

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI MINYAK ATSIRI DAUN SIRIH MERAH
(*Piper crocatum*) TERHADAP BAKTERI *Eschericia coli* RESISTEN
ANTIBIOTIK AMPISILIN**

SKRIPSI



الجامعة الإسلامية
الاندونيسية

Oleh:

ARYA MAULANA JATMIKO

10613169

PROGRAM STUDI FARMASI

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA

YOGYAKARTA

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI MINYAK ATSIRI DAUN SIRIH MERAH
(*Piper crocatum*) TERHADAP BAKTERI *Eschericia coli* RESISTEN
ANTIBIOTIK AMPISILIN**

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)

Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Islam Indonesia Yogyakarta



Oleh:

ARYA MAULANA JATMIKO

10613169

PROGRAM STUDI FARMASI

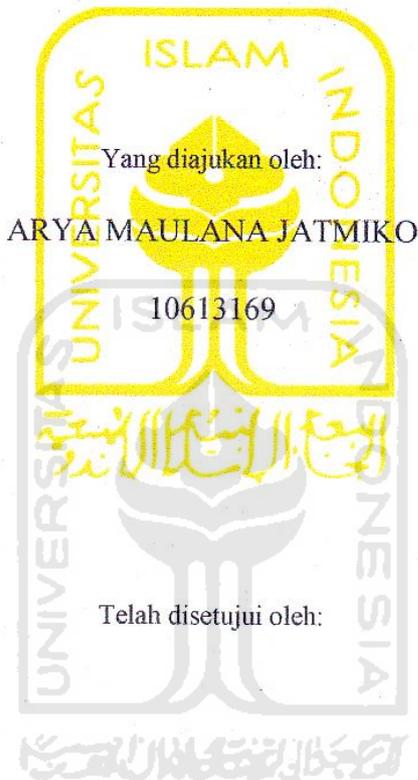
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA

YOGYAKARTA

OKTOBER 2016

SKRIPSI
AKTIVITAS ANTIBAKTERI MINYAK ATSIRI DAUN SIRIH MERAH
(*Piper crocatum*) TERHADAP BAKTERI *Eschericia coli* RESISTEN
ANTIBIOTIK AMPISILIN



Pembimbing Utama,

Hady Anshory T., M.Sc., Apt.

Pembimbing Pendamping,

Annisa fitria, M.Sc., Apt.

SKRIPSI

AKTIVITAS ANTIBAKTERI MINYAK ATSIRI DAUN SIRIH MERAH (*Piper crocatum*) TERHADAP BAKTERI *Eschericia coli* RESISTEN ANTIBIOTIK AMPISILIN

Oleh:
ARYA MAULANA JATMIKO
10613169

Telah lolos uji etik penelitian dan dipertahankan di hadapan Panitia Penguji
Skripsi Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia

Tanggal: 18 oktober 2016

Ketua Penguji : Hady Anshory T., M.Sc., Apt.

Anggota Penguji : 1. Annisa Fitria, M.Sc., Apt.

2. Tatang Shabur Julianto, M.Si

3. Dr.dr.Farida Juliantina Rachmawaty, M.Kes.(.....)

(.....)
(.....)
(.....)

Mengetahui,

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia



Drs. Aliwar, M.Sc., Ph.D

PERNYATAAN

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

Yogyakarta, 18 oktober 2016

METERAI
TEMPEL
DEA72AEF086897704

6000
ENAM RIBU RUPIAH

Arya Maulana Samko



HALAMAN PERSEMBAHAN



“Sesungguhnya bersama kesulitan itu ada kemudahan”

~ QS. Asy-syarh: 6

Ku persembahkan sebuah karya sederhana untuk dua malaikat yang telah menghadirkan ku pada dunia ini dan untuk keluarga kecilku

Untuk seseorang yang telah menjadi imam di istana kecilku yang terus menuntunku kejalan yang benar dan selalu menjadi motivasi hidupku

Ayahanda tersayang : Drs Harun Nurrasyid

Untuk seseorang yang tak henti memberikan kasih sayangnya sepanjang waktu bahkan sebelum aku membukakan mata pertama kali hingga saat ini

ibunda tersayang : Gunarti SSI,MKES

Hanya karya kecil inilah yang mampu aku persembahkan untuk membalas semua kerja keras Ayah dan Ibu, hanya ini yang dapat kulakukan agar kalian bangga padaku.

Lantunan ayat suci dan do'a yang akan terus terucap dari bibirku agar keluarga kecilku tetap bahagia

Dengan Hormat

Arya Maulana Jatmiko

KATA PENGANTAR



Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Alhamdulillah rabbil'alam, segala puji bagi Allah SWT Tuhan Semesta Alam, yang telah melimpahkan rahmat, nikmat, hidayah, serta bimbingan-Nya hingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “**AKTIVITAS ANTIBAKTERI MINYAK ATSIRI DAUN SIRIH MERAH (*Piper crocatum*) TERHADAP BAKTERI *Eschericia coli* RESISTEN ANTIBIOTIK AMPISILIN**”. Skripsi merupakan salah satu syarat menyelesaikan program S1 Program Studi Farmasi Universitas Islam Indonesia Yogyakarta.

Pada kesempatan ini, penulis ingin mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya pada semua pihak yang telah membantu, mendorong dan membimbing penulis dalam menyelesaikan penyusunan skripsi sebagai berikut:

1. Bapak Hady Anshory T., M.Sc., Apt selaku Pembimbing Utama atas segala kesabaran, waktu, saran, sumbangan pikiran, arahan dan bimbingan dalam penyusunan skripsi dari awal hingga akhir.
2. Ibu Annisa Fitria.,M.Sc.,Apt selaku Pembimbing Pendamping atas segala kesabaran, waktu, saran, sumbangan pikiran, arahan dan bimbingan dalam penyusunan skripsi dari awal hingga akhir.
3. Bapak Tatang Shabur Julianto S.Si.,Msi selaku Dosen Penguji 1 atas saran dan masukan yang telah diberikan dalam penyusunan skripsi ini.
4. Dr.dr.Farida Juliantina Rachmawaty, M.Kes selaku Dosen Penguji 2 atas saran dan masukan yang telah diberikan dalam penyusunan skripsi ini
5. Bapak Drs. Allwar, M.Si., Ph.D selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.
6. Bapak Pinus Jumaryatno, S.Si., M.Phil., Ph.D., Apt selaku Ketua Program Studi Farmasi Universitas Islam Indonesia.

7. Dosen-dosen, staff farmasi UII, civitas akademika (Mas Kun dan kawan-kawan) dan seluruh karyawan FMIPA UII yang telah memberikan banyak sekali ilmu dan motivasinya
8. Laboran Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Islam Indonesia (Bapak Riyanto dan Mas Yon) dan Laboran Laboratorium Mikrobiologi-Parasitologi Farmasi Universitas Islam Indonesia (Mbak Naim) atas bantuan, kerjasama serta ilmunya.
9. Sahabat penulis Hary Ellianda. Terima kasih buat semua kenangan indah, canda tawa, sedih, untuk motivasi semangatnya dan setia dengar keluh kesah.
10. Terima kasih buat semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu atas doa, dukungan dan bantuan yang telah diberikan.

Tiada yang sempurna di dunia yang fana ini, penulis menyadari bahwa dalam penyusunan karya tulis ini masih jauh dari kata sempurna karena masih banyak kekurangan yang ada. Oleh karena itu, sangat diperlukan kritik dan saran yang membangun kepada penulis. Semoga Skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis, pembaca dan pengembangan ilmu pengetahuan khususnya di bidang kefarmasian.

Wassalamu'alaikum Wr.Wb.

Yogyakarta, Oktober 2016

Penulis,

Arya Maulana Jatmiko

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
INTISARI	xiii
ABSTRACT	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang Masalah	1
1.2. Perumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian	3
1.4. Manfaat Penelitian	3
BAB II STUDI PUSTAKA	4
2.1. Tinjauan Pustaka	4
2.1.1. Tanaman sirih merah (<i>Piper crocatum</i>)	5
2.1.2. Bakteri <i>Escherichia coli</i>	5
2.1.3. Destilasi Uap Air	11
2.1.4. Kromatografi Gas Spektrometri massa (KG-SM)	12
2.2. Landasan Teori	14
2.3. Hipotesis	15
BAB III METODE PENELITIAN	16
3.1. Bahan dan Alat	16
3.1.1. Bahan	16
3.1.2. Alat	16

3.1.3.	Tempat Penelitian	16
3.2.	Prosedur Penelitian	16
3.2.1.	Determinasi Tanaman	16
3.2.2.	Destilasi Minyak Atsiri Daun Sirih Merah	17
3.2.3.	Uji Aktivitas Anti Bakteri	17
3.2.3.1.	Persiapan untuk uji antibakteri	17
3.2.3.2.	Uji <i>Difusi Disk</i>	17
3.2.3.3.	Penentuan nilai KHM dan KBM dengan dilusi cair	18
3.2.4.	Identifikasi komponen Penyusun minyak atsiri dengan KG-SM	19
3.3.	Analisis hasil	19
3.4.	Skema Penelitian	20
BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN	21
4.1.	Hasil Determinasi Tanaman Sirih Merah	21
4.2.	Hasil Destilasi Daun Sirih Merah	21
4.3.	Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri dengan Metode Difusi	22
4.4.	Hasil Uji Antibakteri Minyak Atsiri dengan Metode Dilusi Cair	26
4.5.	Hasil Analisis Minyak Atsiri dengan GC-MS	29
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN	32
5.1.	Kesimpulan	32
5.2.	Saran	32
DAFTAR PUSTAKA	33
LAMPIRAN	37

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tanaman sirih merah.....	4
Gambar 2.2 <i>Escherichia coli</i> secara mikroskopik.....	6
Gambar 2.3 Mekanisme kerja antibiotik golongan penisilin	8
Gambar 2.4 Struktur <i>Escherichia coli</i>	8
Gambar 3.1 Skema penelitian	20
Gambar 4.1 Zona hambat minyak atsiri sirih merah.....	19
Gambar 4.2 Beberapa konsentrasi uji dilusi	27
Gambar 4.3 kultur uji dilusi	28
Gambar 4.4 Kromatogram GC.....	30
Gambar 4.5 <i>Sabinen</i>	30
Gambar 4.6 <i>Myrcene</i>	30
Gambar 4.7 <i>Piridine propanoic acid</i>	31
Gambar 4.8 <i>Linalol</i>	31
Gambar 4.9 <i>Cyclo butanen</i>	31
Gambar 5.0 <i>Trans caryopilen</i>	31

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Hasil zona hambat minyak atsiri	24
Tabel 4.2 Hasil kultur uji dilusi.....	29



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan rendemen, konsentrasi, dan media	39
Lampiran 2. Alat-alat yang digunakan.....	42
Lampiran 3. Determinasi Sirih Merah	45
Lampiran 4. Hasil analisis GC-MS	46



**AKTIVITAS ANTIBAKTERI MINYAK ATSIRI DAUN SIRIH MERAH
(*Piper crocatum*) TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* RESISTEN
ANTIBIOTIK AMPISILIN**

Arya Maulana Jatmiko

Prodi Farmasi

INTISARI

Antibiotik merupakan obat pilihan utama dalam mengatasi penyakit infeksi, terutama yang diakibatkan oleh bakteri. Salah satu bakteri yang diketahui mengalami resistensi terhadap antibiotik adalah *Escherichia coli*. Bakteri ini merupakan salah satu bakteri penyebab utama infeksi saluran cerna, saluran kemih, dan beberapa infeksi lainnya. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri minyak atsiri daun sirih merah (*Piper crocatum*) terhadap bakteri *Escherichia coli* resisten antibiotik Ampisilin serta profil komponen penyusunan minyak atsiri daun sirih merah berdasarkan analisis Kromatografi Gas-Spektrometri Massa. Hasil identifikasi komponen penyusun minyak atsiri menggunakan analisis Kromatografi Gas-Spektrometri Massa. Uji antibakteri dilakukan dengan metode difusi dengan variasi konsentrasi masing-masing minyak atsiri 2,5%, 5%, 10% dan 20%. Pengukuran nilai KHM dilakukan dengan metode dilusi konsentrasi minyak atsiri 5% , 2,5% , 1,25%, 0,625% dan 0,3125%(v/v) dengan pelarut DMSO, dilanjutkan dengan identifikasi komponen Penyusun minyak atsiri dengan KG-SM. Data hasil dianalisis dengan menghitung zona hambat dan identifikasi senyawa dalam minyak atsiri daun sirih merah yang aktif. Minyak atsiri sirih merah menunjukkan aktivitas antibakteri pada konsentrasi 2,5% dengan zona hambat sebesar 5,87 mm sampai konsentrasi 20% sebesar 13,1 mm. Minyak atsiri daun sirih merah memiliki konsentrasi hambat minimum (KHM) pada konsentrasi 1,25% dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) pada konsentrasi 2,5%. Komponen utama yang terdapat pada minyak atsiri daun sirih merah adalah *sabinene* (65,51%), *β-myrcene* (23,43%), *Pyridinepropanoic acid* (6,27%), *gamma-Terpinene* (0,46%), *Linalool* (1,43 %), *Cyclobutane* (0,32 %) ,dan *trans-Caryophyllene* (0,16 %).

Kata kunci : *Escherichia coli*, antibakteri, *diffusi disk*, minyak atsiri, sirih merah (*Piper crocatum*)

ANTIBACTERIAL ACTIVITY A *Piper crocatum* ESSENTIAL AGAINST AMPICILIN RESISTANT *Escherichia coli*

Arya Maulana Jatmiko

Departement of Pharmacy

ABSTRACT

Antibiotics are the drug of choice in dealing with infectious diseases, particularly those caused by bacteria. One of the bacteria known to develop resistance to antibiotics is *Escherichia coli*. This bacterium is a major cause of bacterial gastrointestinal infections, urinary tract, and some other infections. This study was conducted to determine the antibacterial activity of essential oil red betel (*Piper crocatum*) against *Escherichia coli* bacteria resistant to antibiotics ampicillin and the profiles of other components of essential oil based analysis Gas Chromatography-Mass Spectrometry. Results identification components essential oil using Gas Chromatography-Mass Spectrometry analysis. Antibacterial tests performed by disk diffusion method with various concentrations of each essential oil 2.5%, 5%, 10% and 20%. Measurements made with the MIC dilution method volatile oil concentration of 5%, 2.5%, 1.25%, 0.625% and 0.3125% (v/v) with the solvent DMSO, identification of constituent components of essential oils with GC-MS, data were analyzed by calculating the inhibition zone and identification compound in red betel leaf essential oil active. The essential oils showed antibacterial activity at concentrations of 2.5% with inhibition zone of 5.87 mm up to a concentration of 20% amounting to 13.1 mm. Essential oil has a minimum inhibitory concentration (MIC) at a concentration of 1.25% and a minimum bactericidal concentration (MBC) at a concentration of 2.5%. The main components contained in red betel leaf essential oil is *sabinene* (65.51%), β -*myrcene* (23.43%), *pyridinepropanoic acid* (6.27%), *gamma-terpinene* (0.46%), *linalool* (1.43%), *cyclobutane* (0.32%), and *trans-caryophyllene* (0.16%).

Keywords: *Escherichia coli*, antibacterial, *disk diffusion*, essential oil, red betel (*Piper crocatum*)

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Penyakit infeksi, terutama di sebabkan oleh bakteri, merupakan salah satu penyebab kematian terbesar di dunia⁽¹⁾. Antibiotik merupakan obat pilihan utama dalam mengatasi penyakit infeksi, terutama yang diakibatkan oleh bakteri. *World Health Organization* menyebutkan bahwa penemuan antibiotik baru selalu diikuti dengan resistensi terhadap antibiotik tersebut⁽²⁾.

Salah satu bakteri yang diketahui mengalami resistensi terhadap antibiotik adalah *Escherichia coli*. Bakteri ini merupakan salah satu bakteri penyebab utama infeksi saluran cerna, saluran kemih, dan beberapa infeksi lainnya. *Escherichia coli* dapat menghasilkan enzim β -laktamase (*Extended Spectrum β -lactamases*) yang dapat merusak antibiotik golongan β -laktam, seperti antibiotik golongan penisilin dan sefalosporin. Sehingga antibiotika tidak mempan terhadap bakteri *Escherichia coli*⁽³⁾.

Berdasarkan data AMRIN (*Antimicrobial Resistance in Indonesia*) diketahui *surveillance* pada tahun 2012 menunjukkan penurunan penggunaan dari antibiotik yang tidak tepat, tetapi tingkat kejadian resistensi bakteri *Escherichia coli* terhadap antibiotika golongan beta lactam (*Extended-Spectrum β -laktamase*) semakin meningkat dan mencapai 52%⁽⁴⁾. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan di Indonesia tahun 2007 dilaporkan bahwa 81% pasien yang dirawat di Rumah Sakit telah terinfeksi oleh bakteri *Escherichia coli* resisten antibiotik. Sedangkan pada masyarakat umum di luar Rumah Sakit, ditemukan 43% masyarakatnya terinfeksi oleh bakteri *Escherichia coli* yang menginfeksi pasien di Rumah Sakit maupun masyarakat umum diluar Rumah Sakit ternyata paling tinggi resistensinya terhadap *Escherichia coli* yakni dengan persentase berturut-turut sebesar 73% dan 34%⁽⁵⁾. Resistensi *Escherichia coli* terhadap antibiotik berdasarkan data di atas sangat tinggi.

Salah satu upaya untuk mengatasi masalah resistensi *Escherichia coli* terhadap antibiotik adalah dengan mencari alternatif pengganti antibiotik lain, salah satunya dengan melakukan eksplorasi dari bahan alam. Salah satu tanaman yang sejak lama diketahui memiliki aktivitas antibakteri adalah daun sirih merah (*Piper crocatum*).

Salah satu tanaman obat Indonesia yang akhir-akhir ini banyak dimanfaatkan adalah sirih merah (*Piper crocatum*). Skrining fitokimia terhadap daun sirih merah menunjukkan adanya kandungan minyak atsiri. Berdasarkan beberapa penelitian menunjukkan komponen minyak atsiri mempunyai aktivitas antibakteri yaitu dapat menghambat atau membunuh pertumbuhan bakteri patogen⁽⁶⁾. Daun sirih merah (*Piper crocatum*) adalah salah satu bahan alami yang mempunyai kemampuan sebagai antimikroba, karena kandungan 4,2% minyak atsiri sebagian besar terdiri dari betephenol yang merupakan isomer *euganol allypyrocatechine, cineol methil euganol, caryophyllen (siskuiteren), kavikol, kavibekol, estragol* dan *terpinen*⁽⁷⁾.

Bagian yang bisa digunakan sebagai obat adalah minyak astirinya, minyak astiri dari sirih merah ini juga diketahui memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli*^(8,9). Potensi aktivitas antibakteri daun sirih merah terhadap bakteri *Escherichia coli* cukup besar, namun aktivitasnya terhadap bakteri *Escherichia coli* yang telah resisten terhadap antibiotik belum diketahui, maka sangat mungkin dijadikan sebagai agen baru anti infeksi alternatif pengganti antibiotik. Oleh karena itu sangat penting dilakukan penelitian tentang aktivitas antibakteri minyak astiri daun sirih merah terhadap bakteri *Escherichia coli* resisten antibiotik.

1.2 Perumusan Masalah

1. Bagaimana aktivitas antibakteri minyak astiri daun sirih merah terhadap bakteri *Escherichia coli* resisten antibiotika Ampisilin?
2. Bagaimana profil komponen penyusunan minyak astiri daun sirih merah berdasarkan analisis Kromatografi Gas-Spektrometri massa?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui aktivitas antibakteri minyak astiri daun sirih merah terhadap bakteri *Escherichia coli* resisten antibiotika Ampisilin?
2. Mengetahui profil komponen penyusunan minyak astiri daun sirih merah berdasarkan analisis Kromatografi Gas-Spektrometri massa?

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah memberikan informasi tentang pemanfaatan dan data ilmiah tentang minyak astiri daun sirih merah sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli* resisten antibiotik, untuk selanjutnya dapat dikembangkan sebagai obat alternatif anti infeksi pengganti antibiotik terhadap *Escherichia coli* resisten antibiotik. Hasil penelitian ini juga dapat dimanfaatkan oleh mahasiswa, peneliti, maupun masyarakat sebagai ilmu pengetahuan tentang kemanfaatan bahan alam sebagai obat, khususnya manfaat daun sirih merah.

BAB II

STUDI PUSTAKA

2.1. Tinjauan Pustaka

2.1.1 Tanaman sirih merah (*Piper crocatum*)

a. Taksonomi

Tanaman sirih merah tumbuh menjalar seperti sirih hijau, batangnya bersulur dan beruas dengan setiap buku tumbuh bakal akar, daunnya bertangkai membentuk jantung dengan bagian atas meruncing, mempunyai warna yang khas yaitu permukaan atas hijau gelap berpadu dengan tulang daun berwarna merah hati keunguan, daun berasa pahit, berlendi, serta memiliki bau yang khas seperti sirih. Tanaman sirih merah biasanya tumbuh dengan baik di tempat yang teduh dan tidak terlalu banyak terkena sinar matahari agar warna merah daunnya tidak menjadi pudar, buram, dan kurang menarik⁽¹⁰⁾.

Klasifikasi sirih merah menurut Backer (1963) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Magnoliophyta
Class	: Magnolopsida
Order	: Piperales
Family	: Piperaceae
Genus	: <i>Piper</i>
Spesies	: <i>Piper crocatum</i> Ruiz & Pav



Gambar 2.1. Tanaman sirih merah (*Piper crocatum*)⁽⁹⁾

b. Habitat

Tanaman sirih menyukai tempat teduh, berhawa sejuk dengan sinar matahari 60-75%, dapat tumbuh subur dan bagus di daerah pegunungan. Bila tumbuh pada daerah panas, sinar matahari langsung, batangnya cepat mengering. Selain itu, warna merah daunnya akan pudar⁽¹¹⁾.

c. Kandungan Sirih Merah

Sirih merah mengandung flavonoid, alkaloid, senyawa polifenolat, tanun dan minyak astiri. Senyawa-senyawa tersebut diketahui memiliki sifat antibakteri.

d. Aktivitas antibakteri daun sirih merah

Berdasarkan beberapa penelitian menunjukkan komponen minyak astiri mempunyai aktivitas antibakteri yaitu dapat menghambat atau membunuh pertumbuhan bakteri pathogen. Minyak astiri daun sirih merah dari Srilanka mempunyai nilai KHM yaitu sebesar 5 mg/mL terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, 10 mg/mL terhadap bakteri *Staphylococcus epidermis*, mg/mL terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, 312 ug/mL terhadap bakteri *Escherichia coli*, $2,50 \times 10^3$ ug/mL terhadap *Streptococcus pyogenes*⁽¹²⁾. Minyak astiri daun sirih pada konsentrasi 50%, 25%, 12,5 % dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermis* dan *streptococcus agalactiae*, tetapi hanya dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 25% dan 50%⁽¹³⁾. Ekstrak etanol sirih merah mempunyai kemampuan antibakteri terhadap bakteri gram positif dan bakteri gram negative khususnya terhadap *Staphylococcus aureus* dengan KHM 25% dan *Escherichia coli* dengan KHM 6,25%⁽⁸⁾.

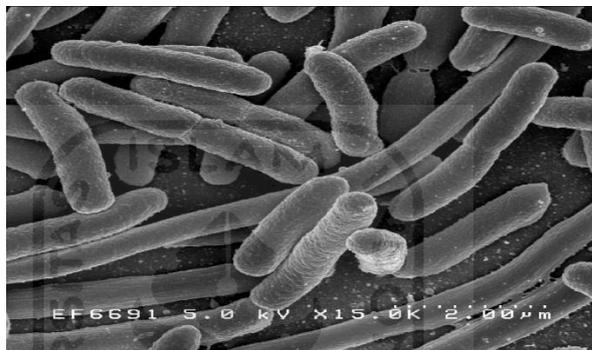
2.1.2 Bakteri *Escherichia coli*

a. Taksonomi

Escherichia coli merupakan penyebab yang paling lazim dari infeksi saluran kemih mulai dari sistitis sampai pielonefritis. Infeksi ini dapat terjadi akibat sumbatan saluran kemih karena adanya pembesaran prostat, batu dan kehamilan⁽¹⁴⁾.

Ciri-ciri Morfologi *Escherichia coli* antara lain⁽¹⁵⁾ :

- a. Bakteri gram negatif yang berbentuk batang
- b. Terdapat tunggal, berpasangan, dan dalam rantai pendek
- c. Pada umumnya tidak berkapsul
- d. Tidak berspora
- e. Motil atau non motil, peritrikus
- f. Aerobik, anaerobik fakultatif
- g. Berdiameter $\pm 1,1-1,5 \times 2,0-6,0 \mu\text{m}$



Gambar 2.2 *Escherichia coli*⁽⁵⁰⁾

Taksonomi *Escherichia coli* adalah sebagai berikut:

Divisi	: Protophyta
Kelas	: Schizomycetes
Ordo	: Eubacteriales
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Spesies	: <i>Escherichia coli</i>

b. Sifat dan media tumbuh

Escherichia coli dapat tumbuh pada medium yang sederhana seperti media *Muller Hilton*, *Trypticase Soy Agar*, dan *Trypton Soy Agar*. Bakteri ini dapat memfermentasikan laktosa dalam menghasilkan asam dan gas. Kecepatan perkembang biakannya adalah pada interval 20 menit jika faktor media, suhu, dan derajat keasaman tetap sesuai. Bakteri ini dapat tumbuh pada suhu 8°- 46°C, namun dapat tumbuh optimum pada suhu 37°C⁽¹⁵⁾.

c. Penyakit yang ditimbulkan

Escherichia coli bersifat pathogen apabila melebihi jumlah normalnya. *Escherichia coli* yang berada diluar pencernaan bisa seberbahaya di habitatnya yaitu saluran pencernaan atau menjadi pathogen yang serius ketika masuk aliran darah, cairan cerebrospinal atau saluran kemih. Berikut ini penyakit yang dapat ditimbulkan *Escherichia coli*⁽¹⁵⁾;

1) Infeksi Saluran Kemih

Escherichia coli yang berasal dari feses ataupun daerah periuretral merupakan penyebab utama infeksi saluran kemih. Setelah melakukan kolonisasi di daerah periuretral, bakteri ini bisa naik ke saluran kemih melalui uretra ataupun dari cateter dan menginfeksi kandung kemih. Kemudian bakteri ini dapat berkembang biak dan naik melalui ureter dan menginfeksi ginjal.

2) Bacteriemia dan Meningitis

Escherichia coli merupakan salah satu bakteri Gram negatif yang sering menyebabkan bakterimia pada manusia, dengan menginfeksi aliran darah. Beberapa penelitian menyebutkan bahwa ada keterkaitan antara bakterimia dengan perkembangan penyakit meningitis. Bakteri yang ada di aliran darah dapat masuk ke otak, menembus sawar darah otak dan menginfeksi selaput otak tersebut.

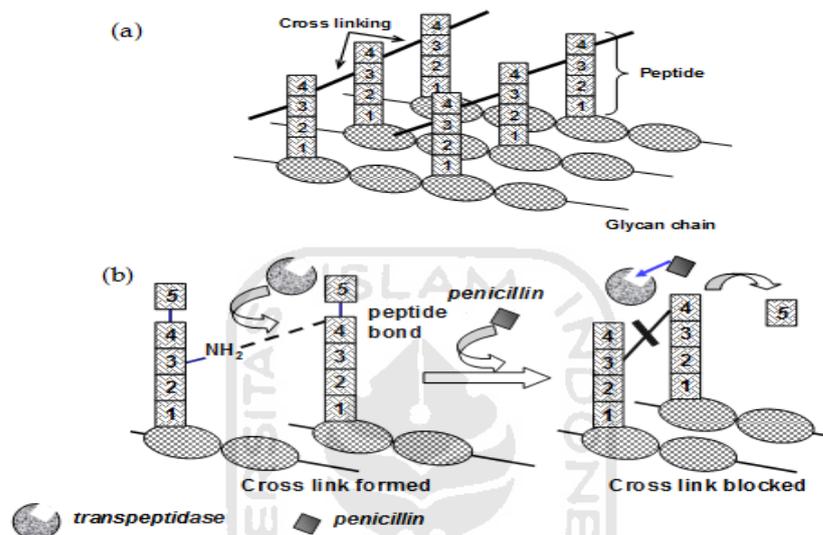
3) *Escherichia coli* pathogen pada saluran pencernaan

Jumlah *Escherichia coli* yang tidak melebihi batas normalnya di saluran pencernaan dapat menyebabkan beberapa masalah yang serius. *Escherichia coli* dapat menginfeksi barrier usus sehingga mobilitas usus menjadi berkurang.

d. Terapi antibiotik

Pemilihan antibiotik yang tepat untuk infeksi *Escherichia coli* tergantung pada tempat, tipe dan keparahan infeksi. Pilihan utama infeksi-infeksi karena *Escherichia coli* adalah ampisilin⁽¹⁶⁾. Golongan antibiotik β -laktam dalam hal ini ampisilin bekerja dengan cara menghambat pembentukan dinding sel bakteri. Dinding dan membran sel *Escherichia coli* tersusun atas

lipid bilayer dan membran plasma, Diantara membran lipid bilayer, terdapat peptide (*peptidoglycan*) dan ikatan peptida membentuk lapisan kaku untuk menyusun dinding sel. Mekanisme kerja ampisilin adalah dengan mengganggu aktivitas *transpeptidase*, yang kemudian mengganggu pertumbuhan dan poliferasi sel⁽¹⁷⁾.



Gambar 2.3. Mekanisme kerja antibiotik golongan penisilin⁽¹⁷⁾

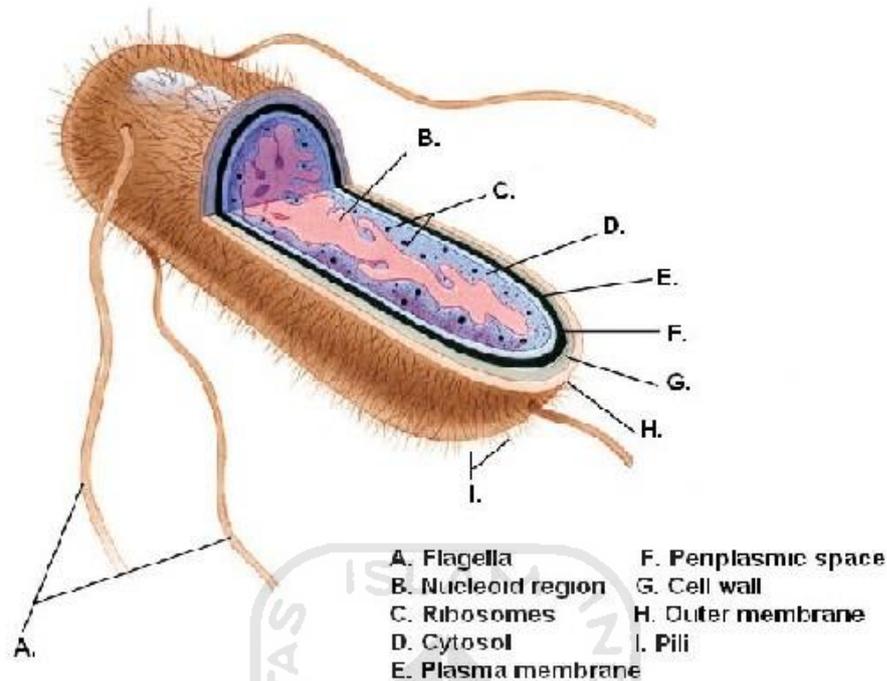
Akibat penggunaan antibiotika yang kurang bijaksana dibanyak negara semakin banyak bakteri yang menjadi resisten terhadap antibiotik. Khususnya antibiotik yang ternyata lebih sering mengakibatkan timbulnya resistensi dari *basil coli* adalah ampisilin⁽¹⁸⁾. *Escherichia coli* resisten dapat terjadi untuk lebih dari 1 obat antimikroba seperti yang paling umum adalah ampisilin⁽¹⁹⁾. Untuk mengatasi *Escherichia coli* yang resisten dapat menggunakan antibiotik siprofloksasin, dari penelitian tersebut menunjukkan bahwa siprofloksasin mendominasi pada populasi yang resisten terhadap *Escherichia coli*⁽²⁰⁾. Siprofloksasin adalah [antibiotik spektrum luas](#) aktif terhadap [gram positif](#) dan [gram negatif](#) bakteri. Ini berfungsi dengan menghambat [girase DNA](#), tipe II [topoisomerase](#), dan topoisomerase IV, enzim yang diperlukan untuk memisahkan DNA bakteri, sehingga menghambat pembelahan sel⁽²¹⁾.

e. *Escherichia coli* resisten antibiotik

Berdasarkan penelitian yang dilakukan di Indonesia bahwa *Escherichia coli* resisten terhadap antibiotik seperti tetrasiklin, kloramfenikol, β -laktam, trimetropim/sulfametoksazol dan asam nalidiksat, yang dilakukan oleh Duerink *et al.* Tahun 2007 pada 781 pasien yang dirawat di rumah sakit dr. Soetomo Surabaya didapatkan hasil bahwa 81% pasien di Rumah Sakit tersebut terinfeksi *Escherichia coli* resisten terhadap satu atau lebih antibiotik. *Escherichia coli* resisten antibiotik Ampisilin sekitar 73%, diikuti dengan resisten terhadap Trimethoprim/Sulfamethoxazol 56%, kloramfenikol 43%, siprofloxacin 22% dan gentamicin 18%. Sedangkan pada komunitas ditemukan 43% dari 2996 populasi mengalami infeksi *Escherichia coli* resisten yaitu resisten terhadap Ampisilin sekitar 34%, pada trimethoprim 29% dan pada kloramfenikol 15%⁽⁵⁾.

Resistensi pada ampisilin disebabkan oleh ekspresi gen, yaitu gen pengkode betalaktamase yang berlokasi pada kromosom bakteri gram negatif. Gen ini mengkode enzim betalaktamase yang menginaktivasi cincin betalaktam ampisilin dengan cara menghidrolisis cincin betalaktam tersebut, sehingga menjadi resisten terhadap ampisilin.

Resistensi ampisilin dapat juga disebabkan oleh ekspresi gen pengkode betalaktamase yang terdapat pada plasmid. Plasmid adalah elemen genetik ekstrakromosom yang bereplikasi secara otonom. Plasmid membawa gen pengkode resisten antibiotik, salah satunya adalah ampisilin. Resistensi yang diperantai oleh plasmid adalah resistensi yang umum ditemukan pada isolat klinik. Gen yang berlokasi pada plasmid lebih mudah pindah jika dibandingkan dengan gen yang berlokasi pada kromosom, sehingga gen resistensi yang berlokasi pada plasmid dapat ditransfer dari satu bakteri ke bakteri yang lain^(22,23). Mekanisme resistensi *Escherichia coli* terhadap antibiotik ampisilin ini kemungkinan besar terjadi karena bakteri dapat mensintesis suatu enzim β -laktamase yang bisa menghancurkan struktur β -laktam antibiotik. Sehingga antibiotik ampisilin terdegradasi⁽²⁴⁾.



Gambar 2.4. *Escherichia coli*

Beberapa faktor yang dapat menyebabkan resistensi bakteri terhadap antibiotik, antara lain⁽³⁾ :

- a) Penggunaannya yang tidak tepat
- b) Pengetahuan yang salah tentang pemberian antibiotik dalam penanganan penyakit meskipun disebabkan oleh virus.
- c) Peresapan dalam jumlah besar, meningkatkan *unnecessary health care expenditure* dan seleksi resistensi terhadap obat-obatan baru.
- d) Penggunaan monoterapi pada beberapa kasus infeksi yang berat.
- e) Dalam jumlah besar antibiotik digunakan sebagai suplemen rutin untuk profilaksis atau merangsang pertumbuhan hewan ternak.
- f) Promosi komersial dan penjualan besar-besaran oleh perusahaan farmasi.
- g) Pengawasan : lemahnya pengawasan yang dilakukan pemerintah dalam distribusi dan pemakaian antibiotika.

Escherichia coli top 10 ini, disisipi dengan gen resisten ampisilin pBR322. Adanya penyisipan plasmid pBR322 membuat *Escherichia coli* tersebut dapat

mengkode enzim β -laktamase inilah yang bertanggung jawab dalam degradasi struktur β -laktam ampisilin. Adapun genotip dan fenotip dari *Escherichia coli* DH10b resisten ampisilin adalah sebagai berikut :

Genotip : F-mrcA Δ (mrr-hsdRMS-mcrBC) ϕ 80lacZ Δ M15 Δ lacX74 recA1 araD139 Δ (ara-leu)7697 galU galK rpsL (StrR) endA1 nupG

Fenotip : ampisilin resisten

Jenis *Escherichia coli* yang digunakan pada penelitian ini adalah *Escherichia coli* top 10 yang telah disisipi gen resisten ampisilin. *Escherichia coli* top 10 merupakan strain *Escherichia coli* DH10b, umumnya dipakai untuk kloning termetilasi pada sekuen DNA. *Escherichia coli* DH10b dirancang untuk propagasi pemasukan DNA kloning yang besar. Keuntungan penggunaan strain ini adalah efisiensi transformasi DNA yang tinggi dan dapat digunakan untuk plasmid yang besar⁽²⁵⁾.

2.1.3 Destilasi Uap Air

Minyak atsiri merupakan bahan yang bersifat mudah menguap (volatil). Ekstraksi adalah suatu cara untuk mendapatkan minyak atau lemak dari bahan yang diduga mengandung minyak atau lemak. Salah satu cara untuk mengisolasi minyak atsiri dari bahan tanaman penghasil minyak atsiri adalah dengan penyulingan, yaitu pemisahan komponen yang berupa cairan dua macam campuran atau lebih berdasarkan perbedaan titik didih. Destilasi merupakan teknik pemisahan yang didasari atas perbedaan titik didih dari masing-masing zat penyusun dari campuran homogen⁽²⁶⁾.

Pada metode destilasi uap dan air, bahan yang akan digunakan diletakkan diatas plat besi berlubang yang terletak beberapa sentimeter diatas permukaan air. Kemudian air direbus hingga mendidih dan uap yang terbentuk akan melalui plat besi berlubang untuk melewati celah-celah bahan. Uap panas bersama minyak atsiri akan melalui pipa menuju kondensor dan akan mengembun, kemudian ditampung dalam tangki pemisah⁽²⁷⁾. Penyulingan dengan cara ini memakai alat semacam dandang. Simplisia diletakkan diatas bagian yang berlubang-lubang sedangkan air lapisan bawah. Uap dialirkan melalui pendingin dan sulingan

ditampung, minyak yang diperoleh belum murni. Cara ini baik untuk simplisia basah atau kering yang dapat dirusak oleh pemanasan⁽²⁸⁾. Keuntungan menggunakan sistem penyulingan ini adalah karena uap berpenetrasi secara merata dalam jaringan bahan dan suhu dapat dipertahankan sampai 100°C. Rendemen minyak lebih besar dan mutunya lebih baik jika dibandingkan dengan minyak hasil penyulingan dengan air, dan bahan yang disuling tidak dapat menjadi gosong⁽²⁹⁾. Hidrolisa hampir tidak terjadi, sehingga kualitas minyak atsiri yang diperoleh cukup baik. Kerugian dengan cara ini adalah hanya minyak dengan titik didih lebih rendah dari air yang dapat tersuling sehingga penyulingan tidak sempurna⁽²⁸⁾.

Von Rechenberg menggambarkan proses hidrodifusi pada penyulingan tanaman, sebagai berikut : pada suhu air mendidih, sebagian kelenjar minyak atsiri akan larut dalam air yang terdapat dalam kelenjar. Campuran minyak atsiri dalam air ini akan berdifusi keluar dengan peristiwa osmosis, melalui selaput membran yang sedang mekar sampai dipermukaan bahan, dan selanjutnya membran yang sedang mekar sampai dipermukaan bahan, dan selanjutnya menguap. Untuk mengganti minyak yang diuapkan ini, sejumlah minyak masuk ke dalam larutan dan menembus membran sel secara bersamaan dengan masuknya air. Kelebihan metode ini adalah waktu yang dibutuhkan relatif singkat, penetrasi uap akan merata ke dalam jaringan bahan, rendemen minyak lebih besar, kualitas minyak atsiri lebih baik daripada destilasi air⁽²⁷⁾.

2.1.4 Kromatografi Gas Spektrometri massa (GC-MS)

Penelitian mengenai komponen minyak atsiri telah pernah dilakukan oleh peneliti sebelumnya karena khasiat dan kegunaan minyak atsiri ini, untuk mengetahui kandungan minyak atsiri dari daun sirih merah yang hasilnya akan diperoleh dengan analisis struktur dengan kromatografi gas dan spektrum massa (GC-MS) maka dalam hal ini digunakan kromatografi gas spektrum massa karena minyak atsiri bersifat mudah menguap.

Kromatografi didefinisikan sebagai prosedur pemisahan zat terlarut menggunakan dua fase yaitu fase diam (*stationary phase*) dan fase gerak (*mobile*

phase), pemisahan tergantung pada gerakan relatif dari dua fase ini. Pada kromatografi gas, fase geraknya berupa gas dan fase diamnya dapat berupa cairan atau zat padat. Jika fase diamnya berupa cairan maka disebut sebagai *Gas Liquid Chromatography* (GLC) dan jika fase diamnya berupa padatan disebut sebagai *Gas Solid Chromatography* (GSC)⁽³⁰⁾.

Kromatografi gas dalam pelaksanaannya digunakan baik untuk analisis kualitatif maupun kuantitatif. Analisa kualitatif berarti penentuan sifat-sifat dari suatu komponen atau campuran dari komponen, sedangkan analisa kuantitatif berarti penentuan jumlah dari suatu komponen atau komponen-komponen dalam suatu campuran⁽³⁰⁾.

Spektroskopi massa adalah suatu metode analisis instrumental yang dipakai untuk identifikasi dan penentuan struktur dari komponen sampel dengan cara menunjukkan massa relatif hasil pecahnya. Pemakaian spektroskopi massa secara tersendiri antara lain ditunjukkan untuk penentuan spektrum molekul, pembuktian isotop-isotop stabil dalam penelitian reaksi-reaksi biologi, dan analisis kualitatif dan kuantitatif terhadap komponen yang telah diisolasi dan dimurnikan⁽³¹⁾.

Proses yang terjadi pada spektroskopi massa adalah pertama, ionisasi molekul, yang mana akan membentuk hasil ionisasi bermuatan positif, kedua, mempercepat ion positif melalui medan magnet, ketiga, pemisahan ion berdasarkan perbandingan massanya terhadap muatan (m/e), dan yang keempat, identifikasi dan registrasi ion. Asas spektroskopi massa adalah penembakan molekul dengan elektron yang berkekuatan tertentu dan molekul tersebut akan terpecah sesuai dengan aturan dan terjamin keterulangannya serta teramalkan, Spektroskopi massa secara kuantitatif mencatat hasil penembakan tersebut sebagai suatu spektrum fragmen ion positif. Catatan ini disebut spektrum massa⁽³¹⁾. Kromatografi gas-spektrofotometri massa adalah perpaduan dua instrumen analisis dengan teknik yang berbeda. Kromatografi gas merupakan teknik pemisahan selektif yang banyak dipakai pada konsep teknik analisis terpadu yang difungsikan untuk pemisahan senyawa-senyawa organik maupun anorganik, sedangkan spektrofotometri massa merupakan teknik spesifik yang

akan memberikan data spesifik mengenai bermacam-macam senyawa yang telah dipisahkan oleh kromatografi. Setiap titik waktu pada kromatogram yang merupakan hasil pemisahan senyawa-senyawa akan diterjemahkan spektrumnya oleh spektrofotometri massa dengan metode matematika dari *Gram dan Ischimidt*, dengan teknik perbandingan ortonormalisasi antara vektor spektrum sampel dan refren standar⁽³¹⁾.

2.2 Landasan teori

Tanaman sirih merah (*Piper crocatum*) secara empiris dikenal memiliki khasiat untuk mengobati berbagai jenis penyakit. Secara ilmiah tumbuhan ini diketahui memiliki aktivitas antibakteri. Senyawa fitokimia yang terdapat pada minyak atsiri diantaranya alkaloid, minyak atsiri, saponin, tanin dan flavonoid. Senyawa alkaloid mempunyai aktivitas antibakteri dengan menghambat esterase, DNA, RNA polimerase, dan respirasi sel serta berperan dalam interkalasi DNA⁽⁵¹⁾. Komponen utama yang terdapat pada minyak atsiri daun sirih merah yaitu *sabinene, myrcene, linalool, caryophyllene, dan germacrene*⁽⁴⁷⁾.

Minyak atsiri daun sirih merah diisolasi menggunakan metode destilasi uap dan air dan dianalisis menggunakan kromatografi gas spektrum massa. Metode destilasi uap dan air dapat menghasilkan minyak atsiri dengan kualitas yang lebih baik dari pada minyak atsiri yang dihasilkan menggunakan metode destilasi air. Minyak atsiri yang dihasilkan akan dikombinasikan dengan antibiotik ampisilin. Ampisilin adalah antibiotik golongan penisilin yang memiliki spektrum antibiotik yang luas, dapat digunakan untuk gram positif dan gram negatif.

Pada tahun 2010 telah dilakukan penelitian untuk melihat aktivitas minyak atsiri sirih merah terhadap *Eschericia coli*. Dalam penelitian sebelumnya dikatakan bahwa minyak atsiri sirih merah aktivitas kerja minyak atsiri sirih merah 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⁽⁹⁾.

2.3 Hipotesis

1. Minyak atsiri daun sirih merah memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* resisten antibiotik Ampisilin.
2. Minyak atsiri daun sirih merah (*Piper crocatum*) memiliki senyawa utama *sabinene, myrcene, linalool, caryophyllene, dan germacrene* .



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Bahan dan Alat

3.1.1 Bahan

- a. Bahan utama : daun sirih merah
- b. Bahan untuk uji aktivitas uji antibakteri : bakteri *Escherichia coli* resisten antibiotik Ampisilin, antibiotik Ampisilin, Aquadest, media *Trypton Soya Agar*, media *Trypton Soya Broth*, DMSO (*Dimetil Sulfoxida*), NaCl steril, standart McFarland.

3.1.2 Alat

- a. Alat untuk destilasi: seperangkat alat destilator uap-air
- b. Alat untuk uji difusi dan dilusi : incubator (Memert), LAF (*Laminar Air Flow*), oven, microwave, *paper disk*, autoklaf, lemari pendingin, bunsen, ose, mikro pipet, cawan petri, kapas, dan perangkat gelas
- c. Kromatografi gas-Spektrometer massa

3.1.3 Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di laboratorium mikrobiologi farmasi dan biologi farmasi FMIPA Universitas Islam Indonesia

3.2 Prosedur Penelitian

3.2.1 Determinasi tanaman sirih merah

Tanaman sirih merah diambil dari perkebunan bibit toga yang berlokasi di Kentungan, Sleman, Yogyakarta. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Taksonomi Tanaman, Fakultas Biologi Universitas Gajah Mada.

3.2.2 Destilasi Minyak Atsiri Daun Sirih Merah

Daun sirih yang sudah dipotong masing-masing sebanyak 2 kg, dimasukkan kedalam dandang yang telah diisi air. Alat destilasi uap air kemudian dirangkai dengan merangkaikan pendingin (kondensor). Dandang kemudian dipanaskan dan dijaga agar tidak menggunakan temperature yang tinggi. Air dialirkan ke kondensor dan dijaga agar air terus mengalir, sehingga minyak yang menguap semuanya terembunkan dan tidak lepas ke udara

Destilat yang diperoleh merupakan campuran minyak dengan air yang selanjutnya dipisahkan. Minyak atsiri yang didapat kemudian ditampung dalam tabung reaksi dan dicentrifuge dengan kecepatan 4500 rpm selama 10 detik. Centrifuge digunakan untuk memisahkan minyak atsiri dengan air yang masih tersisa. Minyak atsiri murni kemudian disimpan dalam botol kaca gelap untuk menghindari minyak atsiri teroksidasi.

3.2.3 Uji aktivitas anti bakteri

3.2.3.1 Persiapan bakteri uji

Bakteri uji yang digunakan untuk pengujian aktivitas anti bakteri daun sirih merah adalah *Escherichia coli* resisten Ampisilin. Terlebih dahulu disegarkan dalam media *Trypton Soya Agar*, *Trypton Soya Broth* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 jam⁽⁴⁾, yang diambil dari stok *Escherichia coli* resisten ampisilin.

3.2.3.2 Uji difusi disk

Pengujian aktivitas anti bakteri dilakukan dengan menggunakan metode *disk diffuse*. Suspensi inoculum bakteri yang berusia 18-24 jam ditambahkan NaCl steril hingga kekeruhan tertentu sesuai dengan

standard McFarland 0,5. Media *Trypton Soy Agar* disiapkan dengan menimbang beberapa gram media *Trypton Soy Agar* dan melarutkannya dalam Aquades steril lalu di *microwave* dan disterilisasi menggunakan *autoclave*. Stok antibiotik ampisilin kemudian ditambahkan sebanyak kedalam campuran media *Trypton Soy Agar* saat media sudah tidak terlalu panas. Campuran tersebut kemudian digojok hingga antibiotik ampisilin merata. Selanjutnya dituang campuran tersebut kedalam petri disk steril dan biarkan kurang lebih 18 jam. Bakteri yang telah disiapkan kemudian dituang diatas media sebanyak 100 μ L dan diratakan menggunakan ose. Setiap petri disk diisi menggunakan paper disk masing-masing konsentrasi minyak atsiri daun sirih merah dengan beberapa konsentrasi yaitu 20%, 10%, 5%, 2,5%, kontrol positif antibiotik siprofloksasin, kontrol negatif antibiotik ampisilin dan blanko yang berisi pelarut, beberapa konsentrasi minyak, dan pelarut dituang dalam *Paper disk* dan dibiarkan hingga benar-benar kering⁽³⁴⁾. Selanjutnya diinkubasi dalam inkubator suhu 37°C selama 24 jam⁽⁴⁾.

3.2.3.3 Penentuan nilai KHM dan KBM dengan dilusi cair

Hasil pengujian sirih merah yang aktif dari beberapa konsentrasi minyak tersebut, diuji lebih lanjut dengan menggunakan metode dilusi cair. Tujuan dilakukannya dilusi cair adalah untuk mengetahui konsentrasi hambat minimum dari masing-masing minyak. Disiapkan bakteri yang sesuai dengan 0.5 standart McFarland (10^8 CFU/ml). Beberapa seri konsentrasi minyak atsiri disiapkan, yaitu 5%, 2,5%, 1,25%, 0,625% dan 0,3125% v/v dengan pelarut sesuai. Kemudian ditambahkan 1 ml bakteri kedalam masing-masing seri antibiotik. Kontrol positif yang digunakan adalah siprofloksasin, antibiotik golongan quinolone yang tidak memiliki struktur cincin β -lactam. Kontrol negative yang dilakukan dengan menambahkan bakteri tanpa antibiotik. Sedangkan untuk kontrol media hanya berisi media

saja. Selanjutnya dilakukan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Konsentrasi hambat minimum merupakan konsentrasi paling kecil yang dapat menghambat perkembangan mikroorganisme dan tidak menunjukkan pertumbuhan^(33,34,35). Selanjutnya untuk menentukan KBM, seluruh tabung diuji pertumbuhannya dengan cara dari masing-masing tabung diambil 1 ose dan ditanam pada media agar. Semua biakan tersebut diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37°C. Setelah diinkubasi selama 24-48 jam maka dapat dibaca hasilnya⁽³⁶⁾.

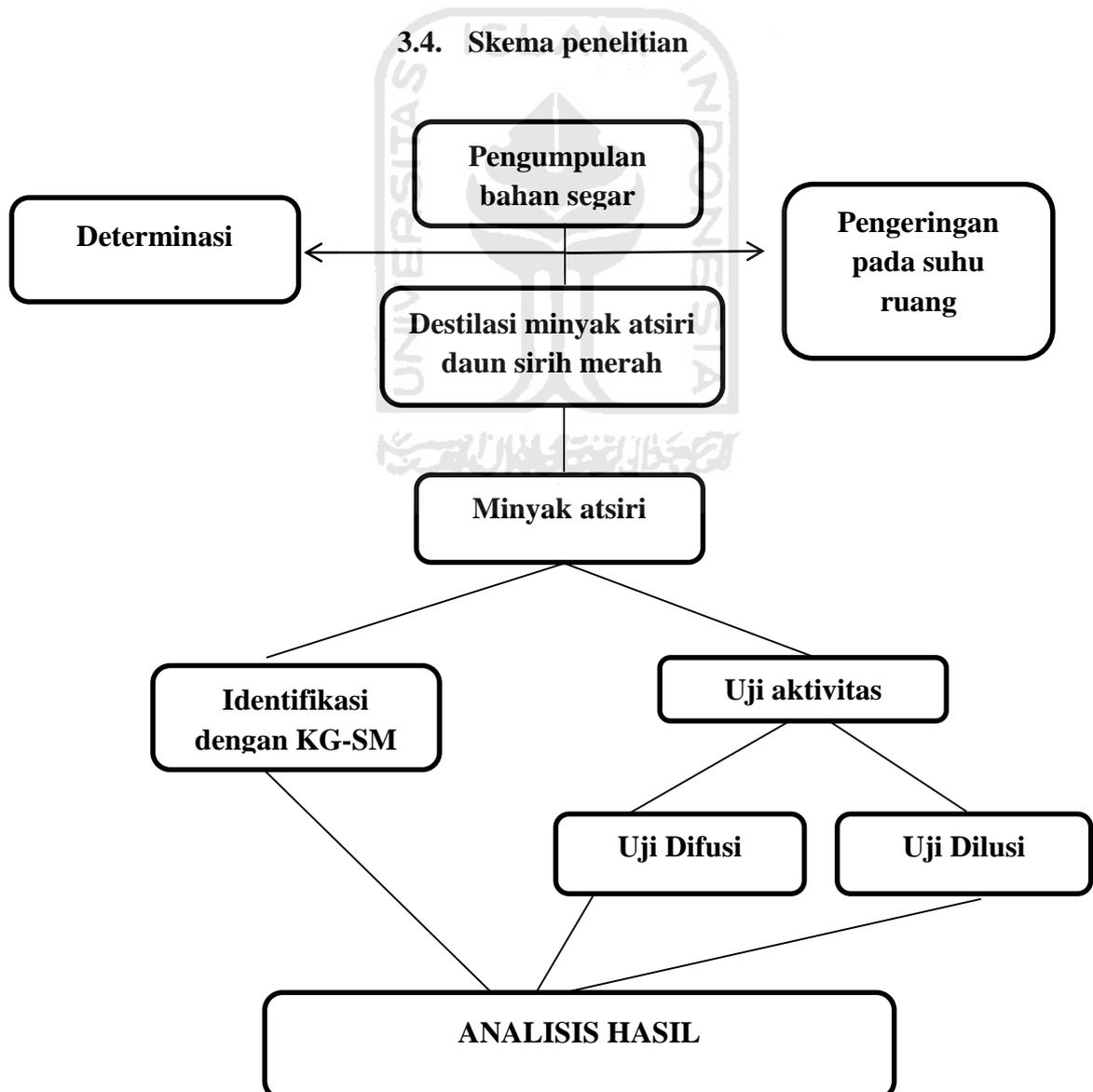
3.2.4. Identifikasi komponen Penyusun minyak atsiri dengan KG-SM

Identifikasi komponen penyusun minyak atsiri menggunakan analisis kromatografi gas spektrum massa, dimana 1 µL sampel diinjeksikan kedalam tempat injeksi. Uap cuplikan ini kemudian dibawa oleh gas pembawa masuk ke dalam kolom. Selanjutnya kolom akan memisahkan komponen-komponen minyak atsiri dan akan di deteksi oleh detektor, maka dihasilkan spektrum massa. Berikut ini kondisi analisis kromatografi gas spektrum massa

Volume injeksi : 0,1 µL
Fase gerak : Helium
Fase diam : RTX-5MS
Suhu injektor : 250°C
Suhu detektor MS : 200°C
Suhu kolom : 60-300°C dengan kecepatan 10°C/menit
Laju alir gas : 0,75 mL/menit
Bank data : Willey

3.3. Analisis Hasil

Analisis dilakukan dengan uji aktivitas menggunakan metode difusi, dilusi dan kromatografi gas spektrum massa. Konsentrasi yang semakin tinggi menunjukkan semakin tinggi daya hambat minyak atsiri terhadap bakteri. Konsentrasi minyak atsiri sirih merah yang tidak menunjukkan pertumbuhan bakteri dinyatakan sebagai konsentrasi yang mampu membunuh bakteri uji. Golongan senyawa dalam minyak atsiri daun sirih merah yang aktif dapat diamati menggunakan Kromatografi Gas Spektrometri Massa.



HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil Determinasi Tanaman Sirih Merah

Determinasi tanaman dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kebenaran identitas tanaman yang digunakan dalam penelitian. Tanaman Sirih Merah diambil dari Bibit Toga yang berlokasi di Kentungan km 5, Sleman, Yogyakarta. Bagian yang diambil pada tanaman sirih merah ini adalah bagian daun. Determinasi tanaman Sirih merah dilakukan di laboratorium Sistemika Tumbuhan Fakultas Biologi UGM .

Berdasarkan hasil determinasi dinyatakan bahwa tanaman yang diteliti adalah *Piper Crocatum* atau Sirih merah, sehingga tanaman yang telah dilakukan determinasi tersebut dapat digunakan sebagai sampel untuk penelitian pada tahap selanjutnya dengan mengambil bagian yang telah ditentukan.

4.2. Hasil Destilasi Daun sirih Merah

Bagian tanaman yang digunakan pada penelitian ini adalah bagian daun. Daun sirih merah yang telah dipetik kemudian dicuci bersih dan dikeringkan pada suhu kamar selama ± 1 hari. Proses pengeringan daun bertujuan untuk mengurangi kadar air pada daun, baik air yang menempel pada permukaan maupun air sel yang terdapat di dalam daun. Daun sirih merah yang telah layu dirajang menjadi beberapa bagian. Pengecilan ukuran bahan bertujuan untuk mempersingkat waktu destilasi. Perajangan dilakukan setelah proses pelayuan untuk menghindari penguapan minyak.

Metode destilasi yang digunakan adalah destilasi uap dan air. Daun yang telah dirajang kemudian dimasukkan kedalam ketel. Destilasi dilakukan selama ± 8 jam. Minyak atsiri yang didapat kemudian ditampung dalam tabung reaksi dan disentrifus dengan kecepatan 4500 rpm selama 10 detik. sentrifus digunakan untuk memisahkan minyak atsiri dengan air yang masih tersisa. Minyak atsiri murni kemudian disimpan dalam botol kaca gelap untuk menghindari minyak atsiri teroksidasi.

Daun sirih merah yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 2 kg dan menghasilkan rendemen minyak atsiri sebanyak 0,27% v/b. Hasil ini berbeda jauh dengan hasil penelitian sebelumnya dimana kadar minyak atsiri daun sirih merah yang berasal dari Magelang. Pada penelitian ngaisih (2010) minyak atsiri daun sirih merah menghasilkan rendemen sebesar 0,727% v/b. Perhitungan persen rendemen dilakukan untuk mengetahui perbandingan daun sirih merah yang dipakai dengan hasil minyak atsiri yang diperoleh. Persen rendemen minyak atsiri dapat 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.

4.3. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri dengan Metode Difusi

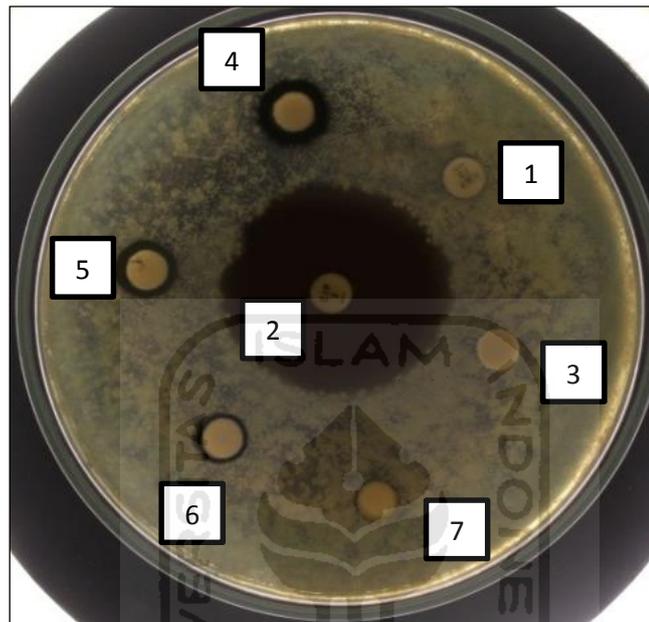
Uji difusi disk merupakan uji pendahuluan untuk mengetahui aktivitas Minyak atsiri daun sirih merah yang aktif terhadap *Escherichia coli* resisten Ampisilin. Bakteri *Escherichia coli* yang digunakan merupakan bakteri *Escherichia coli* DH10b yang telah disisipi gen resisten Ampisilin. Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dilakukan dengan metode dilusi cair. Indikator dari uji dilusi ini berupa kekeruhan atau kejernihan pada hasil dilusi. Semakin keruh suatu sampel maka tingkat pertumbuhan bakterinya semakin banyak, sebaliknya jika sampel semakin jernih maka dapat dipastikan tingkat pertumbuhan bakterinya semakin sedikit. Bakteri *Escherichia coli* resisten Ampisilin yang digunakan merupakan bakteri yang dapat mensintesis enzim β -laktamase yang bisa mendegradasi struktur cincin β -laktam antibiotik golongan β -laktam^(39,40), seperti: antibiotik golongan penisilin, sefalosporin, dan lain-lain⁽¹⁶⁾. Metode difusi disk banyak dipilih karena *reliable*, *flexible*, biaya rendah dan sederhana⁽⁴¹⁾, selain itu hasil zona hambat yang didapatkan lebih jelas dibandingkan dengan metode sumuran

variasi konsentrasi menyebabkan perbedaan diameter hambat pada masing–masing bakteri uji. Aktivitas antibakteri minyak atsiri pada konsentrasi 20%,

10%,5% 2,5%. 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.

Konsentrasi masing-masing minyak atsiri yang digunakan pada penelitian ini adalah 20%,10%,5%,2,5%. Semua media yang digunakan dalam uji ditambahkan injeksi antibiotik Ampisilin, hal ini dilakukan untuk memastikan bakteri yang tumbuh dalam media adalah bakteri yang telah resisten Ampisilin. Kontrol positif yang digunakan adalah golongan antibiotik yang tidak memiliki cincin β -lactam, pada penelitian ini digunakan antibiotik golongan kuinolon yaitu Siprofloksasin. Tujuan penggunaan kontrol positif adalah sebagai pembanding hasil positif pada uji yang dilakukan, ditunjukkan dengan adanya zona hambat. Kontrol negatif pada penelitian ini adalah antibiotik yang telah mengalami resistensi terhadap bakteri yang diteliti, yaitu antibiotik Ampisilin. Tujuan digunakan kontrol negatif adalah sebagai pembanding hasil negatif pada uji yang dilakukan, dilihat dengan tidak adanya zona hambat. Kontrol blanko yang digunakan adalah pelarut yang dapat melarutkan minyak atsiri sirih merah. Kontrol blanko yang digunakan adalah DMSO 5%. Tujuan penggunaan kontrol blanko adalah untuk memastikan pelarut yang digunakan tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji. Hasil uji terhadap kontrol positif Siprofloksasin 5 μ g menunjukkan penghambatan pada bakteri dengan zona hambat rata-rata sebesar 46,5 mm, hal ini dikarenakan Siprofloksasin tidak memiliki struktur cincin β -laktam sehingga mekanisme resistensi bakteri tidak mempengaruhi kerja Siprofloksasin⁽¹⁶⁾. Sedangkan hasil kontrol negatif Ampisilin tidak menunjukkan penghambatan terhadap bakteri, karena bakteri yang digunakan dapat mendegradasi struktur cincin β -laktam Ampisilin sehingga Ampisilin tidak dapat merusak struktur dinding sel bakteri dan bakteri tetap tumbuh. Berdasarkan hasil uji yang dilakukan, konsentrasi DMSO 5% yang digunakan tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* resisten Ampisilin. Hasil pengujian terhadap keempat konsentrasi minyak atsiri sirih merah menunjukkan bahwa keempat minyak atsiri tersebut menunjukkan penghambatan terhadap *Escherichia*

coli resisten Ampisilin. Semakin besar konsentrasi minyak atsiri sirih merah menunjukkan penghambatan lebih baik terhadap bakteri *Escherichia coli* resisten Ampisilin.



Gambar 4.3. Zona hambat minyak atsiri sirih merah terhadap *Escherichia coli* resisten Ampisilin. (1) Kontrol negatif antibiotik ampisilin, (2) Kontrol positif antibiotik siprofloksasin, (3) Kontrol pelarut DMSO 5%, (4) Minyak atsiri 20%, (5) minyak atsiri 10%, (6) Minyak atsiri 5%, (7) minyak atsiri 2,5%

Tabel 4.3. Hasil Zona hambat minyak atsiri sirih merah terhadap *Escherichia coli* resisten Ampisilin

No	Sampel	Zona Hambat (mm)
1	Kontrol negatif antibiotik (Ampisilin)	5,00
2	Kontrol positif antibiotik (Siprofloksasin)	46,5
3	Kontrol pelarut DMSO 5 %	5,00
4	Minyak atsiri 20%	13,1
5	Minyak atsiri 10%	8,06
6	Minyak atsiri 5%	6,67
7	Minyak atsiri 2,5%	5,87

Pada penelitian ini minyak atsiri sirih merah menunjukkan aktivitas antibakteri pada konsentrasi 2,5% dengan zona hambat sebesar 5,87 mm sampai konsentrasi 20% sebesar 13,1 mm. Gambar 4.3. menunjukkan hasil uji difusi disk dan tabel 4.3. perbandingan zona hambat masing-masing konsentrasi.

Data penelitian yang didapatkan menunjukkan bahwa beberapa konsentrasi minyak atsiri sirih merah memiliki aktivitas yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* resisten Ampisilin. *Escherichia coli* resisten Ampisilin memiliki sifat yang sama seperti *Escherichia coli* pada umumnya, tetapi *Escherichia coli* resisten ampisin memiliki gen resisten Ampisilin yang tidak dimiliki oleh *Escherichia coli* biasa. Gen resisten Ampisilin yang dimiliki oleh *Escherichia coli* resisten Ampisilin ini mampu menyandi suatu enzim β -laktamase yang dapat merusak struktur β -laktam antibiotik Ampisilin, sehingga kerja antibiotik Ampisilin menjadi terganggu^(24,40).

Menurut Olonisakin *et al.* komposisi dari tanaman minyak atsiri, konfigurasi struktur penyusun, gugus fungsionalnya dan komposisi persentase relatif dalam tanaman minyak atsiri mempunyai efek dalam aktivitas antimikrobia pada organisme⁽⁴²⁾. Aktivitas antibakteri dari minyak atsiri tergantung pada komposisi dan konsentrasi minyak atsiri juga tipe dan konsentrasi dari mikroorganisme target⁽⁴³⁾.

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 C₁₀ dan C₁₅ 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⁽⁴⁴⁾.

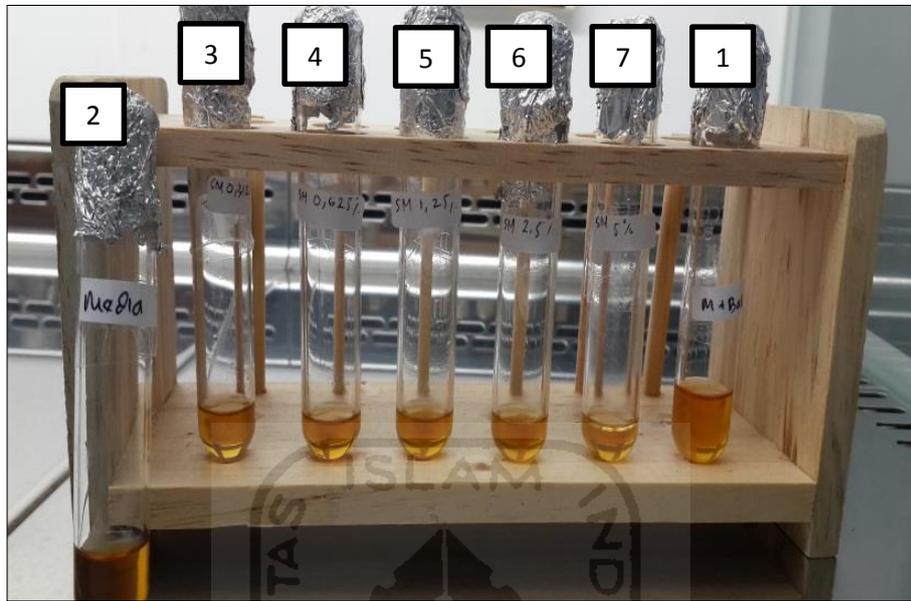
4.4. Hasil Uji Antibakteri Minyak Atsiri dengan Metode Dilusi Cair

Setelah diketahui minyak atsiri sirih merah mempunyai aktivitas antibakteri, selanjutnya ditentukan KHM dan KBM pada minyak atsiri terhadap bakteri uji. KHM dan KBM digunakan untuk mengetahui konsentrasi minimal dari suatu larutan antimikroba terhadap pertumbuhan mikroba tertentu. Variasi konsentrasi yang digunakan untuk menentukan KHM dan KBM pada penelitian ini yaitu 5 , 2,5 , 1,25 , 0,625, dan 0, 3125 gr/mL

Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dilakukan dengan metode dilusi cair⁽⁴⁵⁾. Indikator dari uji dilusi ini berupa kekeruhan atau kejernihan pada hasil dilusi. Semakin keruh suatu sampel maka tingkat pertumbuhan bakterinya semakin banyak, sebaliknya jika sampel semakin jernih maka dapat dipastikan tingkat pertumbuhan bakterinya semakin sedikit. Namun pada penelitian ini minyak atsiri yang digunakan adalah minyak yang berwarna sehingga akan sulit untuk menentukan kekeruhan hasil uji dilusi cair yang merupakan parameter pertumbuhan bakteri, maka hasil dari uji dilusi digoreskan kembali pada permukaan media agar, untuk melihat ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri pada media yang telah diisi menggunakan minyak atsiri dengan konsentrasi tertentu.

Uji dilusi cair dilakukan pada minyak atsiri yang memiliki aktivitas untuk menghambat *Escherichia coli* resisten Ampisilin. Uji dilusi cair ini dilakukan dengan cara melarutkan minyak atsiri pada media *Trypton Soy Broth* (TSB) kemudian dilakukan pengenceran bertingkat dimulai dari konsentrasi 5% hingga yang terkecil 0,3125%, dengan pengenceran sebanyak dua kali. Semua media *Trypton Soya Broth* yang digunakan dalam uji ditambahkan injeksi antibiotik Ampisilin yang telah direkonstitusi, hal ini dilakukan untuk memastikan bakteri yang tumbuh dalam media adalah bakteri yang telah resisten Ampisilin. Kontrol bakteri digunakan dengan menambahkan bakteri pada media TSB, tujuan penggunaan kontrol bakteri adalah sebagai pembanding adanya pertumbuhan bakteri pada media yang telah ditambahkan Ampisilin. Sedangkan kontrol media, hanya berisi media TSB. Kontrol media ini digunakan sebagai parameter sterilitas

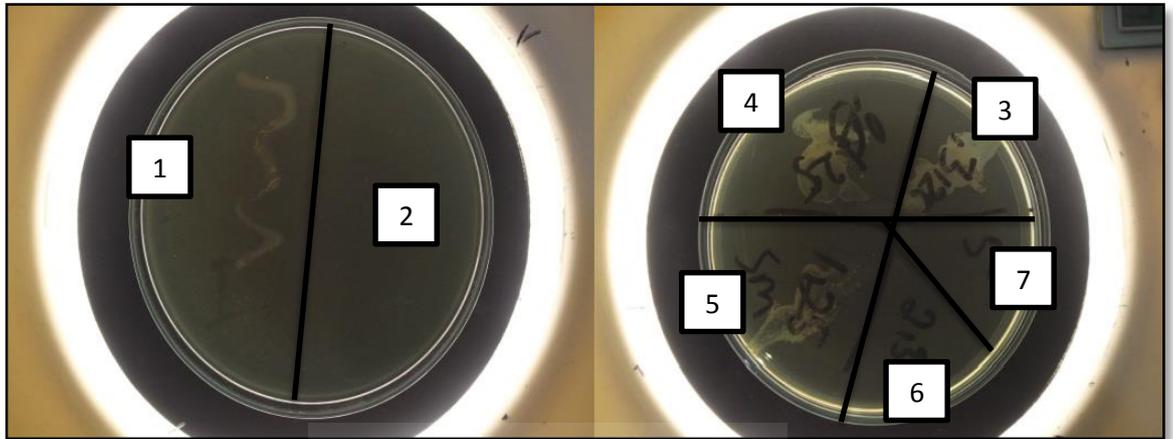
media yang digunakan. Gambar 4.4.1. dan 4.4.2. merupakan hasil uji dilusi cair pada minyak atsiri sirih merah setelah diinkubasi selama 24 jam suhu 37°C.



Gambar 4.4.1. Hasil uji dilusi minyak atsiri daun sirih merah. (1) kontrol bakteri (media + bakteri), (2) kontrol media (media), Minyak atsiri: (3) konsentrasi 0,3125%, (4) konsentrasi 0,625%, (5) konsentrasi 1,25%, (6) konsentrasi 2,5%, (7) konsentrasi 5%

Pertumbuhan bakteri dapat terlihat pada tabung media yang menjadi keruh setelah diinokulasi pada suhu 35° C selama 24-48 jam. Semakin subur pertumbuhan mikroba pada media ditunjukkan dengan media yang semakin keruh. Kekeruhan masing-masing tabung yang kemudian dibandingkan dengan kontrol media dan kontrol pertumbuhan bakteri. Berdasarkan gambar 4.4.1. tabung dengan konsentrasi 1,25% merupakan tabung terakhir yang menunjukkan kejernihan pada media. Hal ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi 1,25% minyak atsiri merupakan konsentrasi minimum penghambatan pertumbuhan bakteri (KHM). Hasil dari uji dilusi yang didapat sulit untuk diamati, karena minyak atsiri yang digunakan memiliki warna yang sama. Akan tetapi, penentuan nilai KHM dan KBM tidak dapat ditentukan secara jelas menggunakan metode dilusi cair dengan melihat kekeruhan media. Oleh karena itu, hasil dari uji dilusi

cair digoreskan kembali pada permukaan media agar untuk melihat ada tidaknya pertumbuhan bakteri pada hasil dilusi cair.



Gambar 4.4.2. Hasil kultur uji dilusi cair Minyak atsiri. (1) kontrol bakteri (media + bakteri), (2) kontrol media (media), Minyak atsiri: (3) konsentrasi 0,3125%, (4) konsentrasi 0,625%, (5) konsentrasi 1,25%, (6) konsentrasi 2,5%, (7) konsentrasi 5%

Tabel 4.4.2. Konsentrasi hambat minimum dan konsentrasi bunuh minimum minyak atsiri daun sirih merah terhadap *Escherichia coli* resisten Ampisilin

No	Konsentrasi	Pertumbuhan bakteri
1	5%	-
2	2,5%	-
3	1,25%	+
4	0,6125%	+
5	0,3125%	+

Keterangan: (-) : tidak terdapat pertumbuhan bakteri, (+) : terdapat pertumbuhan bakteri

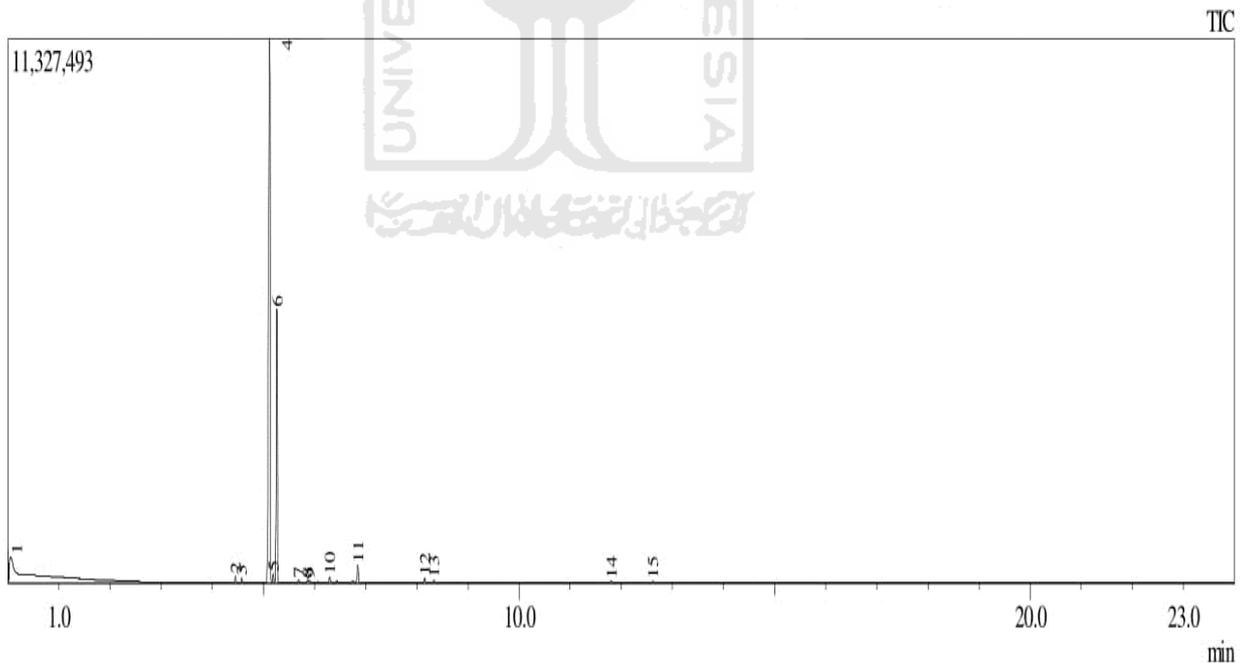
Terlihat pada gambar 4.4.2. hasil kultur uji dilusi cair kontrol bakteri menunjukkan pertumbuhan bakteri dan kontrol media tidak terlihat pertumbuhan bakteri. Hasil kultur uji dilusi cair minyak atsiri menunjukkan bahwa pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* resisten Ampisilin masih terlihat pada

konsentrasi 1,25 %, dan pada konsentrasi 2,5% terlihat permukaan media agar bersih dari pertumbuhan *Escherichia coli* resisten Ampisilin.

Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dapat ditentukan dengan melihat tingkat kekeruhan dari masing-masing konsentrasi, konsentrasi hambat minimum (KHM) merupakan dua kali pengenceran dilusi dari konsentrasi bunuh minimum (KBM) yang mampu membunuh 100% bakteri^(45,46). Dari data tersebut dapat disimpulkan konsentrasi hambat minimum (KHM) minyak atsiri daun sirih merah yaitu 1,25%, sedangkan konsentrasi bunuh minimum (KBM) minyak atsiri daun sirih merah yaitu 2,5%.

4.5. Hasil Analisis Minyak Atsiri dengan GC-MS

Sampel minyak atsiri daun sirih merah yang didapat dianalisis kandungannya menggunakan kromatografi gas spektrum massa. Hasil kromatogram GC

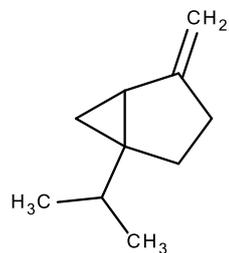


Gambar 4.5.1. Kromatogram GC minyak atsiri daun sirih merah

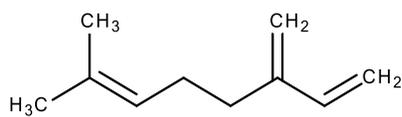
Hasil analisis kromatografi gas spektrum massa memberikan informasi bahwa terdapat 7 komponen utama kimia yang terdapat pada minyak atsiri daun sirih merah adalah *sabinene* (65,51 %), *β-myrcene* (23,43%), *Pyridinepropanoic acid* (6,27 %), *gamma-Terpinene* (0,46 %), *Linalool* (1,43 %), *Cyclobutane* (0,32 %) ,dan *trans-Caryophyllene* (0,16 %). Pada penelitian Rachmawaty (2014) dan Septiansari (2016) komponen utama yang terdapat pada minyak atsiri daun sirih merah yaitu *sabinene*, *β-myrcene*, *linalool*, *caryophyllene*, dan *germacrene*. Hasil yang didapat pada penelitian ini hampir sama dengan penelitian sebelumnya, namun tidak ditemukan senyawa *terpinene* dan *cyclobutane* pada Rachmawaty dan Septiansari^(45,46). Hal tersebut dimungkinkan karena adanya perbedaan lama waktu destilasi. Perbedaan tempat pertumbuhan tanaman juga dapat berpengaruh pada senyawa kimia yang terdapat pada sirih merah.

Sabinen, *mirsen*, *pinen*, *linalool*, *terpinen* dan *caryophyllene* merupakan senyawa golongan terpen. Siklobutana adalah gas tak berwarna. Siklobutana sendiri tidak memiliki nilai komersial atau biologi, tetapi lebih digunakan sebagai bahan turunan kompleks pada biologi. Terpenoid minyak atsiri secara umum dibagi menjadi 2 yaitu monoterpen (C_{10}) dan seskuiterpen (C_{15}) yang memiliki titik didih berkisar antara 150° - $300^{\circ}C$ ⁽³⁸⁾. Menurut Cowan (1999) senyawa terpenoid memiliki aktivitas terhadap bakteri. Mekanisme aksi dari terpen belum sepenuhnya diketahui, tetapi dimungkinkan melibatkan gangguan membran oleh senyawa lipofil⁽⁴⁹⁾.

Minyak atsiri sirih merah dengan komponen utama *sabinen*, *α-pinene* memiliki aktivitas terhadap *Escherichia coli* dengan nilai KHM 0,75% dengan diameter hambat masing-masing adalah $6,37 \pm 0,27$ mm⁽⁹⁾. Minyak atsiri daun pala yang memiliki komponen utama *sabinene*, *terpinene-4-ol*, *α-pinene*, *β-pinene*, dan *β-phellandrene* memiliki aktivitas terhadap bakteri *Escherichia coli* pada konsentrasi 1% dengan zona hambat sebesar 0,54 mm⁽⁵⁰⁾. Dari penelitian tersebut menunjukkan bahwa senyawa yang terdapat pada minyak atsiri daun sirih merah memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri.



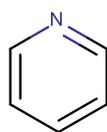
Sabinene



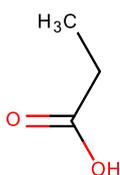
Myrcene



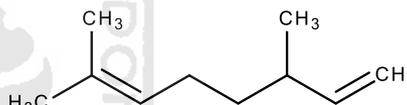
cyclo butane



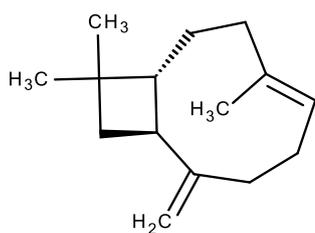
Pyridine propanoic acid



gamma-terpinene



Linalol



Trans-caryopilen

Gambar 4.5.2. Struktur komponen utama minyak atsiri daun sirih merah

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan uraian pembahasan di atas dapat di tarik kesimpulan:

1. Minyak atsiri daun sirih merah memiliki aktivitas antibakteri hingga pada konsentrasi 2,5% yang memberikan zona hambat dengan nilai KHM pada konsentrasi 1,25% dan nilai KBM pada konsentrasi 2,5%.
2. Komponen utama yang terdapat pada minyak atsiri daun sirih merah adalah *sabinene* (65,51%), *β-myrcene* (23,43%), *Pyridine propanoic acid* (6,27%), *gamma-Terpinene* (0,46%), *Linalool* (1,43%), *Cyclobutane* (0,32 %) ,dan *trans-Caryophyllene* (0,16 %).

5.2. Saran

1. Perlu dilakukan penelitian mengenai komponen minyak atsiri daun sirih merah (*Piper crocatum*) yang aktif sebagai antibakteri
2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk membandingkan aktivitas antibakteri minyak atsiri sirih merah terhadap bakteri resisten dengan antibiotik.

DAFTAR PUSTAKA

1. World Health Organization, 2012, World health statistic 2012 : Cause-specific mortality and morbidity, WHO library cataloguing in Publication Data, Diakses 10 Juni 2015 <http://www.who.int>, pp 63-80
2. World Health Organization, 2014, Antimicrobial Resistance: Global Report in Surveillance. Prancis: WHO press
3. Utami, E.R., 2011, Antibiotika, Resistensi, dan Rasionalitas Terapi, *Jurnal Biologi el-Hayah*, Vol 1 (4), 191-198
4. Anshory H., Julianto T.S., Prasetya E.R., 2011, Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri daun Sirih (*Piper betle L.*) terhadap *salmonella typhi* ATCC 14028, *Prosiding : Seminar Nasional Kimia V Universitas Islam Indonesia*. ISBN: 978-602-99557-0-5
5. Duerink, DO., Endang, SL., Usman, H., Nico, JDN., Juliette, AS., Henri, AV., Monique, K., Inge, CG., Peterhans, JV., Broek. Determinants of carriage of resistant *Escherichia coli* in the Indonesian population inside and outside hospitals. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2007;60:377-384
6. Marliyana, SD., Handayani, N., Ngaisih, S., Setyowati, EN., Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum Ruiz & Pav.*), *ALCHEMY jurnal penelitian kimia*, vol. 9, no. 2, hal. 33 - 40
7. Andayani, T., Hendrawan, Y., Yulianingsih, R. Minyak Atsiri Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum*) Sebagai Pengawet Alami Pada Ikan Teri (*Stolephorus indicus*). *Jurnal Bioproses Komoditas Tropis*, Vol. 2 No. 2, Agustus 2014
8. Rachmawaty F.J., Citra, D.A., Nirwani, B., Nurmasitoh, T., and Bowo, E.T., 2009, Manfaat Sirih Merah (*Piper crocatum*) Sebagai Agen Antibakterial Terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif, *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*, vol. 1, p. 1121
9. Ngaisih, S., 2010, Identifikasi Dan Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum Ruiz & Pav.*) Asal Magelang, *Thesis*, Universitas Sebelas Maret, Surakarta
10. Duryatmo S., 2005, *Dulu hiasan kini obat*, Trubus, 427: p.37
11. Manoi, F., 2007, Sirih Merah Sebagai Tanaman Multi Fungsi, *Warta Puslitbangun* Vol.13 (2)
12. Akiyama, H., Fujii, K., Yamasaki, O., Oono, T., Iwatsuki, T., 2001, Antibacterial Action of Several Tannis Against *Staphylococcus aureus*, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. Vol. 48: 487-91
13. Poeloemgam, M., Komala, I., Susan, M., Noor, M. S., Andriani and Rianti, P. R.S., 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, pp. 250-255
14. Sumarno, S., Herry, G., Sri, R., Hindra, I. S. *Buku Ajar Infeksi dan Pediatric Tropis*. Edisi Kedua. FKUI-IDAI. 2010

15. Stephen H.G, and Peter M.N. Principles and Practice of Clinical Bacteriology. Second edition. John Wiley & Sons Ltd. England. 2006; 347-366
16. Dipiro JT, Talbert RL, Yee GC, Matzke GR, Wells BG, Posey LM. *Pharmacotherapy: Apathophysiologic Approach*. Seventh edition. 2008. The McGraw-Hill Companies. United States of America. 1715
17. Chen HW, Lin CH, Su CY, HP, Chen, Chiang YL. Surface Plasmon Biosensing Technology for antimicrobial susceptibility test. *Biosensors for Health, Environment and Biosecurity*. 2011; 10: 5772-16385.
18. Tjay, TH., Kirana, R. 2007, Obat-Obat Penting kasiat, penggunaan dan efek-efek sampingnya, edisi keenam, penerbit pt elex media komputindo, jakarta
19. Tadesse, D., Shaohua, D., Emily, T., Sherry, A., Aparna, S., Mary J.B., and Patrick, F. *Antimicrobial Drug Resistance in Escherichia coli from Humans and Food Animals, United States, 1950–2002*. Emerging Infectious Diseases • www.cdc.gov/eid • Vol. 18, No. 5, May 2012
20. Mavroidi, A., Vivi, M., Apostolos L., Eva, T., Angelos, S., George, ND and Efthymia, P., *Ciprofloxacin-resistant Escherichia coli in Central Greece: mechanisms of resistance and molecular Identification*. BMC Infectious Diseases 2012, 12:371 <http://www.biomedcentral.com/1471-2334/12/371>
21. Fitria, DW., Mandojo, R., Ananta, TB., Daya antibakteri kombinasi metronidazol, siprofloksasin, dan minosiklin terhadap *Enterococcus faecalis*, *Endo Restorasi Jurnal Ilmu Konversi Gigi*. Volume 1.no. 1, Januari-Juni 2008: 23-28
22. Ganiswarna. 1995. Farmakologi dan Terapi. Penerbit EGC Kedokteran. Jakarta
23. Tjay, T.H., Rahardja, K. 2002. *Obat-obat Penting : Khasiat, Penggunaan, dan Efek-Efek Sampingnya*. Edisi VI. Jakarta: Penerbit PT. Elex Media. Komputindo.
24. Todar, K. Bacterial Resistance to Antibiotics. Diambil dari: http://textbookofbacteriology.net/resantimicrobial_3htm. Diakses pada tanggal 6 oktober 2016.
25. Tim D., Richard N., Schuyler B., Guy P., Valerie, B. The Complete Genome Sequence of *Escherichia coli* DH10B : Insights into the biology of a Laboratory Workhorse. *Journal of Bacteriology*. 2008; 190(7): 2597-2606
26. Anonim. Minyak Atsiri Atsiri. wikipedia. Diambil dari: <http://Id.wikipedia.org/wiki/MinyakAtsiri>. Diakses 14 juni 2015
27. Armando R. *Memproduksi 15 Minyak Atsiri Berkualitas*. Jakarta: Penebar Swadaya; 2009
28. Sastrohamidjojo, H., Kromatografi, 2001, Penerbit Liberty, Jogjakarta, 26-38, 41-48
29. Ketaren, S., 1985, Pengantar Teknologi Minyak Atsiri, Balai Pustaka, Jakarta, Hal 65-66

30. Day, R.A & Underwood, A.L., 1999, Analisis Kimia Kuantitatif, edisi v, 489-527, Diterjemahkan Aloysius H.P., Penerbit Erlangga, Surabaya
31. Roth, J.H, and Blaschke G., 1998, Analisis Farmasi, 399-401, 419-424, 427-431, diterjemahkan Sarjono Kisman & Slamet Ibrahim, Gadjah Mada University Press, Jogjakarta
32. Andrews, JM. Determination of Minimum Inhibitory Concentrations. Departement of Microbiology, City Hospital NHS Trust. 2006: 1-19
33. Pudiarifanti N. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Methanol, Petroelum Eter, Dan Etil Asetat Daun Sirih Merah Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*. Sripsi. Yogyakarta : Farmasi Universitas Islam Indonesia; 2007
34. Sabrian,S. Perbandingan Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Dan Ekstrak Etil Asetat Daun Sirih Merah terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Skripsi. Yogyakarta: Kedokteran Universitas Islam Indonesia; 2009
35. Affandi,Ahmad.,Fauzia,A.,Suri Dwi L. Penentuan Konsentrasi Hambat Minimal dan Konsentrasi Bunuh Minimal Larutan Povidon Iodium 10% Terhadap *StaphylococcusAureus* Resisten *Metisilin* (MRSA) dan *Staphylococcus Aureus* Sensitif *Metisilin* (MSSA). FK Universitas Riau JIK, Jilid 3, Nomor 1, Maret 2009, Hal. 14-19
36. Gusmalini. Minyak Atsiri. Bogor: Fateta IPB; 1987.
37. Ningsih, HP., 2007. Uji Resistensi *Escherisia coli* pada Penderita Infeksi Saluran Kemih di poli penyakit dalam di RSUD Muhammadiyah Yogyakarta terhadap beberapa antibiotik, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta.
38. Ketaren. *Pengantar Minyak Atsiri*. Jakarta: Balai Pustaka; 1985.
39. Stephen, HG and Peter, MH.,2006. *Principles and Practice of Clinical Bacteriology*, Second edition, John Wiley & Sons Ltd. England, 347-366.
40. Olonisakin, A.,Oladimeji,M.O.,Lajide,L. 2006. Chemical Composition And Anntibacterial 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.
41. Kan,Y., Uçan, US., Kartal, M., 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 Chemitry* 30, 253 – 259.
42. Bulleti, N., Guerzoni ME., Gardini F., Lanciotti R., Ndagihimana, M., 2004. Evaluation of The Antimicrobial activity of Citrus Essences on *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol 52, 6932-6938.
43. Andrew, JM., 2001, Determination of Minimum Inhibitory Concentrations, *Journal of Antimicrobial Chemoterapy*, 48 (Suppl. S1): 5-16.

44. Levison, ME., 2004, Pharmacodynamics of antimicrobial drugs, *Elseviers saunders*, 458.
45. Rachmawaty FJ. Aktivitas Antimikrobakterium Ekstrak Etanol dan Minyak Atsiri Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) terhadap *Mycobacterium tuberculosis* secara *In vitro* dan *In vivo*. *Disertasi*. Universitas Gadjah Mada; 2014.
46. Septianasari, Y. Efek Sinergisme Kombinasi Antibiotik Ampisilin Dan Minyak Atsiri Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum* Ruiz & Pav) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dengan Metode Gas Kontak. Universitas Islam Indonesia; 2016.
47. Cowan MM. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Rev.* 1999;12(4):564-582.
48. Rastuti, U., Widyaningsih, S., Kartika D., Ningsih, DR. Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Pala dari Banyumas Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* serta Identifikasi Senyawa Penyusunnya. Universitas Jendersl Soedirman; 2013:197-203.
49. Aniszewski, T. 2007. *Alkaloids - Secrets of Life*. Elsevier
50. Anonim, *Escherichia coli* Monitoring at Columbia Gorge Recreation Sites, diambil dari: <http://columbiariverkeeper.org/water-quality/water-quality-monitoring/wqm-get-involved/wqm-program-options/wqm-e-coli-monitoring/> diakses tanggal 20 oktober 2016



LAMPIRAN



Lampiran 1. Perhitungan rendemen, konsentrasi, dan media

Hasil rendemen minyak atsiri daun sirih merah

$$\text{Rendemen}(\%) = \frac{5,4\text{ml}}{2000\text{ gram}} \times 100\% = 0,27\%$$

Perhitungan Bahan pada Uji Mikrobiologi

a. Pembuatan media Trypton Soy Agar (TSA)

Dalam etiket TSA tertera, 40 gram media TSA dilarutkan dalam 1 liter akuades. Media TSA dalam 1 petri disk sebanyak 25 mL, sehingga berat media yang ditimbang sebagai berikut:

$$\frac{40\text{ gram}}{1000\text{ ml}} = \frac{x\text{ ml}}{25\text{ ml}} = 40\text{ gram} \cdot 25 \frac{\text{ml}}{1000} = 1\text{ gram}$$

b. Pembuatan media Trypton Soy Broth (TSB)

Dalam etiket TSB tertera, 30 gram media TSB dilarutkan dalam 1 liter akuades. Media TSB dalam 1 petri disk sebanyak 8 mL, sehingga berat media yang ditimbang sebagai berikut:

$$\frac{30\text{ gram}}{1000\text{ ml}} = \frac{x}{8} = 30\text{ gram} \cdot \frac{8\text{ml}}{1000\text{ml}} = 0,24\text{ gram}$$

c. Pembuatan NaCl 0,9%

Dibutuhkan 100 mL NaCl 0,9%. Sehingga NaCl yang ditimbang sebanyak:

$$\frac{0,9\text{ gram}}{100\text{ ml}} \times 100\text{ ml} = 0,9\text{ gram}$$

d. Pembuatan DMSO 5%

Dibutuhkan 100 ml DMSO 5% murni. Sehingga DMSO yang diambil sebanyak:

$$\frac{0,5 \text{ ml}}{100 \text{ ml}} \times 100 \text{ ml} = 0,5 \text{ ml} = 500 \mu\text{l}$$

e. Pembuatan seri kadar uji difusi disk

1. Pembuatan larutan stok minyak 20%

$$\frac{20 \text{ ml}}{100 \text{ ml}} = \frac{x \text{ ml}}{1,5 \text{ ml}} = 20 \text{ ml} \times \frac{1,5 \text{ ml}}{100 \text{ ml}} = 0,3 \text{ ml} = 300 \mu\text{l}$$

2. Pengenceran seri kadar 10%

$$M1.V1 = M2.V2 = \frac{10\%}{20\%} \times 1,5 \text{ ml} = 0,75 \text{ ml} = 750 \mu\text{l}$$

3. Pengenceran seri kadar 5%

$$M1.V1 = M2.V2 = \frac{5\%}{10\%} \times 1,5 \text{ ml} = 0,75 \text{ ml} = 750 \mu\text{l}$$

4. Pengenceran seri kadar 2,5%

$$M1.V1 = M2.V2 = \frac{2,5\%}{5\%} \times 1,5 \text{ ml} = 0,75 \text{ ml} = 750 \mu\text{l}$$

f. Pembuatan seri kadar uji dilusi cair

5. Pembuatan Kadar 5%

$$\frac{5 \text{ ml}}{100 \text{ ml}} = \frac{x \text{ ml}}{2 \text{ ml}} = 5 \text{ ml} \times \frac{2 \text{ ml}}{100 \text{ ml}} = 0,1 \text{ ml} = 100 \mu\text{l}$$

6. Pengenceran seri kadar 2,5%

$$M1.V1=M2.V2 \rightarrow V1=2,5 \text{ ml} \cdot 2 \text{ ml} / 5 \text{ ml} = 1 \text{ mL} = 1000 \mu\text{l}$$

$$M1.V1 = M2.V2 = \frac{2,5\%}{5\%} \times 2 \text{ ml} = 1 \text{ ml} = 1000 \mu\text{l}$$

7. Pengenceran seri kadar 1,25%

$$M1.V1=M2.V2 \rightarrow V1=1,25 \text{ ml} \cdot 2 \text{ mL} / 2,5 \text{ ml} = 1 \text{ mL} = 1000 \mu\text{l}$$

$$M1.V1 = M2.V2 = \frac{1,25\%}{2,5\%} \times 2 \text{ ml} = 1 \text{ ml} = 1000 \mu\text{l}$$

8. Pengenceran seri kadar 0,625%

$$M1.V1 = M2.V2 = \frac{0,625\%}{1,25\%} \times 2 \text{ ml} = 1 \text{ ml} = 1000 \mu\text{l}$$

9. Pengenceran seri kadar 0,3125%

$$M1.V1 = M2.V2 = \frac{0,3125\%}{0,625\%} \times 2 \text{ ml} = 1 \text{ ml} = 1000 \mu\text{l}$$

Lampiran 2. Alat-alat yang digunakan

AUTOKLAF / DESTRUKSI



DESTILAT SIRIH MERAH



TIMBANGAN



LAMINAR AIR FLOW



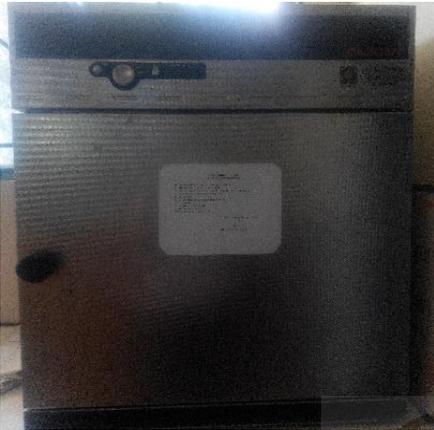
MICROWAVE



INCUBATOR



OVEN



DESTILATOR UAP AIR



Lampiran 3. Determinasi Sirih Merah


UNIVERSITAS GADJAH MADA
FAKULTAS FARMASI
Sekip Utara, Yogyakarta 55281 Telp.(0274) 543120 Fax.(0274) 543120 Email:farmasi@ugm.ac.id

SURAT KETERANGAN
No.: UGM/FA/4113 /M/03/02

Kepada Yth. :
Sdri/Sdr. Arya Maulana Jatmiko
NIM. 11613169
Farmasi UIH
Di Yogyakarta

Dengan hormat,

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

No.Pendaftaran	Jenis	Suku
60	<i>Piper crocatum</i> Ruiz. & Pav.	Piperaceae

Demikian, semoga dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Mengetahui,
Dekan
Fakultas Farmasi UGM

Yogyakarta, 23 September 2016
Ketua
Departemen Biologi Farmasi

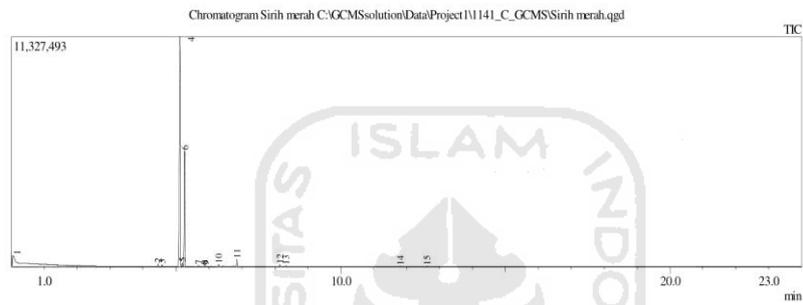

Prof. Dr. Subagus Wahyuono, M.Sc., Apt
NIP. 194307081977021001


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



Lampiran 4. Hasil analisis kromatografi gas spektrometri massa

Sample Information
 Analyzed by : Admin
 Analyzed : 12/17/2015 8:47:24 AM
 Sample Name : Sirih merah
 Sample ID : 1
 Injection Volume : 0.10
 Data File : C:\GCMSsolution\Data\Project\1\1141_C_GCMS\Sirih merah.qgd
 Tuning File : C:\GCMSsolution\System1\Tuning\08102015.qgt

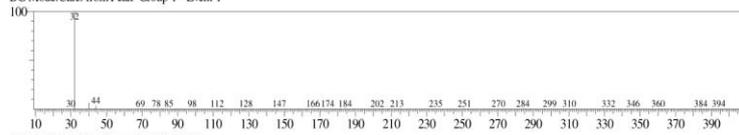


Peak#	R.Time	I.Time	F.Time	Area	Area%	Height
1	0.054	0.025	0.217	2368259	6.27	453280
2	4.450	4.417	4.483	173432	0.46	142562
3	4.575	4.542	4.608	116316	0.31	97470
4	5.118	5.050	5.158	24748019	65.51	11303035
5	5.190	5.158	5.217	219823	0.58	183275
6	5.262	5.217	5.308	8849856	23.43	5692632
7	5.686	5.650	5.717	75411	0.20	46998
8	5.867	5.717	5.883	119634	0.32	57598
9	5.900	5.883	5.958	67758	0.18	37012
10	6.294	6.258	6.342	171948	0.46	107564
11	6.845	6.800	6.892	540336	1.43	347679
12	8.150	8.108	8.200	168939	0.45	99863
13	8.333	8.200	8.367	60067	0.16	36930
14	11.800	11.767	11.842	58608	0.16	31453
15	12.621	12.592	12.658	36509	0.10	19204
				37774915	100.00	18656555

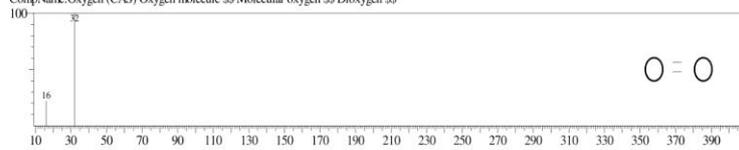
Library

<< Target >>

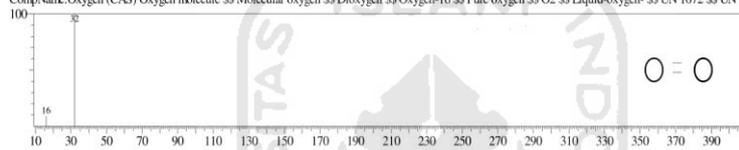
Line#:1 R.Time:0.050(Scan#:7) MassPeaks:242
RawMode:Averaged 0.042-0.058(6-8) BasePeak:32.00(392420)
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



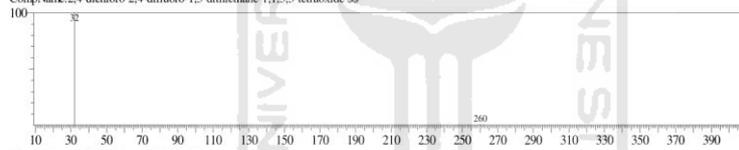
Hit#:1 Entry:103 Library:WILEY7.LIB
SI:93 Formula:O2 CAS:7782-44-7 MolWeight:32 RetIndex:0
CompName:Oxygen (CAS) Oxygen molecule \$\$ Molecular oxygen \$\$ Dioxygen \$\$



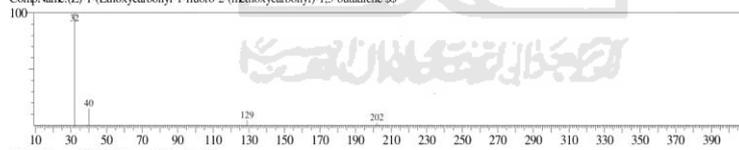
Hit#:2 Entry:104 Library:WILEY7.LIB
SI:93 Formula:O2 CAS:7782-44-7 MolWeight:32 RetIndex:0
CompName:Oxygen (CAS) Oxygen molecule \$\$ Dioxygen -16 \$\$ Pure oxygen \$\$ O2 \$\$ Liquid-oxygen- \$\$ UN 1072 \$\$ UN 1C



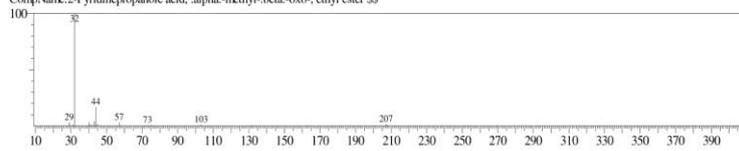
Hit#:3 Entry:167390 Library:WILEY7.LIB
SI:92 Formula:C2 CL2 F2 O4 S2 CAS:108319-89-7 MolWeight:260 RetIndex:0
CompName:2,4-dichloro-2,4-difluoro-1,3-dithiane-1,1,3,3-tetraoxide \$\$



Hit#:4 Entry:96870 Library:WILEY7.LIB
SI:91 Formula:C9 H11 F O4 CAS:0-00-0 MolWeight:202 RetIndex:0
CompName:(Z)-1-(Ethoxycarbonyl-1-fluoro-2-(methoxycarbonyl)-1,3-butadiene \$\$

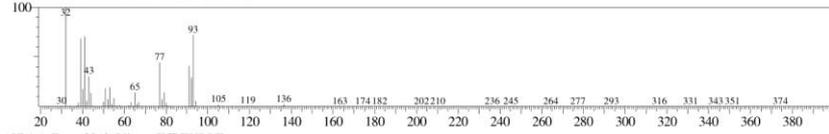


Hit#:5 Entry:104047 Library:WILEY7.LIB
SI:91 Formula:C11 H13 N O3 CAS:0-00-0 MolWeight:207 RetIndex:0
CompName:2-Pyridinepropanoic acid, .alpha.-methyl-.beta.-oxo-, ethyl ester \$\$

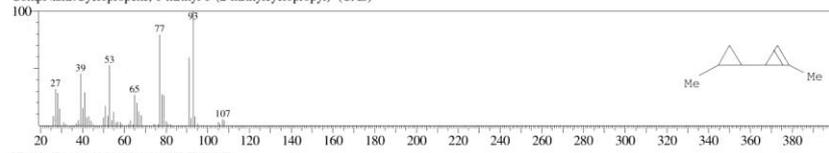


<< Target >>

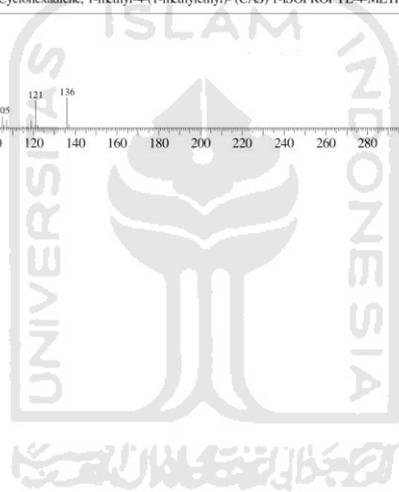
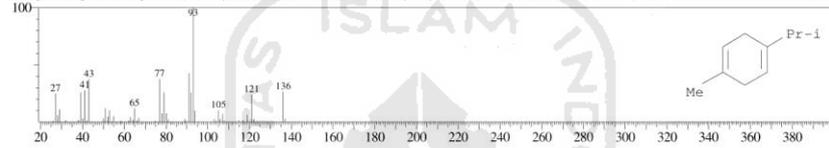
Line# 2 R.Time: 4.450(Scan#: 535) MassPeaks: 204
RawMode: Averaged 4.442-4.458(534-536) BasePeak: 32.00(16141)
BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit# 1 Entry: 9213 Library: WILEY7.LIB
SI: 81 Formula: C8 H12 CAS: 61142-26-5 MolWeight: 108 RetIndex: 0
CompName: Cyclopropene, 1-methyl-3-(2-methylcyclopropyl)- (CAS)

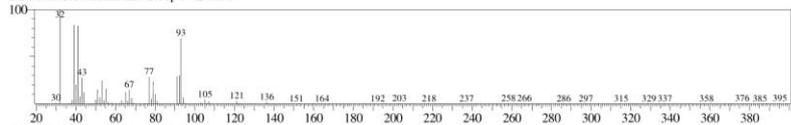


Hit# 2 Entry: 26275 Library: WILEY7.LIB
SI: 81 Formula: C10 H16 CAS: 99-85-4 MolWeight: 136 RetIndex: 0
CompName: gamma-Terpinene SS 1,4-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)- (CAS) 1-ISOPROPYL-4-METHYL-1,4-CYCLOHEXADIENE SS Moslen

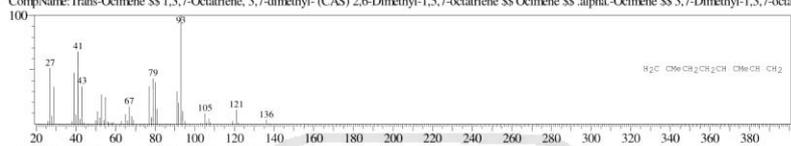


<< Target >>

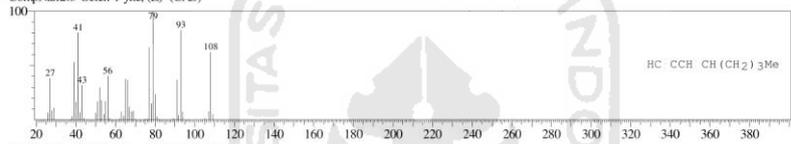
Line#:3 R Time:4.575(Scan#:550) MassPeaks:212
RawMode:Averaged 4.567-4.583(549-551) BasePeak:32.00(9744)
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



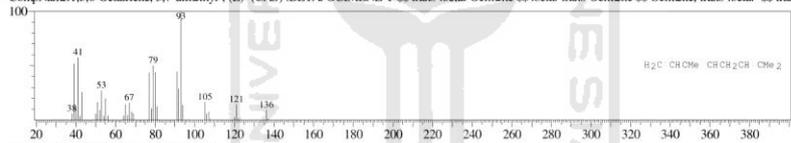
Hit#1 Entry:26182 Library:WILEY7.LIB
SI82 Formula:C10 H16 CAS:502-99-8 MolWeight:136 RetIndex:0
CompName:Trans-Ocimene SS 1,3,7-Octatriene, 3,7-dimethyl- (CAS) 2,6-Dimethyl-1,5,7-octatriene SS Ocimene SS α -Ocimene SS 3,7-Dimethyl-1,3,7-octa



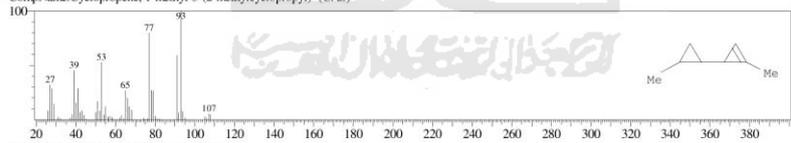
Hit#2 Entry:9180 Library:WILEY7.LIB
SI81 Formula:C8 H12 CAS:42091-89-4 MolWeight:108 RetIndex:0
CompName:3-Octen-1-yne, (Z)- (CAS)



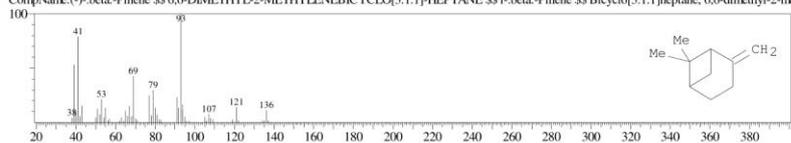
Hit#3 Entry:26158 Library:WILEY7.LIB
SI81 Formula:C10 H16 CAS:3779-61-1 MolWeight:136 RetIndex:0
CompName:1,3,6-Octatriene, 3,7-dimethyl-, (E)- (CAS). BETA-OCIMENE Y SS trans-beta-Ocimene SS beta-trans-Ocimene SS Ocimene, trans-beta- SS tra



Hit#4 Entry:9213 Library:WILEY7.LIB
SI81 Formula:C8 H12 CAS:61142-26-5 MolWeight:108 RetIndex:0
CompName:Cyclopropene, 1-methyl-3-(2-methylcyclopropyl)- (CAS)

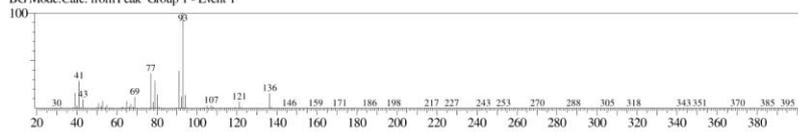


Hit#5 Entry:26461 Library:WILEY7.LIB
SI80 Formula:C10 H16 CAS:18172-67-3 MolWeight:136 RetIndex:0
CompName:(-)-beta-Pinene SS 6,6-DIMETHYL-2-METHYLENEBICYCLO[3.1.1]HEPTANE SS 1-beta-Pinene SS Bicyclo[3.1.1]heptane, 6,6-dimethyl-2-m



<< Target >>

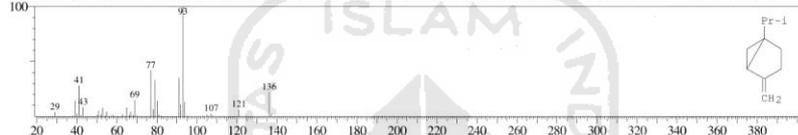
Line#:4 R.Time:5.117(Scan#:615) MassPeaks:293
RawMode:Averaged 5.108-5.125(614-616) BasePeak:93.10(2555462)
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#1 Entry:26425 Library:WILEY7.LIB

SI:97 Formula:C10H16 CAS:3387-41-5 MolWeight:136 RetIndex:0

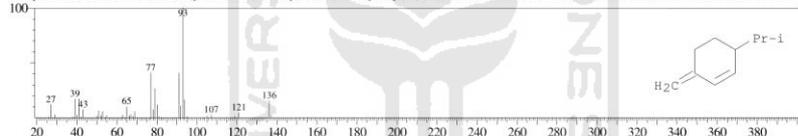
CompName:Sabinene SS Bicyclo[3.1.0]hexane, 4-methylene-1-(1-methylethyl)- (CAS) 4(10)-Thujene SS Sabinene SS (+)-Sabinene SS THUJENE, 4(10)- SS 1-Is



Hit#2 Entry:26356 Library:WILEY7.LIB

SI:96 Formula:C10H16 CAS:555-10-2 MolWeight:136 RetIndex:0

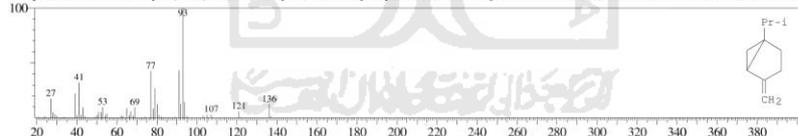
CompName:beta-Phellandrene SS Cyclohexene, 3-methylene-6-(1-methylethyl)- (CAS) 3-ISOPROPYL-6-METHYLENE-CYCLOHEXENE, 2-PARA-MENT



Hit#3 Entry:26430 Library:WILEY7.LIB

SI:96 Formula:C10H16 CAS:3387-41-5 MolWeight:136 RetIndex:0

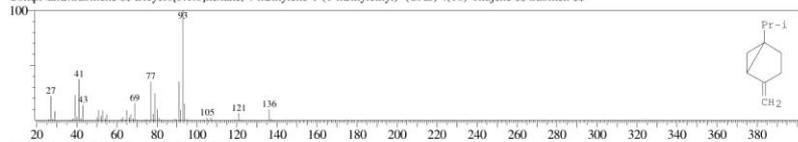
CompName:Sabinene SS Bicyclo[3.1.0]hexane, 4-methylene-1-(1-methylethyl)- (CAS) 4(10)-Thujene SS Sabinene SS (+)-Sabinene SS THUJENE, 4(10)- SS 1-Is



Hit#4 Entry:26423 Library:WILEY7.LIB

SI:95 Formula:C10H16 CAS:3387-41-5 MolWeight:136 RetIndex:0

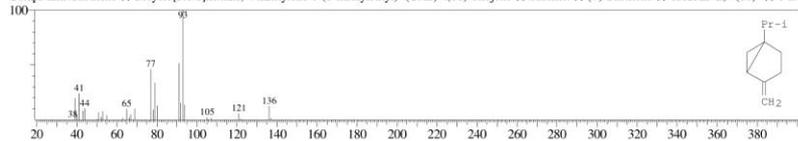
CompName:Sabinene SS Bicyclo[3.1.0]hexane, 4-methylene-1-(1-methylethyl)- (CAS) 4(10)-Thujene SS Sabinene SS



Hit#5 Entry:26432 Library:WILEY7.LIB

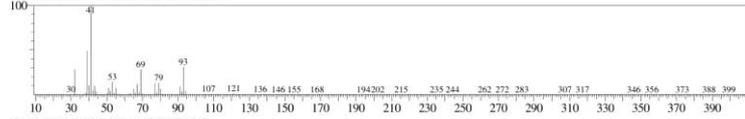
SI:94 Formula:C10H16 CAS:3387-41-5 MolWeight:136 RetIndex:0

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

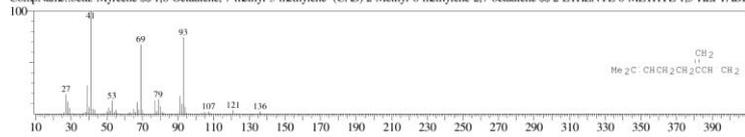


<< Target >>

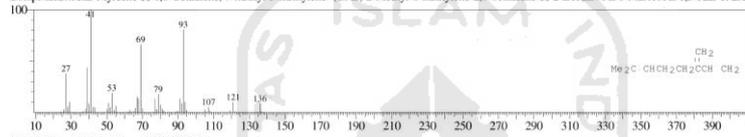
Line#5 R.Time:5.192(Scan#624) MassPeaks:203
RawMode:Averaged 5.183-5.200(623-625) BasePeak:41.00(32103)
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



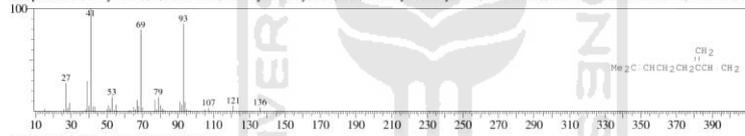
Hit#1 Entry:26199 Library:WILEY7.LIB
SI:87 Formula:C10 H16 CAS:123-35-3 MolWeight:136 RefIndex:0
CompName:.beta.-Myrcene SS 1,6-Octadiene, 7-methyl-3-methylene- (CAS) 2-Methyl-6-methylene-2,7-octadiene SS 2-ETHENYL-6-METHYL-1,5-HEPTADIENE



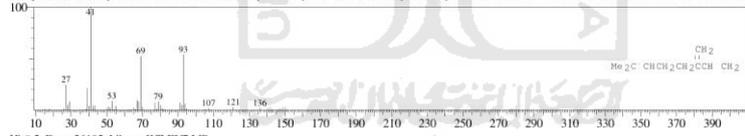
Hit#2 Entry:26196 Library:WILEY7.LIB
SI:86 Formula:C10 H16 CAS:123-35-3 MolWeight:136 RefIndex:0
CompName:.beta.-Myrcene SS 1,6-Octadiene, 7-methyl-3-methylene- (CAS) 2-Methyl-6-methylene-2,7-octadiene SS 2-ETHENYL-6-METHYL-1,5-HEPTADIENE



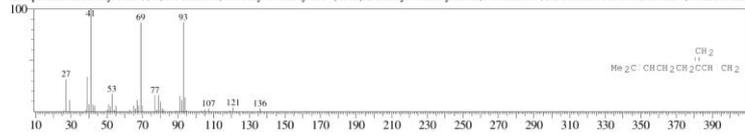
Hit#3 Entry:26194 Library:WILEY7.LIB
SI:86 Formula:C10 H16 CAS:123-35-3 MolWeight:136 RefIndex:0
CompName:.beta.-Myrcene SS 1,6-Octadiene, 7-methyl-3-methylene- (CAS) 2-Methyl-6-methylene-2,7-octadiene SS 2-ETHENYL-6-METHYL-1,5-HEPTADIENE



Hit#4 Entry:26197 Library:WILEY7.LIB
SI:85 Formula:C10 H16 CAS:123-35-3 MolWeight:136 RefIndex:0
CompName:.beta.-Myrcene SS 1,6-Octadiene, 7-methyl-3-methylene- (CAS) 2-Methyl-6-methylene-2,7-octadiene SS 2-ETHENYL-6-METHYL-1,5-HEPTADIENE

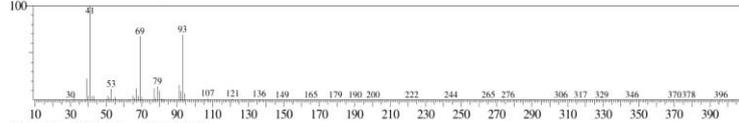


Hit#5 Entry:26195 Library:WILEY7.LIB
SI:85 Formula:C10 H16 CAS:123-35-3 MolWeight:136 RefIndex:0
CompName:.beta.-Myrcene SS 1,6-Octadiene, 7-methyl-3-methylene- (CAS) 2-Methyl-6-methylene-2,7-octadiene SS 2-ETHENYL-6-METHYL-1,5-HEPTADIENE

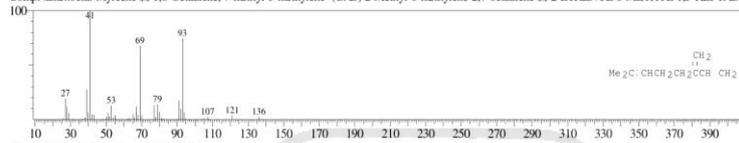


<< Target >>

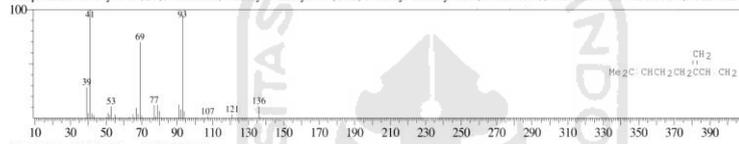
Line#6 R.Time:5.258/Scan#632) MassPeaks:246
RawMode:Averaged 5.250-5.267(631-633) BasePeak:41.00(1145886)
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



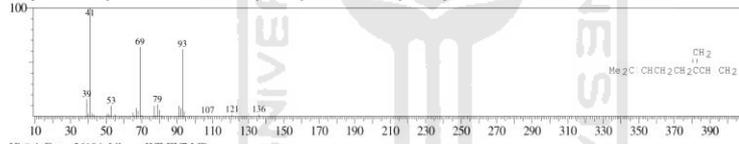
Hit#1 Entry:26199 Library:WILEY7.LIB
SI97 Formula:C10 H16 CAS:123-35-3 MolWeight:136 RetIndex:0
CompName:.beta.-Myrcene S5 1,6-Octadiene, 7-methyl-3-methylene- (CAS) 2-Methyl-6-methylene-2,7-octadiene S5 2-ETHENYL-6-METHYL-1,5-HEPTADIENE



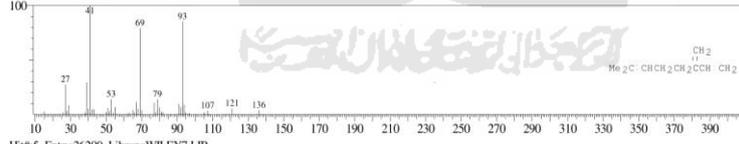
Hit#2 Entry:26203 Library:WILEY7.LIB
SI94 Formula:C10 H16 CAS:123-35-3 MolWeight:136 RetIndex:0
CompName:.beta.-Myrcene S5 1,6-Octadiene, 7-methyl-3-methylene- (CAS) 2-Methyl-6-methylene-2,7-octadiene S5 2-ETHENYL-6-METHYL-1,5-HEPTADIENE



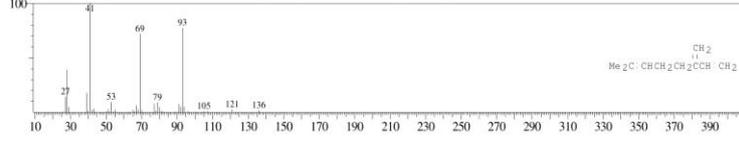
Hit#3 Entry:26205 Library:WILEY7.LIB
SI94 Formula:C10 H16 CAS:123-35-3 MolWeight:136 RetIndex:0
CompName:.beta.-Myrcene S5 1,6-Octadiene, 7-methyl-3-methylene- (CAS) 2-Methyl-6-methylene-2,7-octadiene S5 2-ETHENYL-6-METHYL-1,5-HEPTADIENE



Hit#4 Entry:26194 Library:WILEY7.LIB
SI94 Formula:C10 H16 CAS:123-35-3 MolWeight:136 RetIndex:0
CompName:.beta.-Myrcene S5 1,6-Octadiene, 7-methyl-3-methylene- (CAS) 2-Methyl-6-methylene-2,7-octadiene S5 2-ETHENYL-6-METHYL-1,5-HEPTADIENE

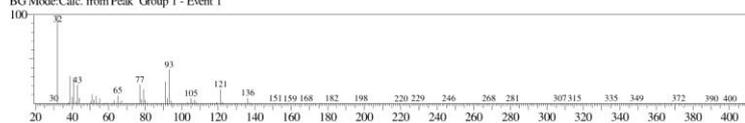


Hit#5 Entry:26200 Library:WILEY7.LIB
SI94 Formula:C10 H16 CAS:123-35-3 MolWeight:136 RetIndex:0
CompName:.beta.-Myrcene S5 1,6-Octadiene, 7-methyl-3-methylene- (CAS) 2-Methyl-6-methylene-2,7-octadiene S5 2-ETHENYL-6-METHYL-1,5-HEPTADIENE



<< Target >>

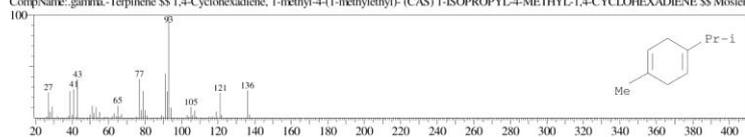
Line#:7 R.Time:5.683(Scan#:683) MassPeaks:253
RawMode:Averaged 5.675-5.692(682-684) BasePeak:31.95(8680)
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:26275 Library:WILEY7.LIB

SI:81 Formula:C10H16 CAS:99-85-4 MolWeight:136 RetIndex:0

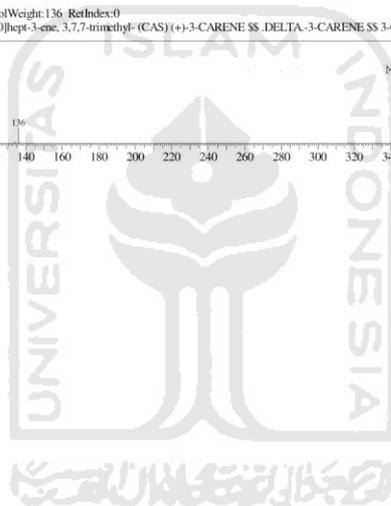
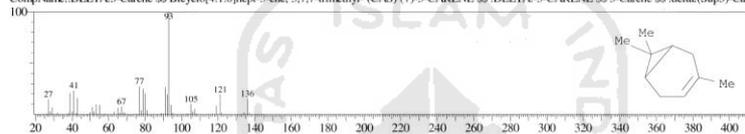
CompName: gamma-Terpinene SS 1,4-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)- (CAS) 1-ISOPROPYL-4-METHYL-1,4-CYCLOHEXADIENE SS Moslen



Hit#:2 Entry:26494 Library:WILEY7.LIB

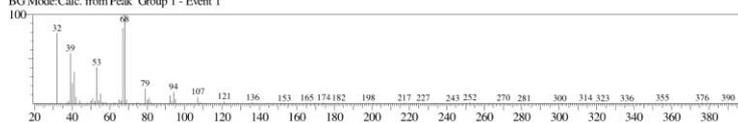
SI:80 Formula:C10H16 CAS:13466-78-9 MolWeight:136 RetIndex:0

CompName: DELTA-3-Carene SS Bicyclo[4.1.0]hept-3-ene, 3,7,7-trimethyl- (CAS) (+)-3-CARENE SS DELTA-3-CARENE SS 3-Carene SS ,delta.(Sup3)-Car

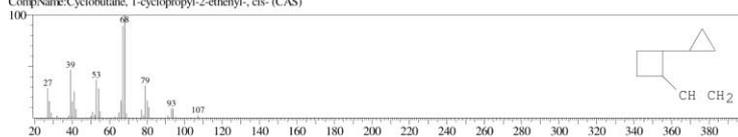


<< Target >>

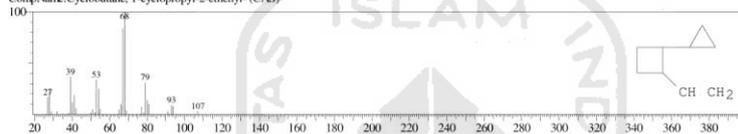
Line#:8 R.Time:5.867(Scan#:705) MassPeaks:200
RawMode:Averaged 5.858-5.875(704-706) BasePeak:68.10(3237)
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



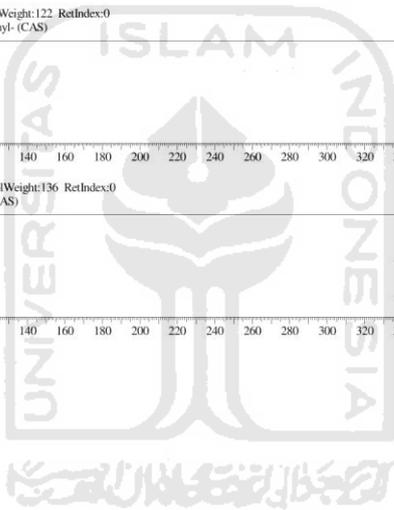
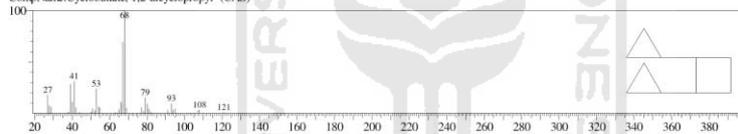
Hit#:1 Entry:16118 Library:WILEY7.LIB
SI:86 Formula:C9 H14 CAS:61141-61-5 MolWeight:122 RetIndex:0
CompName:Cyclobutane, 1-cyclopropyl-2-ethyl-, cis- (CAS)



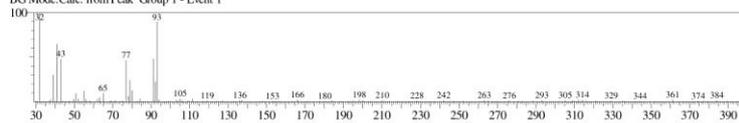
Hit#:2 Entry:16119 Library:WILEY7.LIB
SI:84 Formula:C9 H14 CAS:61233-73-6 MolWeight:122 RetIndex:0
CompName:Cyclobutane, 1-cyclopropyl-2-ethyl-, (CAS)



Hit#:3 Entry:25488 Library:WILEY7.LIB
SI:81 Formula:C10 H16 CAS:61141-62-6 MolWeight:136 RetIndex:0
CompName:Cyclobutane, 1,2-dicyclopropyl-, (CAS)



<< Target >>
Line# 9 R.Time: 5.900(Scan#: 709) MassPeak: 208
RawMode: Averaged 5.892-5.908(708-710) BasePeak: 32.00(1467)
BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1

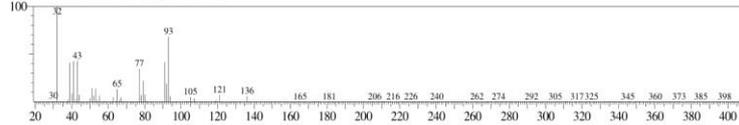


No hit compound

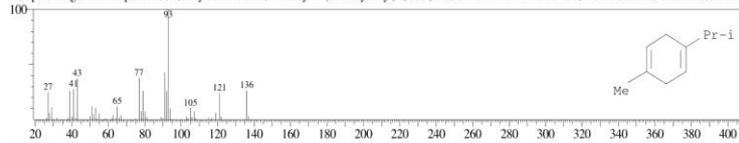


<<Target>>

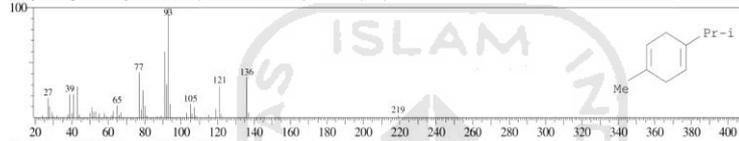
Line#:10 R.Time:6.292(Scan#:756) MassPeaks:220
RawMode:Averaged 6.283-6.300(755-757) BasePeak:32.00(15317)
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



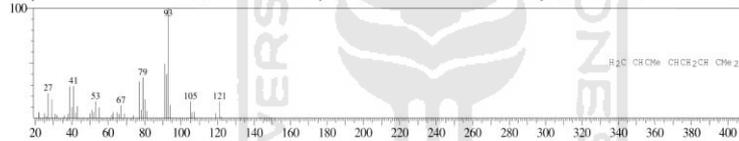
Hit#:1 Entry:26275 Library:WILEY7.LIB
SI:86 Formula:C10H16 CAS:99-85-4 MolWeight:136 RetIndex:0
CompName:gamma-Terpinene SS 1,4-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)- (CAS) 1-ISOPROPYL-4-METHYL-1,4-CYCLOHEXADIENE SS Moslen



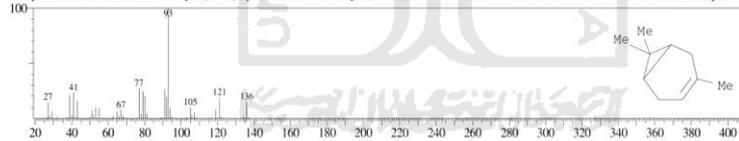
Hit#:2 Entry:26284 Library:WILEY7.LIB
SI:83 Formula:C10H16 CAS:99-85-4 MolWeight:136 RetIndex:0
CompName:gamma-Terpinene SS 1,4-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)- (CAS) 1-ISOPROPYL-4-METHYL-1,4-CYCLOHEXADIENE SS Moslen



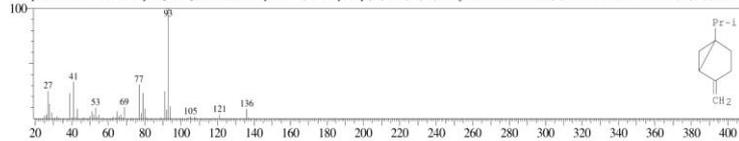
Hit#:3 Entry:26164 Library:WILEY7.LIB
SI:82 Formula:C10H16 CAS:13877-91-3 MolWeight:136 RetIndex:0
CompName:BETA-OCIMENE-X SS 1,3,6-Octatriene, 3,7-dimethyl- (CAS) BETA-OCIMENE-Y SS 3,7-Dimethyl-1,3,6-octatriene SS ALLO-OCIMENE SS C



Hit#:4 Entry:26494 Library:WILEY7.LIB
SI:82 Formula:C10H16 CAS:13466-78-9 MolWeight:136 RetIndex:0
CompName:DELTA-3-Carene SS Bicyclo[4.1.0]hept-3-ene, 3,7,7-trimethyl- (CAS) (+)-3-CARENE SS DELTA-3-CARENE SS 3-Carene SS delta.(Sup3)-Car

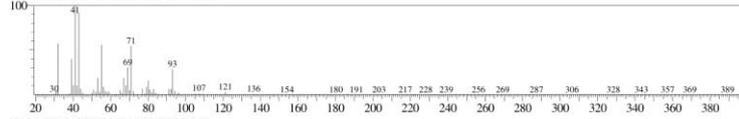


Hit#:5 Entry:26429 Library:WILEY7.LIB
SI:82 Formula:C10H16 CAS:3387-41-5 MolWeight:136 RetIndex:0
CompName:Sabinene SS Bicyclo[3.1.0]hexane, 4-methylene-1-(1-methylethyl)- (CAS) 4(10)-Thujene SS Sabinene SS (+)-Sabinene SS THUJENE, 4(10)- SS 1-Is

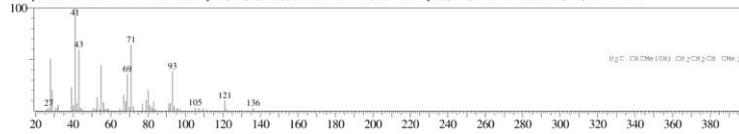


<< Target >>

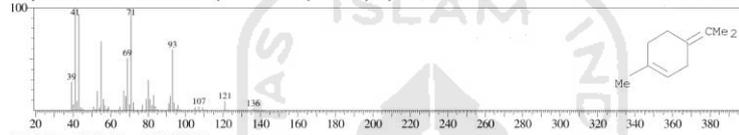
Line#: 11 R.Time: 6.842 (Scan#: 822) MassPeaks: 221
RawMode: Averaged 6.833-6.850 (821-823) BasePeak: 41.05 (41776)
BG Mode: Calc. from Peak Group 1 - Event 1



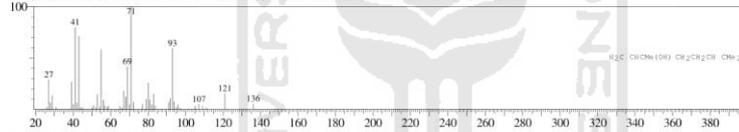
Hit#: 1 Entry: 42768 Library: WILEY7.LIB
SI: 91 Formula: C10 H18 O CAS: 22564-99-4 MolWeight: 154 RetIndex: 0
CompName: 1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-, (+,+) - (CAS) 1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-, (+,+) - SS dl-Linalool SS (+,+) - Linalool SS



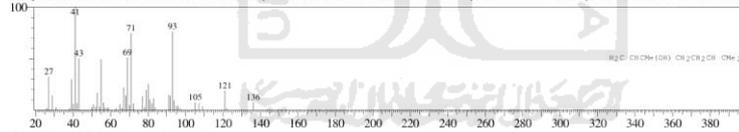
Hit#: 2 Entry: 26341 Library: WILEY7.LIB
SI: 88 Formula: C10 H16 CAS: 586-62-9 MolWeight: 136 RetIndex: 0
CompName: ALPHA-TERPINOLENE SS Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethylidene)- (CAS) 1,4(8)-P-MENTHADIENE SS 1-METHYLENE-4-ISOPROP



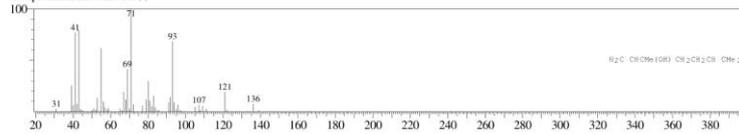
Hit#: 3 Entry: 43686 Library: WILEY7.LIB
SI: 87 Formula: C10 H18 O CAS: 78-70-6 MolWeight: 154 RetIndex: 0
CompName: Linalool SS 1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl- (CAS) Linalol SS .beta.-Linalool SS Linalyl alcohol SS



Hit#: 4 Entry: 43692 Library: WILEY7.LIB
SI: 85 Formula: C10 H18 O CAS: 78-70-6 MolWeight: 154 RetIndex: 0
CompName: Linalool SS 1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl- (CAS) Linalol SS .beta.-Linalool SS Linalyl alcohol SS 2,6-Dimethyl-2,7-octadien-6-ol SS allo-Ocimer

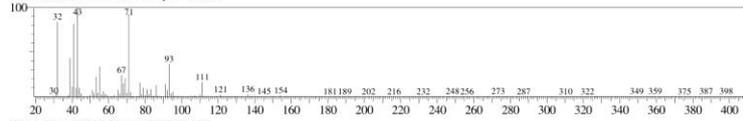


Hit#: 5 Entry: 42910 Library: WILEY7.LIB
SI: 85 Formula: C10 H18 O CAS: 78-70-6 MolWeight: 154 RetIndex: 0
CompName: L-LINALOOL SS

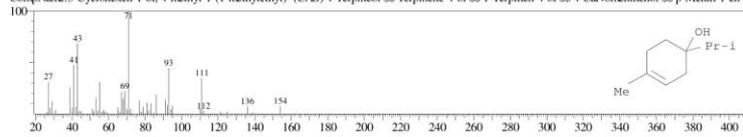


<< Target >>

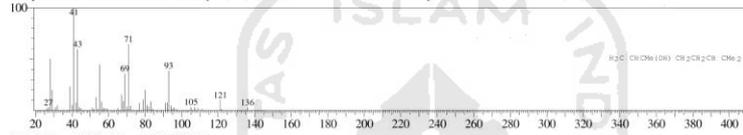
Line#:12 R.Time:8.150(Scan#979) MassPeaks:234
RawMode:Averaged 8.142-8.158(978-980) BasePeak:43.05(10280)
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



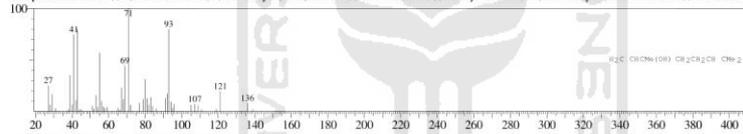
Hit#:1 Entry:43757 Library:WILEY7.LIB
SI:86 Formula:C10H18O CAS:562-74-3 MolWeight:154 RetIndex:0
CompName:3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)- (CAS) 4-Terpinolol SS Terpinene-4-ol SS 1-Terpinen-4-ol SS 4-Carvomenthenol SS p-Menth-1-en-4



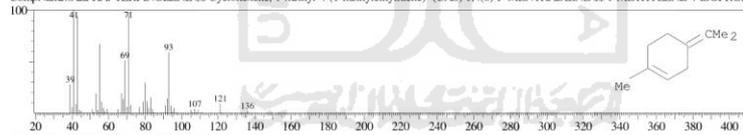
Hit#:2 Entry:42768 Library:WILEY7.LIB
SI:84 Formula:C10H18O CAS:22564-99-4 MolWeight:154 RetIndex:0
CompName:1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-, (+,-)- (CAS) 1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-, (+,-)- SS dl-Linalool SS (+)-Linalool SS



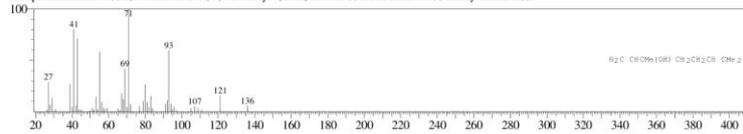
Hit#:3 Entry:43703 Library:WILEY7.LIB
SI:83 Formula:C10H18O CAS:78-70-6 MolWeight:154 RetIndex:0
CompName:Linalool SS 1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl- (CAS) Linalool SS .beta.-Linalool SS Linalyl alcohol SS 2,6-Dimethyl-2,7-octadien-6-ol SS allo-Ocimene



Hit#:4 Entry:26341 Library:WILEY7.LIB
SI:82 Formula:C10H16 CAS:586-62-9 MolWeight:136 RetIndex:0
CompName:ALPHA-TERPINOLENE SS Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethylidene)- (CAS) 1,4(8)-P-MENTHADIENE SS 1-METHYLENE-4-ISOPROP

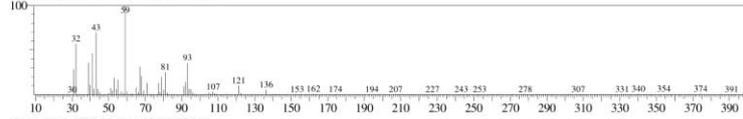


Hit#:5 Entry:43686 Library:WILEY7.LIB
SI:82 Formula:C10H18O CAS:78-70-6 MolWeight:154 RetIndex:0
CompName:Linalool SS 1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl- (CAS) Linalool SS .beta.-Linalool SS Linalyl alcohol SS

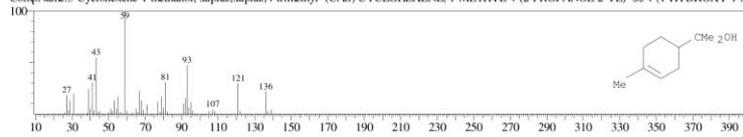


<< Target >>

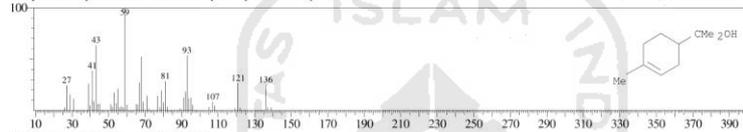
Line#:13 R.Time:8.333(Scan#:1001) MassPeaks:236
RawMode:Averaged 8.325-8.342(1000-1002) BasePeak:59.05(4299)
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



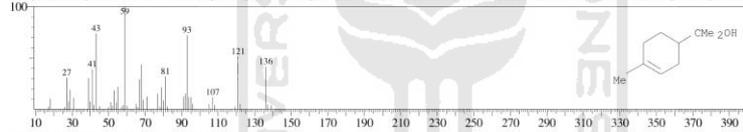
Hit#1 Entry:43775 Library:WILEY7.LIB
SI:88 Formula:C10 H18 O CAS:98-55-5 MolWeight:154 RetIndex:0
CompName:3-Cyclohexene-1-methanol, alpha, alpha, 4-trimethyl- (CAS) CYCLOHEXENE, 1-METHYL-4-(2-PROPANOL-2-YL)- 5S 4-(1-HYDROXY-1-M



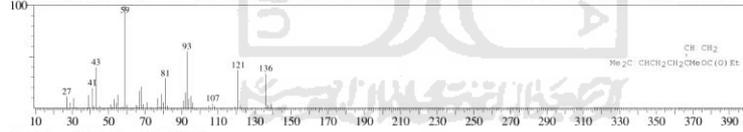
Hit#2 Entry:43773 Library:WILEY7.LIB
SI:87 Formula:C10 H18 O CAS:98-55-5 MolWeight:154 RetIndex:0
CompName:3-Cyclohexene-1-methanol, alpha, alpha, 4-trimethyl- (CAS) CYCLOHEXENE, 1-METHYL-4-(2-PROPANOL-2-YL)- 5S 4-(1-HYDROXY-1-M



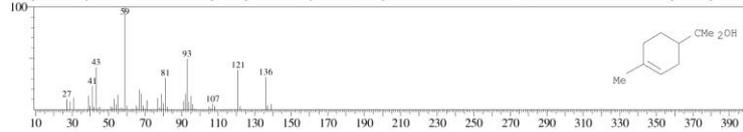
Hit#3 Entry:43787 Library:WILEY7.LIB
SI:86 Formula:C10 H18 O CAS:10482-56-1 MolWeight:154 RetIndex:0
CompName:3-Cyclohexene-1-methanol, alpha, alpha, 4-trimethyl-, (S)- (CAS) p-Menth-1-en-8-ol, (S)-(-)- 5S ALPHA-TERPINEOL 5S (-)-alpha-Terpineol S



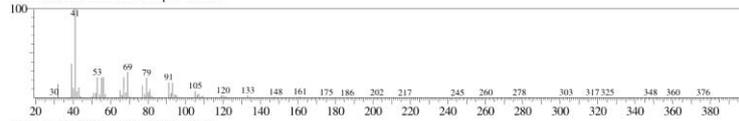
Hit#4 Entry:108817 Library:WILEY7.LIB
SI:84 Formula:C13 H22 O2 CAS:144-39-8 MolWeight:210 RetIndex:0
CompName:Linalyl propionate 5S 1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-, propionate (CAS) Linalyl propionate 5S 1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-, propionate 5S



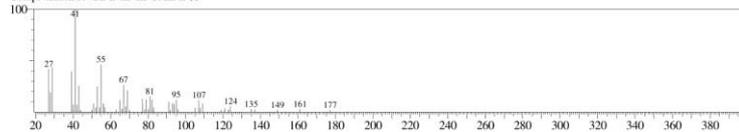
Hit#5 Entry:43785 Library:WILEY7.LIB
SI:84 Formula:C10 H18 O CAS:10482-56-1 MolWeight:154 RetIndex:0
CompName:3-Cyclohexene-1-methanol, alpha, alpha, 4-trimethyl-, (S)- (CAS) p-Menth-1-en-8-ol, (S)-(-)- 5S ALPHA-TERPINEOL 5S (-)-alpha-Terpineol S



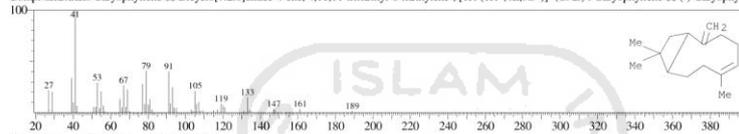
<< Target >>
Line#:14 R:Time:11.800 Scan#:1417) MassPeaks:203
RawMode:Averaged 11.792-11.808(1416-1418) BasePeak:41.05(5432)
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



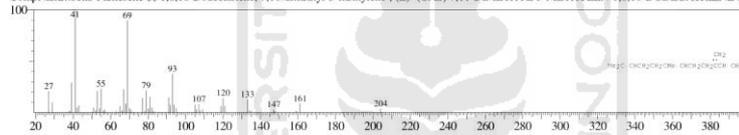
Hit#1 Entry:120410 Library:WILEY7.LIB
SI:87 Formula:C15 H24 O CAS:0-00-0 MolWeight:220 RetIndex:0
CompName:LONGIPINENEPOXIDE SS



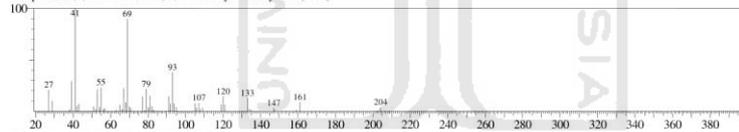
Hit#2 Entry:100778 Library:WILEY7.LIB
SI:87 Formula:C15 H24 CAS:87-44-5 MolWeight:204 RetIndex:0
CompName:trans-Caryophyllene SS Bicyclo[7.2.0]undec-4-ene, 4,11,11-trimethyl-8-methylene-, [1R-(1R*,4E,9S*)]-(CAS) 1-Caryophyllene SS (-)-Caryophyll



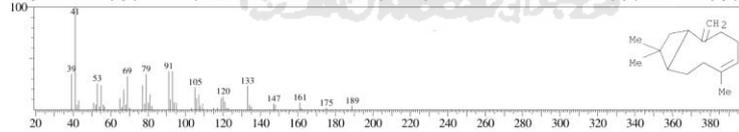
Hit#3 Entry:100676 Library:WILEY7.LIB
SI:86 Formula:C15 H24 CAS:18794-84-8 MolWeight:204 RetIndex:0
CompName:beta-Farnesene SS 1,6,10-Dodecatriene, 7,11-dimethyl-3-methylene-, (E)- (CAS) 7,11-DIMETHYL-3-METHYLEN-1,6,10-DODECATRIENE SS



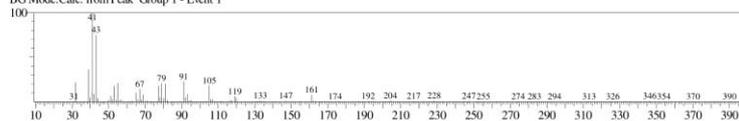
Hit#4 Entry:100368 Library:WILEY7.LIB
SI:86 Formula:C15 H24 CAS:77129-48-7 MolWeight:204 RetIndex:0
CompName:1,6,10-Dodecatriene, 7,11-dimethyl-3-methylene- (CAS)



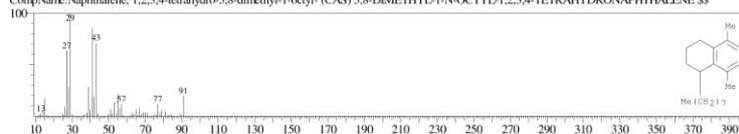
Hit#5 Entry:100785 Library:WILEY7.LIB
SI:85 Formula:C15 H24 CAS:87-44-5 MolWeight:204 RetIndex:0
CompName:trans-Caryophyllene SS Bicyclo[7.2.0]undec-4-ene, 4,11,11-trimethyl-8-methylene-, [1R-(1R*,4E,9S*)]-(CAS) 1-Caryophyllene SS (-)-Caryophyll



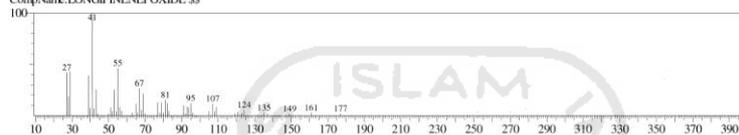
<< Target >>
 Line#:15 R:Time:12.617(Scan#:1515) MassPeaks:213
 RawMode:Averaged 12.608-12.625(1514-1516) BasePeak:41.00(3168)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



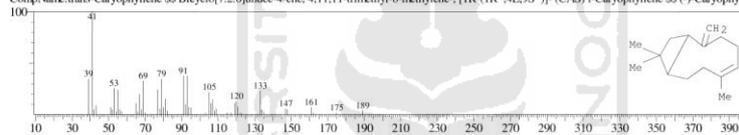
Hit#1 Entry:182637 Library:WILEY7.LIB
 SL:81 Formula:C20 H32 CAS:55255-58-8 MolWeight:272 RetIndex:0
 CompName:Naphthalene, 1,2,3,4-tetrahydro-5,8-dimethyl-1-octyl- (CAS) 5,8-DIMETHYL-1-N-OCTYL-1,2,3,4-TETRAHYDRONAPHTHALENE SS



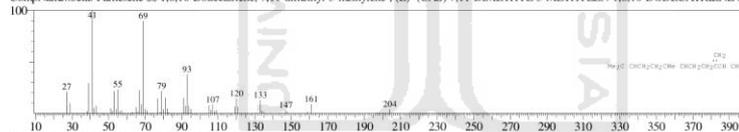
Hit#2 Entry:120410 Library:WILEY7.LIB
 SL:81 Formula:C15 H24 O CAS:0-00-0 MolWeight:220 RetIndex:0
 CompName:LONGIPINENEPOXIDE SS



Hit#3 Entry:100785 Library:WILEY7.LIB
 SL:81 Formula:C15 H24 CAS:87-44-5 MolWeight:204 RetIndex:0
 CompName:trans-Caryophyllene SS Bicyclo[7.2.0]undec-4-ene, 4,11,11-trimethyl-8-methylene-, [(1R*,4E9S*)]- (CAS) 1-Caryophyllene SS (-)-Caryophyllene



Hit#4 Entry:100676 Library:WILEY7.LIB
 SL:80 Formula:C15 H24 CAS:18794-84-8 MolWeight:204 RetIndex:0
 CompName:beta-Farnesene SS 1,6,10-Dodecatriene, 7,11-dimethyl-3-methylene-, (E)- (CAS) 7,11-DIMETHYL-3-METHYLEN-1,6,10-DODECATRIENE SS



Hit#5 Entry:100368 Library:WILEY7.LIB
 SL:80 Formula:C15 H24 CAS:77129-48-7 MolWeight:204 RetIndex:0
 CompName:1,6,10-Dodecatriene, 7,11-dimethyl-3-methylene- (CAS)

