:5 Entry:26393 Library:WILEY7.LIB

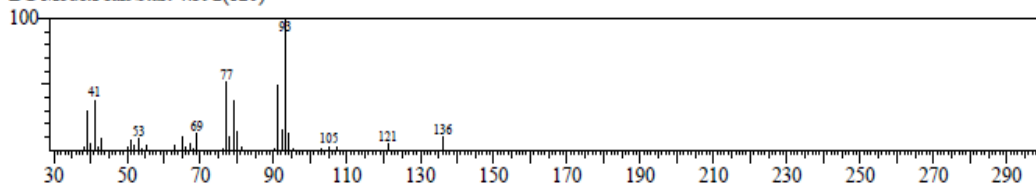
SI:89 Formula:C10 H16 CAS:79-92-5 MolWeight:136 RetIndex:0

CompName:Camphene \$\$ Bicyclo[2.2.1]heptane, 2,2-dimethyl-3-methylene- (CAS) 3,3-Dimethyl-2-methylenenorbornane \$\$ 2,2-I



<< Target >>

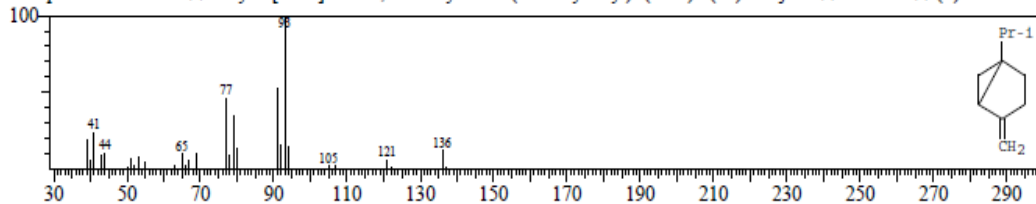
Line#:5 R.Time:4.467(Scan#:129) MassPeaks:35
 RawMode:Single 4.467(129) BasePeak:93.15(3549017)
 BG Mode:Peak Start 4.392(120)



Hit#1 Entry:26432 Library:WILEY7.LIB

SI:94 Formula:C10 H16 CAS:3387-41-5 MolWeight:136 RetIndex:0

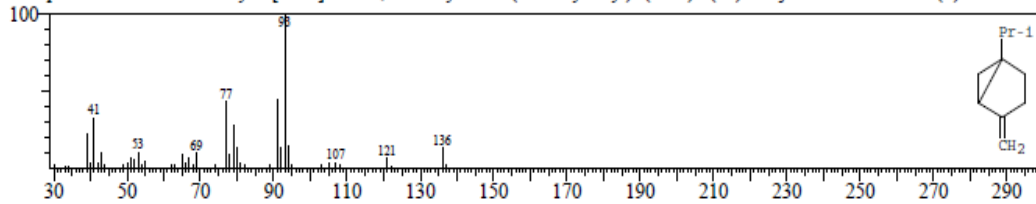
CompName:Sabinene \$\$ Bicyclo[3.1.0]hexane, 4-methylene-1-(1-methylethyl)- (CAS) 4(10)-Thujene \$\$ Sabinen \$\$ (+)-Sabinene !



Hit#2 Entry:26430 Library:WILEY7.LIB

SI:94 Formula:C10 H16 CAS:3387-41-5 MolWeight:136 RetIndex:0

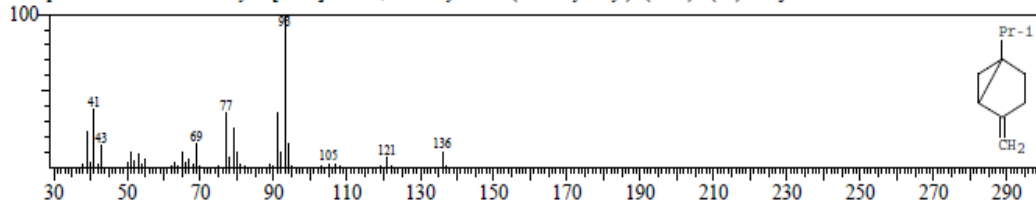
CompName:Sabinene \$\$ Bicyclo[3.1.0]hexane, 4-methylene-1-(1-methylethyl)- (CAS) 4(10)-Thujene \$\$ Sabinen \$\$ (+)-Sabinene !



Hit#3 Entry:26423 Library:WILEY7.LIB

SI:94 Formula:C10 H16 CAS:3387-41-5 MolWeight:136 RetIndex:0

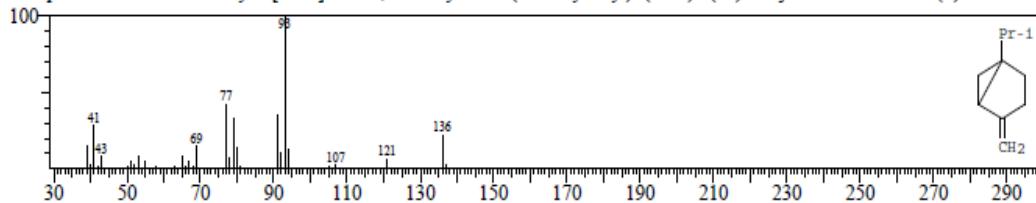
CompName:Sabinene \$\$ Bicyclo[3.1.0]hexane, 4-methylene-1-(1-methylethyl)- (CAS) 4(10)-Thujene \$\$ Sabinen \$\$



Hit#4 Entry:26425 Library:WILEY7.LIB

SI:94 Formula:C10 H16 CAS:3387-41-5 MolWeight:136 RetIndex:0

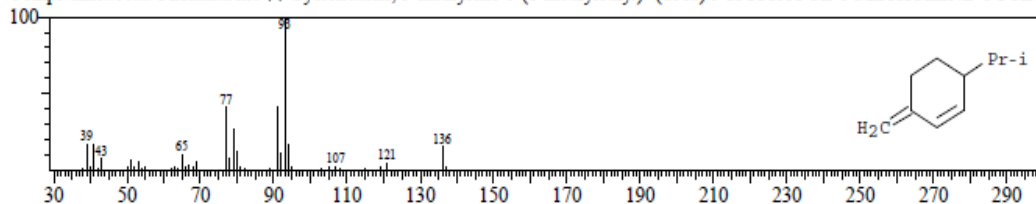
CompName:Sabinene \$\$ Bicyclo[3.1.0]hexane, 4-methylene-1-(1-methylethyl)- (CAS) 4(10)-Thujene \$\$ Sabinen \$\$ (+)-Sabinene !



Hit#5 Entry:26356 Library:WILEY7.LIB

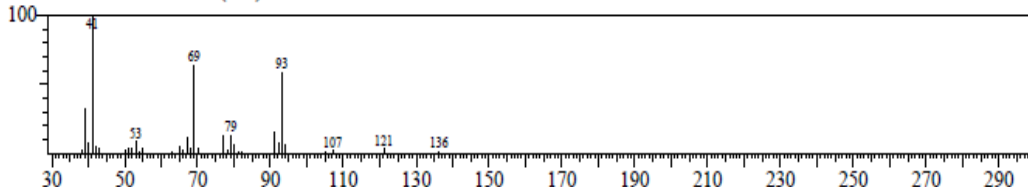
SI:93 Formula:C10 H16 CAS:555-10-2 MolWeight:136 RetIndex:0

CompName:.beta.-Phellandrene \$\$ Cyclohexene, 5-methylene-6-(1-methylethyl)- (CAS) 3-ISOPROPYL-6-METHYLENE-CYCLO

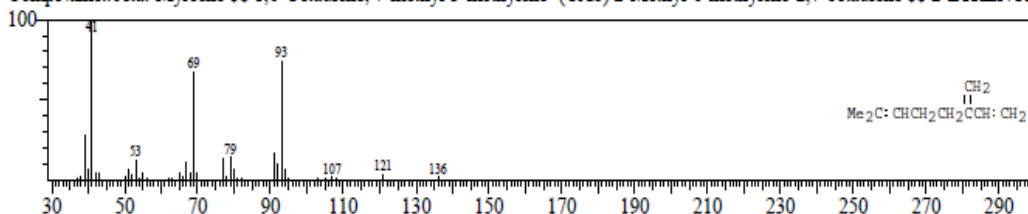


<< Target >>

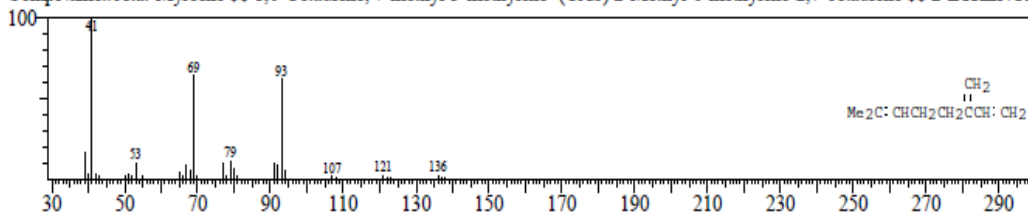
Line#:6 R.Time:4.908(Scan#:182) MassPeaks:33
 RawMode:Single 4.908(182) BasePeak:41.05(438111)
 BG Mode:Peak Start 4.767(165)



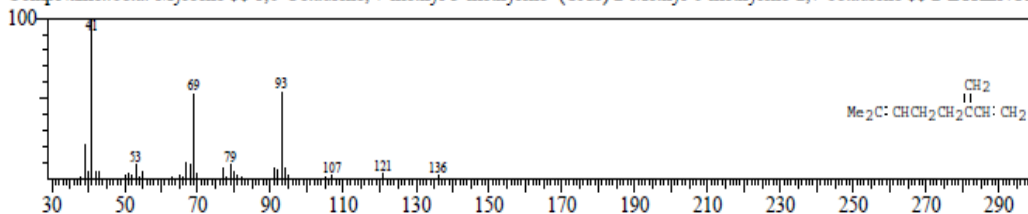
Hit#1 Entry:26199 Library:WILEY7.LIB
 SE97 Formula:C10 H16 CAS:123-35-3 MolWeight:136 RetIndex:0
 CompName:.beta.-Myrcene \$\$ 1,6-Octadiene, 7-methyl-3-methylene- (CAS) 2-Methyl-6-methylene-2,7-octadiene \$\$ 2-ETHENYL



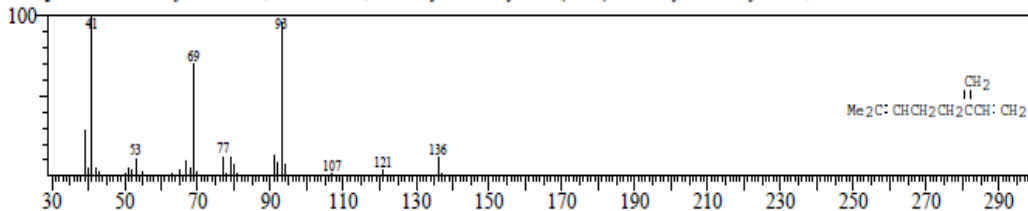
Hit#2 Entry:26205 Library:WILEY7.LIB
 SE95 Formula:C10 H16 CAS:123-35-3 MolWeight:136 RetIndex:0
 CompName:.beta.-Myrcene \$\$ 1,6-Octadiene, 7-methyl-3-methylene- (CAS) 2-Methyl-6-methylene-2,7-octadiene \$\$ 2-ETHENYL



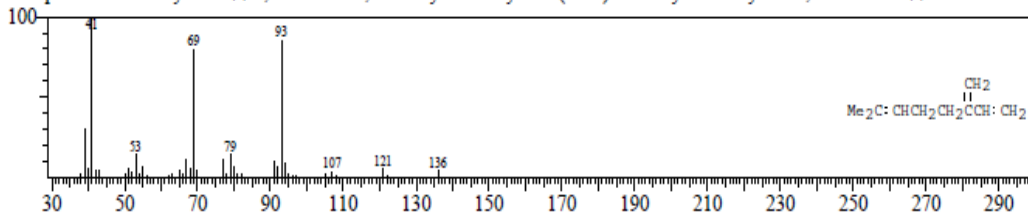
Hit#3 Entry:26197 Library:WILEY7.LIB
 SE95 Formula:C10 H16 CAS:123-35-3 MolWeight:136 RetIndex:0
 CompName:.beta.-Myrcene \$\$ 1,6-Octadiene, 7-methyl-3-methylene- (CAS) 2-Methyl-6-methylene-2,7-octadiene \$\$ 2-ETHENYL



Hit#4 Entry:26203 Library:WILEY7.LIB
 SE94 Formula:C10 H16 CAS:123-35-3 MolWeight:136 RetIndex:0
 CompName:.beta.-Myrcene \$\$ 1,6-Octadiene, 7-methyl-3-methylene- (CAS) 2-Methyl-6-methylene-2,7-octadiene \$\$ 2-ETHENYL

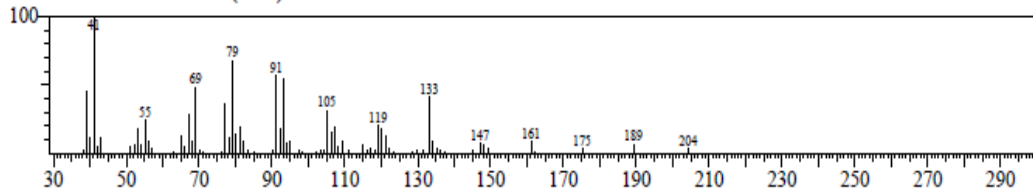


Hit#5 Entry:26194 Library:WILEY7.LIB
 SE94 Formula:C10 H16 CAS:123-35-3 MolWeight:136 RetIndex:0
 CompName:.beta.-Myrcene \$\$ 1,6-Octadiene, 7-methyl-3-methylene- (CAS) 2-Methyl-6-methylene-2,7-octadiene \$\$ 2-ETHENYL



<< Target >>

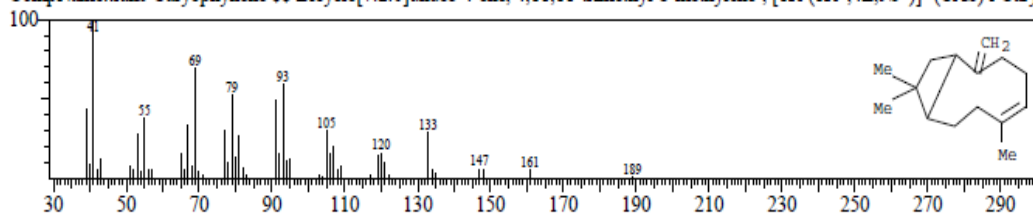
Line#: 7 R.Time:17.475(Scan#:1690) MassPeaks:73
 RawMode:Single 17.475(1690) BasePeak:41.05(40443)
 BG Mode:Peak Start 17.408(1682)



Hit#1 Entry:100789 Library:WILEY7 LIB

SI:94 Formula:C15 H24 CAS:87-44-5 MolWeight:204 RefIndex:0

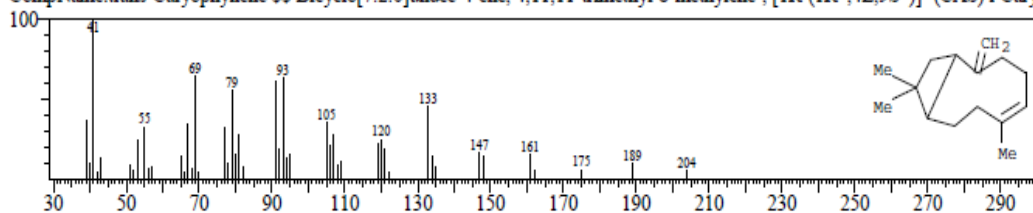
CompName:trans-Caryophyllene \$\$ Bicyclo[7.2.0]undec-4-ene, 4,11,11-trimethyl-8-methylene-, [1R-(1R*,4E,9S*)]- (CAS) 1-Cary



Hit#2 Entry:100788 Library:WILEY7 LIB

SI:93 Formula:C15 H24 CAS:87-44-5 MolWeight:204 RefIndex:0

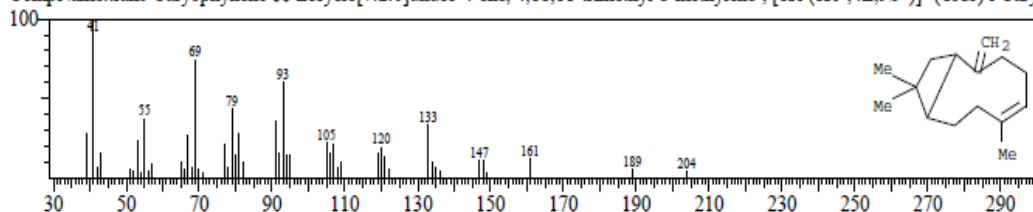
CompName:trans-Caryophyllene \$\$ Bicyclo[7.2.0]undec-4-ene, 4,11,11-trimethyl-8-methylene-, [1R-(1R*,4E,9S*)]- (CAS) 1-Cary



Hit#3 Entry:100786 Library:WILEY7 LIB

SI:91 Formula:C15 H24 CAS:87-44-5 MolWeight:204 RefIndex:0

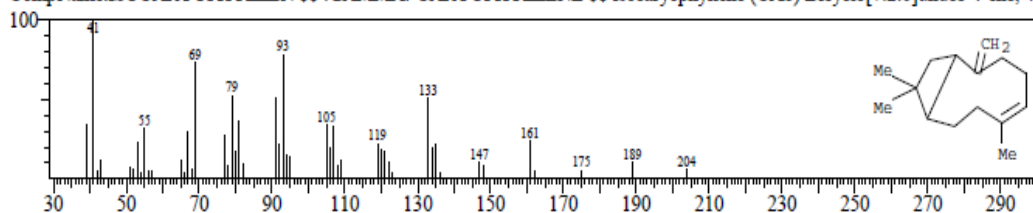
CompName:trans-Caryophyllene \$\$ Bicyclo[7.2.0]undec-4-ene, 4,11,11-trimethyl-8-methylene-, [1R-(1R*,4E,9S*)]- (CAS) 1-Cary



Hit#4 Entry:100799 Library:WILEY7 LIB

SI:91 Formula:C15 H24 CAS:118-65-0 MolWeight:204 RefIndex:0

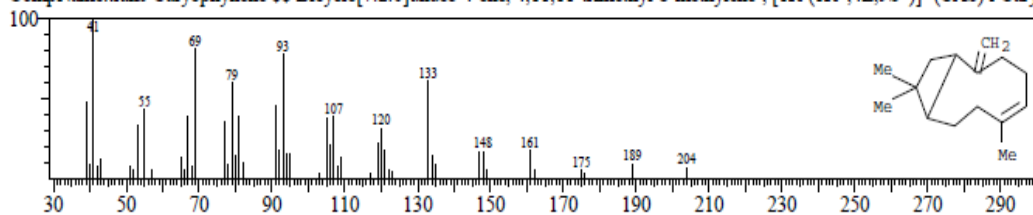
CompName:ISOCARYOPHYLLEN \$\$.GAMMA.-CARYOPHYLLENE \$\$ isocaryophyllene (CAS) Bicyclo[7.2.0]undec-4-ene, 4,



Hit#5 Entry:100792 Library:WILEY7 LIB

SI:91 Formula:C15 H24 CAS:87-44-5 MolWeight:204 RefIndex:0

CompName:trans-Caryophyllene \$\$ Bicyclo[7.2.0]undec-4-ene, 4,11,11-trimethyl-8-methylene-, [1R-(1R*,4E,9S*)]- (CAS) 1-Cary



LAMPIRAN 5. Perhitungan Konversi Satuan ppm ke % (b/v)

$$X = \frac{Y}{10^6} \times 100\%$$

Keterangan : X = konsentrasi dalam % = g/100 ml
Y = konsentrasi dalam ppm

$$\begin{aligned} 1 \text{ ppm amoksisilin} &= \text{mg/L} = 10^{-3} \text{ g/1000 ml} \\ &= 10^{-4} \text{ g/100ml} \\ &= 10^{-4} \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{a). } 15 \text{ ppm amoksisilin} &= 15 \text{ mg/L} = 15 \times 10^{-3} \text{ g/1000 ml} \\ &= 15 \times 10^{-4} \text{ g/100 ml} \\ &= 15 \times 10^{-4} \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{b). } 12,5 \text{ ppm amoksisilin} &= 12,5 \text{ mg/L} = 12,5 \times 10^{-3} \text{ g/1000 ml} \\ &= 12,5 \times 10^{-4} \text{ g/100 ml} \\ &= 12,5 \times 10^{-4} \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{c). } 10 \text{ ppm amoksisilin} &= 10 \text{ mg/L} = 10 \times 10^{-3} \text{ g/1000 ml} \\ &= 10 \times 10^{-4} \text{ g/100 ml} \\ &= 10 \times 10^{-4} \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{d). } 7,5 \text{ ppm amoksisilin} &= 7,5 \text{ mg/L} = 7,5 \times 10^{-3} \text{ g/1000 ml} \\ &= 7,5 \times 10^{-4} \text{ g/100 ml} \\ &= 7,5 \times 10^{-4} \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{e). } 5 \text{ ppm amoksisilin} &= 5 \text{ mg/L} = 5 \times 10^{-3} \text{ g/1000 ml} \\ &= 5 \times 10^{-4} \text{ g/100 ml} \\ &= 5 \times 10^{-4} \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{f). } 2,5 \text{ ppm amoksisilin:} &= 2,5 \text{ mg/L} = 2,5 \times 10^{-3} \text{ g/1000 ml} \\ &= 2,5 \times 10^{-4} \text{ g/100 ml} \\ &= 2,5 \times 10^{-4} \% \end{aligned}$$

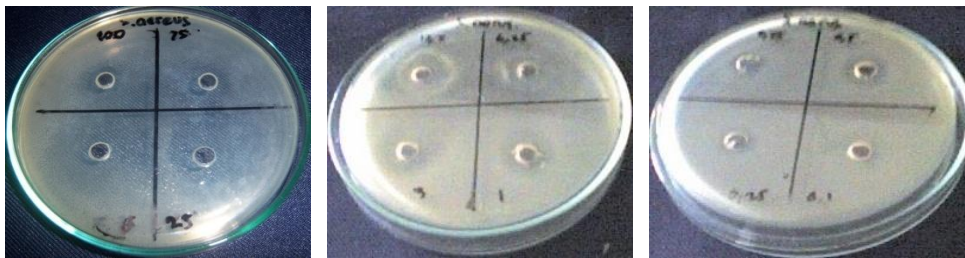
LAMPIRAN 6. GAMBAR HASIL UJI ANTIBAKTERI MINYAK ATSIRI
DAUN SIRIH MERAH.

1. GAMBAR HASIL UJI ANTIBAKTERI PENENTUAN KHM

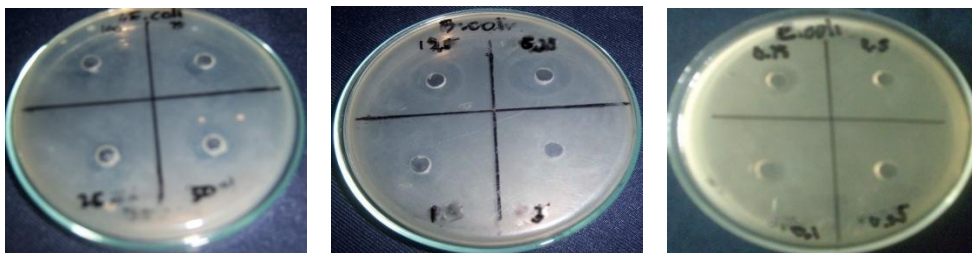
a. Gambar Hasil Uji Antibakteri Minyak Atsiri Sirih Merah Terhadap *B. cereus*



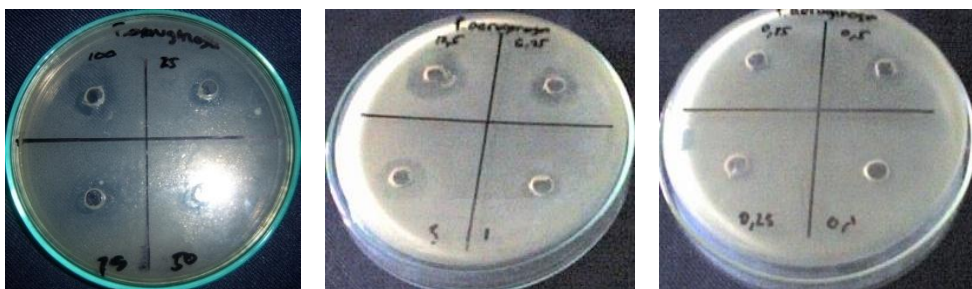
b. Gambar Hasil Uji Antibakteri Minyak Atsiri Sirih Merah Terhadap *S. Aureus*



c. Gambar Hasil Uji Antibakteri Minyak Atsiri Sirih Merah Terhadap *E. Coli*

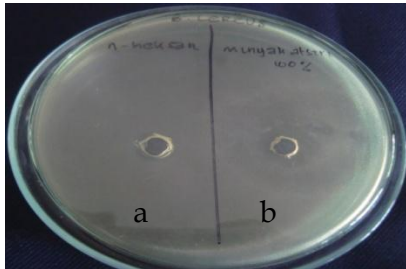


d. Gambar Hasil Uji Antibakteri Minyak Atsiri Sirih Merah Terhadap
P.aeruginosa

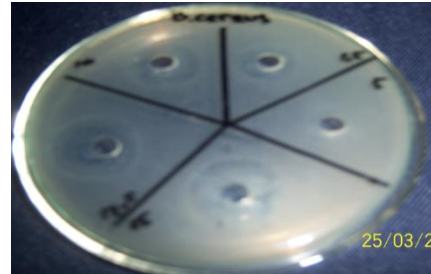


2. GAMBAR HASIL UJI ANTIBAKTERI KONTROL NEGATIF (N-HEKSAN) DAN KONTROL POSITIF (AMOKSISILIN)

- a. Hasil Uji Antibakteri Kontrol Negatif dan Kontrol Positif terhadap *B. cereus*

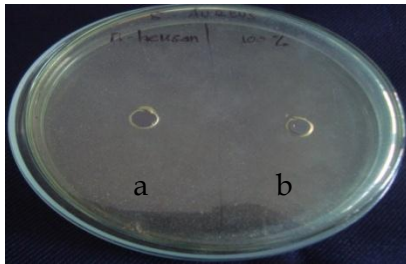


Kontrol negatif (n-heksan) (a)

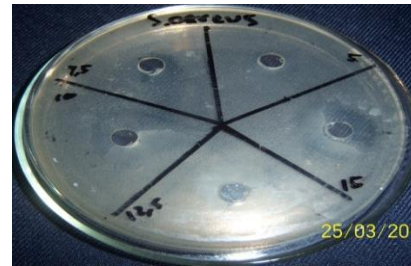


kontrol positif (amoksisilin)

- b. Hasil Uji Antibakteri Kontrol Negatif dan Kontrol Positif terhadap *S. aureus*

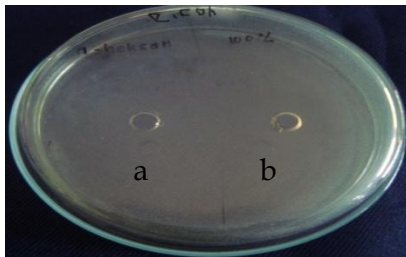


Kontrol negatif (n-heksan) (a)

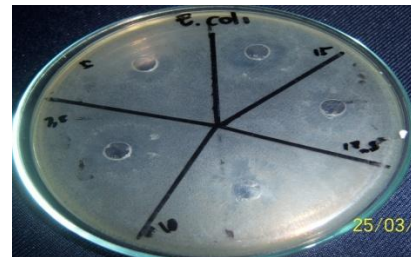


kontrol positif (amoksisilin)

- c. Hasil Uji Antibakteri Kontrol Negatif dan Kontrol Positif terhadap *E. coli*

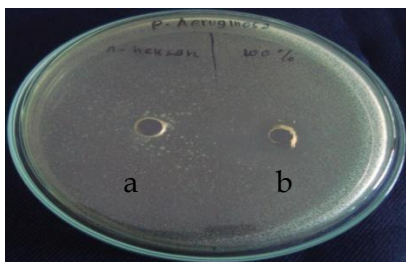


Kontrol negatif (n-heksan) (a)

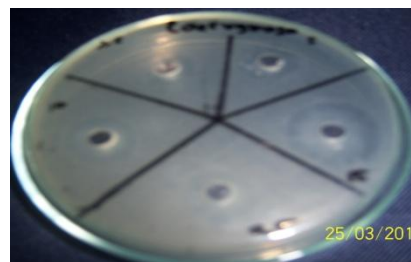


kontrol positif (amoksisilin)

- d. Hasil Uji Antibakteri Kontrol Negatif dan Kontrol Positif terhadap *P. aeruginosa*



Kontrol negatif (n-heksan) (a)



kontrol positif (amoksisilin)

LAMPIRAN 7. Perhitungan Analisis One-Way Anova Pengaruh Variasi Bakteri Minyak Atsiri Daun Sirih Merah Konsentrasi 100% - 25% pada Masing – masing Bakteri.

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Low er Bound	Upper Bound		
konsentrasi 100%	B.cereus	3	13,6933	,21008	,12129	13,1715	14,2152	13,48	13,90
	S.aereus	3	17,7600	,22913	,13229	17,1908	18,3292	17,51	17,96
	E.coli	3	19,5633	,80649	,46563	17,5599	21,5668	19,02	20,49
	P.aeruginosa	3	15,4200	1,58786	,91675	11,4755	19,3645	14,01	17,14
	Total	12	16,6092	2,45764	,70946	15,0477	18,1707	13,48	20,49
konsentrasi 75%	B.cereus	3	12,5433	,38371	,22154	11,5901	13,4965	12,11	12,84
	S.aereus	3	17,0333	,07767	,04485	16,8404	17,2263	16,97	17,12
	E.coli	3	17,6800	,22068	,12741	17,1318	18,2282	17,47	17,91
	P.aeruginosa	3	14,8333	1,18277	,68287	11,8952	17,7715	13,54	15,86
	Total	12	15,5225	2,17559	,62804	14,1402	16,9048	12,11	17,91
konsentrasi 50%	B.cereus	3	12,1633	,16503	,09528	11,7534	12,5733	11,98	12,30
	S.aereus	3	16,3900	,15395	,08888	16,0076	16,7724	16,22	16,52
	E.coli	3	12,6033	,57761	,33348	11,1685	14,0382	12,06	13,21
	P.aeruginosa	3	14,3933	,11590	,06692	14,1054	14,6813	14,26	14,47
	Total	12	13,8875	1,76369	,50913	12,7669	15,0081	11,98	16,52
konsentrasi 25%	B.cereus	3	11,0467	,05859	,03383	10,9011	11,1922	10,98	11,09
	S.aereus	3	15,0500	,10149	,05859	14,7979	15,3021	14,96	15,16
	E.coli	3	10,1133	,11504	,06642	9,8276	10,3991	10,00	10,23
	P.aeruginosa	3	12,1867	,15631	,09025	11,7984	12,5750	12,02	12,33
	Total	12	12,0992	1,94005	,56005	10,8665	13,3318	10,00	15,16

Multiple Comparisons

LSD

Dependent Variable	(I) bakteri	(J) bakteri	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
konsentrasi 100%	B.cereus	S.aereus	-4,0667(*)	,73806	,001	-5,7686	-2,3647
		E.coli	-5,8700(*)	,73806	,000	-7,5720	-4,1680
		P.aeruginosa	-1,7267(*)	,73806	,047	-3,4286	-,0247
	S.aereus	B.cereus	4,0667(*)	,73806	,001	2,3647	5,7686
		E.coli	-1,8033(*)	,73806	,040	-3,5053	-,1014
		P.aeruginosa	2,3400(*)	,73806	,013	,6380	4,0420
	E.coli	B.cereus	5,8700(*)	,73806	,000	4,1680	7,5720
		S.aereus	1,8033(*)	,73806	,040	,1014	3,5053
		P.aeruginosa	4,1433(*)	,73806	,001	2,4414	5,8453
	P.aeruginosa	B.cereus	1,7267(*)	,73806	,047	,0247	3,4286

konsentrasi 75%	B.cereus	S.aereus	-2,3400(*)	,73806	,013	-4,0420	-,6380	
		E.coli	-4,1433(*)	,73806	,001	-5,8453	-2,4414	
		S.aereus	-4,4900(*)	,51654	,000	-5,6812	-3,2988	
	S.aereus	E.coli	-5,1367(*)	,51654	,000	-6,3278	-3,9455	
		P.aeruginosa	-2,2900(*)	,51654	,002	-3,4812	-1,0988	
		B.cereus	4,4900(*)	,51654	,000	3,2988	5,6812	
	E.coli	E.coli	-,6467	,51654	,246	-1,8378	,5445	
		P.aeruginosa	2,2000(*)	,51654	,003	1,0088	3,3912	
		B.cereus	5,1367(*)	,51654	,000	3,9455	6,3278	
	P.aeruginosa	S.aereus	,6467	,51654	,246	-,5445	1,8378	
		P.aeruginosa	2,8467(*)	,51654	,001	1,6555	4,0378	
		B.cereus	2,2900(*)	,51654	,002	1,0988	3,4812	
	konsentrasi 50%	B.cereus	S.aereus	-2,2000(*)	,51654	,003	-3,3912	-1,0088
			E.coli	-2,8467(*)	,51654	,001	-4,0378	-1,6555
			S.aereus	-4,2267(*)	,25755	,000	-4,8206	-3,6327
S.aereus		E.coli	-,4400	,25755	,126	-1,0339	,1539	
		P.aeruginosa	-2,2300(*)	,25755	,000	-2,8239	-1,6361	
		B.cereus	4,2267(*)	,25755	,000	3,6327	4,8206	
E.coli		E.coli	3,7867(*)	,25755	,000	3,1927	4,3806	
		P.aeruginosa	1,9967(*)	,25755	,000	1,4027	2,5906	
		B.cereus	,4400	,25755	,126	-,1539	1,0339	
P.aeruginosa		S.aereus	-3,7867(*)	,25755	,000	-4,3806	-3,1927	
		P.aeruginosa	-1,7900(*)	,25755	,000	-2,3839	-1,1961	
		B.cereus	2,2300(*)	,25755	,000	1,6361	2,8239	
konsentrasi 25%		B.cereus	S.aereus	-1,9967(*)	,25755	,000	-2,5906	-1,4027
			E.coli	1,7900(*)	,25755	,000	1,1961	2,3839
			S.aereus	-4,0033(*)	,09256	,000	-4,2168	-3,7899
	S.aereus	E.coli	,9333(*)	,09256	,000	,7199	1,1468	
		P.aeruginosa	-1,1400(*)	,09256	,000	-1,3534	-,9266	
		B.cereus	4,0033(*)	,09256	,000	3,7899	4,2168	
	E.coli	E.coli	4,9367(*)	,09256	,000	4,7232	5,1501	
		P.aeruginosa	2,8633(*)	,09256	,000	2,6499	3,0768	
		B.cereus	-,9333(*)	,09256	,000	-1,1468	-,7199	
	P.aeruginosa	S.aereus	-4,9367(*)	,09256	,000	-5,1501	-4,7232	
		P.aeruginosa	-2,0733(*)	,09256	,000	-2,2868	-1,8599	
		B.cereus	1,1400(*)	,09256	,000	,9266	1,3534	
		S.aereus	-2,8633(*)	,09256	,000	-3,0768	-2,6499	
		E.coli	2,0733(*)	,09256	,000	1,8599	2,2868	

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

Lampiran 8. Perhitungan Analisis One-Way Anova Pengaruh Variasi Konsentrasi Minyak Atsiri Daun Sirih Merah Konsentrasi 100% - 25% pada Masing – masing Bakteri

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Low er Bound	Upper Bound		
diameter daerah hambat bakteri B.cereus	100%	3	13,6933	,21008	,12129	13,1715	14,2152	13,48	13,90
	75%	3	12,5433	,38371	,22154	11,5901	13,4965	12,11	12,84
	50%	3	12,1633	,16503	,09528	11,7534	12,5733	11,98	12,30
	25%	3	11,0467	,05859	,03383	10,9011	11,1922	10,98	11,09
	Total	12	12,3617	1,00764	,29088	11,7214	13,0019	10,98	13,90
diameter daerah hambat bakteri S.aureus	100%	3	17,7600	,22913	,13229	17,1908	18,3292	17,51	17,96
	75%	3	17,0333	,07767	,04485	16,8404	17,2263	16,97	17,12
	50%	3	16,3900	,15395	,08888	16,0076	16,7724	16,22	16,52
	25%	3	15,0500	,10149	,05859	14,7979	15,3021	14,96	15,16
	Total	12	16,5583	1,04899	,30282	15,8918	17,2248	14,96	17,96
diameter daerah hambat bakteri E.coli	100%	3	19,5633	,80649	,46563	17,5599	21,5668	19,02	20,49
	75%	3	17,6800	,22068	,12741	17,1318	18,2282	17,47	17,91
	50%	3	12,6033	,57761	,33348	11,1685	14,0382	12,06	13,21
	25%	3	10,1133	,11504	,06642	9,8276	10,3991	10,00	10,23
	Total	12	14,9900	3,98840	1,15135	12,4559	17,5241	10,00	20,49
diameter daerah hambat bakteri P.aeruginosa	100%	3	15,4200	,62554	,36116	13,8661	16,9739	15,01	16,14
	75%	3	15,1667	,66252	,38251	13,5209	16,8125	14,54	15,86
	50%	3	14,3933	,11590	,06692	14,1054	14,6813	14,26	14,47
	25%	3	12,1867	,15631	,09025	11,7984	12,5750	12,02	12,33
	Total	12	14,2917	1,38750	,40054	13,4101	15,1732	12,02	16,14

Multiple Comparisons

LSD

Dependent Variable	(I) KONS	(J) KONS	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
diameter daerah hambat bakteri B.cereus	100%	75%	1,1500(*)	,19237	,000	,7064	1,5936
		50%	1,5300(*)	,19237	,000	1,0864	1,9736
		25%	2,6467(*)	,19237	,000	2,2031	3,0903
	75%	100%	-1,1500(*)	,19237	,000	-1,5936	-,7064
		50%	,3800	,19237	,084	-,0636	,8236
		25%	1,4967(*)	,19237	,000	1,0531	1,9403
	50%	100%	-1,5300(*)	,19237	,000	-1,9736	-1,0864
		75%	-,3800	,19237	,084	-,8236	,0636
		25%	1,1167(*)	,19237	,000	,6731	1,5603
	25%	100%	-2,6467(*)	,19237	,000	-3,0903	-2,2031
		75%	-1,4967(*)	,19237	,000	-1,9403	-1,0531
		50%	-1,1167(*)	,19237	,000	-1,5603	-,6731
diameter daerah hambat bakteri S.aureus	100%	75%	,7267(*)	,12419	,000	,4403	1,0130
		50%	1,3700(*)	,12419	,000	1,0836	1,6564
		25%	2,7100(*)	,12419	,000	2,4236	2,9964
	75%	100%	-,7267(*)	,12419	,000	-1,0130	-,4403
		50%	,6433(*)	,12419	,001	,3570	,9297
		25%	1,9833(*)	,12419	,000	1,6970	2,2697
	50%	100%	-1,3700(*)	,12419	,000	-1,6564	-1,0836
		75%	-,6433(*)	,12419	,001	-,9297	-,3570
		25%	1,3400(*)	,12419	,000	1,0536	1,6264
	25%	100%	-2,7100(*)	,12419	,000	-2,9964	-2,4236
		75%	-1,9833(*)	,12419	,000	-2,2697	-1,6970
		50%	-1,3400(*)	,12419	,000	-1,6264	-1,0536
diameter daerah hambat bakteri E.coli	100%	75%	1,8833(*)	,41753	,002	,9205	2,8462
		50%	6,9600(*)	,41753	,000	5,9972	7,9228
		25%	9,4500(*)	,41753	,000	8,4872	10,4128
	75%	100%	-1,8833(*)	,41753	,002	-2,8462	-,9205
		50%	5,0767(*)	,41753	,000	4,1138	6,0395
		25%	7,5667(*)	,41753	,000	6,6038	8,5295
	50%	100%	-6,9600(*)	,41753	,000	-7,9228	-5,9972
		75%	-5,0767(*)	,41753	,000	-6,0395	-4,1138
		25%	2,4900(*)	,41753	,000	1,5272	3,4528
	25%	100%	-9,4500(*)	,41753	,000	-10,4128	-8,4872
		75%	-7,5667(*)	,41753	,000	-8,5295	-6,6038
		50%	-2,4900(*)	,41753	,000	-3,4528	-1,5272
diameter	100%	75%	,2533	,38037	,524	-,6238	1,1305

daerah							
hambat							
bakteri							
P.aeruginosa							
	50%	1,0267(*)	,38037	,027	,1495	1,9038	
	25%	3,2333(*)	,38037	,000	2,3562	4,1105	
75%	100%	-,2533	,38037	,524	-1,1305	,6238	
	50%	,7733	,38037	,076	-,1038	1,6505	
	25%	2,9800(*)	,38037	,000	2,1029	3,8571	
50%	100%	-1,0267(*)	,38037	,027	-1,9038	-,1495	
	75%	-,7733	,38037	,076	-1,6505	,1038	
	25%	2,2067(*)	,38037	,000	1,3295	3,0838	
25%	100%	-3,2333(*)	,38037	,000	-4,1105	-2,3562	
	75%	-2,9800(*)	,38037	,000	-3,8571	-2,1029	
	50%	-2,2067(*)	,38037	,000	-3,0838	-1,3295	

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

LAMPIRAN 9. Perhitungan Analisis One-Way Anova Pengaruh Variasi Bakteri Minyak Atsiri Daun Sirih Merah pada Masing – masing Bakteri untuk KHM

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
12,5%	B.cereus	3	10,4467	,43016	,24835	9,3781	11,5152	10,01	10,87
	S.aereus	3	14,6333	,43016	,24835	13,5648	15,7019	14,14	14,93
	E.coli	3	9,6133	,23029	,13296	9,0413	10,1854	9,36	9,81
	P.aeruginosa	3	10,4100	,13229	,07638	10,0814	10,7386	10,26	10,51
	Total	12	11,2758	2,07371	,59863	9,9583	12,5934	9,36	14,93
6,25%	B.cereus	3	10,0133	,23180	,13383	9,4375	10,5892	9,80	10,26
	S.aereus	3	12,0733	,05508	,03180	11,9365	12,2101	12,01	12,11
	E.coli	3	9,3000	,23431	,13528	8,7179	9,8821	9,03	9,45
	P.aeruginosa	3	10,1167	,09018	,05207	9,8926	10,3407	10,03	10,21
	Total	12	10,3758	1,08511	,31324	9,6864	11,0653	9,03	12,11
3%	B.cereus	3	9,4533	,07234	,04177	9,2736	9,6330	9,37	9,50
	S.aereus	3	11,2300	,10536	,06083	10,9683	11,4917	11,12	11,33
	E.coli	3	8,5633	,44501	,25693	7,4579	9,6688	8,12	9,01
	P.aeruginosa	3	9,3467	,15567	,08988	8,9600	9,7334	9,20	9,51
	Total	12	9,6483	1,04015	,30026	8,9875	10,3092	8,12	11,33
1%	B.cereus	3	8,1267	,10408	,06009	7,8681	8,3852	8,01	8,21
	S.aereus	3	10,0133	,11590	,06692	9,7254	10,3013	9,89	10,12
	E.coli	3	7,8367	,08737	,05044	7,6196	8,0537	7,74	7,91
	P.aeruginosa	3	8,6367	,16258	,09387	8,2328	9,0405	8,46	8,78
	Total	12	8,6533	,87901	,25375	8,0948	9,2118	7,74	10,12
0,75%	B.cereus	3	6,0000	,00000	,00000	6,0000	6,0000	6,00	6,00
	S.aereus	3	9,2633	,20033	,11566	8,7657	9,7610	9,11	9,49
	E.coli	3	6,8667	,26858	,15506	6,1995	7,5338	6,56	7,06
	P.aeruginosa	3	6,9700	,10583	,06110	6,7071	7,2329	6,85	7,05
	Total	12	7,2750	1,27077	,36684	6,4676	8,0824	6,00	9,49
0,5%	B.cereus	3	6,0000	,00000	,00000	6,0000	6,0000	6,00	6,00
	S.aereus	3	8,4733	,20526	,11851	7,9634	8,9832	8,30	8,70
	E.coli	3	6,0000	,00000	,00000	6,0000	6,0000	6,00	6,00
	P.aeruginosa	3	6,0000	,00000	,00000	6,0000	6,0000	6,00	6,00
	Total	12	6,6183	1,12203	,32390	5,9054	7,3312	6,00	8,70
0,25%	B.cereus	3	6,0000	,00000	,00000	6,0000	6,0000	6,00	6,00
	S.aereus	3	7,4367	,36692	,21184	6,5252	8,3482	7,21	7,86
	E.coli	3	6,0000	,00000	,00000	6,0000	6,0000	6,00	6,00
	P.aeruginosa	3	6,0000	,00000	,00000	6,0000	6,0000	6,00	6,00
	Total	12	6,3592	,66833	,19293	5,9345	6,7838	6,00	7,86
0,1%	B.cereus	3	6,0000	,00000	,00000	6,0000	6,0000	6,00	6,00

S.aereus	3	6,0000	,00000	,00000	6,0000	6,0000	6,00	6,00
E.coli	3	6,0000	,00000	,00000	6,0000	6,0000	6,00	6,00
P.aeruginosa	3	6,0000	,00000	,00000	6,0000	6,0000	6,00	6,00
Total	12	6,0000	,00000	,00000	6,0000	6,0000	6,00	6,00

Multiple Comparisons

LSD

Dependent Variable	(I) BAKTERI	(J) BAKTERI	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
12,5%	B.cereus	S.aereus	-4,1867(*)	,27099	,000	-4,8116	-3,5618
		E.coli	,8333(*)	,27099	,015	,2084	1,4582
		P.aeruginosa	,0367	,27099	,896	-,5882	,6616
	S.aereus	B.cereus	4,1867(*)	,27099	,000	3,5618	4,8116
		E.coli	5,0200(*)	,27099	,000	4,3951	5,6449
		P.aeruginosa	4,2233(*)	,27099	,000	3,5984	4,8482
	E.coli	B.cereus	-,8333(*)	,27099	,015	-1,4582	-,2084
		S.aereus	-5,0200(*)	,27099	,000	-5,6449	-4,3951
		P.aeruginosa	-,7967(*)	,27099	,019	-1,4216	-,1718
	P.aeruginosa	B.cereus	-,0367	,27099	,896	-,6616	,5882
		S.aereus	-4,2233(*)	,27099	,000	-4,8482	-3,5984
		E.coli	,7967(*)	,27099	,019	,1718	1,4216
6,25%	B.cereus	S.aereus	-2,0600(*)	,14130	,000	-2,3858	-1,7342
		E.coli	,7133(*)	,14130	,001	,3875	1,0392
		P.aeruginosa	-,1033	,14130	,485	-,4292	,2225
	S.aereus	B.cereus	2,0600(*)	,14130	,000	1,7342	2,3858
		E.coli	2,7733(*)	,14130	,000	2,4475	3,0992
		P.aeruginosa	1,9567(*)	,14130	,000	1,6308	2,2825
	E.coli	B.cereus	-,7133(*)	,14130	,001	-1,0392	-,3875
		S.aereus	-2,7733(*)	,14130	,000	-3,0992	-2,4475
		P.aeruginosa	-,8167(*)	,14130	,000	-1,1425	-,4908
	P.aeruginosa	B.cereus	,1033	,14130	,485	-,2225	,4292
		S.aereus	-1,9567(*)	,14130	,000	-2,2825	-1,6308
		E.coli	,8167(*)	,14130	,000	,4908	1,1425
3%	B.cereus	S.aereus	-1,7767(*)	,19942	,000	-2,2365	-1,3168
		E.coli	,8900(*)	,19942	,002	,4301	1,3499
		P.aeruginosa	,1067	,19942	,607	-,3532	,5665
	S.aereus	B.cereus	1,7767(*)	,19942	,000	1,3168	2,2365
		E.coli	2,6667(*)	,19942	,000	2,2068	3,1265
		P.aeruginosa	1,8833(*)	,19942	,000	1,4235	2,3432
	E.coli	B.cereus	-,8900(*)	,19942	,002	-1,3499	-,4301
		S.aereus	-2,6667(*)	,19942	,000	-3,1265	-2,2068
		P.aeruginosa	-,7833(*)	,19942	,004	-1,2432	-,3235
	P.aeruginosa	B.cereus	-,1067	,19942	,607	-,5665	,3532
		S.aereus	-1,8833(*)	,19942	,000	-2,3432	-1,4235
		E.coli	,7833(*)	,19942	,004	,3235	1,2432
1%	B.cereus	S.aereus	-1,8867(*)	,09860	,000	-2,1140	-1,6593
		E.coli	,2900(*)	,09860	,019	,0626	,5174

0,75%	S.aereus	P.aeruginosa	-,5100(*)	,09860	,001	-,7374	-,2826
		B.cereus	1,8867(*)	,09860	,000	1,6593	2,1140
		E.coli	2,1767(*)	,09860	,000	1,9493	2,4040
	E.coli	P.aeruginosa	1,3767(*)	,09860	,000	1,1493	1,6040
		B.cereus	-,2900(*)	,09860	,019	-,5174	-,0626
		S.aereus	-2,1767(*)	,09860	,000	-2,4040	-1,9493
	P.aeruginosa	P.aeruginosa	-,8000(*)	,09860	,000	-1,0274	-,5726
		B.cereus	,5100(*)	,09860	,001	,2826	,7374
		S.aereus	-1,3767(*)	,09860	,000	-1,6040	-1,1493
	B.cereus	E.coli	,8000(*)	,09860	,000	,5726	1,0274
		S.aereus	-3,2633(*)	,14345	,000	-3,5941	-2,9325
		E.coli	-,8667(*)	,14345	,000	-1,1975	-,5359
S.aereus	P.aeruginosa	-,9700(*)	,14345	,000	-1,3008	-,6392	
	B.cereus	3,2633(*)	,14345	,000	2,9325	3,5941	
	E.coli	2,3967(*)	,14345	,000	2,0659	2,7275	
	E.coli	P.aeruginosa	2,2933(*)	,14345	,000	1,9625	2,6241
		B.cereus	,8667(*)	,14345	,000	,5359	1,1975
		S.aereus	-2,3967(*)	,14345	,000	-2,7275	-2,0659
P.aeruginosa	P.aeruginosa	-,1033	,14345	,492	-,4341	,2275	
	B.cereus	,9700(*)	,14345	,000	,6392	1,3008	
	S.aereus	-2,2933(*)	,14345	,000	-2,6241	-1,9625	
	E.coli	,1033	,14345	,492	-,2275	,4341	
	B.cereus	S.aereus	-2,4733(*)	,08380	,000	-2,6666	-2,2801
		E.coli	,0000	,08380	1,000	-,1932	,1932
P.aeruginosa		,0000	,08380	1,000	-,1932	,1932	
S.aereus	B.cereus	2,4733(*)	,08380	,000	2,2801	2,6666	
	E.coli	2,4733(*)	,08380	,000	2,2801	2,6666	
	P.aeruginosa	2,4733(*)	,08380	,000	2,2801	2,6666	
E.coli	B.cereus	,0000	,08380	1,000	-,1932	,1932	
	S.aereus	-2,4733(*)	,08380	,000	-2,6666	-2,2801	
	P.aeruginosa	,0000	,08380	1,000	-,1932	,1932	
P.aeruginosa	B.cereus	,0000	,08380	1,000	-,1932	,1932	
	S.aereus	-2,4733(*)	,08380	,000	-2,6666	-2,2801	
	E.coli	,0000	,08380	1,000	-,1932	,1932	
0,25%	B.cereus	S.aereus	-1,4367(*)	,14980	,000	-1,7821	-1,0912
		E.coli	,0000	,14980	1,000	-,3454	,3454
		P.aeruginosa	,0000	,14980	1,000	-,3454	,3454
	S.aereus	B.cereus	1,4367(*)	,14980	,000	1,0912	1,7821
		E.coli	1,4367(*)	,14980	,000	1,0912	1,7821
		P.aeruginosa	1,4367(*)	,14980	,000	1,0912	1,7821
	E.coli	B.cereus	,0000	,14980	1,000	-,3454	,3454
		S.aereus	-1,4367(*)	,14980	,000	-1,7821	-1,0912
		P.aeruginosa	,0000	,14980	1,000	-,3454	,3454
	P.aeruginosa	B.cereus	,0000	,14980	1,000	-,3454	,3454
		S.aereus	-1,4367(*)	,14980	,000	-1,7821	-1,0912
		E.coli	,0000	,14980	1,000	-,3454	,3454

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

LAMPIRAN 10. Perhitungan Analisis One-Way Anova Pengaruh Variasi Konsentrasi Minyak Atsiri Daun Sirih Merah pada Masing – masing Bakteri untuk KHM

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Low er Bound	Upper Bound		
KHM pada B.cereus	12,5	3	10,4467	,43016	,24835	9,3781	11,5152	10,01	10,87
	6,25	3	10,0133	,23180	,13383	9,4375	10,5892	9,80	10,26
	3,00	3	9,4533	,07234	,04177	9,2736	9,6330	9,37	9,50
	1,00	3	8,1267	,10408	,06009	7,8681	8,3852	8,01	8,21
	0,75	3	6,0000	,00000	,00000	6,0000	6,0000	6,00	6,00
	0,50	3	6,0000	,00000	,00000	6,0000	6,0000	6,00	6,00
	0,25	3	6,0000	,00000	,00000	6,0000	6,0000	6,00	6,00
	0,10	3	6,0000	,00000	,00000	6,0000	6,0000	6,00	6,00
	Total	24	7,7550	1,90620	,38910	6,9501	8,5599	6,00	10,87
KHM pada S.aereus	12,5	3	14,6333	,43016	,24835	13,5648	15,7019	14,14	14,93
	6,25	3	12,0733	,05508	,03180	11,9365	12,2101	12,01	12,11
	3,00	3	11,2300	,10536	,06083	10,9683	11,4917	11,12	11,33
	1,00	3	10,0133	,11590	,06692	9,7254	10,3013	9,89	10,12
	0,75	3	9,2633	,20033	,11566	8,7657	9,7610	9,11	9,49
	0,50	3	8,4733	,20526	,11851	7,9634	8,9832	8,30	8,70
	0,25	3	7,4367	,36692	,21184	6,5252	8,3482	7,21	7,86
	0,10	3	6,0000	,00000	,00000	6,0000	6,0000	6,00	6,00
	Total	24	9,8904	2,62713	,53626	8,7811	10,9998	6,00	14,93
KHM pada E.coli	12,5	3	9,6133	,23029	,13296	9,0413	10,1854	9,36	9,81
	6,25	3	9,3000	,23431	,13528	8,7179	9,8821	9,03	9,45
	3,00	3	8,5633	,44501	,25693	7,4579	9,6688	8,12	9,01
	1,00	3	7,8367	,08737	,05044	7,6196	8,0537	7,74	7,91
	0,75	3	6,8667	,26858	,15506	6,1995	7,5338	6,56	7,06
	0,50	3	6,0000	,00000	,00000	6,0000	6,0000	6,00	6,00
	0,25	3	6,0000	,00000	,00000	6,0000	6,0000	6,00	6,00
	0,10	3	6,0000	,00000	,00000	6,0000	6,0000	6,00	6,00
	Total	24	7,5225	1,46054	,29813	6,9058	8,1392	6,00	9,81
KHM pada P.aeruginosa	12,5	3	10,4100	,13229	,07638	10,0814	10,7386	10,26	10,51
	6,25	3	10,1167	,09018	,05207	9,8926	10,3407	10,03	10,21
	3,00	3	9,3467	,15567	,08988	8,9600	9,7334	9,20	9,51
	1,00	3	8,6367	,16258	,09387	8,2328	9,0405	8,46	8,78
	0,75	3	6,9700	,10583	,06110	6,7071	7,2329	6,85	7,05
	0,50	3	6,0000	,00000	,00000	6,0000	6,0000	6,00	6,00
	0,25	3	6,0000	,00000	,00000	6,0000	6,0000	6,00	6,00
	0,10	3	6,0000	,00000	,00000	6,0000	6,0000	6,00	6,00
	Total	24	7,9350	1,82707	,37295	7,1635	8,7065	6,00	10,51

Multiple Comparisons

LSD

Dependent Variable	(I) KONS	(J) KONS	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
KHM pada B.cereus	12,5	6,25	,4333(*)	,14573	,009	,1244	,7423
		3,00	,9933(*)	,14573	,000	,6844	1,3023
		1,00	2,3200(*)	,14573	,000	2,0111	2,6289
		0,75	4,4467(*)	,14573	,000	4,1377	4,7556
		0,50	4,4467(*)	,14573	,000	4,1377	4,7556
		0,25	4,4467(*)	,14573	,000	4,1377	4,7556
	6,25	0,10	4,4467(*)	,14573	,000	4,1377	4,7556
		12,5	-,4333(*)	,14573	,009	-,7423	-,1244
		3,00	,5600(*)	,14573	,001	,2511	,8689
		1,00	1,8867(*)	,14573	,000	1,5777	2,1956
		0,75	4,0133(*)	,14573	,000	3,7044	4,3223
		0,50	4,0133(*)	,14573	,000	3,7044	4,3223
	3,00	0,25	4,0133(*)	,14573	,000	3,7044	4,3223
		0,10	4,0133(*)	,14573	,000	3,7044	4,3223
		12,5	-,9933(*)	,14573	,000	-1,3023	-,6844
		6,25	-,5600(*)	,14573	,001	-,8689	-,2511
		1,00	1,3267(*)	,14573	,000	1,0177	1,6356
		0,75	3,4533(*)	,14573	,000	3,1444	3,7623
	1,00	0,50	3,4533(*)	,14573	,000	3,1444	3,7623
		0,25	3,4533(*)	,14573	,000	3,1444	3,7623
		0,10	3,4533(*)	,14573	,000	3,1444	3,7623
		12,5	-2,3200(*)	,14573	,000	-2,6289	-2,0111
		6,25	-1,8867(*)	,14573	,000	-2,1956	-1,5777
		3,00	-1,3267(*)	,14573	,000	-1,6356	-1,0177
	0,75	0,75	2,1267(*)	,14573	,000	1,8177	2,4356
		0,50	2,1267(*)	,14573	,000	1,8177	2,4356
		0,25	2,1267(*)	,14573	,000	1,8177	2,4356
		0,10	2,1267(*)	,14573	,000	1,8177	2,4356
		12,5	-4,4467(*)	,14573	,000	-4,7556	-4,1377
		6,25	-4,0133(*)	,14573	,000	-4,3223	-3,7044
	0,50	3,00	-3,4533(*)	,14573	,000	-3,7623	-3,1444
		1,00	-2,1267(*)	,14573	,000	-2,4356	-1,8177
		0,50	,0000	,14573	1,000	-,3089	,3089
		0,25	,0000	,14573	1,000	-,3089	,3089
		0,10	,0000	,14573	1,000	-,3089	,3089
		12,5	-4,4467(*)	,14573	,000	-4,7556	-4,1377
		6,25	-4,0133(*)	,14573	,000	-4,3223	-3,7044
		3,00	-3,4533(*)	,14573	,000	-3,7623	-3,1444
		1,00	-2,1267(*)	,14573	,000	-2,4356	-1,8177
		0,75	,0000	,14573	1,000	-,3089	,3089
0,25		,0000	,14573	1,000	-,3089	,3089	
0,10		,0000	,14573	1,000	-,3089	,3089	

KHM pada S.aereus	0,25	12,5	-4,4467(*)	,14573	,000	-4,7556	-4,1377
		6,25	-4,0133(*)	,14573	,000	-4,3223	-3,7044
		3,00	-3,4533(*)	,14573	,000	-3,7623	-3,1444
		1,00	-2,1267(*)	,14573	,000	-2,4356	-1,8177
		0,75	,0000	,14573	1,000	-,3089	,3089
		0,50	,0000	,14573	1,000	-,3089	,3089
		0,10	,0000	,14573	1,000	-,3089	,3089
	0,10	12,5	-4,4467(*)	,14573	,000	-4,7556	-4,1377
		6,25	-4,0133(*)	,14573	,000	-4,3223	-3,7044
		3,00	-3,4533(*)	,14573	,000	-3,7623	-3,1444
		1,00	-2,1267(*)	,14573	,000	-2,4356	-1,8177
		0,75	,0000	,14573	1,000	-,3089	,3089
		0,50	,0000	,14573	1,000	-,3089	,3089
		0,25	,0000	,14573	1,000	-,3089	,3089
	12,5	6,25	2,5600(*)	,18919	,000	2,1589	2,9611
		3,00	3,4033(*)	,18919	,000	3,0023	3,8044
		1,00	4,6200(*)	,18919	,000	4,2189	5,0211
		0,75	5,3700(*)	,18919	,000	4,9689	5,7711
		0,50	6,1600(*)	,18919	,000	5,7589	6,5611
		0,25	7,1967(*)	,18919	,000	6,7956	7,5977
		0,10	8,6333(*)	,18919	,000	8,2323	9,0344
	6,25	12,5	-2,5600(*)	,18919	,000	-2,9611	-2,1589
		3,00	,8433(*)	,18919	,000	,4423	1,2444
		1,00	2,0600(*)	,18919	,000	1,6589	2,4611
		0,75	2,8100(*)	,18919	,000	2,4089	3,2111
		0,50	3,6000(*)	,18919	,000	3,1989	4,0011
		0,25	4,6367(*)	,18919	,000	4,2356	5,0377
		0,10	6,0733(*)	,18919	,000	5,6723	6,4744
	3,00	12,5	-3,4033(*)	,18919	,000	-3,8044	-3,0023
		6,25	-,8433(*)	,18919	,000	-1,2444	-,4423
		1,00	1,2167(*)	,18919	,000	,8156	1,6177
		0,75	1,9667(*)	,18919	,000	1,5656	2,3677
		0,50	2,7567(*)	,18919	,000	2,3556	3,1577
		0,25	3,7933(*)	,18919	,000	3,3923	4,1944
		0,10	5,2300(*)	,18919	,000	4,8289	5,6311
	1,00	12,5	-4,6200(*)	,18919	,000	-5,0211	-4,2189
		6,25	-2,0600(*)	,18919	,000	-2,4611	-1,6589
		3,00	-1,2167(*)	,18919	,000	-1,6177	-,8156
		0,75	,7500(*)	,18919	,001	,3489	1,1511
		0,50	1,5400(*)	,18919	,000	1,1389	1,9411
0,25		2,5767(*)	,18919	,000	2,1756	2,9777	
0,10		4,0133(*)	,18919	,000	3,6123	4,4144	
0,75	12,5	-5,3700(*)	,18919	,000	-5,7711	-4,9689	
	6,25	-2,8100(*)	,18919	,000	-3,2111	-2,4089	
	3,00	-1,9667(*)	,18919	,000	-2,3677	-1,5656	
	1,00	-,7500(*)	,18919	,001	-1,1511	-,3489	
	0,50	,7900(*)	,18919	,001	,3889	1,1911	
	0,25	1,8267(*)	,18919	,000	1,4256	2,2277	

		0,10	3,2633(*)	,18919	,000	2,8623	3,6644
	0,50	12,5	-6,1600(*)	,18919	,000	-6,5611	-5,7589
		6,25	-3,6000(*)	,18919	,000	-4,0011	-3,1989
		3,00	-2,7567(*)	,18919	,000	-3,1577	-2,3556
		1,00	-1,5400(*)	,18919	,000	-1,9411	-1,1389
		0,75	-,7900(*)	,18919	,001	-1,1911	-,3889
		0,25	1,0367(*)	,18919	,000	,6356	1,4377
		0,10	2,4733(*)	,18919	,000	2,0723	2,8744
	0,25	12,5	-7,1967(*)	,18919	,000	-7,5977	-6,7956
		6,25	-4,6367(*)	,18919	,000	-5,0377	-4,2356
		3,00	-3,7933(*)	,18919	,000	-4,1944	-3,3923
		1,00	-2,5767(*)	,18919	,000	-2,9777	-2,1756
		0,75	-1,8267(*)	,18919	,000	-2,2277	-1,4256
		0,50	-1,0367(*)	,18919	,000	-1,4377	-,6356
		0,10	1,4367(*)	,18919	,000	1,0356	1,8377
	0,10	12,5	-8,6333(*)	,18919	,000	-9,0344	-8,2323
		6,25	-6,0733(*)	,18919	,000	-6,4744	-5,6723
		3,00	-5,2300(*)	,18919	,000	-5,6311	-4,8289
		1,00	-4,0133(*)	,18919	,000	-4,4144	-3,6123
		0,75	-3,2633(*)	,18919	,000	-3,6644	-2,8623
		0,50	-2,4733(*)	,18919	,000	-2,8744	-2,0723
		0,25	-1,4367(*)	,18919	,000	-1,8377	-1,0356
KHM pada E.coli	12,5	6,25	,3133	,17929	,100	-,0667	,6934
		3,00	1,0500(*)	,17929	,000	,6699	1,4301
		1,00	1,7767(*)	,17929	,000	1,3966	2,1567
		0,75	2,7467(*)	,17929	,000	2,3666	3,1267
		0,50	3,6133(*)	,17929	,000	3,2333	3,9934
		0,25	3,6133(*)	,17929	,000	3,2333	3,9934
		0,10	3,6133(*)	,17929	,000	3,2333	3,9934
	6,25	12,5	-,3133	,17929	,100	-,6934	,0667
		3,00	,7367(*)	,17929	,001	,3566	1,1167
		1,00	1,4633(*)	,17929	,000	1,0833	1,8434
		0,75	2,4333(*)	,17929	,000	2,0533	2,8134
		0,50	3,3000(*)	,17929	,000	2,9199	3,6801
		0,25	3,3000(*)	,17929	,000	2,9199	3,6801
		0,10	3,3000(*)	,17929	,000	2,9199	3,6801
	3,00	12,5	-1,0500(*)	,17929	,000	-1,4301	-,6699
		6,25	-,7367(*)	,17929	,001	-1,1167	-,3566
		1,00	,7267(*)	,17929	,001	,3466	1,1067
		0,75	1,6967(*)	,17929	,000	1,3166	2,0767
		0,50	2,5633(*)	,17929	,000	2,1833	2,9434
		0,25	2,5633(*)	,17929	,000	2,1833	2,9434
		0,10	2,5633(*)	,17929	,000	2,1833	2,9434
	1,00	12,5	-1,7767(*)	,17929	,000	-2,1567	-1,3966
		6,25	-1,4633(*)	,17929	,000	-1,8434	-1,0833
		3,00	-,7267(*)	,17929	,001	-1,1067	-,3466
		0,75	,9700(*)	,17929	,000	,5899	1,3501
		0,50	1,8367(*)	,17929	,000	1,4566	2,2167

		0,25	1,8367(*)	,17929	,000	1,4566	2,2167	
		0,10	1,8367(*)	,17929	,000	1,4566	2,2167	
	0,75	12,5	-2,7467(*)	,17929	,000	-3,1267	-2,3666	
		6,25	-2,4333(*)	,17929	,000	-2,8134	-2,0533	
		3,00	-1,6967(*)	,17929	,000	-2,0767	-1,3166	
		1,00	-,9700(*)	,17929	,000	-1,3501	-,5899	
		0,50	,8667(*)	,17929	,000	,4866	1,2467	
		0,25	,8667(*)	,17929	,000	,4866	1,2467	
		0,10	,8667(*)	,17929	,000	,4866	1,2467	
	0,50	12,5	-3,6133(*)	,17929	,000	-3,9934	-3,2333	
		6,25	-3,3000(*)	,17929	,000	-3,6801	-2,9199	
		3,00	-2,5633(*)	,17929	,000	-2,9434	-2,1833	
		1,00	-1,8367(*)	,17929	,000	-2,2167	-1,4566	
		0,75	-,8667(*)	,17929	,000	-1,2467	-,4866	
		0,25	,0000	,17929	1,000	-,3801	,3801	
		0,10	,0000	,17929	1,000	-,3801	,3801	
	0,25	12,5	-3,6133(*)	,17929	,000	-3,9934	-3,2333	
		6,25	-3,3000(*)	,17929	,000	-3,6801	-2,9199	
		3,00	-2,5633(*)	,17929	,000	-2,9434	-2,1833	
		1,00	-1,8367(*)	,17929	,000	-2,2167	-1,4566	
		0,75	-,8667(*)	,17929	,000	-1,2467	-,4866	
		0,50	,0000	,17929	1,000	-,3801	,3801	
		0,10	,0000	,17929	1,000	-,3801	,3801	
	0,10	12,5	-3,6133(*)	,17929	,000	-3,9934	-3,2333	
		6,25	-3,3000(*)	,17929	,000	-3,6801	-2,9199	
		3,00	-2,5633(*)	,17929	,000	-2,9434	-2,1833	
		1,00	-1,8367(*)	,17929	,000	-2,2167	-1,4566	
		0,75	-,8667(*)	,17929	,000	-1,2467	-,4866	
		0,50	,0000	,17929	1,000	-,3801	,3801	
		0,25	,0000	,17929	1,000	-,3801	,3801	
	KHM pada	12,5	6,25	,2933(*)	,08539	,003	,1123	,4744
	P.aeruginosa		3,00	1,0633(*)	,08539	,000	,8823	1,2444
			1,00	1,7733(*)	,08539	,000	1,5923	1,9544
			0,75	3,4400(*)	,08539	,000	3,2590	3,6210
			0,50	4,4100(*)	,08539	,000	4,2290	4,5910
			0,25	4,4100(*)	,08539	,000	4,2290	4,5910
			0,10	4,4100(*)	,08539	,000	4,2290	4,5910
		6,25	12,5	-,2933(*)	,08539	,003	-,4744	-,1123
			3,00	,7700(*)	,08539	,000	,5890	,9510
			1,00	1,4800(*)	,08539	,000	1,2990	1,6610
			0,75	3,1467(*)	,08539	,000	2,9656	3,3277
			0,50	4,1167(*)	,08539	,000	3,9356	4,2977
			0,25	4,1167(*)	,08539	,000	3,9356	4,2977
			0,10	4,1167(*)	,08539	,000	3,9356	4,2977
		3,00	12,5	-1,0633(*)	,08539	,000	-1,2444	-,8823
			6,25	-,7700(*)	,08539	,000	-,9510	-,5890
			1,00	,7100(*)	,08539	,000	,5290	,8910

	0,75	2,3767(*)	,08539	,000	2,1956	2,5577
	0,50	3,3467(*)	,08539	,000	3,1656	3,5277
	0,25	3,3467(*)	,08539	,000	3,1656	3,5277
	0,10	3,3467(*)	,08539	,000	3,1656	3,5277
1,00	12,5	-1,7733(*)	,08539	,000	-1,9544	-1,5923
	6,25	-1,4800(*)	,08539	,000	-1,6610	-1,2990
	3,00	-,7100(*)	,08539	,000	-,8910	-,5290
	0,75	1,6667(*)	,08539	,000	1,4856	1,8477
	0,50	2,6367(*)	,08539	,000	2,4556	2,8177
	0,25	2,6367(*)	,08539	,000	2,4556	2,8177
	0,10	2,6367(*)	,08539	,000	2,4556	2,8177
0,75	12,5	-3,4400(*)	,08539	,000	-3,6210	-3,2590
	6,25	-3,1467(*)	,08539	,000	-3,3277	-2,9656
	3,00	-2,3767(*)	,08539	,000	-2,5577	-2,1956
	1,00	-1,6667(*)	,08539	,000	-1,8477	-1,4856
	0,50	,9700(*)	,08539	,000	,7890	1,1510
	0,25	,9700(*)	,08539	,000	,7890	1,1510
	0,10	,9700(*)	,08539	,000	,7890	1,1510
0,50	12,5	-4,4100(*)	,08539	,000	-4,5910	-4,2290
	6,25	-4,1167(*)	,08539	,000	-4,2977	-3,9356
	3,00	-3,3467(*)	,08539	,000	-3,5277	-3,1656
	1,00	-2,6367(*)	,08539	,000	-2,8177	-2,4556
	0,75	-,9700(*)	,08539	,000	-1,1510	-,7890
	0,25	,0000	,08539	1,000	-,1810	,1810
	0,10	,0000	,08539	1,000	-,1810	,1810
0,25	12,5	-4,4100(*)	,08539	,000	-4,5910	-4,2290
	6,25	-4,1167(*)	,08539	,000	-4,2977	-3,9356
	3,00	-3,3467(*)	,08539	,000	-3,5277	-3,1656
	1,00	-2,6367(*)	,08539	,000	-2,8177	-2,4556
	0,75	-,9700(*)	,08539	,000	-1,1510	-,7890
	0,50	,0000	,08539	1,000	-,1810	,1810
	0,10	,0000	,08539	1,000	-,1810	,1810
0,10	12,5	-4,4100(*)	,08539	,000	-4,5910	-4,2290
	6,25	-4,1167(*)	,08539	,000	-4,2977	-3,9356
	3,00	-3,3467(*)	,08539	,000	-3,5277	-3,1656
	1,00	-2,6367(*)	,08539	,000	-2,8177	-2,4556
	0,75	-,9700(*)	,08539	,000	-1,1510	-,7890
	0,50	,0000	,08539	1,000	-,1810	,1810
	0,25	,0000	,08539	1,000	-,1810	,1810

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

LAMPIRAN 11. Perhitungan Analisis One-Way Anova Pengaruh Variasi Bakteri
Minyak Atsiri Daun Sirih Merah untuk KHM Amoksisilin
Masing – masing Bakteri

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Low er Bound	Upper Bound		
15	B.cereus	3	20,5600	,67816	,39154	18,8754	22,2446	20,11	21,34
	S.aereus	3	19,1067	,21127	,12197	18,5819	19,6315	18,97	19,35
	E.coli	3	20,6833	,12741	,07356	20,3668	20,9998	20,60	20,83
	P.aeruginosa	3	16,6300	,67134	,38760	14,9623	18,2977	16,06	17,37
	Total	12	19,2450	1,75575	,50684	18,1295	20,3605	16,06	21,34
12.5	B.cereus	3	16,4800	,22605	,13051	15,9185	17,0415	16,33	16,74
	S.aereus	3	15,0000	,89448	,51643	12,7780	17,2220	14,01	15,75
	E.coli	3	18,2833	,43616	,25182	17,1999	19,3668	17,83	18,70
	P.aeruginosa	3	15,2867	,64470	,37222	13,6852	16,8882	14,56	15,79
	Total	12	16,2625	1,44429	,41693	15,3448	17,1802	14,01	18,70
10	B.cereus	3	15,6533	,68806	,39725	13,9441	17,3626	15,12	16,43
	S.aereus	3	12,1933	,73002	,42148	10,3799	14,0068	11,36	12,72
	E.coli	3	15,1667	,87945	,50775	12,9820	17,3513	14,21	15,94
	P.aeruginosa	3	13,8267	,26083	,15059	13,1787	14,4746	13,53	14,02
	Total	12	14,2100	1,51755	,43808	13,2458	15,1742	11,36	16,43
7.5	B.cereus	3	13,1167	,60871	,35144	11,6045	14,6288	12,67	13,81
	S.aereus	3	11,2900	,77078	,44501	9,3753	13,2047	10,50	12,04
	E.coli	3	13,6133	,62820	,36269	12,0528	15,1739	13,09	14,31
	P.aeruginosa	3	11,9333	,81562	,47090	9,9072	13,9594	11,10	12,73
	Total	12	12,4883	1,13867	,32871	11,7649	13,2118	10,50	14,31
5	B.cereus	3	8,3367	,78768	,45476	6,3800	10,2934	7,62	9,18
	S.aereus	3	9,8667	,56871	,32835	8,4539	11,2794	9,24	10,35
	E.coli	3	10,6967	,34588	,19969	9,8375	11,5559	10,32	11,00
	P.aeruginosa	3	10,9033	,49095	,28345	9,6837	12,1229	10,50	11,45
	Total	12	9,9508	1,16141	,33527	9,2129	10,6888	7,62	11,45
2.5	B.cereus	3	6,0000	,00000	,00000	6,0000	6,0000	6,00	6,00
	S.aereus	3	6,0000	,00000	,00000	6,0000	6,0000	6,00	6,00
	E.coli	3	6,0000	,00000	,00000	6,0000	6,0000	6,00	6,00
	P.aeruginosa	3	6,0000	,00000	,00000	6,0000	6,0000	6,00	6,00
	Total	12	6,0000	,00000	,00000	6,0000	6,0000	6,00	6,00
1	B.cereus	0
	S.aereus	3	6,0000	,00000	,00000	6,0000	6,0000	6,00	6,00
	E.coli	3	6,0000	,00000	,00000	6,0000	6,0000	6,00	6,00
	P.aeruginosa	3	6,0000	,00000	,00000	6,0000	6,0000	6,00	6,00
	Total	9	6,0000	,00000	,00000	6,0000	6,0000	6,00	6,00

Multiple Comparisons
LSD

Dependent Variable	(I) konsentrasi	(J) konsentrasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
15	B.cereus	S.aereus	1,4533(*)	,40238	,007	,5254	2,3812
		E.coli	-,1233	,40238	,767	-1,0512	,8046
		P.aeruginosa	3,9300(*)	,40238	,000	3,0021	4,8579
	S.aereus	B.cereus	-1,4533(*)	,40238	,007	-2,3812	-,5254
		E.coli	-1,5767(*)	,40238	,004	-2,5046	-,6488
		P.aeruginosa	2,4767(*)	,40238	,000	1,5488	3,4046
	E.coli	B.cereus	,1233	,40238	,767	-,8046	1,0512
		S.aereus	1,5767(*)	,40238	,004	,6488	2,5046
		P.aeruginosa	4,0533(*)	,40238	,000	3,1254	4,9812
	P.aeruginosa	B.cereus	-3,9300(*)	,40238	,000	-4,8579	-3,0021
		S.aereus	-2,4767(*)	,40238	,000	-3,4046	-1,5488
		E.coli	-4,0533(*)	,40238	,000	-4,9812	-3,1254
12.5	B.cereus	S.aereus	1,4800(*)	,49279	,017	,3436	2,6164
		E.coli	-1,8033(*)	,49279	,006	-2,9397	-,6670
		P.aeruginosa	1,1933(*)	,49279	,042	,0570	2,3297
	S.aereus	B.cereus	-1,4800(*)	,49279	,017	-2,6164	-,3436
		E.coli	-3,2833(*)	,49279	,000	-4,4197	-2,1470
		P.aeruginosa	-,2867	,49279	,577	-1,4230	,8497
	E.coli	B.cereus	1,8033(*)	,49279	,006	,6670	2,9397
		S.aereus	3,2833(*)	,49279	,000	2,1470	4,4197
		P.aeruginosa	2,9967(*)	,49279	,000	1,8603	4,1330
	P.aeruginosa	B.cereus	-1,1933(*)	,49279	,042	-2,3297	-,0570
		S.aereus	,2867	,49279	,577	-,8497	1,4230
		E.coli	-2,9967(*)	,49279	,000	-4,1330	-1,8603
10	B.cereus	S.aereus	3,4600(*)	,55495	,000	2,1803	4,7397
		E.coli	,4867	,55495	,406	-,7931	1,7664
		P.aeruginosa	1,8267(*)	,55495	,011	,5469	3,1064
	S.aereus	B.cereus	-3,4600(*)	,55495	,000	-4,7397	-2,1803
		E.coli	-2,9733(*)	,55495	,001	-4,2531	-1,6936
		P.aeruginosa	-1,6333(*)	,55495	,019	-2,9131	-,3536
	E.coli	B.cereus	-,4867	,55495	,406	-1,7664	,7931
		S.aereus	2,9733(*)	,55495	,001	1,6936	4,2531
		P.aeruginosa	1,3400(*)	,55495	,042	,0603	2,6197
	P.aeruginosa	B.cereus	-1,8267(*)	,55495	,011	-3,1064	-,5469
		S.aereus	1,6333(*)	,55495	,019	,3536	2,9131
		E.coli	-1,3400(*)	,55495	,042	-2,6197	-,0603
7.5	B.cereus	S.aereus	1,8267(*)	,58088	,014	,4872	3,1662
		E.coli	-,4967	,58088	,417	-1,8362	,8428
		P.aeruginosa	1,1833	,58088	,076	-,1562	2,5228
	S.aereus	B.cereus	-1,8267(*)	,58088	,014	-3,1662	-,4872
		E.coli	-2,3233(*)	,58088	,004	-3,6628	-,9838
		P.aeruginosa	-,6433	,58088	,300	-1,9828	,6962
	E.coli	B.cereus	,4967	,58088	,417	-,8428	1,8362
		S.aereus	2,3233(*)	,58088	,004	,9838	3,6628

5	P.aeruginosa	P.aeruginosa	1,6800(*)	,58088	,020	,3405	3,0195
		B.cereus	-1,1833	,58088	,076	-2,5228	,1562
		S.aereus	,6433	,58088	,300	-,6962	1,9828
	B.cereus	E.coli	-1,6800(*)	,58088	,020	-3,0195	-,3405
		S.aereus	-1,5300(*)	,46629	,011	-2,6053	-,4547
		E.coli	-2,3600(*)	,46629	,001	-3,4353	-1,2847
	S.aereus	P.aeruginosa	-2,5667(*)	,46629	,001	-3,6419	-1,4914
		B.cereus	1,5300(*)	,46629	,011	,4547	2,6053
		E.coli	-,8300	,46629	,113	-1,9053	,2453
	E.coli	P.aeruginosa	-1,0367	,46629	,057	-2,1119	,0386
		B.cereus	2,3600(*)	,46629	,001	1,2847	3,4353
		S.aereus	,8300	,46629	,113	-,2453	1,9053
	P.aeruginosa	P.aeruginosa	-,2067	,46629	,669	-1,2819	,8686
		B.cereus	2,5667(*)	,46629	,001	1,4914	3,6419
		S.aereus	1,0367	,46629	,057	-,0386	2,1119
		E.coli	,2067	,46629	,669	-,8686	1,2819

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

LAMPIRAN 12. Perhitungan Analisis One-Way Anova Pengaruh Variasi Konsentrasi Minyak Atsiri Daun Sirih Merah untuk KHM Amoksisilin Masing – masing Bakteri

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Low er Bound	Upper Bound		
DDH amoksisilin pada <i>B.cereus</i>	15 ppm	3	20,2267	,19218	,11096	19,7493	20,7041	20,02	20,40
	12,5 ppm	3	16,6200	,20421	,11790	16,1127	17,1273	16,39	16,78
	10 ppm	3	14,2867	,13429	,07753	13,9531	14,6203	14,19	14,44
	7,5 ppm	3	12,6600	,14799	,08544	12,2924	13,0276	12,49	12,76
	5 ppm	3	9,6133	,18502	,10682	9,1537	10,0730	9,43	9,80
	2,5 ppm	3	6,0000	,00000	,00000	6,0000	6,0000	6,00	6,00
	Total	18	13,2344	4,74047	1,11734	10,8771	15,5918	6,00	20,40
DDH amoksisilin pada <i>S.aereus</i>	15 ppm	3	18,8300	,54525	,31480	17,4755	20,1845	18,22	19,27
	12,5 ppm	3	18,2933	,43132	,24902	17,2219	19,3648	17,93	18,77
	10 ppm	3	15,2800	,38432	,22189	14,3253	16,2347	15,01	15,72
	7,5 ppm	3	11,7900	,39000	,22517	10,8212	12,7588	11,34	12,03
	5 ppm	3	10,0767	,15275	,08819	9,6972	10,4561	9,91	10,21
	2,5 ppm	3	6,0000	,00000	,00000	6,0000	6,0000	6,00	6,00
	Total	18	13,3783	4,71348	1,11098	11,0344	15,7223	6,00	19,27
DDH amoksisilin pada <i>E.coli</i>	15 ppm	3	20,6800	,19287	,11136	20,2009	21,1591	20,54	20,90
	12,5 ppm	3	18,6367	,27502	,15878	17,9535	19,3198	18,36	18,91
	10 ppm	3	14,3900	,30199	,17436	13,6398	15,1402	14,11	14,71
	7,5 ppm	3	11,2600	,35000	,20207	10,3906	12,1294	10,86	11,51
	5 ppm	3	9,2033	,34559	,19953	8,3448	10,0618	8,87	9,56
	2,5 ppm	3	6,0000	,00000	,00000	6,0000	6,0000	6,00	6,00
	Total	18	13,3617	5,29108	1,24712	10,7305	15,9929	6,00	20,90
DDH amoksisilin pada <i>P.aeruginosa</i>	15 ppm	3	16,1367	,22855	,13195	15,5689	16,7044	15,99	16,40
	12,5 ppm	3	14,1600	,39737	,22942	13,1729	15,1471	13,79	14,58
	10 ppm	3	13,5167	,27574	,15920	12,8317	14,2016	13,23	13,78
	7,5 ppm	3	10,2200	,13528	,07810	9,8840	10,5560	10,08	10,35
	5 ppm	3	8,6333	,16803	,09701	8,2159	9,0507	8,45	8,78
	2,5 ppm	3	6,0000	,00000	,00000	6,0000	6,0000	6,00	6,00
	Total	18	11,4444	3,58799	,84570	9,6602	13,2287	6,00	16,40

Multiple Comparisons

LSD

Dependent Variable	(I) KONSENTR	(J) KONSENTR	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
DDH amoksisilin pada B.cereus	15 ppm	12,5 ppm	3,6067(*)	,13030	,000	3,3228	3,8906
		10 ppm	5,9400(*)	,13030	,000	5,6561	6,2239
		7,5 ppm	7,5667(*)	,13030	,000	7,2828	7,8506
		5 ppm	10,6133(*)	,13030	,000	10,3294	10,8972
		2,5 ppm	14,2267(*)	,13030	,000	13,9428	14,5106
	12,5 ppm	15 ppm	-3,6067(*)	,13030	,000	-3,8906	-3,3228
		10 ppm	2,3333(*)	,13030	,000	2,0494	2,6172
		7,5 ppm	3,9600(*)	,13030	,000	3,6761	4,2439
		5 ppm	7,0067(*)	,13030	,000	6,7228	7,2906
		2,5 ppm	10,6200(*)	,13030	,000	10,3361	10,9039
	10 ppm	15 ppm	-5,9400(*)	,13030	,000	-6,2239	-5,6561
		12,5 ppm	-2,3333(*)	,13030	,000	-2,6172	-2,0494
		7,5 ppm	1,6267(*)	,13030	,000	1,3428	1,9106
		5 ppm	4,6733(*)	,13030	,000	4,3894	4,9572
		2,5 ppm	8,2867(*)	,13030	,000	8,0028	8,5706
	7,5 ppm	15 ppm	-7,5667(*)	,13030	,000	-7,8506	-7,2828
		12,5 ppm	-3,9600(*)	,13030	,000	-4,2439	-3,6761
		10 ppm	-1,6267(*)	,13030	,000	-1,9106	-1,3428
		5 ppm	3,0467(*)	,13030	,000	2,7628	3,3306
		2,5 ppm	6,6600(*)	,13030	,000	6,3761	6,9439
	5 ppm	15 ppm	-10,6133(*)	,13030	,000	10,8972	10,3294
		12,5 ppm	-7,0067(*)	,13030	,000	-7,2906	-6,7228
		10 ppm	-4,6733(*)	,13030	,000	-4,9572	-4,3894
		7,5 ppm	-3,0467(*)	,13030	,000	-3,3306	-2,7628
2,5 ppm		3,6133(*)	,13030	,000	3,3294	3,8972	
2,5 ppm	15 ppm	-14,2267(*)	,13030	,000	14,5106	13,9428	
	12,5 ppm	-10,6200(*)	,13030	,000	10,9039	10,3361	
	10 ppm	-8,2867(*)	,13030	,000	-8,5706	-8,0028	
	7,5 ppm	-6,6600(*)	,13030	,000	-6,9439	-6,3761	
	5 ppm	-3,6133(*)	,13030	,000	-3,8972	-3,3294	
DDH amoksisilin pada S.aereus	15 ppm	12,5 ppm	,5367	,29934	,098	-,1155	1,1889
		10 ppm	3,5500(*)	,29934	,000	2,8978	4,2022
		7,5 ppm	7,0400(*)	,29934	,000	6,3878	7,6922
		5 ppm	8,7533(*)	,29934	,000	8,1011	9,4055
		2,5 ppm	12,8300(*)	,29934	,000	12,1778	13,4822
	12,5 ppm	15 ppm	-,5367	,29934	,098	-1,1889	,1155
		10 ppm	3,0133(*)	,29934	,000	2,3611	3,6655
		7,5 ppm	6,5033(*)	,29934	,000	5,8511	7,1555
		5 ppm	8,2167(*)	,29934	,000	7,5645	8,8689

DDH amoksisilin pada E.coli	10 ppm	2,5 ppm	12,2933(*)	,29934	,000	11,6411	12,9455
		15 ppm	-3,5500(*)	,29934	,000	-4,2022	-2,8978
		12,5 ppm	-3,0133(*)	,29934	,000	-3,6655	-2,3611
		7,5 ppm	3,4900(*)	,29934	,000	2,8378	4,1422
	7,5 ppm	5 ppm	5,2033(*)	,29934	,000	4,5511	5,8555
		2,5 ppm	9,2800(*)	,29934	,000	8,6278	9,9322
		15 ppm	-7,0400(*)	,29934	,000	-7,6922	-6,3878
		12,5 ppm	-6,5033(*)	,29934	,000	-7,1555	-5,8511
	5 ppm	10 ppm	-3,4900(*)	,29934	,000	-4,1422	-2,8378
		5 ppm	1,7133(*)	,29934	,000	1,0611	2,3655
		2,5 ppm	5,7900(*)	,29934	,000	5,1378	6,4422
		15 ppm	-8,7533(*)	,29934	,000	-9,4055	-8,1011
	2,5 ppm	12,5 ppm	-8,2167(*)	,29934	,000	-8,8689	-7,5645
		10 ppm	-5,2033(*)	,29934	,000	-5,8555	-4,5511
		7,5 ppm	-1,7133(*)	,29934	,000	-2,3655	-1,0611
		2,5 ppm	4,0767(*)	,29934	,000	3,4245	4,7289
	15 ppm	15 ppm	-12,8300(*)	,29934	,000	-	-
		12,5 ppm	-12,2933(*)	,29934	,000	13,4822	12,1778
		10 ppm	-9,2800(*)	,29934	,000	-	-
		7,5 ppm	-5,7900(*)	,29934	,000	12,9455	11,6411
	12,5 ppm	5 ppm	-4,0767(*)	,29934	,000	-9,9322	-8,6278
		12,5 ppm	2,0433(*)	,22260	,000	-6,4422	-5,1378
		10 ppm	6,2900(*)	,22260	,000	-4,7289	-3,4245
		7,5 ppm	9,4200(*)	,22260	,000	1,5583	2,5283
	10 ppm	5 ppm	11,4767(*)	,22260	,000	5,8050	6,7750
		2,5 ppm	14,6800(*)	,22260	,000	8,9350	9,9050
		15 ppm	-2,0433(*)	,22260	,000	10,9917	11,9617
		10 ppm	4,2467(*)	,22260	,000	14,1950	15,1650
	7,5 ppm	7,5 ppm	7,3767(*)	,22260	,000	-2,5283	-1,5583
		5 ppm	9,4333(*)	,22260	,000	3,7617	4,7317
		2,5 ppm	12,6367(*)	,22260	,000	6,8917	7,8617
		15 ppm	-6,2900(*)	,22260	,000	8,9483	9,9183
	5 ppm	12,5 ppm	-4,2467(*)	,22260	,000	8,9483	9,9183
		7,5 ppm	3,1300(*)	,22260	,000	12,1517	13,1217
		5 ppm	5,1867(*)	,22260	,000	-6,7750	-5,8050
		2,5 ppm	8,3900(*)	,22260	,000	-4,7317	-3,7617
	2,5 ppm	15 ppm	-9,4200(*)	,22260	,000	2,6450	3,6150
		12,5 ppm	-7,3767(*)	,22260	,000	4,7017	5,6717
		10 ppm	-3,1300(*)	,22260	,000	7,9050	8,8750
		7,5 ppm	7,3767(*)	,22260	,000	-9,9050	-8,9350
10 ppm	5 ppm	2,0567(*)	,22260	,000	-7,8617	-6,8917	
	2,5 ppm	5,2600(*)	,22260	,000	-3,6150	-2,6450	
	15 ppm	-11,4767(*)	,22260	,000	1,5717	2,5417	
	12,5 ppm	-9,4333(*)	,22260	,000	4,7750	5,7450	
7,5 ppm	10 ppm	-5,1867(*)	,22260	,000	-	-	
	7,5 ppm	-2,0567(*)	,22260	,000	11,9617	10,9917	
	5 ppm	2,0567(*)	,22260	,000	-9,9183	-8,9483	
	2,5 ppm	3,2033(*)	,22260	,000	-5,6717	-4,7017	
5 ppm	15 ppm	-11,4767(*)	,22260	,000	-2,5417	-1,5717	
	12,5 ppm	-9,4333(*)	,22260	,000	2,7183	3,6883	
	10 ppm	-5,1867(*)	,22260	,000			
	7,5 ppm	-2,0567(*)	,22260	,000			
2,5 ppm	15 ppm	-11,4767(*)	,22260	,000			
	12,5 ppm	-9,4333(*)	,22260	,000			
	10 ppm	-5,1867(*)	,22260	,000			
	7,5 ppm	-2,0567(*)	,22260	,000			
10 ppm	2,5 ppm	3,2033(*)	,22260	,000			
	15 ppm	-11,4767(*)	,22260	,000			
	12,5 ppm	-9,4333(*)	,22260	,000			
	7,5 ppm	-2,0567(*)	,22260	,000			

DDH amoksisilin pada P.aeruginosa	2,5 ppm	15 ppm	-14,6800(*)	,22260	,000	-	-
		12,5 ppm	-12,6367(*)	,22260	,000	-	-
		10 ppm	-8,3900(*)	,22260	,000	15,1650	14,1950
	15 ppm	7,5 ppm	-5,2600(*)	,22260	,000	13,1217	12,1517
		5 ppm	-3,2033(*)	,22260	,000	-8,8750	-7,9050
		12,5 ppm	1,9767(*)	,19227	,000	-5,7450	-4,7750
	12,5 ppm	10 ppm	2,6200(*)	,19227	,000	-3,6883	-2,7183
		7,5 ppm	5,9167(*)	,19227	,000	1,5578	2,3956
		5 ppm	7,5033(*)	,19227	,000	2,2011	3,0389
	10 ppm	2,5 ppm	10,1367(*)	,19227	,000	5,4978	6,3356
		15 ppm	-1,9767(*)	,19227	,000	7,0844	7,9222
		10 ppm	,6433(*)	,19227	,006	9,7178	10,5556
	7,5 ppm	7,5 ppm	3,9400(*)	,19227	,000	-2,3956	-1,5578
		5 ppm	5,5267(*)	,19227	,000	,2244	1,0622
		2,5 ppm	8,1600(*)	,19227	,000	3,5211	4,3589
	5 ppm	15 ppm	-2,6200(*)	,19227	,000	5,1078	5,9456
		12,5 ppm	-,6433(*)	,19227	,006	7,7411	8,5789
		7,5 ppm	3,2967(*)	,19227	,000	-3,0389	-2,2011
	2,5 ppm	5 ppm	4,8833(*)	,19227	,000	-1,0622	-,2244
		15 ppm	7,5167(*)	,19227	,000	2,8778	3,7156
		12,5 ppm	-5,9167(*)	,19227	,000	4,4644	5,3022
	15 ppm	10 ppm	-3,2967(*)	,19227	,000	7,0978	7,9356
		7,5 ppm	1,5867(*)	,19227	,000	-6,3356	-5,4978
		5 ppm	4,2200(*)	,19227	,000	-4,3589	-3,5211
	10 ppm	15 ppm	-7,5033(*)	,19227	,000	-3,7156	-2,8778
		12,5 ppm	-5,5267(*)	,19227	,000	1,1678	2,0056
		7,5 ppm	-4,8833(*)	,19227	,000	3,8011	4,6389
	7,5 ppm	5 ppm	-1,5867(*)	,19227	,000	-7,9222	-7,0844
		2,5 ppm	2,6333(*)	,19227	,000	-5,9456	-5,1078
		15 ppm	-10,1367(*)	,19227	,000	-5,3022	-4,4644
5 ppm	12,5 ppm	-8,1600(*)	,19227	,000	-2,0056	-1,1678	
	10 ppm	-7,5167(*)	,19227	,000	2,2144	3,0522	
	7,5 ppm	-4,2200(*)	,19227	,000	-	-	
2,5 ppm	5 ppm	-2,6333(*)	,19227	,000	10,5556	-9,7178	
	15 ppm	-14,6800(*)	,22260	,000	-8,5789	-7,7411	
	12,5 ppm	-12,6367(*)	,22260	,000	-7,9356	-7,0978	
15 ppm	10 ppm	-8,3900(*)	,22260	,000	-4,6389	-3,8011	
	7,5 ppm	-5,2600(*)	,22260	,000	-3,0522	-2,2144	
	5 ppm	-3,2033(*)	,22260	,000			

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

LAMPIRAN 13. Perhitungan Nilai Banding Minyak Atsiri Daun Sirih Merah pada Bakteri Uji terhadap Amoksisilin.

a. *B. cereus*

$$\text{Persamaan garis : } Y = 17,09X + 66,65$$

$$\text{DDH minyak atsiri 100\%} = Y = 13,69$$

$$Y = 17,09X + 66,65$$

$$13,69 = 17,09X + 66,65$$

$$X = (13,69 - 66,65) / 17,09$$

$$X = - 3,0989$$

$$\text{Antilog } X = 0,0008$$

$$\text{nilai banding} = \frac{\text{konsentrasi sampel dari kurva}}{\text{konsentrasi sebenarnya}} \times 100\%$$

$$\text{nilai banding} = \frac{0,0008}{100} \times 100\%$$

$$\text{nilai banding} = 0,0008\%$$

b. *S. aureus*

$$\text{Persamaan garis : } Y = 17,07X + 66,75$$

$$\text{DDH minyak atsiri 100\%} = Y = 17,76$$

$$Y = 17,07X + 66,75$$

$$17,76 = 17,07X + 66,75$$

$$X = (17,76 - 66,75) / 17,09$$

$$X = - 2,8699$$

$$\text{Antilog } X = 0,0013$$

$$\text{nilai banding} = \frac{\text{konsentrasi sampel dari kurva}}{\text{konsentrasi sebenarnya}} \times 100\%$$

$$\text{nilai banding} = \frac{0,0013}{100} \times 100\%$$

$$\text{nilai banding} = 0,0013\%$$

c. *E. coli*

$$\text{Persamaan garis : } Y = 18,70X + 71,83$$

$$\text{DDH minyak atsiri } 100\% = Y = 19,56$$

$$Y = 18,70X + 71,83$$

$$19,56 = 18,70X + 71,83$$

$$X = (19,56 - 71,83) / 18,70$$

$$X = - 2,7952$$

$$\text{Antilog } X = 0,0016$$

$$\text{nilai banding} = \frac{\text{konsentrasi sampel dari kurva}}{\text{konsentrasi sebenarnya}} \times 100\%$$

$$\text{nilai banding} = \frac{0,0016}{100} \times 100\%$$

$$\text{nilai banding} = 0,0016\%$$

d. *P. aeruginosa*

$$\text{Persamaan garis : } Y = 12,96X + 51,95$$

$$\text{DDH minyak atsiri } 100\% = Y = 15,42$$

$$Y = 12,96X + 51,95$$

$$15,42 = 12,96X + 51,95$$

$$X = (15,42 - 51,95) / 12,96$$

$$X = - 2,8189$$

$$\text{Antilog } X = 0,0015$$

$$\text{nilai banding} = \frac{\text{konsentrasi sampel dari kurva}}{\text{konsentrasi sebenarnya}} \times 100\%$$

$$\text{nilai banding} = \frac{0,0015}{100} \times 100\%$$

$$\text{nilai banding} = 0,0015\%$$