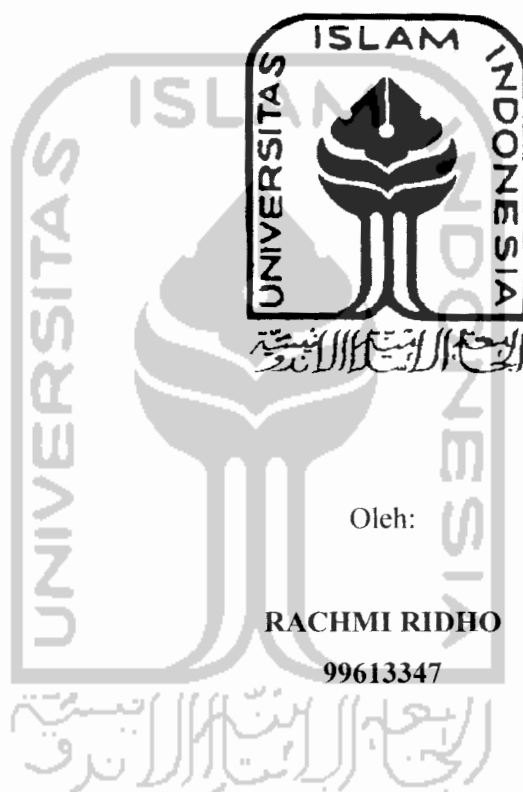


**UJI AKTIVITAS ANTI BAKTERI DARI MINYAK ATSIRI *Piper aduncum* L.
TERHADAP *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli* SERTA PROFIL
KROMATOGRAFI LAPIS TIPISNYA**

SKRIPSI



Oleh:

RACHMI RIDHO

99613347

**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
JOGJAKARTA**

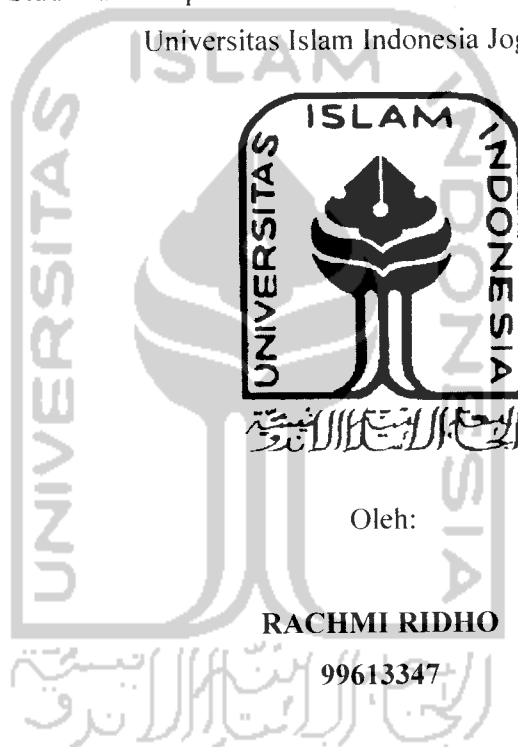
2004

**UJI AKTIVITAS ANTI BAKTERI DARI MINYAK ATSIRI *Piper aduncum* L.
TERHADAP *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli* SERTA PROFIL
KROMATOGRAFI LAPIS TIPISNYA**

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi (S.F)
Program Studi Farmasi pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Islam Indonesia Jogjakarta



Oleh:

RACHMI RIDHO

99613347

**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
JOGJAKARTA**

2004

LEMBAR PENGESAHAN PEMBIMBING

UJI AKTIVITAS ANTI BAKTERI DARI MINYAK ATSIRI *Piper aduncum* L. TERHADAP *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli* SERTA PROFIL KROMATOGRAFI LAPIS TIPISNYA

SKRIPSI



Oleh:

RACHMI RIDHO

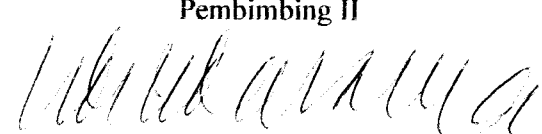
99613347

Jogjakarta, 22 April 2004

Menyetujui,
Pembimbing I


Erna Prawita Setyowati, M.Si., Apt.

Pembimbing II


Endang Darmawan, M.Si., Apt.

LEMBAR PENGESAHAN PENGUJI

Berjudul

UJI AKTIVITAS ANTI BAKTERI DARI MINYAK ATSIRI *Piper aduncum* L. TERHADAP *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli* SERTA PROFIL KROMATOGRAFI LAPIS TIPISNYA

Oleh:

RACHMI RIDHO

99613347

Telah dipertahankan dihadapan Panitia Penguji Skripsi
Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia

Tanggal: 22 April 2004

Penguji

1. Erna Prawita Setyowati, M.Si., Apt.
2. Endang Darmawan, M.Si., Apt.
3. Sri Mulyaningsih, M.Si., Apt.

Tanda tangan

Mengetahui

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia



(Naka Nugraha, M.Si.)

HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN

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 tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah di tulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan diterbitkan dalam daftar pustaka.



Jogjakarta, 22 April 2004

Penulis

Rachmi Ridho

HALAMAN PERSEMBAHAN



Ku persembahkan karya besarku ini kepada:

♥ Papa dan mamaku tercinta yang telah membesarkan, mendidik, membimbing serta menjagaku selalu dalam doa. Apapun yang telah mereka berikan padaku, hingga aku menjadi seperti ini, adalah suatu hal yang begitu tak ternilai bagiku. Semoga Allah selalu memberikan rahmat dan berkah-Nya kepada mereka berdua. Amien.

♥ Adik-adikku yang juga selalu mendoakanku dalam setiap doa dan sholatnya.

♥ Kekasih hatiku yang Insya Allah suatu hari nanti menjadi pendamping hidupku dalam suka dan duka.

♥ Almamaterku Universitas Islam Indonesia, Farmasi Jogjakarta

MOTTO

"...Allahi akan meninggikan orang-orang yang beriman diantaramu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat. Dan Allah Maha Mengetahui apa yang kamu kerjakan". (QS. Al-Mu'adilah 58:11)

...Katakanlah: "Adakah sama orang-orang yang mengetahui dengan orang-orang yang tidak mengetahui?" Sesungguhnya orang yang berakallah yang dapat menerima pelajaran.

(QS. Az-Zumar 39:9)

Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan. (QS. Alam Nasurah 94:6)

Rumput yang paling kuat tumbuhnya, terdapat diatas tanah yang paling keras.

(Galileo Galilei)

Kesulitan apapun tak tahan terhadap keuletan dan ketekunan, tanpa keuletan orang yang paling pintar dan berbakat sekalipun sering gagal dalam hidupnya. (D.J.Schwartz)

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr.Wb.

Alhamdulillah, segala puji syukur hanyalah kepada Allah S.W.T yang telah memberikan rahmat hidayah-Nya pada penulis dan semoga sholawat serta salam selalu dilimpahkan kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW, keluarga, sahabat dan umatnya. Amien. Sehingga penulisan skripsi yang berjudul: **“UJI AKTIVITAS ANTI BAKTERI DARI MINYAK ATSIRI *Piper aduncum* L. TERHADAP *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli* SERTA PROFIL KROMATOGRAFI LAPIS TIPISNYA”** dapat penulis selesaikan dengan baik.

Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi (S.F) program studi farmasi pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia Jogjakarta.

Pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada pihak-pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini, diantaranya:

1. Ibu Erna Prawita Setyowati, M.Si., Apt., selaku dosen pembimbing I yang dengan baik dan sabar membimbing, membantu dan mendorong penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
2. Bapak Endang Darmawan, M.Si., Apt., selaku dosen pembimbing II yang dengan sabar memberikan pengarahan dan semangat pada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
3. Ibu Sri Mulyaningsih, M.Si., Apt., selaku dosen penguji pendadaran.
4. Bapak Jaka Nugraha, M.Si., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia Jogjakarta.
5. Ibu Farida Hayati, M.Si., Apt., selaku Ketua Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia Jogjakarta.

6. Mba` Diah, dan mas-mas laboran, yang dengan ikhlas dan senang hati membantu di laboratorium.
7. Papa dan Mamaku tercinta yang selalu memberikan doanya kepadaku, sehingga aku selalu di beri kemudahan dan perlindungan oleh-Nya.
8. Adik-adikku yang menjadikan aku memahami arti kesendirian.
9. Yayankku tercinta Reza Andriadi ST, yang memberikan dorongan dan selalu menemani penulis dalam susah dan senang.
10. Teman-temanku: Mery, Nuniek, Nuniek Aul, Sam, Sum, Erna, Andho yang meluangkan waktunya untuk penulis.
11. Mas-mas dan mba` yang ada di perpus UGM, yang telah membantu mencari literatur yang penulis butuhkan..
12. Semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini.

Penulis menyadari dalam penulisan skripsi ini masih jauh dari sempurna, karena keterbatasan, sumbang saran dan kritik yang bersifat membangun sangat penulis harapkan. Harapan penulis semoga tulisan ini bisa bermanfaat bagi penulis khususnya dan bagi pembaca pada umumnya.

Wassalamu'alaikum Wr.Wb.

Jogjakarta, 22 April 2004

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN PEMBIMBING.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN PENGUJI.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN.....	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	v
MOTTO.....	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
INTISARI.....	xv
ABSTRACT.....	xvi
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang	1
B. Perumusan Masalah.....	2
C. Tujuan Penelitian.....	3

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
A. Tumbuhan <i>Piper aduncum</i> L.....	4
B. Minyak Atsiri.....	7
C. Metode Penyulingan Minyak Atsiri.....	8
D. Kromatografi Lapis Tipis.....	9
E. Bakteri Uji.....	14
1. <i>Staphylococcus aureus</i>	15
2. <i>Escherichia coli</i>	16
F. Pengujian Aktivitas Antibakteri.....	17
G. Mekanisme Kerja Antibiotik.....	20
BAB III. METODE PENELITIAN.....	22
A. Bahan dan Alat.....	22
1. Bahan.....	22
2. Alat.....	22
B. Cara Penelitian.....	23
C. Analisis Hasil.....	31

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	32
A. Hasil Determinasi Tumbuhan.....	32
B. Pembuatan Simplisia atau Bahan Uji.....	33
C. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri.....	34
1. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Difusi.....	34
2. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Dilusi Cair.....	37
D. Uji Kualitatif Dengan Metode KLT.....	40
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	43
A. Kesimpulan.....	43
B. Saran.....	43
DAFTAR PUSTAKA.....	44
LAMPIRAN.....	46



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Surat Keterangan Determinasi Tanaman.....	46
2. Foto Tanaman Yang Digunakan.....	47
3. Foto Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Dengan Metode Difusi...48	
4. Foto Kontrol Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Dengan Metode Difusi.....	49
5. Foto Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> Dengan Metode Dilusi.....	50
6. Foto Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri terhadap <i>Escherichia coli</i> Dengan Metode Dilusi.....	51
7. Foto Dilusi Cair.....	52
8. Foto Profil Kromatografi Lapis Tipis Dari Minyak Atsiri.....	53
9. Foto Alat Destilasi Metode Uap-Air (<i>Water and Steam Distillation</i>).....	55

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil Uji Aktivitas Anti bakteri Dari Minyak Atsiri Terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> Dan <i>Escherichia coli</i> Dengan Metode Difusi.....	35
2. Hasil Uji Aktivitas Anti bakteri Dari Minyak Atsiri Terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> Dan <i>Escherichia coli</i> Dengan Metode Dilusi Cair.....	38
3. Kontrol Aktivitas Anti bakteri Dari Minyak Atsiri Terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> Dan <i>Escherichia coli</i> Dengan Metode Dilusi Cair.....	38
4. Hasil Uji Kualitatif KLT Minyak Atsiri.....	42



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kerja Uji Aktivitas Antibakteri Dengan Metode Difusi Cara Sumuran.....	27
2. Kerja Uji Aktivitas Antibakteri Dengan Metode Dilusi Cair.....	29
3. Cara Kerja Umum.....	30
4. Pola Kromatogram Minyak Atsiri.....	41



INTISARI

Indonesia merupakan negara yang kaya akan hasil alam, diantaranya tumbuh-tumbuhan. Banyak jenis tumbuhan yang digunakan oleh masyarakat sebagai obat, salah satunya adalah dari familia Piperaceae yaitu *Piper aduncum* L. Secara tradisional *Piper aduncum* L., biasa digunakan sebagai obat anti muntah, bisul, dan vaginitis. Penelitian dilakukan untuk mengetahui seberapa besar aktivitas anti bakteri yang ditimbulkan oleh minyak atsiri dari *Piper aduncum* L., terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan menggunakan metode difusi dengan kadar 3,125%, 6,25%, 12,5%, 25%, dan 50%. Aktivitas anti bakteri diketahui dengan melihat diameter hambatan zona jernih yang ditimbulkan. Potensi anti bakteri dilakukan dengan penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM) dengan menggunakan metode dilusi. Hasil uji menunjukkan minyak atsiri *Piper aduncum* L., beraktivitas terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Harga KBM terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* belum dapat ditentukan, karena sampai kadar terkecil 0,049% masih bersifat membunuh. Harga KBM terhadap bakteri *Escherichia coli* adalah sebesar 1,562%. KHM minyak atsiri tidak bisa ditentukan, karena pada berbagai variasi kadar minyak atsiri sudah dalam keadaan keruh. Analisis kandungan minyak atsiri dilakukan dengan menggunakan metode KLT, menunjukkan dalam minyak atsiri terdapat golongan senyawa terpenoid.

Kata Kunci: Aktivitas antibakteri, *Piper aduncum* L.



A TEST OF ANTI-BACTERIAL ACTIVITY IN VOLATILE OIL, *Piper aduncum* L., AGAINST *Staphylococcus aureus* AND *Escherichia coli* AND THIN-LAYERED CHROMATOGRAPHY

ABSTRACT

Indonesia is one of the countries rich in natural products, one of which is the herb. There are a lot of plants and herbs which the common people use as medicine, such as *Piper aduncum* L., from the Piperaceae family. Traditionally, *Piper aduncum* L. is usually used as anti-vomiting, anti-abscess and vaginitis drug. The research is carried out to test how much anti-bacterial activity the volatile oil of the *Piper aduncum* L., when it is tested against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* by using a diffusion method with concentration 3,125%, 6,25%, 12,5%, 25% and 50%. The anti-bacterial activity is determined by measured the diameter of inhibition zone. The anti-bacterial potential is done by determining the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and the Minimum Bactericidal Concentration (MBC) by using a dilution method. The result shows that *Piper aduncum* L. volatile oil, is inhibited *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. The MBC value of *Staphylococcus aureus* cannot be determined, on its lowest concentration 0,049%, it is still active. The MBC value toward *Escherichia coli* is 1,562%. The MIC value of volatile oil cannot be determined as, at various concentrations, volatile oil is disturbed. The analysis of volatile oil composition by using the TLC method shows that volatile oil containing terpenoid compound.

Key words: Anti-bacterial activity, *Piper aduncum* L.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Pengobatan tradisional dengan memanfaatkan tumbuhan berkhasiat obat merupakan pengobatan yang dimanfaatkan dan diakui masyarakat dunia. Hal ini menandai kesadaran untuk kembali ke alam (*back to nature*) guna mencapai kesehatan optimal dan untuk mengatasi berbagai penyakit secara alami (Wijayakusuma, 2000). Merupakan fakta yang tak dapat dipungkiri bahwa sebagian besar masyarakat Indonesia dalam mencari pemecahan masalah kesehatan, memanfaatkan pengobatan tradisional sebagai salah satu pilihan. Untuk hal ini pelayanan kesehatan tradisional merupakan potensi yang besar, karena dekat dengan masyarakat, mudah diperoleh dan relatif lebih murah daripada obat modern (Anonim, 1996). Pengobatan dengan menggunakan ramuan tumbuhan secara tradisional memiliki kelebihan, yaitu efek samping yang ditimbulkan minimal dibandingkan dengan pengobatan secara kimiawi atau modern.

Tumbuhan obat merupakan sumber bahan obat yang sangat penting artinya bagi pembuatan obat tradisional di Indonesia, bahkan mungkin juga untuk obat tradisional di dunia. Di Indonesia dijumpai kurang lebih 940 species tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai obat, sebagian sudah dikenal dan diketahui tumbuhan asalnya, dipelajari kandungan serta khasiatnya, namun masih banyak pula diantaranya yang belum diteliti sama sekali (Anonim, 1996).

Salah satu tumbuhan yang digunakan masyarakat di Indonesia dan di dunia sebagai obat adalah *Piper aduncum* L. Bagian yang dipergunakan adalah daunnya, dibuat dalam bentuk infusa dan dipergunakan untuk mengobati penyakit radang vagina (*vaginitis*), kencing nanah (*gonorrhoea*), keputihan (*leucorrhoea*), pendarahan (*hemorrhages*), gangguan pencernaan (*dyspepsia*), disentri, anti muntah dan bisul. Untuk pengobatan bisul yang dipergunakan adalah getah dari batang *Piper aduncum* L, yang dioleskan pada bisul.

Penggunaan *Piper aduncum* L, sebagai obat hanya masih berdasarkan pengalaman terdahulu dan kebiasaan masyarakat saja (pengalaman empiris), karena itu perlu dilakukan penelitian mengenai aktivitas antibakteri dari *Piper aduncum* L. Diharapkan penelitian tentang *Piper aduncum* L, ini dapat dijadikan awal bagi penelitian lebih lanjut, guna mengembangkan pengobatan tradisional di masyarakat Indonesia.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan uraian diatas, maka permasalahan yang timbul adalah sebagai berikut:

1. Apakah minyak atsiri dari *Piper aduncum* L., memiliki aktivitas sebagai anti bakteri?
2. Berapakah potensi aktivitas anti bakteri dari *Piper aduncum* L.?
3. Bagaimana profil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dari minyak atsiri *Piper aduncum* L. ?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri yang ditimbulkan oleh minyak atsiri *Piper aduncum* L., terhadap bakteri gram positif *Staphylococcus aureus* dan bakteri gram negatif *Escherichia coli* serta melihat profil kromatografi lapis tipis nya.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tumbuhan *Piper aduncum* L.

1. Sistematika tumbuhan

Divisio/ Divisi : Spermatophyta
Subdivisio/ Subdivisi : Angiospermae
Classis/ Kelas : Dicotyledonae
Ordo/ Bangsa : Piperales
Familia/ Suku : Piperaceae
Genus/ marga : Piper
Species/ Jenis : *Piper aduncum* L.
(Backer & Bakhuizen van den Brink, 1965)

2. Nama daerah

Jawa (Sunda) : seuseureuhan atau sirih-sirihan.
(Sugati & Hutapea, 1991).

3. Pertelaan

Batang: Tegak lurus atau menjalar, bentuk bulat, berkayu lunak dan rapuh, permukaan gundul, warna hijau muda dengan bintik-bintik kayu; buku-buku batang membengkak, warna merah (keunguan), percabangan monopodial; cabang terkulai, bentuk bulat agak pipih, permukaan berbulu, warna hijau dengan semburat merah, mempunyai geragih, aromatis (Anonim, 2001).

Daun: Tunggal, berseling atau tersebar, daun-daun pada bagian bawah rapat, daun-daun pada bagian atas berjarak $\frac{1}{3}$ - $\frac{2}{3}$ kali panjang daun, aromatis; daun penumpu jorong, permukaan atas berbulu, warna hijau muda pucat; tangkai pendek, panjang $\frac{3}{10}$ - $1\frac{1}{2}$ cm, permukaan berbulu (tertutup oleh trikoma lunak pendek); helaian bentuk bulat telur-memanjang-lanset, panjang 12-25 cm, lebar 5-10 cm, pangkal berlekuk miring, ujung meruncing, tepi rata, daging tipis lunak, permukaan atas sangat kasap yang disebabkan oleh adanya bulu-bulu yang merupakan trikoma yang kuat, pada permukaan bawah diantara tulang-tulang cabang agak tertutup oleh rambut-rambut agak panjang yang tertekan rapat dan rata atau menjulur dan tegak, warna permukaan atas hijau, warna permukaan bawah hijau muda; pertulangan menyirip, tulang cabang berpangkal pada pangkal sampai dengan bagian tengah ibu tulang daun, jumlah tulang 13 atau 15; helaian daun muda permukaan atas dan bawah berbulu, warna hijau muda (Anonim, 2001; Backer & Bakhuizen van den Brink, 1965).

Bunga: majemuk, bentuk bulir, berhadapan dengan daun, tangkai bulir $1\frac{1}{10}$ - $1\frac{3}{10}$ cm, permukaan berbulu; kelamin bunga benci; bulir tegak dan menjulur, kurus, panjang bulir dewasa 8-17 cm, pada $\frac{1}{3}$ - $\frac{1}{2}$ bagian teratas membengkok kebawah, warna pada mulanya putih sampai kuning pucat kemudian hijau ketika masak; bunga sangat padat dan rapat dalam barisan melintang teratur; daun tangkai sangat jelas bertangkai, melekat pada ibu tangkai bunga pada satu titik (maka dari itu perlekatannya *punctate*), bentuk perisai, tinggi $\frac{1}{2}$ - $1\frac{1}{4}$ mm (termasuk tangkainya), sepanjang tepinya tertutup oleh rambut-rambut yang meluas, pendek, tebal dan putih, awalnya bunga tertutupi oleh daun tangkai tetapi tidak tercakup didalamnya, selama bunga mekar bentuk datar atau sedikit cembung serta menjauh dari ibu tangkai bunga (setidaknya ujung menjauh) dan tidak membuka; tidak mempunyai perhiasan bunga; benang sari 4; jarang 3; kepala putik 2-3, bentuk serabut lurus yang pendek, bakal buah gundul (Anonim, 2001; Backer & Bakhuizen van den Brink, 1965).

Buah: sejati, tunggal, buni, sangat rapat; permukaan gundul, waktu masak berwarna kehitaman (Anonim, 2001; Backer & Bakhuizen van den Brink, 1965).

4. Khasiat dan kegunaan

Air rebusan atau air perasan daun *Piper aduncum* L., dapat digunakan sebagai obat penyakit radang vagina (*vaginitis*), kencing nanah (*gonorrhoea*), keputihan (*leucorrhoea*), pendarahan (*hemorrhages*), obat luka baru, gangguan pencernaan (*dyspepsia*), disentri, mencret (*diarrhoea*), anti muntah (*anti vomiting*), bisul, borok. Untuk pengobatan bisul atau borok, yang dipergunakan adalah getah

dari batang *Piper aduncum* L, yang dioleskan pada bisul atau borok (Liogjer, 1990; Sugati & Hutapea, 1991).

5. Kandungan kimia:

Daun *Piper aduncum* L., mengandung saponin, flavonoida, dan polifenol serta minyak atsiri (Sugati & Hutapea, 1991).

B. Minyak Atsiri

Minyak atsiri atau disebut juga minyak eteris adalah minyak yang bersifat mudah menguap, yang terdiri dari campuran zat yang mudah menguap dengan komposisi dan titik didih yang berbeda-beda (Guenther, 1987).

Minyak atsiri merupakan salah satu hasil metabolisme sekunder dari tumbuhan dan dapat ditemukan disemua bagian tumbuhan (Oyen & Dung, 1999). Dalam tubuh tumbuhan, umumnya minyak atsiri ini terdapat dalam struktur sekretori khusus. Pada Piperaceae, minyak atsiri ini terdapat dalam sel parenkim yang termodifikasi dan mungkin dibentuk secara langsung oleh protoplasma, dengan dekomposisi lapisan resinogen pada dinding sel, atau dengan hidrolisis glukosida tertentu (Tyler *et al*, 1988).

Minyak atsiri adalah zat yang berasal dari bagian-bagian tumbuhan berupa cairan jernih, berbau, menguap pada temperature kamar ditempat terbuka, dan dapat dipisahkan dari bagian nabati lain dengan penyulingan uap (Guenther, 1948; Tyler *et al*, 1988). Selain memberi aroma yang khas, pada species-species *Piper* dimanfaatkan sebagai bumbu dapur, minyak atsiri ini juga bertanggung jawab

terhadap khasiat species-species *Piper* yang dimanfaatkan sebagai bahan obat (Oyen & Dung, 1999).

Kandungan minyak atsiri pada setiap species *Piper* bervariasi komposisinya, namun Hegnauer (1969) menyatakan bahwa minyak atsiri pada species-species *Piper* terutama terdiri dari monoterpena, seskuiterpena, atau fenilpropana.

Minyak atsiri mengandung bermacam-macam komponen kimia yang berbeda, komponen tersebut dapat digolongkan dalam 4 kelompok besar dominan yang menentukan sifat minyak atsiri, yaitu:

1. Terpen, yang ada hubungannya dengan isoprena atau isopentena;
2. Persenyawaan berantai lurus, tidak mengandung rantai cabang;
3. Turunan benzena;
4. Bermacam-macam persenyawaan lainnya (Guenther, 1987).

C. Metode Penyulingan Minyak Atsiri

Metode penyulingan ada tiga, yaitu:

1. **Penyulingan dengan air (*water distillation*)**, bahan yang disuling kontak langsung dengan air mendidih. Air dipanaskan dengan metode pemanasan, biasanya dilakukan dengan panas langsung, mantel uap, pipa melingkar tertutup atau pipa uap melingkar terbuka atau bercabang.
2. **Penyulingan dengan air dan uap (*water and steam distillation*)**, bahan olah diletakkan diatas rak-rak atau saringan berlubang. Ketel suling diisi air sampai

permukaan air berada tidak jauh dibawah saringan. Air dipanaskan dengan berbagai cara yaitu dengan uap jenuh basah dan bertekanan rendah.

3. **Penyulingan dengan uap langsung (*steam distillation*)**, penyulingan ini air tidak diisikan dalam ketel. Uap yang digunakan adalah uap jenuh atau uap kelewat panas pada tekanan lebih dari 1 atm. Uap dialirkan melalui pipa uap terlingkar yang berpori yang terletak dibawah bahan dan uap bergerak ke atas melalui bahan yang terletak diatas saringan (Guenther, 1987).

D. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) adalah metode pemisahan fisikokimia. Lapisan yang memisahkan, yang terdiri atas bahan berbutir-butir (fase diam), ditempatkan pada penyangga berupa pelat gelas, logam, atau lapisan yang cocok. Campuran yang akan dipisah, berupa larutan, ditotolkan berupa bercak atau pita (awal). Setelah pelat atau lapisan ditaruh didalam bejana tertutup rapat yang berisi larutan pengembang yang cocok (fase gerak), pemisahan terjadi selama perambatan kapiler (pengembangan). Selanjutnya senyawa yang tidak berwarna harus ditampakkan (dideteksi) (Stahl, 1985).

Untuk memperoleh hasil yang baik pada pemisahan dengan menggunakan lempeng KLT, beberapa kondisi yang perlu diperhatikan antara lain:

1. Fase Diam (Lapisan Penyerap)

Panjang lapisan 200 mm dengan lebar 200 atau 100 mm. Untuk analisis, tebalnya 0,1-0,3 mm, biasanya 0,2 mm. Sebelum digunakan, lapisan disimpan dalam lingkungan yang tidak lembab dan bebas dari uap laboratorium. Penyerap

yang umum ialah silika gel, aluminium oksida, kieselgur, selulosa dan turunannya, poliamida dan lain-lain. Dapat dipastikan silika gel yang paling banyak digunakan. Silika gel ini menghasilkan perbedaan dalam efek pemisahan yang tergantung kepada cara pembuatannya, sehingga silika gel G Merck menurut spesifikasi Stahl, yang diperkenalkan tahun 1958, telah diterima sebagai bahan standar. Selain itu harus diingat bahwa penyerap seperti aluminium oksida dan silika gel mempunyai kadar air yang berpengaruh nyata terhadap daya pemisahannya (Stahl, 1985).

2. Fase Gerak (Pelarut Pengembang)

Fase gerak adalah medium angkut dan terdiri atas satu atau beberapa pelarut. Ia bergerak didalam fase diam, yaitu suatu lapisan berpori, karena ada gaya kapiler. Yang digunakan hanyalah pelarut bertingkat mutu analitik dan bila diperlukan, system pelarut multi komponen ini harus berupa suatu campuran sesederhana mungkin yang terdiri atas maksimum 3 komponen. Angka banding campuran dinyatakan dalam bagian volume sedemikian rupa sehingga volume total 100, misal: benzene: kloroform: asam asetat 96% (50:40:10) (Stahl, 1985).

3. Bejana Pemisah, Penjenuhan, Aras Pengisian

Bejana harus dapat menampung pelat 200x200 mm, dan harus tertutup rapat. Aras pengisian fase gerak harus 5-8 mm, ini sesuai dengan kedalaman lapisan yang terendam. Untuk kromatografi dalam bejana yang jenuh, secarik kertas saring bersih yang lebarnya 18-20 cm dan panjangnya 45 cm ditaruh pada dinding sebelah dalam bejana berbentuk U dan dibasahi dengan pelarut pengembang (Stahl, 1985).



4. Awal dan Jumlah Cuplikan

Bercak atau pita ditotolkan pada jarak 15 mm dari tepi bawah lapisan. Jarak suatu bercak awal, yang berukuran 3-5 mm, ke bercak awal lainnya dan jarak antara bercak paling pinggir dengan tepi samping sekurang-kurangnya 10 mm. Lapisan tidak boleh rusak selama penotolan cuplikan itu. Biasanya ditotolkan 1-10 μl larutan cuplikan 0,1-1%. Untuk penotolan disarankan agar menggunakan mikropipet berujung runcing, khusus berskala 1 μl dan bervolume 10 μl (1 ml = 1000 μl). Larutan yang keatsiriannya rendah atau jumlahnya besar, ditotolkan sebagian-sebagian, dalam hal ini pelarut dibiarkan menguap dahulu sebelum penotolan berikutnya dilakukan (Stahl, 1985).

5. Pengembangan

Pengembangan ialah proses pemisahan campuran cuplikan akibat pelarut pengembang merambat naik dalam lapisan. Jarak pengembangan normal, yaitu jarak antara garis awal dan garis depan ialah 100 nm. Lapisan KLT harus dalam keadaan kering diantara kedua pengembangan tersebut, ini dilakukan dengan membiarkan pelat diudara selama 5-10 menit (Stahl, 1985).

6. Deteksi Senyawa Yang Dipisah

Deteksi paling sederhana adalah jika senyawa menunjukkan penyerapan didaerah uv gelombang pendek (radiasi utama pada kira-kira 254 nm) atau jika senyawa itu dapat dieksitasi ke fluoresensi radiasi uv gelombang pendek atau gelombang panjang (365 nm). Jika dengan kedua cara itu senyawa tidak dapat dideteksi, harus dicoba dengan reaksi kimia, pertama tanpa dipanaskan, kemudian

bila perlu dengan dipanaskan. Deteksi biologi pada beberapa kasus dapat dilakukan (Stahl, 1985).

7. Angka Rf pada KLT

Lazimnya untuk mengidentifikasi senyawa-senyawa yang terpisah menggunakan harga Rf. Harga Rf didefinisikan sebagai berikut:

$$\text{Harga Rf: } \frac{\text{Jarak yang digerakkan oleh senyawa dari titik asal}}{\text{Jarak yang digerakkan oleh pelarut dari titik asal}}$$

(Sastrohamidjojo, 2001)

Faktor-faktor yang mempengaruhi gerakan noda dalam kromatografi lapis tipis yang juga mempengaruhi harga Rf:

- a. Struktur kimia dari senyawa yang sedang dipisahkan
- b. Sifat dari penyerap dan derajat aktifitasnya

Biasanya aktifitas dicapai dengan pemanasan dalam oven, hal ini akan mengeringkan molekul-molekul air yang menempati pusat-pusat serapan dari penyerap. Perbedaan penyerap akan memberikan perbedaan yang besar terhadap harga-harga Rf meskipun menggunakan fase bergerak dan solute yang sama, tetapi hasil akan dapat diulang dengan hasil yang sama, hanya akan diperoleh jika menggunakan penyerap yang sama juga ukuran partikel tetap dan jika pengikat (kalau ada) dicampur hingga homogen.

- c. Tebal dan kerataan dari lapisan penyerap

Meskipun dalam prakteknya tebal lapisan tidak dapat dilihat pengaruhnya, tetapi perlu diusahakan tebal lapisan yang rata. Ketidak rataan akan

menyebabkan aliran pelarut menjadi tak rata pula dalam daerah yang kecil dari plat.

d. Pelarut (dan derajat kemurniannya) fase bergerak

Kemurnian dari pelarut yang digunakan sebagai fase bergerak dalam kromatografi lapis tipis adalah sangat penting dan bila campuran pelarut digunakan, maka perbandingan yang dipakai harus betul-betul diperhatikan.

e. Derajat kejenuhan dari uap dalam bejana pengembangan yang digunakan

f. Teknik percobaan

Arah dalam mana pelarut bergerak diatas plat. (Metoda aliran penaikan yang hanya diperhatikan, karena cara ini yang paling umum, meskipun teknik aliran penurunan dan mendatar juga digunakan.)

g. Jumlah cuplikan yang digunakan

Penetesan cuplikan dalam jumlah yang berlebihan, akan memberikan tendensi penyebaran noda-noda dengan kemungkinan terbentuknya ekor dan efek tak kesetimbangan lainnya, hingga akan mengakibatkan kesalahan-kesalahan pada harga R_f .

h. Suhu

Pemisahan-pemisahan sebaiknya dikerjakan pada suhu tetap, hal ini terutama untuk mencegah perubahan-perubahan dalam komposisi pelarut yang disebabkan oleh penguapan atau perubahan-perubahan fase.

i. Kesetimbangan

Ternyata bahwa kesetimbangan dalam lapisan tipis lebih penting dalam kromatografi kertas, hingga perlu mengusahakan atmosfer dalam bejana jenuh

dengan uap pelarut. Suatu gejala bila atmosfer dalam bejana tidak jenuh dengan uap pelarut, bila digunakan pelarut campuran, akan terjadi pengembangan dengan permukaan pelarut yang berbentuk cekung dan fase bergerak lebih cepat pada bagian tepi-tepi daripada di bagian tengah. Keadaan ini harus dicegah (Sastrohamidjojo, 2001).

E. Bakteri Uji

Bakteri adalah organisme uniseluler yang tidak mempunyai klorofil. Struktur bakteri mirip dengan sel tumbuhan atau hewan, terdiri dari sitoplasma, nukleus dan dinding sel. Sebagian besar bakteri memiliki ukuran 0,2-10 μm (Anonim, 1993).

Berdasarkan sifat pengecatannya dengan cat gram, bakteri dibedakan atas bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Bakteri gram positif adalah bakteri yang pada pengecatan gram tahan terhadap alkohol (ikatan antara cat dengan bakteri tidak dilunturkan oleh alkohol) sehingga tetap mengikat warna cat pertama (Gram A) dan tidak mengikat warna yang kedua, sehingga bakteri akan tetap berwarna ungu. Contoh bakteri gram positif adalah: golongan *coccon*: Streptococcus, Staphylococcus, Pneumococcus, Pectococcus, Pectostreptococcus; golongan *basil* (berbentuk batang): Corynebacterium, Mycobacteria, Bacillus, Clostridia (Anonim, 1993). Bakteri gram negatif adalah bakteri yang pada pengecatan gram tidak tahan terhadap alkohol, sehingga warna cat yang pertama (Gram A) akan dilunturkan dan bakteri akan mengikat warna kedua yang diberikan (warna kontras) sehingga bakteri akan berwarna merah. Contoh bakteri

gram negatif adalah: golongan *coccon*: Neisseria, Veillonella; golongan *basil* (berbentuk batang): *Escherichia*, Shigella, Salmonella, Klebsiella (Anonim, 1993).

Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini ada dua jenis, yaitu:

Staphylococcus aureus

Klasifikasi *Staphylococcus aureus*

Divisio/ Divisi : Schizomycota
 Classis/ Kelas : Schizomycetes
 Ordo/ Bangsa : Eubacterioles
 Familia/ Suku : Micrococaceae
 Genus/ marga : Staphylococcus
 Species/ Jenis : *Staphylococcus aureus* (Salle, 1961).

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif, berbentuk bola dengan diameter 0,5-1,5 μm , terdapat tunggal, berpasangan dan secara khas membelah diri pada lebih dari satu bidang, sehingga membentuk gerombol yang tidak teratur (Pelczar dan Chan, 1998). Kata *Staphyle* berasal dari bahasa Yunani yang berarti setangkai buah anggur menyerupai susunan bergerombol dari kokus tersebut. Pada biakan cair juga terlihat kokus yang tunggal, berpasangan, tetrad dan berbentuk rantai. *Staphylococcus* tidak bergerak dan tidak membentuk spora, serta tidak diketahui adanya stadium istirahat (Jawetz *et al*, 1995).

Staphylococcus mudah tumbuh pada kebanyakan pembenihan bakteriologi dalam keadaan aerobik atau mikro-aerobik. *Staphylococcus* tumbuh paling cepat pada suhu 37°C, tetapi paling baik membentuk pigmen pada suhu

20°C-25°C. Koloni pada pembenihan padat berbentuk bulat halus, menonjol dan berkilau-kilauan membentuk berbagai pigmen (Jawetz *et al*, 1995).

Beberapa *Staphylococcus aureus* dapat ditemukan pada kulit, saluran pencernaan, udara, makanan, air dan pakaian yang terkontaminasi. Bakteri ini mudah tumbuh pada kulit yang mengalami radang, kulit yang luka yang mengarah pada infeksi dan proses bernanah lainnya. Pada saluran pernafasan dapat menyebabkan pneumonia, selain itu juga dapat menyebabkan infeksi intra abdomen yang bisa timbul karena komplikasi pasca bedah, infeksi traktus urinarius dan infeksi traktus genitalis pada wanita (Salle, 1961).

Escherichia coli

Klasifikasi *Escherichia coli*

Divisio/ Divisi	: Prokaryotae
Classis/ Kelas	: Schizomycetes
Ordo/ Bangsa	: Eubacteriales
Familia/ Suku	: Enterobacteriaceae
Genus/ marga	: <i>Escherichia</i>
Species/ Jenis	: <i>Escherichia coli</i> (Salle, 1961).

Escherichia coli adalah bakteri gram negatif, berbentuk batang, pendek, letak satu sama lainnya kadang-kadang berderet seperti rantai, berukuran 1,1-1,5 µm x 2,0-6,0 µm, motil dengan flagelum peritrikus atau non motil (Pelczar & Chan, 1998; Jawetz *et al*, 1995).

Escherichia coli tumbuh optimal pada suhu 37°C, membentuk koloni bulat konveks, halus dengan pinggir yang nyata pada biakan. Dinding sel mengandung kompleks lipopolisakarida sebagai endotoksin yang sering dilepaskan jika bakteri mengalami lisis (Jawetz *et al*, 1995).

Escherichia coli merupakan bagian terbesar dari flora normal usus. Bakteri ini pada umumnya tidak menyebabkan penyakit bila masih ada didalam usus, paru dan dapat menyebabkan penyakit bila telah mencapai jaringan diluar traktus intestinalis, seperti saluran kencing, paru, saluran empedu, peritoneum dan saluran otak. *Escherichia coli* dapat menyebabkan penyakit diare dengan beberapa mekanisme. Beberapa strain menghasilkan enterotoksin, karena sifat gen yang dibawa dalam plasmid (Jawetz *et al*, 1995).

F. Pengujian Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas daya antibakteri dapat dilakukan dengan dua metode, yaitu:

1. Metode Difusi

Ada beberapa cara yang dapat digunakan pada metode difusi ini, yaitu:

A. Cara Kirby Bauwer

Diambil beberapa koloni kuman dari pertumbuhan 24 jam pada agar, di suspensikan ke dalam 0,5 ml media cair, diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Suspensi ditambah aquadest steril hingga kekeruhan tertentu (sesuai standar Brown III) yang setara dengan konsentrasi kuman 10^8 CFU per ml. Ose khusus digunakan untuk mengambil suspensi kuman

tersebut dan dioleskan pada permukaan media sampai rata. Kemudian diletakkan kertas samir (disk) yang mengandung antibakteri di atasnya dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam dan dibaca diameter zone radikal serta diameter zone irradikalnya (Anonim, 1993).

Pada metode penelitian secara difusi ini ada dua pengertian tentang zona hambatan, yaitu:

1. *Zona radikal*, adalah zona di sekitar sumuran/disk yang sama sekali tidak terlihat adanya pertumbuhan bakteri. Potensi anti bakteri dapat diketahui dengan mengukur diameter zona radikal ini.
2. *Zona irradikal*, adalah zona disekitar sumuran/disk yang pertumbuhan bakterinya dihambat oleh anti bakteri, tetapi tidak di matikan. Disini akan terlihat adanya pertumbuhan yang kurang subur atau lebih jarang dibandingkan dengan daerah diluar pengaruh anti bakteri tersebut (Anonim, 1993).

B. Cara Sumuran

Penyiapan media yang ditanami kuman uji sama dengan cara Kirby Bauwer. Pada agar dibuat sumuran dengan diameter tertentu dan kedalam sumuran ditetaskan larutan anti bakteri yang digunakan. Dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam dan dibaca hasilnya seperti cara Kirby Bauwer (Anonim, 1993).

C. Cara *Pour Plate*

Diambil beberapa koloni kuman dari pertumbuhan 24 jam, disuspensikan ke dalam 0,5 ml media cair, diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam.

Suspensi ini ditambah dengan aquadest steril hingga kekeruhan tertentu (sesuai standar Brown III) yang setara dengan konsentrasi kuman 10^8 CFU per ml. Dengan ose khusus diambil satu mata ose dan dimasukkan kedalam 4 ml agar base 1,5% yang mempunyai temperatur 50°C . Setelah larutan bakteri tersebut dibuat homogen lalu dituang pada media, dibiarkan sampai agar membeku, kemudian disk anti bakteri diletakkan diatas media, dan diinkubasi selama 15-20 jam pada suhu 37°C , dibaca hasilnya seperti cara Kirby Bauwer (Anonim, 1993).

2. Metode Dilusi

Pada prinsipnya anti bakteri diencerkan hingga didapat beberapa konsentrasi. Pada dilusi cair, konsentrasi obat ditambah suspensi kuman dalam media, sedangkan pada dilusi padat tiap konsentrasi obat ditambah dengan media agar, kemudian ditanami kuman, dan diinkubasi lalu dibaca hasilnya (Anonim, 1993). Ada dua macam metode dilusi yaitu *metode dilusi cair* (Macro Broth Dilution Method) dan *metode dilusi agar* (Agar Dilusi Methode). Konsentrasi anti bakteri terendah yang menghambat pertumbuhan bakteri ditunjukkan dengan adanya kejernihan disebut KHM atau *Minimum Inhibitory Concentration (MIC)*, dan konsentrasi anti bakteri terendah yang membunuh disebut KBM atau *Minimum Bactericidal Concentration (MBC)* (Edberg, 1986).

G. Mekanisme Kerja Antibiotik

Menurut definisi Waksman, antibiotik adalah (pada mulanya) zat yang dibentuk oleh mikroorganisme yang dapat menghambat atau membunuh pertumbuhan mikroorganisme lain. Definisi ini harus diperluas karena zat yang bersifat anti biotik ini dapat pula dibentuk oleh beberapa hewan dan tanaman tinggi (Mutschler, 1991).

Mekanisme kerja anti biotik umumnya ada tiga macam, yaitu:

1. Menghambat biosintesis dinding sel. Misalnya penisilin, sefalosporin, sikloserin dan basitrasin.
2. Meningkatkan permeabilitas membran sitoplasma. Misalnya sefalosporin, sikloserin dan basitrasin.
3. Mengganggu sintesis protein normal bakteri. Misalnya tetrasiklin, kloramfenikol, eritromisin, novobiosin dan aminoglikosida (Mutschler, 1991).

Berdasarkan mekanisme kerja, zat-zat anti bakteri digolongkan dalam dua golongan, yaitu:

1. *Zat-zat bakterisid*, yang pada dosis biasa berkhasiat mematikan kuman. Zat-zat ini dibagi dalam dua kelompok, yaitu:
 - a. Zat-zat yang bekerja terhadap fase tumbuh, misalnya penisilin, sefalosporin, polipeptida, rifamisin, asam nalidiksat dan kuinolon.
 - b. Zat-zat yang bekerja terhadap fase istirahat, misalnya aminoglikosida, nitrofurantoin, INH dan kotrimoksazol.
2. *Zat-zat bakteriostatik*, yang pada dosis biasa terutama berkhasiat menghentikan pertumbuhan dan memperbanyak kuman. Pemusnahannya harus

dilakukan oleh sistem tangkis tubuh sendiri dengan jalan fagositosis. Misalnya sulfonamida, kloramfenikol, tetrasiklin, makrolida dan linkomisin serta asam fusidat (Tjay, 2002).



BAB III

METODE PENELITIAN

A. Bahan dan Alat

1. Bahan

Kalau tidak dinyatakan lain, bahan berderajat p.a (E. Merck)

- a. Bahan utama: *Piper aduncum* L., yang terdapat di Ngaglik Sleman, Jogjakarta.
- b. Bahan penyarian: bahan untuk penyulingan minyak atsiri adalah air dan natrium sulfat eksikatus.
- c. Bahan uji mikrobiologi: *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*
- d. Bahan media untuk bakteri: media *nutrient Broth dehydrated* (Oxoid LTD), media nutrien agar, DMSO (*Dimethyl sulfoxide*), aquades.
- e. Bahan untuk pemeriksaan KLT adalah lempeng silika gel GF₂₅₄, *eluen*: heksana, etil asetat dan *pereaksi semprot*: anisaldehyd-asam sulfat.

2. Alat

- a. Alat untuk destilasi minyak atsiri: seperangkat alat-alat gelas, anggang dandang, penangas air dan timbangan.
- b. Alat untuk uji mikrobiologi: ose steril, petri disk, tabung reaksi steril, pelubang gabus dengan diameter 5 mm, mikro pipet, *yellow tip*, *blue tip*, autoklaf, inkubator, lampu spiritus, jangka sorong dan alat-alat gelas yang telah disterilkan.

- c. Alat untuk KLT: bejana pengembangan, pipa kapiler, lampu uv, alat semprot.

B. Cara Penelitian

1. Determinasi tumbuhan

Determinasi dilakukan dengan menggunakan buku acuan "*Flora of Java*"(Backer, 1968).

Determinasi dilakukan di laboratorium Farmakognosi bagian Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada.

2. Pengumpulan dan persiapan bahan

Bahan yang terdiri dari daun *Piper aduncum* L., yang terdapat di Ngaglik Sleman, telah dibersihkan dari kotoran yang melekat dengan cara dicuci dibawah air mengalir dan diangin-anginkan, sebelum destilasi.

3. Isolasi minyak atsiri dengan metode uap-air (*water and steam distillation*)

Bahan sebanyak lebih kurang 1 kg di masukkan keatas angsang dandang alumunium yang sudah berisi air sebanyak 4 liter dan di hubungkan dengan labu pendingin. Buret di isi aquades hingga penuh. Pemanasan dilakukan dengan kompor gas sampai penyulingan selesai. Tiap kali ditambah aquades 1,5 liter, untuk mencegah kehabisan air. Minyak atsiri yang keluar segera ditampung dan setelah penyulingan selesai, hasil minyak atsiri dikumpulkan menjadi satu dalam corong pisah dan di beri natrium sulfat eksikatus secukupnya untuk menghilangkan tapak-tapak air. Minyak atsiri tersebut

disimpan dalam wadah tertutup rapat dan berwarna gelap untuk menghindari terjadinya oksidasi.

4. Uji aktivitas anti bakteri

a. Sterilisasi alat

Alat-alat yang akan digunakan untuk uji aktivitas anti bakteri disterilkan dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit.

b. Pembuatan inokulum bakteri uji

Bakteri dari biakan murni diambil sebanyak satu ose, disuspensikan dengan 1 ml media *nutrien Broth dehydrated*, diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Biakan bakteri tersebut diencerkan dengan aquades steril sampai diperoleh kekeruhan yang sama dengan standar Mc. Farland yang setara dengan 10^8 CFU/ml.

c. Uji aktivitas

1. Pembuatan larutan uji

Minyak atsiri dibuat larutan uji dengan cara melarutkan tiap minyak atsiri kedalam DMSO (*Dimethyl sulfoxyside*) 100% dan dibuat seri kadarnya. Kontrol positif dibuat dengan melarutkan 100 mg sulfadiazin dalam DMSO (*Dimethyl sulfoxyside*) sebanyak 1ml.

2. Uji daya hambat

Uji daya hambat *Piper aduncum* L., menggunakan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan media nutrient agar. Inokulum bakteri uji yang mempunyai kekeruhan sama dengan standar Mc.Farland diambil sebanyak volume tertentu dan dicampur

kedalam media nutrient agar yang masih cair (suhu 40°C-50°C) sehingga diperoleh konsentrasi mikrobial uji 10^8 CFU/ml, selanjutnya sebanyak 20 ml media dipindahkan kedalam petri dan dibiarkan memadat. Pada media dibuat sumuran dengan garis tengah 5 mm, kedalam sumuran tersebut ditetaskan minyak atsiri, DMSO (*Dimethyl sulfoxide*) sebagai kontrol negatif dan larutan obat (*sulfadiazine*) sebagai kontrol positif, masing-masing sebanyak 20 µl dengan menggunakan mikro pipet. Media diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam, kemudian diukur zona jernih yang terbentuk disekeliling sumuran.

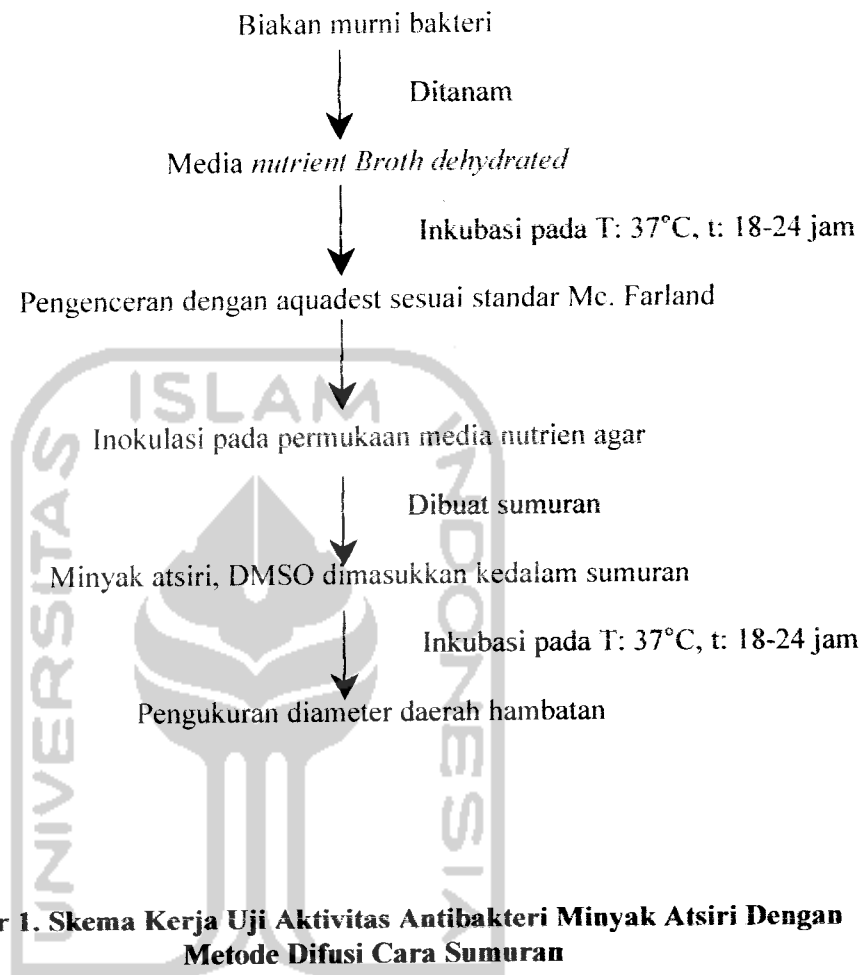
3. Penentuan KHM dan KBM

Minyak atsiri diencerkan hingga didapat beberapa konsentrasi dan tiap konsentrasi ditambah suspensi kuman. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Konsentrasi anti bakteri terendah yang menghambat pertumbuhan bakteri merupakan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ditunjukkan dengan adanya kejernihan. Kemudian tiap konsentrasi suspensi kuman diambil sebanyak satu ose dan digoreskan pada media nutrient agar, media diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Konsentrasi terendah yang membunuh bakteri merupakan Kadar Bunuh Minimal (KBM).

5. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

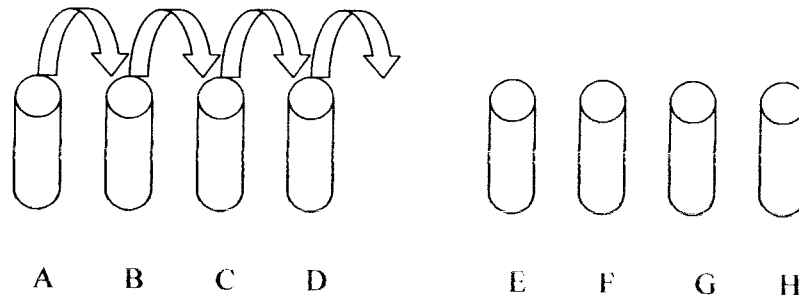
Lempeng silika gel GF₂₅₄ yang telah disiapkan (10x2cm), ditotoli dengan minyak atsiri sebanyak dua kali penotolan menggunakan pipa kapiler, kemudian lempeng yang ditotoli itu dikembangkan dalam bejana KLT menggunakan fase gerak heksana-etil asetat (9:1 v/v). Setelah selesai pengembangan sampai batas yang ditentukan, lempeng diambil dan diangin-anginkan hingga kering, kemudian diamati bercak yang timbul di bawah sinar UV_{366 nm} dan UV_{254 nm}. Kemudian lempeng-lempeng tersebut disemprot dengan pereaksi anisaldehyda-asam sulfat, dan bercak-bercak yang timbul diamati dengan sinar tampak dan di bawah sinar UV_{366 nm} dan UV_{254 nm}.





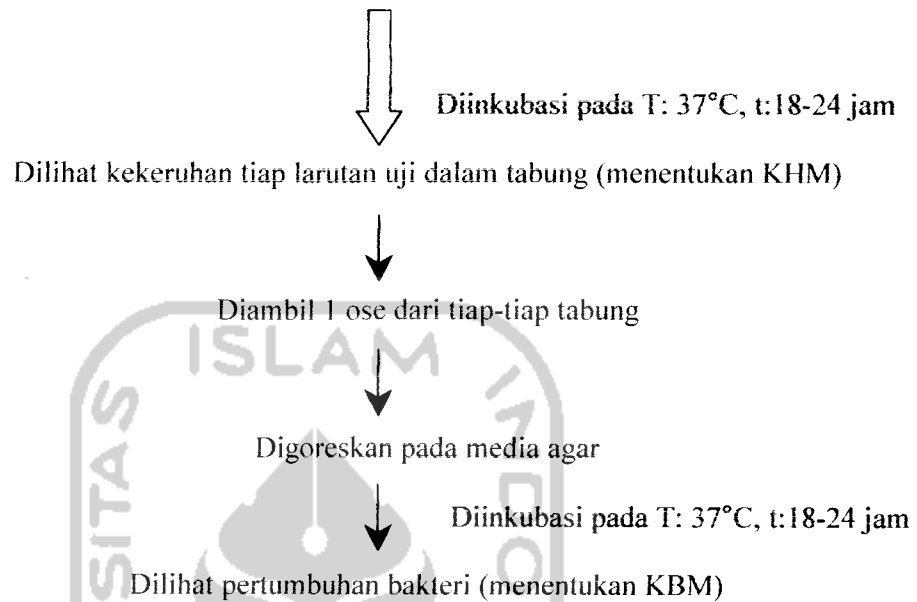
Gambar 1. Skema Kerja Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Dengan Metode Difusi Cara Sumuran

الجامعة الإسلامية
الربيعية
الاستاذة
الاستاذة

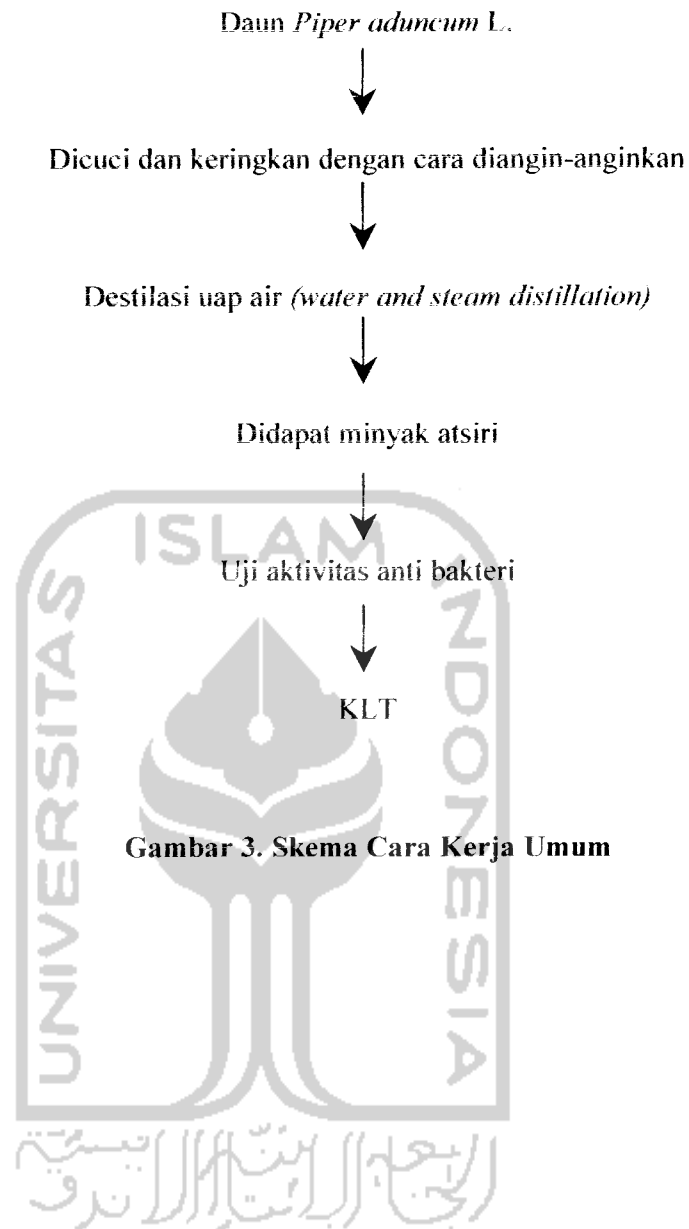


- Tabung A berisi larutan stok dengan konsentrasi:
 - Minyak atsiri 100% 50 μ l; DMSO 100% 730 μ l; dan aquadest 820 μ l.
- Tabung B, C, D, diisi media *nutrient Broth dehydrated* sebanyak 800 μ l tanpa suspensi bakteri.
- Dari tabung A diambil sebanyak 800 μ l larutan stok dan dimasukkan kedalam tabung B. Dari tabung B diambil sebanyak 800 μ l larutan dan dimasukkan kedalam tabung C. Dari tabung C diambil sebanyak 800 μ l larutan dan dimasukkan kedalam tabung D. Dari tabung D diambil sebanyak 800 μ l larutan dan di buang untuk menyamakan volume akhir. Jadi volume akhir dari masing-masing tabung 800 μ l.
- Kemudian tabung A, B, C, D, masing-masing ditambahkan 800 μ l suspensi bakteri dalam media *nutrient Broth dehydrated*.
- Tabung E (kontrol media) berisi media *nutrient Broth dehydrated* 1600 μ l.
- Tabung F (kontrol bakteri) berisi suspensi bakteri dalam media *nutrient Broth dehydrated* sebanyak 1600 μ l.
- Tabung G (kontrol pelarut) berisi suspensi bakteri dalam media *nutrient Broth dehydrated* di tambah pelarut (DMSO 5%) sebanyak 1600 μ l, dengan perbandingan (1:1 v/v).

- Tabung H (kontrol antibiotik) berisi antibiotik (dengan melarutkan 100 mg sulfadiazin dalam DMSO 5% 1ml), media cair, suspensi bakteri dalam media *nutrient Broth dehydrated* diambil sebanyak 1600 μ l (1:1:0,5 v/v).



Gambar 2. Skema Kerja Uji Aktivitas Anti bakteri Dengan Metode Dilusi Cair



Gambar 3. Skema Cara Kerja Umum

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Determinasi Tumbuhan

Tanaman *Piper aduncum* L., yang di gunakan dalam penelitian ini diambil dari ngaglik Sleman, Jogjakarta. Untuk menghindari kesalahan penggunaan tanaman yang dimaksud dalam pustaka yang menjadi acuan dengan tanaman yang digunakan sebenarnya, maka dilakukan determinasi tanaman. Determinasi tanaman menggunakan buku acuan “Flora of Java” (Backer and van den Brink, 1962), hasilnya berupa kunci determinasi seperti tersebut dibawah ini:

1b - 2b - 3b - 4b - 12b - 13b - 14b - 17b - 18b - 19b - 20b - 21b - 22b - 23b
- 24b - 25b - 26b - 27b - 799b - 800b - 801b - 802b - 806b - 807b - 809b -
810b - 811a - 812b - 815b - 816b - 818b - 820b - 821b - 822a -
823b.....Piperaceae.....1b - 2b - 3b.....Piper.....1b - 3b - 11a - 12a -
13a.....*Piper aduncum* L.

Berdasarkan hasil determinasi tersebut, terbukti bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Piper aduncum* L atau sirih-sirihan.

B. Pembuatan Simplisia atau Bahan Uji

Daun *Piper aduncum* L., dibersihkan dari kotoran dan tanah menggunakan air mengalir, kemudian di keringkan dengan cara diangin-anginkan ditempat yang teduh dan dihindari dari sinar matahari langsung, hal ini untuk menghindari rusak dan menguapnya minyak atsiri serta senyawa-senyawa yang terdapat dalam *Piper aduncum* L., oleh sinar UV yang terdapat dalam sinar matahari. Pengeringan daun *Piper aduncum* L., tidak terlalu kering, cukup untuk menghilangkan air karena pencucian sehingga daun kelihatan lebih layu.

Setelah pengeringan, daun *Piper aduncum* L., dimasukkan kedalam angsang dandang dan dihubungkan dengan labu pendingin, bahan penyari daun *Piper aduncum* L., adalah air. Setelah beberapa waktu didapatkan minyak atsiri, Minyak tersebut kemudian dimasukkan dalam corong pisah dan diberi natrium sulfat eksikatus p.a secukupnya untuk menghilangkan tapak-tapak air, dan disimpan dalam wadah tertutup rapat dan berwarna gelap, karena untuk menghindari terjadinya oksidasi karena cahaya yang terang dan mencegah menguapnya minyak atsiri, karena minyak atsiri tersebut bersifat volatil atau mudah menguap.

Berat basah daun *Piper aduncum* L. yang didestilasi adalah 4 kg dan minyak atsiri yang dihasilkan adalah 4 ml, jadi rendemennya 0,1% v/b. Warna dari minyak atsiri *Piper aduncum* L., adalah bening dan baunya khas pedas aromatis.

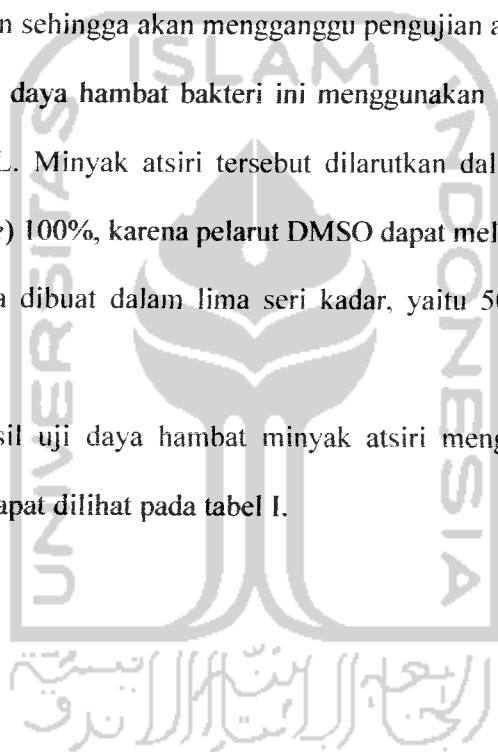
C. Hasil Uji Aktivitas Anti bakteri

1. Hasil uji aktivitas anti bakteri dengan metode difusi

Sebelum dilakukan uji aktivitas anti bakteri, media serta alat-alat yang akan digunakan harus disterilkan terlebih dahulu menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Sterilisasi bertujuan untuk membuat media dan alat-alat dalam kondisi bebas dari mikroba atau kontaminan lainnya. Jika media dan alat-alat tersebut tidak dalam keadaan steril, maka dikhawatirkan akan ditumbuhi kontaminan sehingga akan mengganggu pengujian aktivitas.

Uji daya hambat bakteri ini menggunakan minyak atsiri dari daun *Piper aduncum* L. Minyak atsiri tersebut dilarutkan dalam pelarut DMSO (*Dimethyl sulfoxyside*) 100%, karena pelarut DMSO dapat melarutkan minyak atsiri tersebut, selanjutnya dibuat dalam lima seri kadar, yaitu 50%, 25%, 12.5%, 6.25% dan 3.125%.

Hasil uji daya hambat minyak atsiri menggunakan metode difusi cara sumuran dapat dilihat pada tabel I.



Tabel I. Hasil Uji Aktivitas Anti bakteri Dari Minyak Atsiri *Piper aduncum* L., Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli* Dengan Metode Difusi

Bakteri	Kadar Minyak Atsiri (%)	Diameter Zona Hambatan (cm)			$\bar{X} \pm SD$
		X ₁	X ₂	X ₃	
<i>Staphylococcus aureus</i>	3,125	1,21	0,70	0,90	0,94 ± 0,257
	6,25	1,30	0,90	1,10	1,1 ± 0,2
	12,5	1,30	1,00	1,10	1,13 ± 0,153
	25	1,70	1,30	1,50	1,5 ± 0,2
	50	2,50	1,70	2,30	2,17 ± 0,416
	Pelarut DMSO 100 %	-	-	-	-
	Obat Sulfadiazine	0,85	0,90	1,00	0,92 ± 0,006
<i>Escherichia coli</i>	3,125	-	-	-	-
	6,25	-	-	-	-
	12,5	0,80	0,80	0,70	0,77 ± 0,059
	25	0,90	1,1	1,1	1,03 ± 0,116
	50	1,30	1,30	1,2	1,27 ± 0,059
	Pelarut DMSO 100 %	-	-	-	-
	Obat Sulfadiazine	0,90	0,95	1,00	0,95 ± 0,003

Keterangan: (-): Tidak ada zona hambatan.
(Ø): Diameter sumuran: 5 mm/ 0,5 cm

Berdasarkan tabel I, terlihat bahwa minyak atsiri *Piper aduncum* L mampu membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* pada kadar terkecil yaitu 3,125%. Sedangkan aktivitas anti bakteri minyak atsiri *Piper aduncum* L terhadap

Escherichia coli hanya mampu membunuh bakteri sampai kadar 12,5% dengan replikasi sebanyak tiga kali.

Untuk bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* digunakan obat sulfadiazine sebagai kontrol positif (+) karena obat sulfadiazine merupakan obat antibakteri turunan sulfonamida yang bekerja terhadap sejumlah mikroba *Gram positif* dan mikroba *Gram negatif* diantaranya *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dan bekerja sebagai antimetabolit yang mengusir secara kompetitif asam *p-aminobenzoat* yang dibutuhkan bakteri untuk hidup. (Mutschler, 1991). Sedangkan kontrol negatif (-) yang digunakan pada penelitian ini adalah DMSO (*Dimethyl sulfoxyside*), karena setelah uji kelarutan minyak atsiri *Piper aduncum* L dengan berbagai pelarut, yang menunjukkan kelarutan paling baik adalah dengan pelarut DMSO (*Dimethyl sulfoxyside*). DMSO dengan kadar 100% pada uji aktivitas antibakteri secara difusi tidak memberikan hambatan zona jernih atau tidak mempunyai efek antibakteri yang bisa menghambat pertumbuhan bakteri.

2. Hasil uji aktivitas anti bakteri dengan metode dilusi cair

Metode dilusi bertujuan untuk mengetahui kadar terkecil minyak atsiri yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri (KHM) yang tampak dari kekeruhan pada tabung reaksi. Kadar terkecil yang mampu membunuh pertumbuhan bakteri (KBM) yang akan terlihat dari pertumbuhan bakteri dari hasil goresan pada media nutrient agar. Uji aktivitas dengan metode dilusi ini dilakukan terhadap minyak atsiri untuk kedua jenis bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

Uji aktivitas minyak atsiri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan empat seri kadar yaitu 3,125%; 1,562%; 0,781%; dan 0,391%. Sedangkan untuk uji aktivitas minyak atsiri terhadap bakteri *Escherichia coli* dibuat empat seri kadar juga yaitu 3,125%; 1,562%; 0,781% dan 0,391%. Urutan kadar ini mengacu pada hasil uji aktivitas secara difusi. Akan tetapi untuk uji aktivitas terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan kadar tersebut menunjukkan tidak adanya pertumbuhan sama sekali atau semua kadar bersifat membunuh. Jadi kadarnya diturunkan lagi menjadi 0,391%; 0,195%; 0,098%; dan 0,049%. Sedangkan untuk uji aktivitas terhadap bakteri *Escherichia coli* tetap menggunakan kadar 3,125%; 1,562%; 0,781% dan 0,391%, karena masih menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri.

Hasil uji aktivitas antibakteri minyak atsiri secara dilusi cair dapat dilihat pada tabel II. Berdasarkan data pada tabel II, KBM untuk minyak atsiri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* masih belum dapat ditentukan, karena sampai

kadar terkecil 0,049%, masih bersifat membunuh. Sedangkan KBM untuk minyak atsiri terhadap bakteri *Escherichia coli* pada kadar 1,562%.

Tabel II. Hasil Uji Aktivitas Anti bakteri Dari Minyak Atsiri *Piper aduncum* L., Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli* Dengan Metode Dilusi Cair.

Bakteri	Kadar Minyak Atsiri + DMSO 5% + Media (%)	Replikasi		
		I	II	III
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,049	-	-	-
	0,098	-	-	-
	0,195	-	-	-
	0,391	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	0,391	+	+	+
	0,781	+	+	+
	1,562	-	-	-
	3,125	-	-	-

Tabel III. Kontrol Aktivitas Anti bakteri Dari Minyak Atsiri *Piper aduncum* L., Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli* Dengan Metode Dilusi Cair.

Bakteri	Kontrol	Pertumbuhan bakteri
<i>Staphylococcus aureus</i>	Media	-
	Bakteri	+
	Pelarut	+
	Antibiotik	-
<i>Escherichia coli</i>	Media	-
	Bakteri	+
	Pelarut	+
	Antibiotik	-

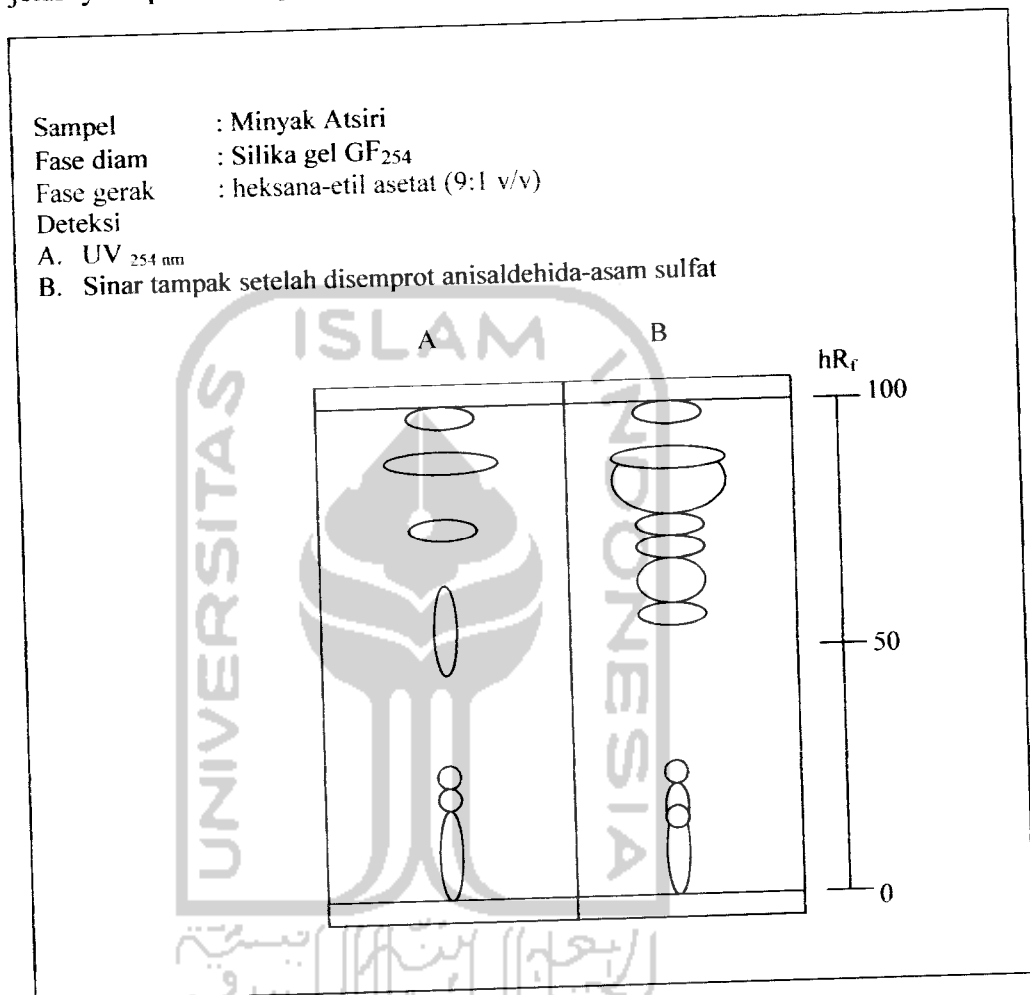
Keterangan: Data berupa kenampakan ada tidaknya pertumbuhan bakteri.
 +: Ada pertumbuhan
 -: Tidak ada pertumbuhan

3. Uji Kualitatif Secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Untuk mengetahui komponen-komponen yang terdapat dalam minyak atsiri *Piper aduncum* L maka dilakukan pemisahan menggunakan metode KLT, karena merupakan metode pemisahan yang cepat dan mudah, peralatan yang digunakan murah dan sederhana, campuran yang kompleks dapat dipisahkan dengan mudah, hanya membutuhkan campuran cuplikan yang sangat sedikit sekali dan pekerjaannya dapat diulang. Fase diam yang digunakan adalah silika gel GF₂₅₄. Silika gel banyak digunakan sebagai penyerap dan untuk memisahkan senyawa terpenoid sebagai salah satunya. Nama silika gel G diartikan sebagai silika gel yang sudah diberi pengikat (binder) untuk memberikan kekuatan pada lapisan dan menambah adhesi pada gelas penyokong. Sedangkan kode F pada silika gel GF₂₅₄ berarti penyerap mengandung indikator fluoresensi dan ber fluoresensi pada panjang gelombang 254 nm. Fase gerak yang digunakan adalah heksana-etil asetat (9:1 v/v). Minyak atsiri yang ditotolkan pada lempeng silika gel GF₂₅₄ adalah sebanyak 1 totolan, karena untuk menghindari kepekatan senyawa dan memudahkan pemisahan. Jarak pengembangan senyawa adalah 8 cm dan dilakukan dua kali pengembangan, dimaksudkan untuk mendapatkan hasil pemisahan yang lebih baik.

Untuk melihat bercak senyawa yang telah dipisahkan dengan pengembangan, dilihat dengan pendeteksi bercak dibawah sinar UV_{366 nm} dan UV_{254 nm}. Untuk mempertegas warna bercak dan menampakkan bercak yang mungkin tidak terlihat dilakukan penyemprotan menggunakan anisaldehyda-asam sulfat dan dipanaskan dalam oven pada suhu 100°C selama 5 menit.

Dari hasil penyemprotan lempeng KLT menggunakan anisaldehyda-asam sulfat didapat 11 bercak dengan degradasi warna yang berbeda-beda. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Pola kromatogram gambar 4.



Gambar 4. Pola Kromatogram Minyak Atsiri

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Minyak atsiri dari *Piper aduncum* L., memiliki aktivitas terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.
2. Minyak atsiri dari *Piper aduncum* L., memiliki aktivitas terhadap bakteri *Escherichia coli* dengan KBM pada kadar 1,562%, sedangkan untuk bakteri *Staphylococcus aureus* KBMnya belum dapat ditentukan, karena sampai kadar terkecil 0,049% masih membunuh. Nilai KHM dari Minyak atsiri belum dapat ditentukan.
3. Hasil uji kualitatif KLT dari minyak atsiri *Piper aduncum* L., menunjukkan bahwa *Piper aduncum* L., mengandung senyawa terpenoid golongan monoterpena alkohol.

B. Saran

Beberapa saran yang dapat diajukan oleh penulis antara lain:

1. Perlu dilakukan uji bioautografi untuk mengetahui jenis senyawa yang beraktivitas sebagai antibakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 1993. *Dasar-Dasar Pemeriksaan Mikrobiologi*. 115-116. Jogjakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada bagian Mikrobiologi.
- Anonim. 1996. *Antropologi Kesehatan Indonesia, Pengobatan Tradisional*. Jilid I. 165-166. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Anonim. 2003. [http://www.tropilab.com/spiked pepper.html](http://www.tropilab.com/spiked_pepper.html) (22 Mei 2003)
- Anonim.2003.http://www.hear.org/starr/hiplants/reports/html/piper_aduncum.htm (22 Mei 2003)
- Anonim. 2003. <http://www.fs.fed.us/global/iitf/pdf/piper%20aduncum.pdf> (26 Mei 2003)
- Backer, C.A. dan R.C. Bakhuizen van den Brink. 1965. *Flora of Java (Spermatophytes Only)*, Vol.1: Angiospermae. P 167-173. N.V.P. Noordhoff, Groningen, The Netherlands.
- Edberg, D.C. 1986. *Antibiotik dan Infeksi*. Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata. 1-3. Bandung: Penerbit ITB.
- Guenther, E. 1987. *Minyak Atsiri*, Jilid I. Diterjemahkan oleh S. Ketaren. 19-20, 132-134. Jakarta: Penerbit UI Press
- Hegnauer, R. 1969. *Chemotaxonomie der Pflanzen*. P 311-324. Birkhauser Verlag Basel und Stutgar.
- Jawetz, E., Melnick, J.L., Adelberg's. E.A. 1995. *Medical Microbiologi*. 2nd Ed. P. 197, 219, 221. Tokyo: Mc Graw-Hill Medical Publishing.
- Mutschler, E. 1991. *Dinamika Obat*. Edisi 5. Diterjemahkan oleh Mathilda B. Widiyanto, Ana Setiadi Ranti. 634-635. Bandung: Penerbit ITB.
- Oyen, L.P.A. dan N.X. Dung (ed). 1999. *Essential-oil Plants*. P 16, 46, 186, 201. Plant Resources of South-East Asia (PROSEA)
- Pelczar, M. J. and Chan, E.G.C. 1986. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Penerjemah Ratna Siri Hadioetomo dkk. Jakarta: UI Press.
- Salle, A.J. 1961. *Fundamental Principles of Bacteriologi*. 5th Ed. 719, 738. Tokyo: Mc Graw Hill Book Company Inc. Kogakusha company Ltd.

- Sastrohamidjojo, H. 2001. *Kromatografi*. Edisi II. 34-36. Jogjakarta: Penerbit Liberty.
- Stahl, E. 1985. *Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi*. 3-17. Bandung: Penerbit ITB.
- Syamsudin hidayat, Sri Sugati, Johny Ria Hutapea. 1991. *Inventaris Tanaman Obat*. Jilid I. 452. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Tjay Tan Hoan, R. K. 2002. *Obat-obat Penting, Khasiat, Penggunaan Dan Efek Samping*. Edisi 5. 270-271. Jakarta: PT. Gramedia.
- Tyler, V.E., L.R. Brady and J.E. Robbers. 1988. *Pharmacognosy*, 9th Ed. 104, 107, 109, 111-112. Lea & Febiger, Philadelphia.
- Wagner, S.S, Bladt. E.M. Zgainski. 1984. *Plant Drug Analysis, A Thin Layer Chromatografi Atlas*. Translated by Th. Scoot. P.5. Tokyo: Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Wijayakusuma, H. 2000. *Ensiklopedia Millenium, Tumbuhan Berkhasiat Obat Indonesia*, Jilid I. 1. Jakarta: Prestasi Insan Indonesia.

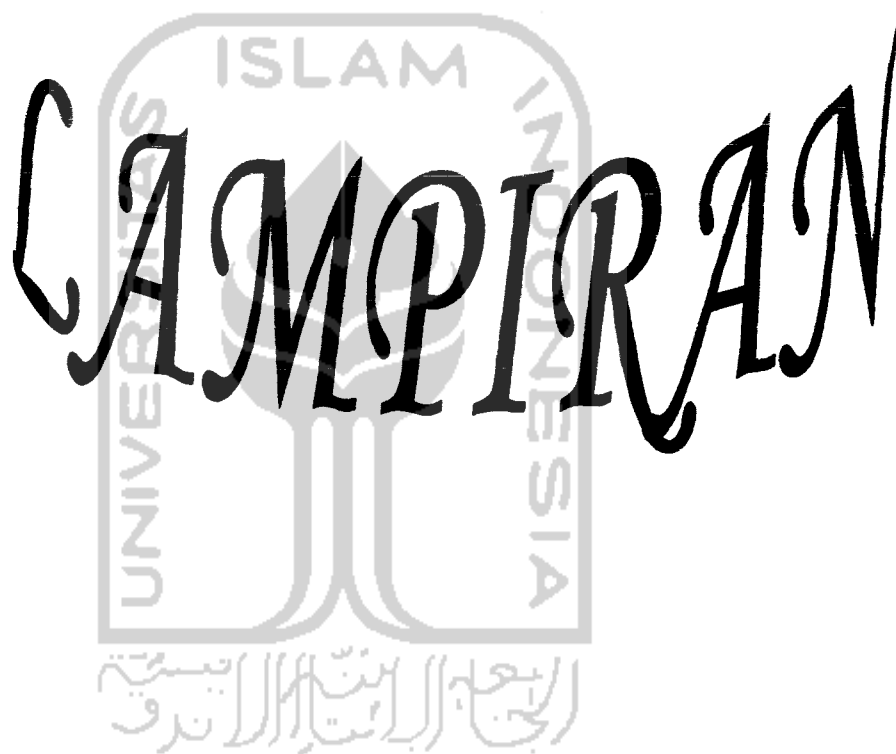


U
F
=
Al
Te

Ya
me

tel
Far
Tal

Pac
Sur

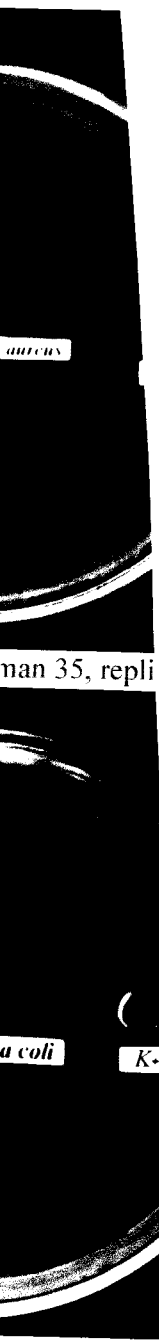


Lampiran 2



Foto Tanaman *Piper aduncum* L.

Lampiran 3



man 35, repli

aan 35, replika

eri Minyak Ats
si
ndiazine
MSO

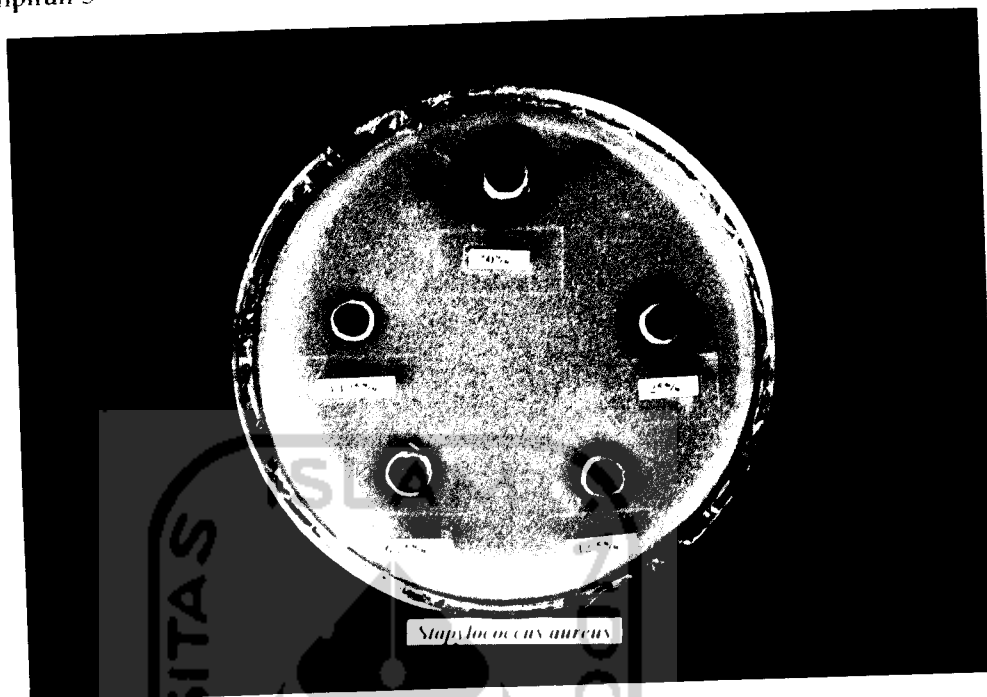


Foto diambil dari halaman 35, replikasi ke 2

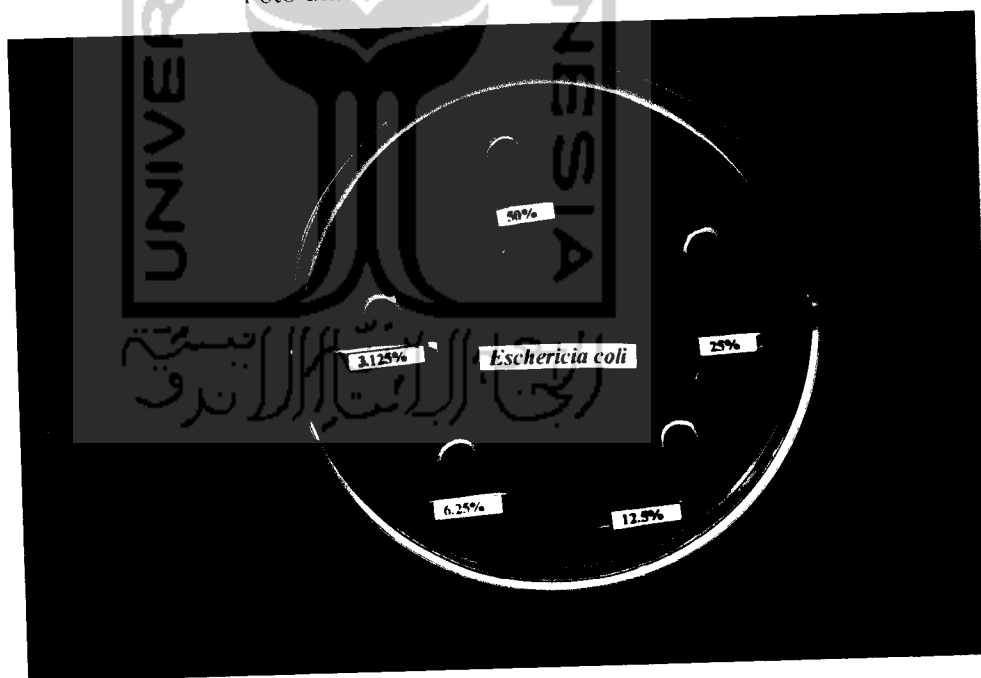


Foto diambil dari halaman 35, replikasi ke 3

Foto Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Dengan Metode Difusi



Lampiran 4

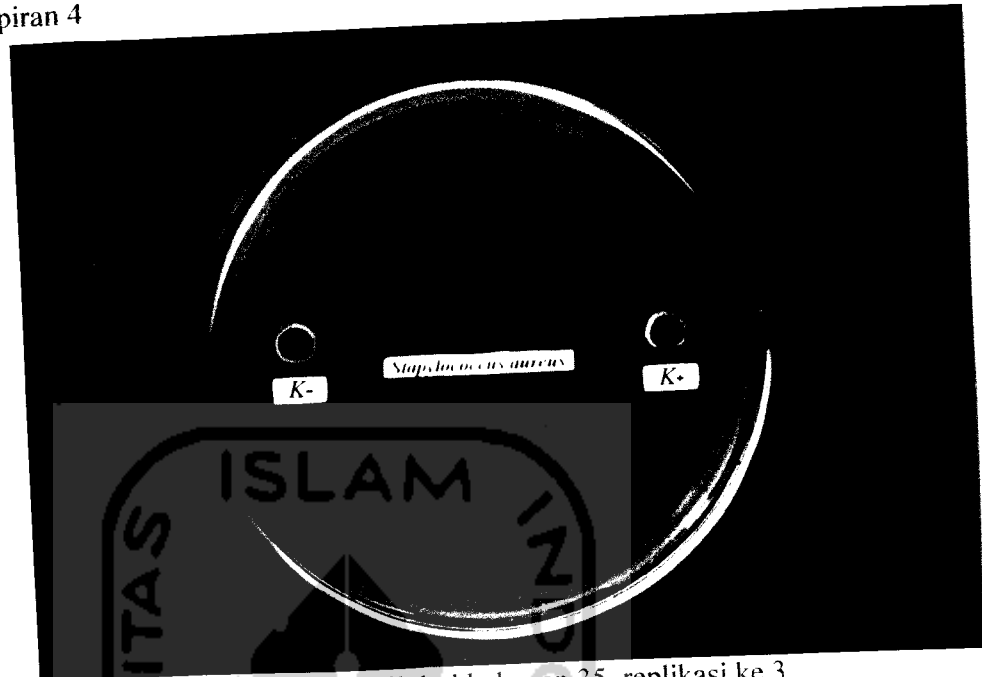


Foto diambil dari halaman 35, replikasi ke 3

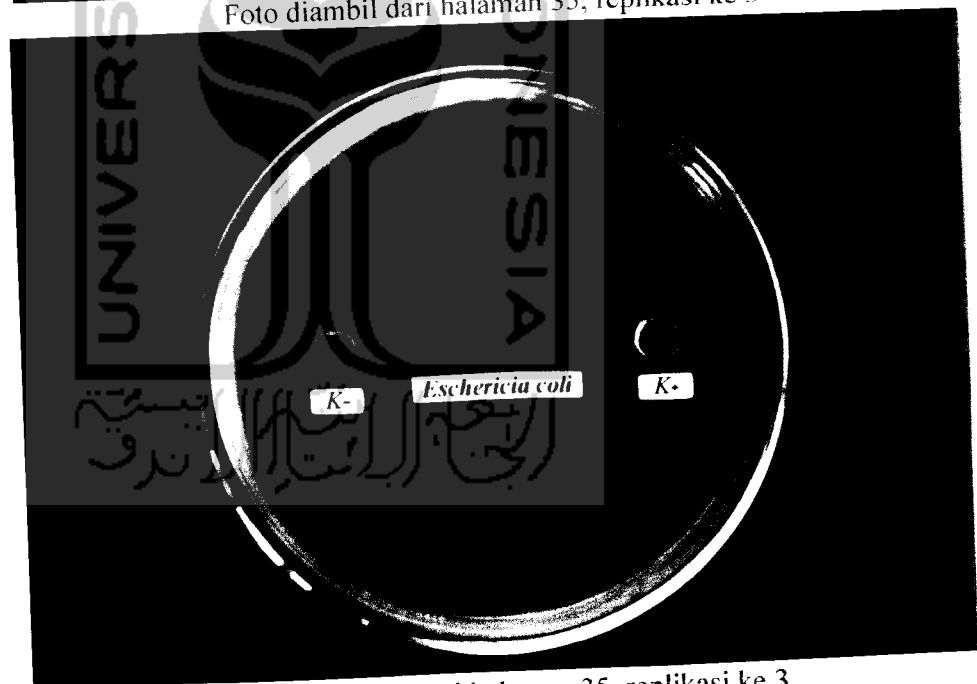


Foto diambil dari halaman 35, replikasi ke 3

Foto Kontrol Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Dengan Metode
Difusi
Kontrol (+): Sulfadiazine
Kontrol (-): DMSO

Lampiran 5



Foto Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Terhadap *Staphylococcus aureus* Dengan Metode Dilusi

Keterangan:

- Kontrol media (tanpa bakteri)
- Kontrol bakteri
- Kontrol pelarut
- Kontrol antibiotik (tanpa bakteri)

Lampiran 6

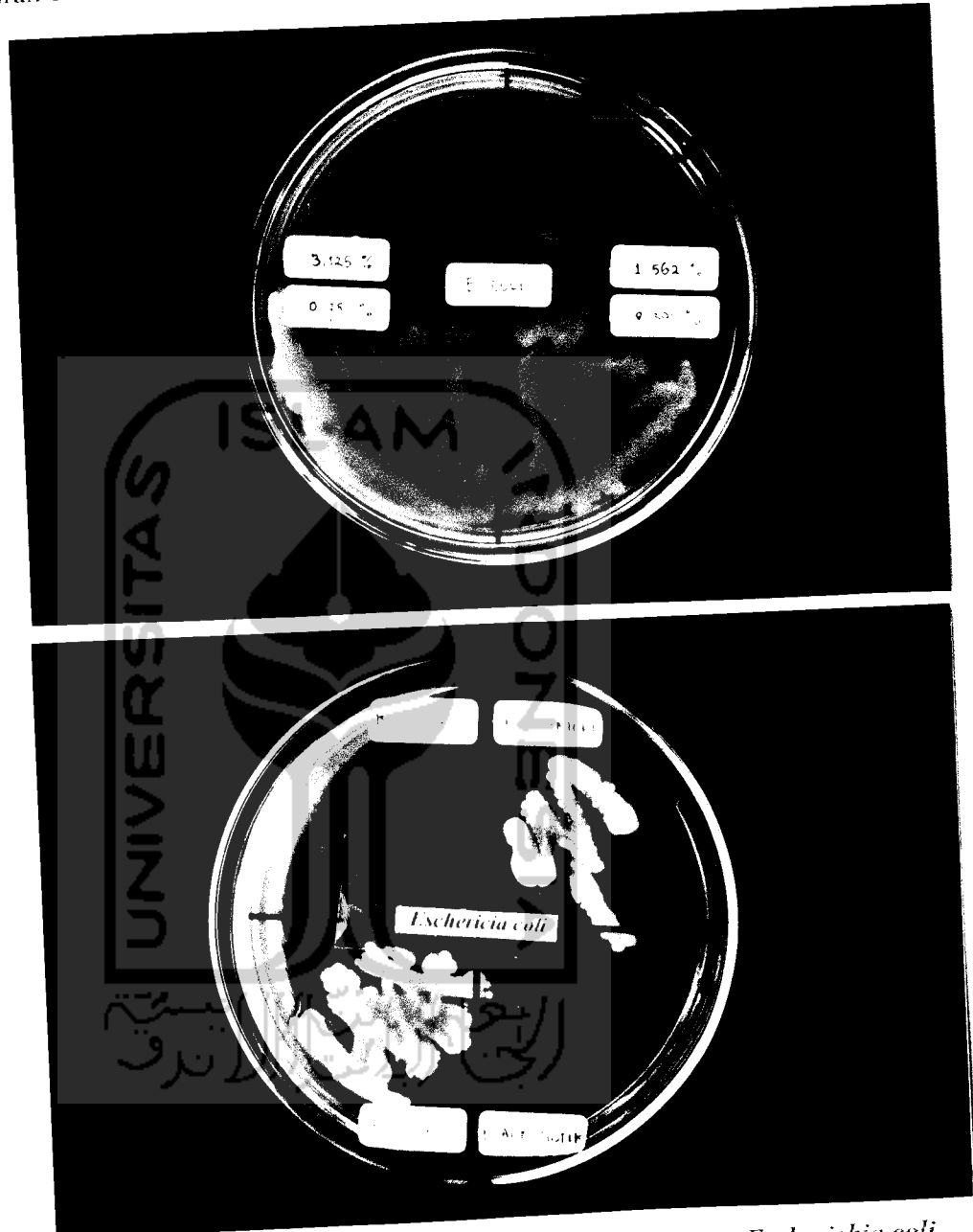


Foto Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Terhadap *Escherichia coli*
Dengan Metode Dilusi

Keterangan:
 Kontrol media (tanpa bakteri)
 Kontrol bakteri
 Kontrol pelarut
 Kontrol antibiotik (tanpa bakteri)

Lampiran 7



Foto Dilusi Cair *Escherichia coli*

Lampiran 8

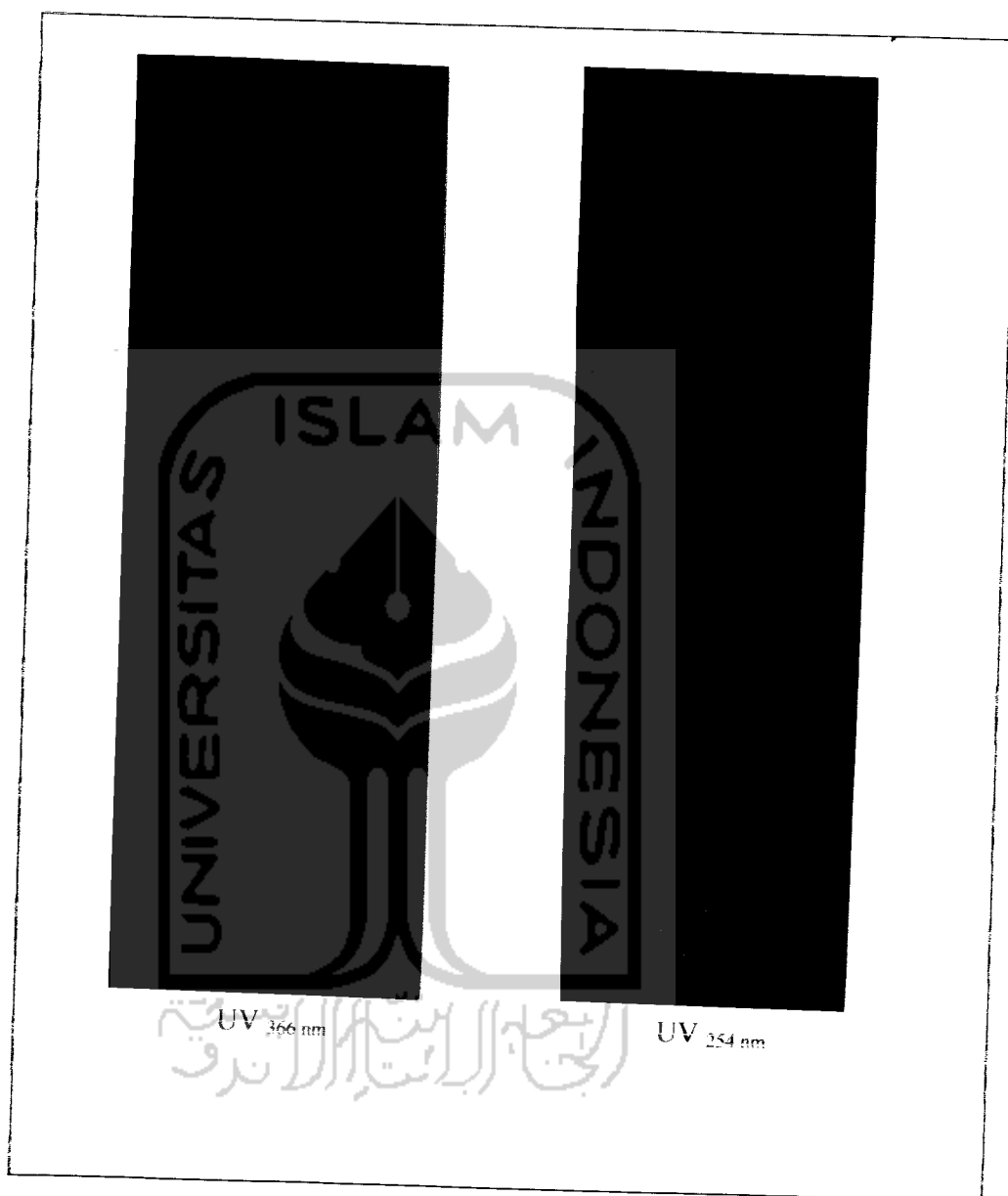
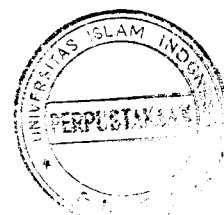


Foto Profil Kromatografi Lapis Tipis

Sampel : Minyak Atsiri *Piper aduncum* L.
Fase diam : Silika gel GF₂₅₄
Fase gerak : Heksana-etil asetat (9:1 v/v)



Lampiran 9



Foto Profil Kromatografi Lapis Tipis

Sampel : Minyak Atsiri *Piper aduncum* L.
 Fase diam : Silika gel GF₂₅₄
 Fase gerak : Heksana-etil asetat (9:1 v/v)
 Deteksi : anisaldehyda-asam sulfat

Lampiran 10

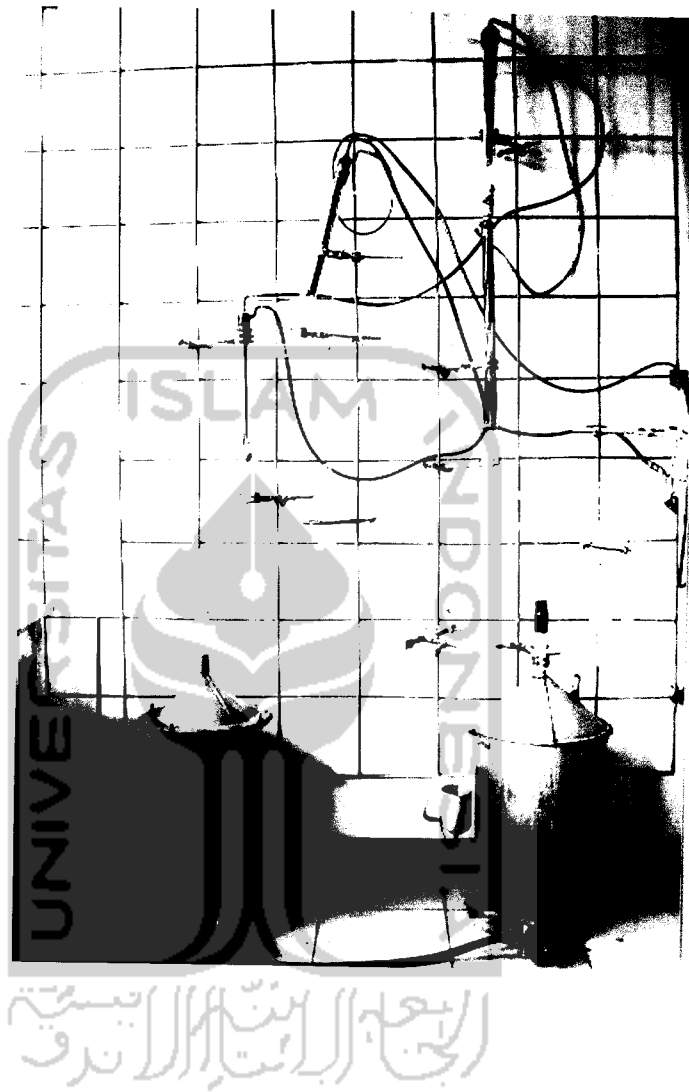


Foto Alat Destilasi Metode Uap-Air (*Water and Steam Distillation*)

Lampiran 4

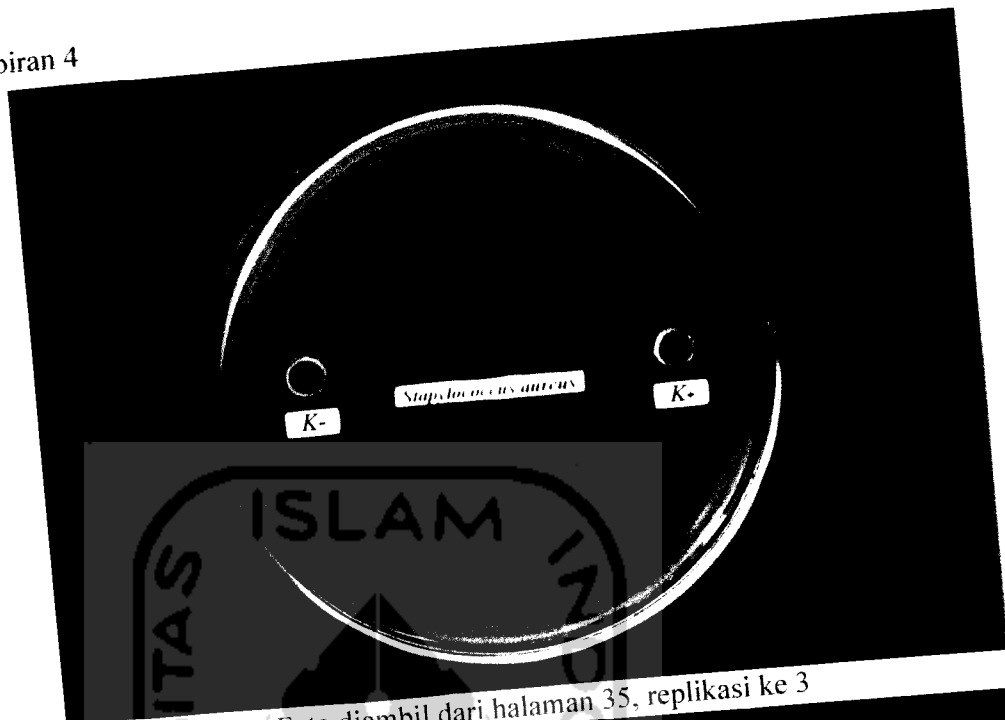


Foto diambil dari halaman 35, replikasi ke 3

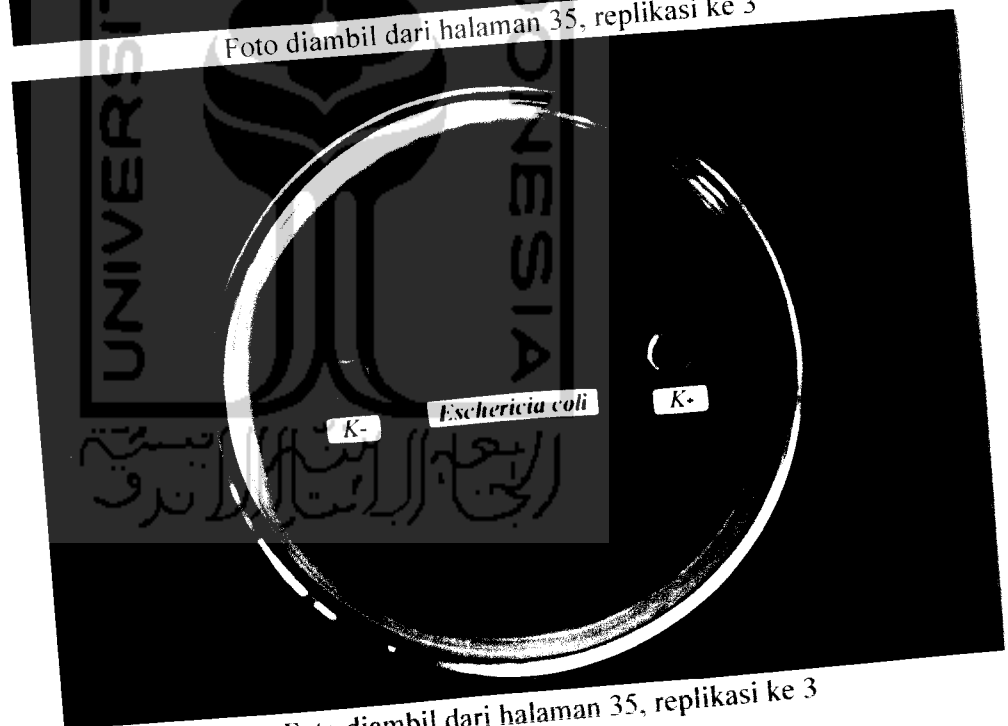


Foto diambil dari halaman 35, replikasi ke 3

Foto Kontrol Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Dengan Metode
Difusi
Kontrol (+): Sulfadiazine
Kontrol (-): DMSO

Lampiran 5



Foto Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Terhadap *Staphylococcus aureus* Dengan Metode Dilusi

Keterangan:

Kontrol media (tanpa bakteri)

Kontrol bakteri

Kontrol pelarut

Kontrol antibiotik (tanpa bakteri)

Lampiran 6

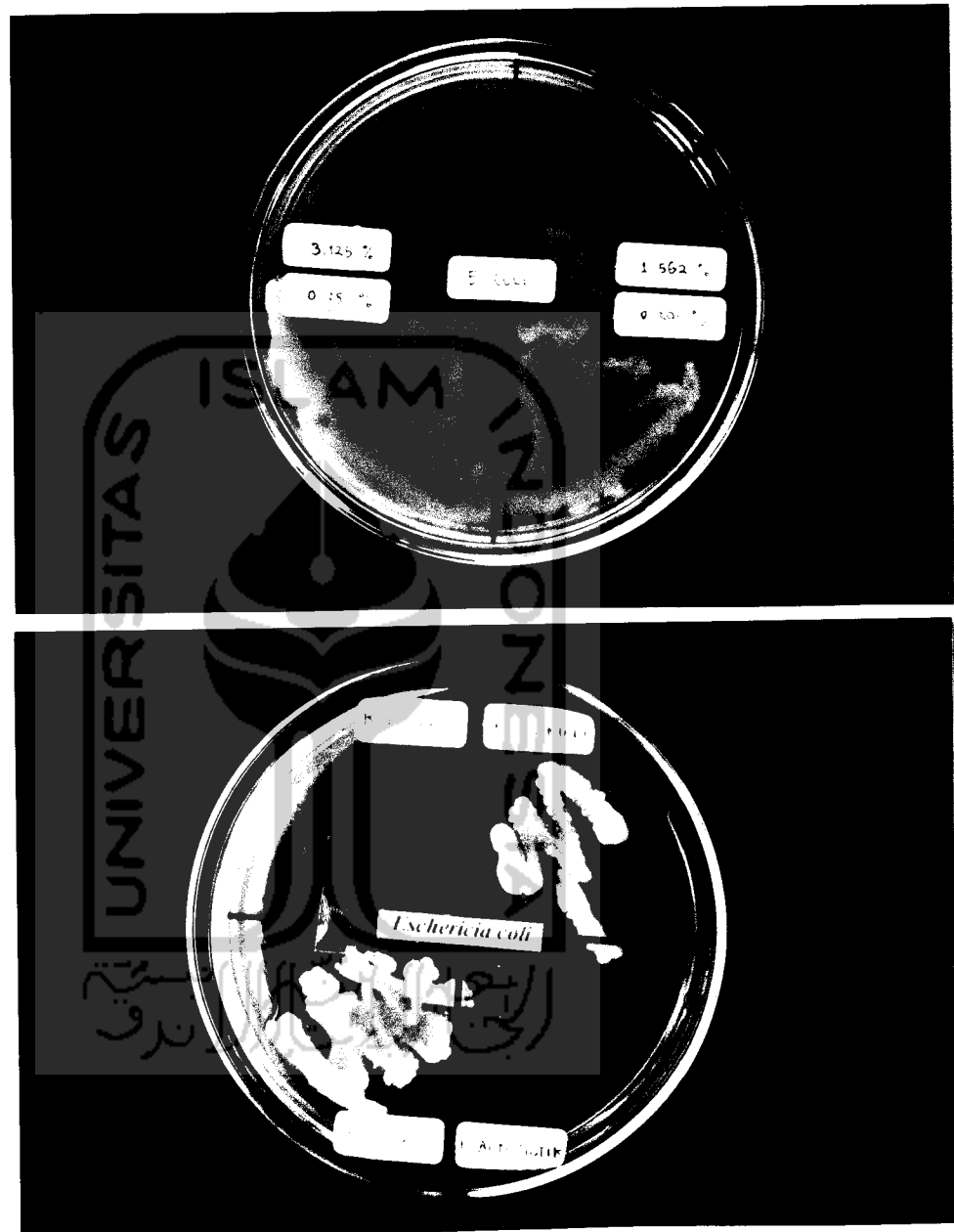


Foto Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Terhadap *Escherichia coli*
Dengan Metode Dilusi

Keterangan:

Kontrol media (tanpa bakteri)

Kontrol bakteri

Kontrol pelarut

Kontrol antibiotik (tanpa bakteri)

Lampiran 7



Foto Dilusi Cair *Escherichia coli*