

**NANOENKAPSULASI MINYAK ATSIRI JAHE EMPRIT (*Zingiber officinale* Roscoe) DAN BUNGA CENGKEH (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M. Perry) SEBAGAI ANTIBAKTERI *Klebsiella pneumoniae* DAN *Micrococcus luteus***

***NANOENCAPSULATION OF EMPRIT GINGER (*Zingiber officinale* Roscoe) AND CLOVE BUD (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M. Perry) AS ANTI BACTERIA FROM *Klebsiella pneumoniae* AND *Micrococcus luteus****

**TESIS**



**SRI UMAH  
NIM. 19923013**

**PROGRAM STUDI MAGISTER KIMIA  
JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA  
YOGYAKARTA  
2022**

**NANOENKAPSULASI MINYAK ATSIRI JAHE EMPRIT (*Zingiber officinale* Roscoe) DAN BUNGA CENGKEH (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M. Perry) SEBAGAI ANTIBAKTERI *Klebsiella pneumoniae* DAN *Micrococcus luteus***

***NANOENCAPSULATION OF EMPRIT GINGER (*Zingiber officinale* Roscoe) AND CLOVE BUD (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M. Perry) AS ANTI BACTERIA FROM *Klebsiella pneumoniae* AND *Micrococcus luteus****

**TESIS**

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Magister Sains (M.Si)  
Program Studi Magister Kimia, Jurusan Kimia  
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Islam Indonesia  
Yogyakarta



**Diajukan oleh:  
SRI UMA YAH  
NIM: 19923013**

**PROGRAM STUDI MAGISTER KIMIA  
JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA  
YOGYAKARTA  
2022**

## PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Sri Umayah  
Tempat, tanggal lahir : Cirebon, 15 November 1994  
NIM : 19923013  
Konsentrasi : Pengembangan Minyak Atsiri Dan Produk Turunannya  
Judul Tesis : NANOENKAPSULASI MINYAK ATSIRI JAHE EMPRIT  
(*Zingiber officinale* Roscoe) DAN BUNGA CENGKEH  
(*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M. Perry) SEBAGAI  
ANTIBAKTERI *Klebsiella pneumoniae* DAN *Micrococcus*  
*luteus*.  
Prodi : Magister Kimia  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Dengan ini menyatakan bahwa Tesis ini secara keseluruhan adalah hasil penelitian/karya saya sendiri, kecuali pada bagian-bagian yang dirujuk sumbernya. Apabila dikemudian hari terbukti bahwa tesis ini adalah hasil plagiasi, maka saya siap untuk dicabut gelar magister yang dianugerahkan dan mendapatkan sanksi sesuai ketentuan yang berlaku.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan sesungguhnya dan penuh tanggung jawab.

Yogyakarta, 10 Maret 2022  
Penulis,



Sri Umayah

**NANOENKAPSULASI MINYAK ATSIRI JAHE EMPRIT (*Zingiber officinale* Roscoe) DAN BUNGA CENGKEH (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M. Perry) SEBAGAI ANTIBAKTERI *Klebsiella pneumoniae* AND *Micrococcus luteus***

**TESIS**

**Diajukan oleh:**

**SRI UMAYAH  
NIM. 19923013**

Telah dipertahankan dihadapan Panitia Penguji Tesis  
Program Studi Magister Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Islam Indonesia

Tanggal: 10-03-2022

Dewan Penguji

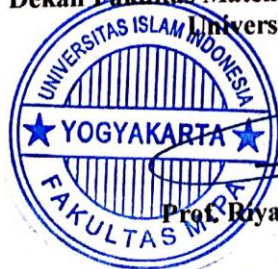
1. Dr. Dwiarso Rubiyanto, S.Si., M.Si.
2. Dr. Habibi Hidayat, S.Pd., M.Si.
3. Dr. Noor Fitri, S.Si., M.Si.
4. Dr. Tatang Shabur Julianto, S.Si., M.Si.

Tanda Tangan



**Mengetahui**

**Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Islam Indonesia**



**Prof. Riyanto, S.Pd., M.Si., Ph.D**

## MOTTO DAN PERSEMBAHAN

(QS. Al-Khfi [18]: 10)

*“Ya Tuhan kami, berikanlah rahmat kepada kami dari sisi-Mu dan sempurnakan petunjuk yang lurus bagi kami dalam urusan kami”*

(QS. Al-Alaq [96]: 1-5)

*“Bacalah dengan (menyebut) nama Tuhanmu telah menciptakan, Dia telah menciptakan manusia dari segumpal darah. Bacalah, dan Tuhanmulah yang Maha Mulia. Yang mengajar (manusia) dengan pena. Dia mengajarkan manusia apa yang tidak diketahuinya.”*

(Al-Quran Al Karim, QS [18] 62-32)

Pentingnya Kesabaran (Nabi Musa AS dan Nabi Kidir AS)

Disinilah Nabi Musa mendapatkan ujian maha berat: Sabar menahan diri untuk tidak bertanya sebagai janjinya kepada sang guru. Sabar mendapatkan ilmu hakikat dari sang guru (Nabi Kidir). Kesabaran dalam menghadapi segala sesuatu amatlah penting.

Sedemikian pentingnya sehingga Rasulullah bersabda “Semoga rahmat Allah terlimpah kepada kita dan Nabi Musa. Seandainya Nabi Musa mau bersabar menghadapi gurunya, niscaya dia akan dapat melihat keajaiban. Tapi, dia lebih di kuasai oleh rasa tidak nyaman kepada gurunya tersebut sehingga dia mengatakan, “jika aku bertanya kepadamu tentang sesudah (kali) ini, maka jangan izinkan aku menyertaimu. Sungguh engkau sudah cukup memberikan keringanan pada ku.” Bayangkan, seorang Nabi sekalipun masih mendapatkan ujian kesabaran seperti itu. Nabi Musa pun menyesal mengapa dirinya tidak bisa lebih bersabar lagi (Tafsir al-Maragi)/RM.

Tesis ini saya persembahkan untuk Ayah, Ibu, Nenek, Kakak Perempuan, Kakak Ipar, Adik Ponakanku yang selalu mendo’akan, mendukung aktivitas, memberi *support*, menasehati dan berdiri kokoh demi anak bungsunya untuk menyelesaikan satu demi satu kewajiban di Magister, tempat kerja, asrama dan TPA selama di Yogyakarta ini.

Terimakasih untuk saudara/saudariku Admin G, Prof Nada yang selalu memberikan dekapan ukhuwah, segala bentuk *support*, Do`a dan cerita pengalaman sebagai rambu-rambu untuk diri ini yang haus ilmu dan *support* dari kalian.

Terimakasih untuk saudaraku di Asrama IDI Pamungkas No.11, kepada: Ustadzah Aminah, Qori, Iis, Mbak Lusi, Adjeng, Rohida dan Ummi Bilal (Nia). Kalian saudaraku,

hampir dua tahun kita bersama, yang mau menerima keegoisan saya selama belajar di Asrama dan kalian semua berhasil menanamkan pada diri ini untuk tetap menikmati ziyadah sampai hari ini Sabtu, 07 Agustus 2021, semoga pahala mengalir pada kalian saudaraku, *Aamiin*.

Terimakasih untuk saudaraku di Asrama BDJ Putri, GPW BS I, kepada: Nabil, Odel, Mbak Mila, Ulfa Vira dan Anabul Bilal\_Alphard. Kalian orang-orang keren yang mau maju tanpa harus diatur, tetapi mengajarkan pada diri untuk tetap menjadi pembelajar dan contoh yang cukup baik.

Terimakasih kepada anak-anak TPA IDI Pamungkas: mbak Hasna dan keluarga, mbak balqis dan keluarga, serta abang khan dan keluarga. Sangat luar biasa semangat, istiqomah, ulet, sabar, *funny* dan *humble* selama belajar dengan Ustadzah. Semoga ilmu yang Ustadzah ajarkan berkah dunia dan akhirat, *Aamiin*.

Terimakasih kepada keluarga besar SDIT Hidayatullah, Sleman. Kepada Kepala Sekolah beserta jajarannya, Rekan-rekan kerja baik Ustadz dan Ustadzah, Anak – anak yang Soleh dan Solehah, serta Wali murid selama anak-anak menuntut ilmu bersama saya. Sungguh bukan hal yang sedikit ilmu dan pengalaman belajar yang saya dapatkan selama dua tahun di Lembaga ini, tetapi sangat banyak. Semoga Allah alirkan pahala untuk kita semua dan bisa bertemu di Surga-Nya, *Aamiin*.

“Jika aku dilahirkan seorang pria, aku berharap aku bisa selalu aktif menghibur istriku. Seperti Ayah. Kalau aku ternyata perempuan, jadikan aku wanita yang berani mengambil risiko apapun untuk buah hatinya. Seperti ibu yang membenci jarum suntik dan takut darah ataupun pisau bedah. Namun pada akhirnya ia memilih mencintai jarum suntik sepenuh hati dan melumat ketakutannya pada darah., karena itulah salah satunya cara untuk mendapatkanku” (Rais, Hanum Salsabiela. 2018).

Ditengah kebimbangan dan harapan untuk melangkah menjadi Doktor, selalu libatkan Allah dalam setiap urusan. Ketuk semua pintu yang ada, lalu biarkan Allah manyapa kita dengan rencana terbaik-Nya, *Aamiin*.

**NANOENKAPSULASI MINYAK ATSIRI JAHE EMPRIT (*Zingiber officinale* Roscoe) DAN BUNGA CENGKEH (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M. Perry) SEBAGAI ANTIBAKTERI *Klebsiella pneumoniae* DAN *Micrococcus luteus***

**Sri Umayah  
NIM.19923013**

**Abstrak**

Karpet adalah tekstil penutup lantai, terdiri dari lapisan atas “berbulu” yang melekat pada alasnya. Permukaan yang berkarpet memiliki beban risiko penyakit kronis yang disebabkan dari aktivitas mikroba patogen. Minyak atsiri jahe emprit dan bunga cengkeh adalah senyawa organik sebagai antibakteri untuk mengurangi pertumbuhan dan perkembangbiakan mikrobiologi. Minyak atsiri memiliki komponen senyawa yang volatil dan mudah rusak terhadap keadaan lingkungan, maka diperlukan suatu metode enkapsulasi. Nanoenkapsulasi adalah proses penyisipan bahan bioaktif dalam kapsul nano. Tujuan penelitian ini, yaitu: (1) mengetahui hasil formulasi nanoenkapsulasi bahan inti minyak atsiri jahe emprit (GEO), bunga cengkeh (CEO), dan campuran kedua minyak atsiri (GCEO) menggunakan bahan pelapis maltodekstrin dan gum arab dengan metode *freeze-drying*, (2) mengetahui hasil karakterisasi nilai % Efisiensi Enkapsulasi (EE), morfologi, dan ukuran partikel, (3) mengetahui hasil aktivitas antibakteri terhadap *Klebsiella pneumoniae* dan *Micrococcus luteus*. Adapun metode dalam penelitian ini, yaitu: (1) uji determinasi, (2) destilasi minyak atsiri, (3) pembuatan nanoenkapsulasi, (4) karakterisasi nanoenkapsulasi, dan (5) uji aktivitas antibakteri. Hasil *scanning* adalah formulasi GEO1 dengan keadaan sangat kering, warna putih dan bau tidak menyengat, CEO1 keadaan sangat kering, warna putih, dan bau tidak menyengat, GCEO3 keadaan cukup kering, warna putih kekuningan dan bau sangat menyengat. Hasil nilai % EE secara berturut-turut sebesar: 12,57; 18,03; 17,10%. Hasil uji SEM formulasi GEO1 permukaan halus, pori-pori sedikit, dan mengalami kerusakan, CEO1 permukaan berkeriput, pori-pori sedikit, dan tidak mengalami kerusakan, GCEO3 permukaan halus, pori-pori banyak, dan tidak mengalami kerusakan. Hasil uji PSA ukuran partikel sebesar 233,0; 191,0; dan 247,3 nm ketiga formulasi dapat dikatakan sediaan nanopartikel karena memiliki ukuran yang masuk dalam rentang sistem nanopartikel (1-1000 nm), nilai PI sebesar 0,17; 0,27; dan 0,23 termasuk kedalam distribusi partikel yang sempit (0,1-0,5) dan homogen. Formulasi nanoenkapsulasi telah berhasil digunakan sebagai antibakteri terhadap *Klebsiella pneumoniae* dengan nilai zona hambat sebesar 10,5; 16,8; dan 19,9 mm dengan kategori kuat sedangkan terhadap *Micrococcus luteus* sebesar 11,1; 19,3; dan 17,1 mm dengan katagori kuat.

**Kata kunci:** nanoenkapsulasi, *freeze-drying*, *Klebsiella pneumoniae* dan *Micrococcus luteus*.

**NANOENCAPSULATION OF EMPRIT GINGER (*Zingiber officinale Roscoe*) AND CLOVE BUD (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M. Perry) AS ANTI BACTERIA FROM *Klebsiella pneumoniae* AND *Micrococcus luteus***

**Sri Umayah  
NIM.19923013**

**Abstract**

*Carpet is a textile floor covering, consisting of a “fluffy” top layer attached to the base. Carpeted surfaces carry a burden of chronic disease risk caused by the activity of pathogenic microbes. Ginger essential oil and clove bud are organic compounds antibacterial to reduce the growth and proliferation of microbiology. Essential oils have volatile components and are easily damaged by environmental conditions, so an encapsulation method is needed. Nanoencapsulation is the process of inserting bioactive ingredients into nanocapsules. The aims of this study were: (1) to determine the results of the nanoencapsulation of the core ingredients of emprit ginger essential oil (GEO), clove bud (CEO), and a mixture of both essential oils (GCEO) using maltodextrin and gum arabic coating materials by freeze-drying method, (2) knowing the results of the characterization of the % Efficiency Efficiency (EE) value, morphology, and particle size, (3) determine the results of antibacterial activity against *Klebsiella pneumoniae* and *Micrococcus luteus*. The methods in this research are (1) determination test, (2) essential oil distillation, (3) manufacture of nanoencapsulation, (4) nanoencapsulation characterization, and (5) antibacterial activity test. The scanning results are the GEO1 formulation with a very dry condition, white color and no pungent odor, CEO1 in very dry condition, white color, and no pungent odor, GCEO3 in fairly dry condition, yellowish-white color and a very strong odor. The results of the % EE values in a row are 12.57; 18.03; 17.10%. The SEM test results for the formulation of GEO1 have a smooth surface, few pores, and are damaged, CEO1 has a wrinkled surface, few pores, and no damage, GCEO3 surface is smooth, many pores are not damaged. The result of the PSA test for particle size is 233.0; 191.0; and 247.3 nm the three formulations can be said to be nanoparticle preparations because they have sizes that fall within the nanoparticle system range (1-1000 nm), PI values of 0.17; 0.27; and 0.23 belong to a narrow (0.1-0.5) and homogeneous particle distribution. The nanoencapsulation formulation has been successfully used as an antibacterial against *Klebsiella pneumoniae* with an inhibition zone value of 10.5; 16.8; and 19.9 mm in the strong category while against *Micrococcus luteus* it was 11.1; 19.3; and 17.1 mm in the strong category.*

**Keywords:** *nanoencapsulation, freeze-drying, *Klebsiella pneumoniae*, and *Micrococcus luteus*.*



## KATA PENGANTAR

*Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh.*

*Alhamdulillah*, puji syukur atas kehadiran Allah SWT atas segala nikmat yang dilimpahkan pada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi dengan judul NANOENKAPSULASI MINYAK ATSIRI JAHE EMPRIT (*Zingiber officinale* Roscoe) DAN BUNGA CENGKEH (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M. Perry) SEBAGAI ANTIBAKTERI *Klebsiella pneumoniae* DAN *Micrococcus luteus* ini dengan sebaik-baiknya. Shalawat serta salam saya panjatkan kepada jung jungan kita, teladan kita, seorang yang kita rindukan, Nabi Muhammad SAW yang mana membawa kita dari zaman kegelapan hingga zaman yang terang benderang, yang mana beliau diutus sebagai penyempurna akhlaq manusia.

Tesis ini disusun sebagai salah satu syarat untuk mengerjakan tesis pada program Strata-2 di Jurusan Kimia. Tersusunnya tesis ini tidak lepas dari bantuan dan dukungan pihak lain sehingga saya selaku penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Bapak Prof. Riyanto, S.Pd., M.Si., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.
2. Bapak Drs. Allwar, M.Sc., Ph.D. selaku Ketua Prodi Magister Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.
3. Bapak Dr. Dwiwarso Rubiyanto, S.Si., M.Si. selaku Pembimbing satu dan Dr. Habibi Hidayat, S.Pd., M.Si. selaku Pembimbing dua yang keduanya senantiasa mengarahkan dalam penyusunan tesis.
4. Bapak dan Ibu Dosen selama saya kuliah di Magister, yaitu: Bapak Rudy Syah Putra, S.Si., M. Si., Ph.D., Dr. Tatang Sabur Julianto, S.Si., Msi., Prof. Dr.rer.nat. Ir Agus Taftazani, Ibu Dr. Noor Fitri, S.Si., M.Si., dan Prof. Dr. Is Fatimah, S.Si., M.Si.
5. Bapak Hartanto (Laboran Teknologi Farmasi) dan Bapak Afif (Laboran Mikrobiologi FK) yang sangat ramah, sabar dan hambel selama saya menyelesaikan penelitian saya di Lab, semoga Allah berikan keberkahan untuk keluarganya.

6. Ayah, Ibu, Nenek, Kakak Perempuan, Kakak Ipar, Ponakan saya yang senantiasa menDo`akan dan terus mengingatkan penulis untuk menjadi teladan bagi saudara/saudarinya.
7. Admin G, Prof Nada, Asrama IDI Pamungkas No.11 dan Asrama BDJ Putri BS I, yang selalu membantu dan memberri *support* kepada saya.
8. Keluarga di IDI Pamungkas: Bapak Dumairi, Bapak Bagyo, Bapak Tarto dan Bude Wahid. Keluarga di GPW: Ibu Retno, Bapak Erwin dan Ibu Ade, yang sudah menganggap saya seperti anak sendiri, bantuan, *support*, Do`a kepada saya.
9. Anak-anak yang saya ajar di TPA: Mbak Hasna, Mbak Balqis dan Abang Khan, serta keluarga besar SD IT Hidayatullah, Seleman, yang memberikan kesempatan, kepercayaan kepada saya.
10. Seluruh pihak yang telah membantu hingga terselesaikannya tesis ini yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari tesis ini masih banyak kekurangan dan jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan oleh penulis untuk penelitian kedepannya. Semoga tesis ini dapat memberikan manfaat bagi kita semua. Aamiin.

*Wa'alaikumsalam Warahmatullahi Wabarakatuh.*

## DAFTAR ISI

COVER.....	i
SAMPUL.....	ii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
HALAMAN PENGESAHAN.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
MOTTO DAN PERSEMBAHAN.....	v
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT.....	viii
KATA PENGANTAR.....	ix
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
I.1 Latar Belakang.....	1
I.2 Rumusan Masalah.....	5
I.3 Tujuan Penelitian.....	5
I.4 Manfaat Penelitian.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA DAN PERUMUSAN HIPOTESIS.....	7
II.1 Kajian Penelitian Terdahulu.....	7
II.2 Landasan Teori.....	18
II.2.1 Karpet.....	18
II.2.2 Minyak atsiri.....	19
II.2.3 Teknik isolasi minyak atsiri.....	21
II.2.4 Enkapsulasi.....	24
II.2.5 <i>Gas Chromatography - Mass Spectrometry (GC-MS)</i> .....	27
II.2.5 <i>Scanning Electron Microscope (SEM)</i> .....	28
II.2.6 <i>Particle Size Analyzer (PSA)</i> .....	31
II.2.7 Antibakteri.....	32
II.3 Hipotesis Penelitian.....	37
BAB III METODE PENELITIAN.....	39
III.1 Bahan.....	39

III.2 Peralatan.....	39
III.3 Prosedur Penelitian .....	39
III.3.1 Uji determinasi sampel.....	40
III.3.2 Destilasi minyak atsiri.....	40
III.3.3 Pembuatan nanoenkapsulasi.....	42
III.3.4 Karakterisasi nanoenkapsulasi .....	46
III.3.5 Uji aktivitas antibakteri .....	49
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	52
IV.1 Uji Determinasi .....	52
VI.2 Destilasi Minyak Atsiri .....	52
VI.3 Pembuatan Nanoenkapsulasi.....	57
VI.4 Karakterisasi Nanoenkapsulasi .....	61
VI.5 Uji Aktivitas Antibakteri.....	69
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....	77
V.1 Kesimpulan.....	77
V.2 Saran.....	77
DAFTAR PUSTAKA.....	xv
LAMPIRAN .....	xx

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel 1.</b> Penelitian mikroba pada karpet masjid.....	8
<b>Tabel 2.</b> Minyak atsiri sebagai mikroba.....	10
<b>Tabel 3.</b> Metode enkapsulasi dan bahan pelapis.....	13
<b>Tabel 4.</b> Bahan emulsi sediaan enkapsulasi.....	16
<b>Tabel 5.</b> Perbedaan ciri sel bakteri Gram negatif dan Gram positif .....	35
<b>Tabel 6.</b> Optimasi GC-MS .....	42
<b>Tabel 7.</b> Formulasi nanoenkapsulasi minyak atsiri jahe emprit (GEO).....	43
<b>Tabel 8.</b> Formulasi nanoenkapsulasi minyak atsiri bunga cengkeh (CEO).....	43
<b>Tabel 9.</b> Formulasi nanoenkapsulasi campuran kedua minyak atsiri (GCEO).....	43
<b>Tabel 10.</b> <i>Optimasi Gas Chromatography</i> .....	47
<b>Tabel 20.</b> Hasil uji <i>Particle Size Analyser</i> (PSA) .....	68
<b>Tabel 21.</b> Hasil aktivitas antibakteri terhadap bakteri <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	70
<b>Tabel 22.</b> Hasil aktivitas antibakteri terhadap bakteri <i>Micrococcus luteus</i> .....	73

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar 1.</b> Teknik isolasi minyak atsiri .....	22
<b>Gambar 2.</b> Beberapa struktur nano-mikrokapsul .....	26
<b>Gambar 3.</b> <i>Scanning Electron Microscope</i> (SEM) .....	30
<b>Gambar 4.</b> Perbandingan bakteri Gram positif dan sel bakteri Gram negatif.....	34
<b>Gambar 5.</b> Prosedur Penelitian.....	38
<b>Gambar 6.</b> <i>Freeze dryer</i> (Christ Alpha 1-2 LDplus).....	45
<b>Gambar 7.</b> Hasil destilasi .....	54
<b>Gambar 8.</b> Hasil proses <i>freeze-drying</i> .....	59
<b>Gambar 9.</b> <i>Scanning Electron Microscopy</i> (SEM) .....	66
<b>Gambar 10.</b> Enkapsulasi ekstrak teh alga coklat.....	67
<b>Gambar 11.</b> Hasil aktivitas antibakteri <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	71
<b>Gambar 12.</b> Hasil aktivitas antibakteri <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	72
<b>Gambar 13.</b> Hasil aktivitas antibakteri <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	72
<b>Gambar 14.</b> Hasil aktivitas antibakteri <i>Micrococcus luteus</i> .....	75
<b>Gambar 15.</b> Hasil aktivitas antibakteri <i>Micrococcus luteus</i> .....	75
<b>Gambar 16.</b> Hasil aktivitas antibakteri <i>Micrococcus luteus</i> .....	76

# BAB I

## PENDAHULUAN

### I.1 Latar Belakang

Karpet adalah tekstil penutup lantai, terdiri dari lapisan atas “berbulu” yang melekat pada alasnya. Penggunaan karpet digunakan untuk peredam suara yang bising, menciptakan kenyamanan, dan memberikan warna tersendiri di ruangan, sedangkan kekurangannya dimana permukaan yang berkarpet memiliki beban resiko penyakit kronis yang disebabkan dari aktivitas mikroba pathogen, terutama untuk usia balita dan usia lanjut (Bassam Husain Mashat, 2015). Hal ini dikarenakan pada usia balita dan usia lanjut daya tahan tubuh sangat lemah sehingga mudah terkena serangan patogen dari luar.

Berdasarkan (Alsaif *et al.*, 2019) menyatakan banyak penelitian menunjukkan hubungan yang signifikan antara area berpenghuni dengan konsentrasi bakteri. Risiko infeksi dapat meningkat, secara global informasi tentang isolasi jenis bakteri patogen pada karpet masih terbatas (Bassam Husain Mashat, 2015).

Berdasarkan penelitian (Rahouma *et al.*, 2010) bahwa karpet masjid di Tripoli Libiya, sampel debu karpet yang diperiksa positif *Salmonella spp* 3,5%, *Escherichia coli* 28,1%, *Aeromonas spp* 1,8%, *Staphylococcus aureus* 21,1%, *E. coli* 16,7%, dan *S. aureus* 25%. Berdasarkan (Alsaif *et al.*, 2019) bahwa karpet positif mengandung bakteri *Coagulase-negative staphylococci* 30,8%, *Bacillus spp* 29,5%, *Micrococcus* 22,1%, *Acinetobacter spp* 13,3%, *Pantoea agglomerans* 1,4%, *Klebsiella spp* 0,5%, *Enterobacter cloacae* 0,5%, *Escheria coli* 0,4%, *Stentrophomonas maltophilia* 0,4%, *Esherichia hermannii* 0,2%, *Serratia plymuthica* 0,2%, *Shigella spp* 0,2%, *Pseudomonas fluorescent/putida* 0,2%, dan *Yersinia enterocolitica* 0,2%. Minyak atsiri adalah senyawa organik yang memiliki sifat biologis sebagai antibakteri untuk mengurangi dan mencegah perkembangbiakan mikroorganisme yang lebih tinggi.

Minyak atsiri merupakan minyak volatil hasil metabolisme sekunder tumbuhan yang diperoleh dari bagian tumbuhan seperti bunga, daun, biji, kulit kayu, buah-buahan, dan akar atau rimpang. Minyak atsiri diketahui mengandung campuran berbagai senyawa yaitu terpen, alkohol, aseton, fenol, asam, aldehid, dan ester (Rialita *et al.*, 2015), senyawa-senyawa tersebutlah yang membuat minyak atsiri memiliki banyak manfaat.

Manfaat minyak atsiri digunakan sebagai penyedap makanan, obat-obatan, wewangian dan kosmetika (Hadidi *et al.*, 2020). Berbagai hasil penelitian telah melaporkan minyak atsiri rempah-rempah digunakan sebagai antimikroba seperti *oregano*, *thyme*, *sage*, *rosemary*, *marjoram*, cengkeh, kayu manis, bawang putih, jahe, kunyit, lengkuas, jinten hitam, pala, sirih, kecombrang, dan rempah lainnya. Berbagai jenis minyak atsiri dari rempah-rempah tersebut dilaporkan berpotensi untuk dikembangkan sebagai bahan pengawet pangan karena memiliki aktivitas antimikroba dengan spektrum luas, diantaranya terhadap bakteri patogen dan perusak pangan (Rialita *et al.*, 2015), salah satunya adalah cengkeh.

Cengkeh adalah kuncup bunga kering dari pohon cengkeh dan mengandung senyawa diantaranya *eugenol* 65,03% dan *trans-caryophyllene* 20,94% (Jayanudin, 2018), yang memiliki aplikasi dalam bidang industri makanan, sanitasi, biomedis, farmasi, pengemasan aktif, dan kosmetik, dikarenakan sifat biologisnya sebagai antioksidan, antimikroba, antiseptik, pestisida, aktivitas analgesik dan antikarsinogenik (Hadidi *et al.*, 2020) (Unalan *et al.*, 2019) (Challaraj Emmanuel *et al.*, 2020), *antifungicidal*, anestesi, dan efek antiprotozoal (Unalan *et al.*, 2019), antimutagenik (Anwer *et al.*, 2014). Minyak atsiri bunga cengkeh minyak atsiri jahe juga memiliki senyawa dan aplikasi yang sangat luas.

Jahe adalah rimpang atau rizoma dari tanaman jahe, jenis tanaman yang mempunyai umbi bercabang-cabang, dengan kandungan senyawa zingeron,  $\alpha$ -kurkumin, bisabolene, zingiberen, kariofilen, seskuifelandren, zerumbon, limonen, kamfer. Aplikasi yang digunakan dalam bidang keperluan memasak, kesehatan, kosmetik, makanan, minuman, dan pengobatan berbagai penyakit (Riyanto, 2017), dikarenakan sifat biologisnya sebagai antioksidan, antijamur, antibakteri, antimikroba, antiinflammatory, antipiretik, antidiabetes, dan antivirus (Das *et al.*, 2019), aplikasi minyak atsiri yang begitu luas, memiliki sebuah kekurangan.



Kekurangan minyak atsiri yaitu mudah menguap dalam kondisi pengolahan, penyimpanan, ketika dimasukkan ke dalam makanan atau kemasan, sehingga sifat biologisnya sebagai antibakteri dan antioksidan sangat terbatas (Hadidi *et al.*, 2020) (Pellicer *et al.*, 2019). Aplikasinya dalam bidang industri dibatasi karena volatilitas, dekomposabilitas dengan adanya udara, cahaya, dan suhu tinggi (Lin *et al.*, 2019), salah satu cara untuk mengatasi kekurangan tersebut adalah dengan enkapsulasi.

Enkapsulasi adalah teknologi yang menggunakan bahan membran untuk melapisi padatan, cairan atau gas menjadi mikropartikel (Yang *et al.*, 2018). Enkapsulasi dengan senyawa bioaktif seperti minyak atsiri merupakan salah satu teknik yang efektif untuk melindungi dari degradasi dalam kondisi lingkungan yang merugikan, memperpanjang umur simpan minyak atsiri, dan menghasilkan sistem pelepasan terkontrol (Hadidi *et al.*, 2020) (Pellicer *et al.*, 2019). Melindungi rasa dan mengontrol pelepasannya dalam makanan (Djuardi *et al.*, 2018). Menunjukkan aktivitas antibakteri yang lebih baik terhadap bakteri *E. coli*, *Bacillus subtilis*, dan *S. aureus* (Wang *et al.*, 2020). Meningkatkan aktivitas antimikroba (Rakmai *et al.*, 2017), untuk membuat sediaan enkapsulasi minyak atsiri, maka diperlukan metode, bahan pelapis, dan emulsi yang baik.

Proses enkapsulasi dibagi dua yaitu proses kimia dan fisika. Proses kimia diantaranya: koaservasi kompleks, inkompabilitas polimer-polimer, polimerisasi antarmuka dalam media cair, polimerisasi *in situ*, pengeringan dalam cairan, gelas termal dan ionik dalam media cair dan desolvasi dalam media cair (Hadidi *et al.*, 2020) (Pellicer *et al.*, 2019). Proses fisika, yaitu: semprot kering (*spray-drying*), semprot beku (*freeze-drying*), fluidisasi unggun, deposisi elektrostatis, ekstruksi sentrifugal, disket spin atau pemisahan suspensi rasional (Chenni *et al.*, 2020) (Djuardi *et al.*, 2018), salah satu metode yang baik untuk minyak atsiri yang memiliki senyawa volatil adalah *freeze-drying*.

Metode *freeze-drying* adalah proses menghilangkan kandungan air dalam suatu bahan atau produk yang telah beku (es), tanpa melalui fase cair terlebih dahulu. Metode *freeze-drying* cocok untuk mengenkapsulasi minyak atsiri, dikarenakan kelebihanannya dibandingkan metode lain adalah menjaga kualitas produk pengeringan, sehingga produk yang dihasilkan jauh lebih baik dibandingkan dengan metode pengeringan lainnya (Lischer *et al.*, 2019). Hal yang harus diperhatikan dalam pelepasan minyak atsiri yang

terkontrol selain proses pembentukan enkapsulasi adalah karakteri bahan inti dan seleksi serta formulasi bahan pelapis (Yang *et al.*, 2018).

Bahan pelapis memiliki peran penting dalam stabilitas proses enkapsulasi. Berbagai jenis bahan pelapis digunakan untuk proses enkapsulasi seperti polisakarida, protein dan lipid. Maltodekstrin memiliki kelarutan yang baik dalam air dan memiliki nilai viskositas rendah bahkan pada konsentrasi tinggi, fitur fungsional yang bermacam-macam termasuk pembesaran dan pembentuk film, dan pengurangan permeabilitas oksigen dalam matriks dinding (Turasan *et al.*, 2015). Mampu menghasilkan partikel bulat yang halus (Hadidi *et al.*, 2020), sifat-sifat tersebut membuat maltodekstrin dapat digunakan sebagai bahan pelapis enkapsulasi.

Gum arab terdiri dari susunan bercabang dari gula sederhana seperti galaktosa, asam glukuronat, arabinosa, rhamnosa dan sejumlah kecil protein yang terikat secara kovalen. Gum arab memiliki kelarutan air yang tinggi dan viskositas yang rendah dibandingkan jenis getah lainnya, sehingga dapat membuat film pelindung di sekitar bahan inti dan bertindak seperti pengemulsi, mampu mencegah terjadinya agregasi, dengan membentuk lapisan tebal (Lischer *et al.*, 2019). Mengikat rasa yang tidak enak, bahan pengental dan pembentuk lapisan (Turasan *et al.*, 2015). Pemilihan bahan pelapis dalam enkapsulasi menggunakan maltodekstrin dan gum arab mampu memberikan kelarutan yang lebih baik (Hadidi *et al.*, 2020), sehingga bahan mampu meningkatkan nilai % Efisiensi Enkapsulasi (% EE) pada sampel minyak atsiri (Lischer *et al.*, 2019).

Penelitian ini dilakukan pembuatan nanoenkapsulasi sebanyak 12 formulasi, yaitu: 4 formulasi bahan inti minyak atsiri jahe, 4 formulasi minyak atsiri cengkeh dan 4 formulasi campuran kedua minyak atsiri, menggunakan bahan pelapis maltodekstrin dan gum arab dengan metode *freeze-drying*. Formulasi nanoenkapsulasi dilakukan karakterisasi, uji SEM (*Scanning Electron-Microscopy*), PSA (*Particle Size Analyzer*) dan uji aktivitas antibakteri.

## I.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka dapat dirumuskan masalah sebagai berikut:

1. Bagaimana hasil formulasi nanoenkapsulasi bahan inti minyak atsiri jahe emprit, bunga cengkeh dan campuran kedua minyak atsiri menggunakan bahan pelapis maltodekstrin dan gum arab dengan metode *freeze-drying*?
2. Bagaimana hasil karakterisasi nilai % Efisiensi Enkapsulasi (% EE), morfologi dan ukuran partikel nanoenkapsulasi bahan inti minyak atsiri jahe emprit, bunga cengkeh dan campuran kedua minyak atsiri?
3. Bagaimana hasil formulasi nanoenkapsulasi bahan inti minyak atsiri jahe emprit, bunga cengkeh dan campuran kedua minyak atsiri sebagai antibakteri terhadap *Klebsiella pneumoniae* dan *Micrococcus luteus*?

## I.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas, maka tujuan dilakukannya penelitian ini adalah:

1. Mengetahui hasil formulasi nanoenkapsulasi bahan inti minyak atsiri jahe emprit, bunga cengkeh dan campuran kedua minyak atsiri menggunakan bahan pelapis maltodekstrin dan gum arab dengan metode *freeze-drying*.
2. Mengetahui hasil karakterisasi nilai % EE, morfologi dan ukuran partikel nanoenkapsulasi bahan inti minyak atsiri jahe emprit, bunga cengkeh dan campuran kedua minyak atsiri.
3. Mengetahui nilai zona hambat antibakteri formulasi nanoenkapsulasi bahan inti minyak atsiri jahe emprit, bunga cengkeh dan campuran kedua minyak atsiri terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan *Micrococcus luteus*.

#### **I.4 Manfaat Penelitian**

Adapun manfaat dari penelitian ini adalah:

1. Memberikan informasi hasil formulasi nanoenkapsulasi bahan inti minyak atsiri jahe emprit, bunga cengkeh dan campuran kedua minyak atsiri menggunakan bahan pelapis maltodekstrin dan gum arab dengan metode *freeze-drying*.
2. Memberikan informasi hasil karakterisasi nilai % EE, morfologi dan ukuran partikel nanoenkapsulasi bahan inti minyak atsiri jahe emprit, bunga cengkeh dan campuran kedua minyak atsiri.
3. Memberikan informasi hasil formulasi nanoenkapsulasi bahan inti minyak atsiri jahe emprit, bunga cengkeh dan campuran kedua minyak atsiri sebagai antibakteri terhadap *Klebsiella pneumoniae* dan *Micrococcus luteus*.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA DAN PERUMUSAN HIPOTESIS**

#### **II.1 Kajian Penelitian Terdahulu**

Lingkungan adalah unik dan dicirikan oleh sumbernya sendiri. Lebih dari 85% pasar karpet dan permadani diproduksi oleh perusahaan yang berlokasi dalam radius 65 mil dari Dalton, Georgia. Karpet dianggap sebagai tempat yang baik untuk pertumbuhan mikroorganisme, hal ini dikarenakan karpet dianggap bekerja pada penyerapan debu. Hanya dengan berjalan melintasi lantai yang dilapisi karpet mikroba dapat terbawa oleh udara dan menyebabkan penyakit saluran napas non-infeksius, alergi, asma, atau infeksi serius lainnya (Bassam Husain Mashat, 2015). Mikroorganisme bukan hanya ada di luar ruangan saja, melainkan didalam suatu ruangan juga ada, dengan melalui berbagai cara.

Cara mikroorganisme memasuki ruangan adalah melalui asupan sistem pendingin udara, aktivitas manusia, peralatan dan bahan bangunan yang terkontaminasi. Mikroorganisme dapat menempati dinding, jendela, bingkai, furnitur, lantai, keramik dan karpet (Bassam Husain Mashat, 2015). Mikroorganisme jika dibandingkan yang berada karpet maupun di lantai, maka karpet memiliki beban permukaan mikroorganisme yang lebih tinggi dibandingkan dengan lantai (Bassam Husain Mashat, 2015), adapun beberapa penelitian kontaminasi mikroorganisme terhadap karpet dapat dilihat pada **Tabel 1**.

**Tabel 1.** Penelitian mikroba pada karpet masjid

No	Jurnal	Hasil	Referensi
1	Isolasi bakteri yang tinggi resisten terhadap obat-obatan pada air dan karpet masjid	Sampel debu karpet yang diperiksa positif <i>E. coli</i> 12%, <i>Klebsiella spp</i> 66%, dan <i>Staphylococcus spp</i> 60%.	(Mohamed Ali <i>et al.</i> , 2014)
2	Isolasi bakteri patogen dan berpotensi resisten terhadap antibiotik dari karpet masjid di Tripoli, Libiya.	Sampel debu karpet yang diperiksa positif <i>Salmonella spp</i> 3,5%, <i>Escherichia coli</i> 28,1%, <i>Aeromonas spp</i> 1,8%, <i>Staphylococcus aureus</i> 21,1%, <i>E. coli</i> 16,7%, dan <i>S. aureus</i> 25%.	(Rahouma <i>et al.</i> , 2010)
3	Isolasidan Identifikasi Bakteri di Karpet Masjid: Studi Lintas Bagian di Riyadh, Arab Saudi	Sampel karpet positif <i>Coagulase-negative staphylococci</i> 30,8%, <i>Bacillus spp</i> 29,5%, <i>Micrococcus</i> 22,1%, <i>Aclinetobacter spp</i> 13,3%, <i>Pantoea agglomerans</i> 1,4%, <i>Klebsiella spp</i> 0,5%, <i>Enterobacter cloacae</i> 0,5%, <i>Escheria coli</i> 0,4%, <i>Stentrophomonas maltophilia</i> 0,4%, <i>Esherichia hermannii</i> 0,2%, <i>Serratia plymuthica</i> 0,2%, <i>Shigella spp</i> 0,2%, <i>Pseudomonas fluorescent/putida</i> 0,2%, dan <i>Yersinia enterocolitica</i> 0,2%.	(Alsaif <i>et al.</i> , 2019)
4	Kontaminasi bakteri dan kimia terkait debu karpet di Masjid Suci, Makkah Al-Mukarramah	Sampel karpet positif <i>Bacillus</i> 25%, <i>Pseudomonas</i> 13%, dan <i>Micrococcus</i> 12%.	(Bassam Husain Mashat, 2015)

Berdasarkan (Mohamed Ali *et al.*, 2014) menyatakan bahwa mikroorganisme pada debu karpet masjid di kota Elkhomes di Libya yang diperiksa menunjukkan positif *E. Coli* 12%, *Klebsiella spp* 66%, dan *Staphylococcus spp* 60%. Bakteri *E. Coli* dan *Klebsiella* termasuk kedalam golongan bakteri negatif sedangkan *Staphylococcus* bakteri gram positif.

Menurut penelitian (Bassam Husain Mashat, 2015) menyatakan bahwa kontaminasi bakteri pada debu karpet Masjid di Makkah Al-Mukarramah adalah konsentrasi bakteri bervariasi tergantung pada lokasi karpet di dalam Masjid. Nilai konsentrasi bakteri rata-rata tertinggi pada debu karpet masjid sebesar  $256,42 \times 10^6$  CFU/m<sup>2</sup>, sedangkan pada lantai lebih kecil  $1.12 \times 10^5$  CFU/m<sup>3</sup>. Faktor Re-suspensi (RF) tertinggi ditemukan di lantai dasar ekspansi 1 dan yang terendah di lantai dasar ekspansi 2, bakteri yang mendominasi adalah *Bacillus* 25%, *Pseudomonas* 13% dan *Micrococcus* 12%. Bakteri *Bacillus* dan *Micrococcus* termasuk kedalam bakteri Gram positif, sedangkan *Pseudomonas* termasuk kedalam Gram negatif. Oleh karena itu dibutuhkan suatu bahan organik sebagai antimikroba untuk mencegah dan mengurangi perkembangbiakan mikroorganisme yang lebih tinggi, salah satu bahan organik yang bekerja sebagai antimikroorganisme adalah minyak atsiri.

Minyak Atsiri yang diperoleh dari tanaman obat dan herbal, yang dikenal karena memiliki sifat antimikroba dan antioksidan. Minyak atsiri dari berbagai tumbuhan telah digunakan sebagai penyedap makanan, obat-obatan, dan dalam wewangian, salah satunya adalah minyak atsiri cengkeh. Cengkeh adalah kuncup bunga kering dari pohon cengkeh dan mengandung sejumlah senyawa bioaktif sebagai antioksidan dan antimikroba yang sangat efektif (Hadidi *et al.*, 2020). Hal ini dikarenakan minyak atsiri cengkeh memiliki senyawa yang berbeda dibandingkan yang lainnya yaitu memiliki kandungan eugenol yang sangat tinggi sebesar 80-95% (SNI, 1996).

Minyak atsiri cengkeh adalah minyak yang memiliki kandungan fenilpropanoid seperti eugenol dan turunannya,  $\beta$ -caryophyllene, dan  $\alpha$ -humulene. Minyak atsiri cengkeh memiliki berbagai aplikasi dalam industri makanan, sanitasi, biomedis, farmasi, pengemasan aktif dan kosmetik karena sifat biologisnya sebagai antioksidan, antimikroba, antiseptik, pestisida, aktivitas analgesik dan antikarsinogenik. Beberapa penelitian minyak atsiri jahe dan cengkeh sebagai antimikroba dapat dilihat pada **Tabel 2**.

**Tabel 2.** Minyak atsiri sebagai mikroba

No	Minyak atsiri	Manfaat	Referensi
1	Cengkeh	Manpu melawan empat bakteri dari makanan, yaitu: <i>L. monocytogenes</i> 4,80 cm, <i>S. aureus</i> 4,78 cm, <i>S. typhi</i> 4,49 cm, dan <i>E. coli</i> 3,95 cm.	(Hadidi <i>et al.</i> , 2020)
2	Cengkeh	Penambahan minyak atsiri cengkeh mampu meningkatkan diameter hambat antibakteri, yaitu: tanpa minyak atsiri ( $241 \pm 96$ nm), minyak atsiri 1,5 g ( $285 \pm 67$ ), minyak atsiri 3 g ( $300 \pm 73$ ), dan minyak atsiri 6 g ( $305 \pm 82$ nm).	(Unalan <i>et al.</i> , 2019)
3	Cengkeh	Sebagai antibakteri terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> sebesar 0,625 mg/mL.	(Xu <i>et al.</i> , 2016)
4	Cengkeh	Sediaan nanoemulsi sebagai antibakteri terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Proteus vulgaris</i> , <i>Klebseilla pneumoniae</i> , dan <i>Pseudomonas aeruginosa</i> sebesar 0,075; 0,080; 0,085; 0,250; dan 0,300% b/b lebih tinggi, dibandingkan minyak murni sebesar 0,130; 0,130; 0,130; 0,400; dan 0,500% b/b.	(Anwer <i>et al.</i> , 2014)
5	Jahe merah ( <i>Zingiber officinale</i> var. <i>Rubrum</i> )  Lengkuas merah ( <i>Alpinia purpurata</i> K. Schum)	Jika dilihat secara keseluruhan sebagai antibakteri, minyak atsiri lengkuas merah lebih tinggi dibandingkan dengan jahe merah, dimana nilai <i>Minimum Bactericidal Concentration (MBC)</i> terhadap bakteri Gram positif ( <i>B. cereus</i> ) pada minyak atsiri jahe merah sebesar 3,10 mg/mL, sedangkan minyak atsiri lengkuas merah sebesar 1,79 mg/mL. Pada bakteri Gram negatif ( <i>E. coli</i> , <i>S. typhimurium</i> , <i>P. aeruginosa</i> ) pada minyak atsiri jahe merah sebesar 3,53; 3,53; dan 5,29 mg/mL, sedangkan pada minyak atsiri lengkuas merah sebesar 2,23; 3,58; dan 4,92 mg/mL.	(Rialita <i>et al.</i> , 2015)



No	Minyak atsiri	Manfaat	Referensi
6	<p>Jahe (<i>Zingiber officinale</i>)</p> <p>Kunyit (<i>Curcuma longa</i>)</p> <p>Kemiri (<i>Aleurites moluccanus</i>)</p> <p>Serai (<i>Cymbopogon citratus</i>)</p> <p>Kuncup cengkeh (<i>Syzygium aromaticum</i>)</p> <p>Lengkuas (<i>Alpinia galanga</i>)</p>	<p>Aktivitas minyak atsiri sebagai antimikroba, dari nilai tertinggi terhadap bakteri <i>S. Tyhimurium</i> yaitu minyak atsiri cengkeh, serai, jahe, kuyit, lengkuas dan kemiri dengan nilai (3,67+0,58; 2,92+ 0,14; 2,29+ 0,36; 1,75+0; 1,17+ 0 mm; dan tidak ada hambatan). Terhadap bakteri <i>B. cereus</i> yaitu minyak atsiri serai, cengkeh, jahe, kunyit, lengkuas dan kemiri dengan nilai (3,58+0,14; 3,25+0,9; 1,92+1,23; 1,63+0,57; 0,75+0,43 mm; dan tidak ada hambatan), serta terhadap bakteri <i>S. aureus</i> yaitu minyak atsiri cengkeh, jahe, lengkuas, kunyit, serai dan kemiri (5,25+0,75; 4,33+0,58; 1,92+0,38; 1,88+0,29; 1,75+1,56; dan 0,5+0 mm). Artinya minyak atsiri jahe, cengkeh dan serai memiliki nilai zona hambat tertinggi sebagai antibakteri <i>S. Tyhimurium</i>, <i>B. cereus</i>, dan <i>S. aureus</i>.</p>	(Budiati <i>et al.</i> , 2018)
7	<p>Jahe (<i>Zingiber officinale</i>)</p>	<p>Aktivitas antibakteri terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> nilai <i>Diameter of Inhibition Zone</i> (DIZ) sebesar 17,1 mm, <i>Minimum Inhibition Concentration</i> (MIC) 1,0 mg/mL dan <i>Minimum Bactericide Concentration</i> (MBC) 2,0 mg/mL. Sedangkan pada <i>Escherichia coli</i> lebih rendah nilai DIZ 12,3 mm, MIC 2,0 mg/mL dan MBC 4,0 mg/mL.</p>	(Wang <i>et al.</i> , 2020)
8	<p>Jahe (<i>Zingiber officinale</i>)</p>	<p>Penghambatan biofilm dan antibakteri terhadap <i>S. aureus</i> sebesar 94%, <i>K. pneumoniae</i> 91%, <i>E. coli</i> 89%, dan <i>E. faecalis</i> 83%.</p>	(Das <i>et al.</i> , 2019)
9	<p>Jahe (<i>Zingiber officinale</i>) dan Pala (<i>Myristica fragrans</i>)</p>	<p>Antibakteri terhadap <i>P. aeruginosa</i> dengan nilai rata-rata zona hambat tertinggi pada: Ekstrak metanol jahe, Ekstrak kloroform jahe, Ekstrak metanol pala, dan Ekstrak kloroform pala sebesar 1,91; 1,62; 1,53; dan 0,95 mm, sedangkan terhadap <i>E. Coli</i> dengan nilai rata-rata zona hambat tertinggi pada: Ekstrak kloroform pala, Ekstrak kloroform jahe, Ekstrak metanol jahe dan Ekstrak metanol pala sebesar 1,56; 1,4; 1,26; dan 1,03 mm.</p>	(Challaraj Emmanuel <i>et al.</i> , 2020)

Berdasarkan **Tabel 2** minyak atsiri jahe dan cengkeh mampu digunakan sebagai antimikroba dengan sifat biologisnya sebagai antibakteri. Berdasarkan penelitian (Unalan *et al.*, 2019) menyatakan bahwa penambahan minyak atsiri cengkeh mampu meningkatkan diameter hambat antibakteri, yaitu: tanpa minyak atsiri ( $241 \pm 96$  nm), minyak atsiri 1,5 g ( $285 \pm 67$ ), minyak atsiri 3 g ( $300 \pm 73$ ), dan minyak atsiri 6 g ( $305 \pm 82$  nm). Berdasarkan (Xu *et al.*, 2016) menyatakan minyak atsiri cengkeh sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* sebesar 0,625 mg/mL.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan (Budiati *et al.*, 2018), menyatakan minyak atsiri yang memiliki nilai diameter zona hambat tertinggi sebagai antibakteri terhadap *S. Tyhimurium* secara berturut-turut, yaitu: minyak atsiri cengkeh, serai, jahe, kunyit, lengkuas dan kemiri dengan nilai zona hambat ( $3,67+0,58$ ;  $2,92+ 0,14$ ;  $2,29+ 0,36$ ;  $1,75+0$ ;  $1,17+ 0$  mm; dan tidak ada hambatan). Bakteri *B. cereus* yaitu: minyak atsiri serai, cengkeh, jahe, kunyit, lengkuas dan kemiri dengan nilai zona hambat ( $3,58+0,14$ ;  $3,25+0,9$ ;  $1,92+1,23$ ;  $1,63+0,57$ ;  $0,75+0,43$  mm; dan tidak ada hambatan). Serta terhadap *S. aureus* yaitu: minyak atsiri cengkeh, jahe, lengkuas, kunyit, serai dan kemiri dengan nilai zona hambat ( $5,25+0,75$ ;  $4,33+0,58$ ;  $1,92+0,38$ ;  $1,88+0,29$ ;  $1,75+1,56$ ; dan  $0,5+0$  mm). Artinya minyak atsiri cengkeh, serai dan jahe menjadi minyak atsiri yang paling tinggi nilai zona hambat antibakteri terhadap bakteri *S. Tyhimurium*, *B. Cereus* dan *S. Aureus* dibandingkan dengan minyak asiri lainnya.

Minyak atsiri cengkeh dapat diisolasi dari kuncup bunga aromatik *Eugenia caryophyllata*, yang terdiri dari *eugenol* 78%,  *$\beta$ -caryophyllene* 13% dan senyawa lain seperti benzil alkohol. Komponen utamanya telah banyak digunakan karena sifat biologisnya seperti aktivitas antioksidan, antiinflamasi, dan antimikroba (Unalan *et al.*, 2019). Selain sifat biologisnya sebagai antibakteri, minyak atsiri memiliki kekurangan baik dalam pengolahan, penyimpanan, dan penyisipan bahan aktif.

Minyak atsiri adalah zat yang mudah menguap, terdiri dari campuran komponen kompleks yang ditemukan dalam suatu tumbuhan tersebut (Djiuardi *et al.*, 2018). Mudah menguap, kepekaan terhadap panas dan mudah teroksidasi sehingga pemanfaatannya masih terbatas (Pellicer *et al.*, 2019). Mengingat hal ini enkapsulasi minyak atsiri menjadi salah satu solusi.

Minyak atsiri dengan proses enkapsulasi memiliki dua proses yaitu proses kimia dan fisika (Goeswin, 2010). Berbagai proses enkapsulasi memiliki kelebihan dan kekurangan masing-masing, namun untuk senyawa minyak atsiri yang volatil digunakan proses mekanik yaitu semprot beku (*freeze-drying*) (Yang *et al.*, 2018). Hal yang harus diperhatikan dalam enkapsulasi adalah metode, bahan pelapis, dan emulsi. Metode dan bahan pelapis dapat dilihat pada **Tabel 3**.

**Tabel 3.** Metode enkapsulasi dan bahan pelapis

No	Enkapsulasi	Metode	Bahan Pelapis	Hasil	Referensi
1	Mikroenkapsulasi minyak atsiri stroberi	<i>Spray-drying</i>		Hasil medium, kelembaban rendah, stabilitas partikel tinggi, ukuran rendah dan morfologi partikel bulat dan halus.	
		<i>Freeze-drying</i>	MDs/Hi-Cap, MDs/Hi-Cap/ $\beta$ -CD dan MDs/Hi-Cap/ $\gamma$ -CD	Hasil tinggi, kelembaban medium, stabilitas partikel medium, ukuran tinggi dan morfologi amorf dan partikel tidak beraturan. Hasil paling baik dengan pengeringan beku.	(Pellicer <i>et al.</i> , 2019)
		<i>Fluid-bed</i>		Hasil rendah, kelembaban tinggi, stabilitas partikel rendah, ukuran medium dan morfologi Amorf dan partikel tidak beraturan.	

No	Enkapsulasi	Metode	Bahan Pelapis	Hasil	Referensi
2	Enkapsulasi minyak atsiri yarrow ( <i>Achillea millefolium L. s. L.</i> )	<i>Freeze-drying</i>	Hidroksipropil- $\beta$ -siklodekstrin (HP $\beta$ CD)	Nilai EE 45%, aktivitas antioksidan 72% DPPH, antibakteri terhadap <i>S. aureus</i> dan <i>E. coli</i> dengan nilai MIC masing-masing 250 $\mu$ g/mL dan 500 $\mu$ g/mL, sedangkan sebelum dienkapsulasi <i>S. aureus</i> dan <i>E. coli</i> sebesar 62,5 $\mu$ g/mL. Formulasi terbaik adalah WP:MD 3:1 dengan nilai Two Different Dextrose Equivalent (DE) 13-17, sedangkan perbandingan bahan inti: pelapis yang terbaik adalah 1:20 dengan nilai EE 96,14%. Besar partikel dengan cara ultrasonikasi kisaran antara 0,1-1 $\mu$ m sedangkan dengan mixer berkecepatan tinggi 0,5-10 $\mu$ m.	(Rakmai <i>et al.</i> , 2017)
3	Mikroenkapsulasi minyak atsiri rosemary	<i>Freeze-drying</i>	Rasio bahan pelapis <i>Whey protein concentrate</i> (WP) : maltodekstrin (MD) (1: 3; 3:1; 1:3; dan 3: 1). Rasio bahan inti dan pelapis 1:40; 1:20; dan 1:10.	Besar partikel dengan cara ultrasonikasi kisaran antara 0,1-1 $\mu$ m sedangkan dengan mixer berkecepatan tinggi 0,5-10 $\mu$ m.	(Turasan <i>et al.</i> , 2015)
4	Enkapsulasi minyak atsiri gaharu	<i>Freeze-drying</i>	Rasio minyak atsiri gaharu : maltodekstrin dan gum arab (MA:MD-GA): F1 (2:10), F2 (5:10), F3 (10:10) dan F4 (12:10).	Kapasitas pemuatan tertinggi adalah F2 dengan nilai EE 96% dan pada hari kesepuluh hanya kehilangan 5% minyak yang dienkapsulasi.	(Lischer <i>et al.</i> , 2019)

No	Enkapsulasi	Metode	Bahan Pelapis	Hasil	Referensi
5	Enkapsulasi minyak atsiri <i>Eucalyptus citriodora</i> (ECEO)	<i>Freeze-drying</i>	Liposom padat konsentrasi (0,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0; dan 6,0 mg/mL). $\beta$ -siklodekstrin : lipid formulasi 2:1,4; 1,6:1; dan 8:1).	Hasil optimal ECEO dalam Liposom adalah 4,0 mg/mL, ukuran partikel 266,56 nm, EE 22,47%. $\beta$ -siklodekstrin digunakan sebagai krioprotektan selama proses pengeringan beku dengan rasio yang sesuai 6:1 terhadap lipid.	(Lin <i>et al.</i> , 2019)
6	Enkapsulasi minyak atsiri kemangi ( <i>Ocimum basilicum</i> L.)	<i>Freeze-drying</i>	Maltodekstrin : getah akasia (1:1)	Hasil kapsul minyak atsiri sangat efektif melawan <i>R. dominica</i> dibandingkan <i>S. oryzae</i> , kecuali <i>T. castaneum</i> yang tidak peka. Toksisitas terhadap orang dewasa <i>R. dominica</i> bervariasi antara (LD50 0,20 g/Kg untuk SFME-EEO, LD50 0,25 g/Kg untuk HD-EEO) dan (LD50 0,32 g/Kg untuk SFME-EEO, LD50 0,37 g/Kg untuk HD EEO) masing-masing melalui kontak langsung dan efek konsumsi.	(Chenni <i>et al.</i> , 2020)

Berdasarkan **Tabel 3** dapat disimpulkan bahwa enkapsulasi dengan menggunakan metode *freeze-drying* mampu menghasilkan enkapsulasi yang cukup baik. Hal ini dikarenakan metode *freeze-drying* tidak melintarkan proses pemanasan dengan suhu tinggi, yang dapat menyebabkan bahan inti minyak atsiri semakin berkurang. Metode *freeze-drying* adalah proses menghilangkan kandungan air dalam suatu bahan produk yang telah beku (es), tanpa melalui fase cair terlebih dahulu.

Berdasarkan penelitian (Pellicer *et al.*, 2019) menyatakan bahwa mikrokapsulasi minyak atsiri stroberi dengan proses *freeze-drying* lebih baik dari *spray-drying*, hasil proses *freeze-drying* yaitu: hasil tinggi, kelembaban medium, stabilitas partikel medium,

ukuran tinggi dan morfologi amorf dan partikel tidak beraturan. Proses *spray-drying* yaitu: hasil medium, kelembaban rendah, stabilitas partikel tinggi, ukuran rendah dan morfologi partikel bulat dan halus. Hal ini dikarenakan metode *spray-drying* didalam prosesnya menggunakan suhu tinggi maka menyebabkan hilangnya senyawa aktif pada minyak atsiri.

Metode *spray-drying* pada formulasi DC1 kehilangan metil eugenol, miristisin, terpinolen, *terpinene-4-ol* dan *camphene*, tidak menunjukkan adanya asam miristat dalam minyak atsiri pala, sedangkan pada formulasi DC8 mempertahankan *metil eugenol*, *miristisin*, dan *terpinene-4-ol*, tetapi kehilangan  $\alpha$  *pinene*,  $\beta$  *pinene* dan *d-limonene* (Djuardi *et al.*, 2018). Oleh karena itu selain metode yang harus diperhatikan pada pembuatan enkapsulasi adalah bahan pelapis dan emulgator.

Berdasarkan (Lischer *et al.*, 2019) enkapsulasi dengan rasio bahan inti minyak atsiri gaharu: maltodekstrin dan gom arab sebagai bahan pelapis (MA:MD-GA), dengan formulasi: F1 (2:10), F2 (5:10), F3 (10:10) dan F4 (12:10) menghasilkan nilai Efisiensi Enkapsulasi (% EE) tertinggi adalah formulasi F2 dengan nilai EE 96% dan pada hari kesepuluh hanya kehilangan 5% minyak yang dienkapsulasi. Artinya dengan rasio bahan inti dan pelapis sebesar dengan perbandingan 1:2 memiliki nilai % EE yang baik. Bahan emulsi dapat dilihat berdasarkan **Tabel 4**.

**Tabel 4.** Bahan emulsi sediaan enkapsulasi

No	Sampel	Formulasi	Hasil	Referensi
1	Mikrokapsul minyak atsiri bunga cengkeh (AO)	Natrium alginat 2% : AO (NA) Natrium alginat : gliserol monostearat 0,5% : AO 1% (AMO) Natrium alginat : polioksietilen sorbitan monolaurat 0,5% (Tween 20) : AO (ATO)	Hasil paling tinggi secara berturut-turut adalah AMO, NA, dan ATO dengan nilai EE 92,12; 90,02; 83,60%, sedangkan nilai <i>Hydrophilic - Lipophilic Balance</i> (HLB) 3,8; 0; dan 16,7. Nilai zona hambat AMO, NA, dan ATO sebesar 23,66; 7,96; dan 12,46, sedangkan nilai antioksidan 7,69; 9,73; dan 2,16.	(Radünz <i>et al.</i> , 2019)

Berdasarkan penelitian (Radünz *et al.*, 2019) penggunaan pengemulsi atau emulgator pada enkapsulasi minyak atsiri bunga cengkeh, dengan formulasi pertama natrium alginat : gliserol monostearat 0,5% : AO 1% (AMO) menghasilkan nilai HLB dan % EE sebesar: 3,8 dan 92,12%, hasil ini lebih tinggi dibandingkan menggunakan formulasi yang kedua yaitu natrium alginat : polioksietilen sorbitan monolaurat 0,5% (Tween 20) : AO (ATO) nilai HLB dan EE % sebesar: 16,7 dan 83,60%. Nilai konsentrasi hambat minimum dan aktivitas antioksidan cengkeh pada formulasi AMO sebesar: 23,66 dan 7,69 lebih tinggi dibandingkan formulasi ATO, yaitu sebesar: 12,46 dan 2,1. Hal ini dikarenakan penggunaan gliserol monostearat mampu meningkatkan nilai % EE minyak atsiri dibandingkan dengan polioksietilen sorbitan monolaurat. Artinya natrium alginat : gliserol monostearat sangat baik digunakan dalam bahan emulsi atau emulgator dalam enkapsulasi minyak atsiri bunga cengkeh.

## II.2 Landasan Teori

### II.2.1 Karpets

Karpets adalah hamparan (tikar) penutup lantai yang dibuat dari bulu domba atau kain tebal, biasanya disebut dengan permadani, atau ambal. Tumpukan permadani umumnya terbuat dari wol atau serat buatan manusia seperti *polypropylene*, dan biasanya terdiri dari lilitan-lilitan jumbai yang dipanaskan untuk mempertahankan struktur karpets. Di masa lalu dan bahkan hari ini, karpets sangat populer di kalangan pemilik rumah di masa modern. Karpets adalah pilihan paling praktis, modis, dan serbaguna untuk lantai, faktanya adalah, karpets telah digunakan dan menjadi salah satu perabot rumah paling diminati selama lebih dari 60 tahun.

#### II.2.1.1 Manfaat karpets

Kelebihan lantai yang berkarpet diantaranya sebagai kehangatan, keamanan, peredam suara, membantu menyembunyikan permukaan lantai yang rusak, memiliki ragam penggunaan (bagian tangga, dinding, dan tiang), fleksibel, dan terjangkau, dikarena manfaat tersebutlah lantai yang berkarpet memiliki keunggulan dibandingkan dengan bahan lantai lainnya, seperti ubin, kayu dan keramik (Rahouma *et al.*, 2010). Selain kelebihan karpets masjid, karpets juga memiliki kekurangan.

#### II.2.1.2 Kekurangan karpets

Adapun permukaan lantai yang berkarpet memiliki kekeurangan beban permukaan mikroorganisme lebih tinggi (Bassam Husain Mashat, 2015). Konsentrasi jamur dan bakteri di atas karpets secara konsisten lebih tinggi daripada lantai yang tidak dilapisi karpets. Hal ini dikarenakan karpets memiliki bentuk keadaan yang panjang, lebar, tebal dan berat, sehingga untuk membersihkannya memerlukan perlakuan yang khusus. Orang yang memiliki umur lanjut usia sangat berpotensi tinggi terkena penyakit kronis dan risiko yang terkait dikarenakan mikroorganisme (Aaif *et al.*, 2019; Mohamed Ali *et al.*, 2014; Rahouma *et al.*, 2010).



## II.2.2 Minyak atsiri

Minyak atsiri (EO) adalah zat aromatik yang mudah menguap yang diekstrak dari berbagai bagian tanaman nabati (Wang *et al.*, 2020). Bagian tanaman nabati diantaranya: bunga, biji, daun, cabang, buah dan akar. Didapatkan dengan cara diekstrak maupun penyulingan (Chenni *et al.*, 2020). Senyawa yang terkandung di dalam minyak atsiri sangat beragam.

Kandungan senyawa minyak atsiri yaitu terpen, alkohol, aseton, fenol, asam, aldehid dan ester, yang umumnya digunakan sebagai pemberi *esens* (aroma) pada sediaan pangan, kosmetika atau sebagai komponen fungsional pada produk farmasi (Tita *et al.*, 2015). Salah satunya sebagai antibakteri (Tita *et al.*, 2015). Berbagai tanaman sebagai minyak atsiri jahe (*Zingiber officinale*), kunyit (*Curcuma longa*), kemiri (*Aleurites moluccanus*), serai (*Cymbopogon citratus*), cengkeh (*Syzygium aromaticum*) dan lengkuas (*Alpinia galanga*) (Djuardi *et al.*, 2018).

### II.2.2.1 Minyak atsiri jahe

Jahe merupakan jenis rempah-rempah dari keluarga *Zingiberaceae* yang hidup secara indigenus yang beriklim tropis. Rimpang jahe menghasilkan aroma yang menyengat dan memiliki manfaat yang sangat banyak (Tita *et al.*, 2015). Berdasarkan data statistik, produksi jahe di Indonesia pada tahun 2012 mencapai 114.537,65 Ton per tahun, hal ini dikarenakan jahe memiliki kasiat sebagai minyak atsiri yang baik (Tita *et al.*, 2015). Minyak atsiri jahe sendiri memiliki tiga jenis varietas.

Tiga jenis varietas jahe yang dikenal yaitu: (1) *Zingiber officinale* var *Roscoe* adalah jahe gajah / jahe badak / jahe putih besar, (2) *Zingiber officinale* var *Rubrum* adalah jahe merah / jahe sunti, dan (3) *Zingiber officinale* var *Amarum* adalah jahe putih kecil / jahe emprit (Correa-pacheco & Bautista-ba, 2017).

### II.2.2.2 Kandungan minyak atsiri jahe

Komponen aktif pada minyak atsiri jahe umumnya didominasi senyawa terpen (monoterpen, seskuiterpen) dan fenolik yang menghasilkan aroma yang khas (Tita *et al.*, 2015). Komponen 10 senyawa utama didalam minyak atsiri jahe adalah zingiberena, curucumene, *alpha.-Farnesene*, *geraniol*, *bera.-sesquiphellandrene*, *camphene*, *E-citral*, *Z-citral*, *eucalyptol* dan *borneol* (Riyanto, 2017).

### II.2.2.3 Manfaat minyak atsiri jahe

Manfaat minyak atsiri jahe sebagai bahan pemberi aroma pada makanan, bumbu, olahan makanan segar, bahan herbal (jamu) dan obat-obatan (Tita *et al.*, 2015). Pengembangannya dalam industri farmasi, makanan dan kosmetik.

Aplikasinya dalam pengobatan penyakit saluran cerna dan pernapasan (Wang *et al.*, 2020). Antimikroba (Tita *et al.*, 2015). Antioksidan, antijamur dan antibakteri (Wang *et al.*, 2020). Antimikroba pada bakteri patogen (Budiati *et al.*, 2018). Antiinflamasi, antipiretik, antidiabetes, antivirus, anticacing, antioksidan dan antiapoptosis potensi (Das *et al.*, 2019). Beberapa peneliti terdahulu melaporkan minyak atsiri jahe lebih efektif membunuh mikroba dibandingkan oleoresinnya, dengan aktivitas antimikroba yang cukup tinggi (Tita *et al.*, 2015).

### II.2.2.4 Minyak atsiri cengkeh

Minyak atsiri cengkeh merupakan anggota keluarga *Myrtaceae* (Hadidi *et al.*, 2020). Diisolasi dari kuncup bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) (Anwer *et al.*, 2014). dimanfaatkan sebagai tanaman herbal (Hadidi *et al.*, 2020). Mengandung sejumlah senyawa bioaktif yang beberapa di antaranya merupakan antioksidan dan antimikroba yang sangat efektif (Hadidi *et al.*, 2020).

### II.2.2.5 Kandungan minyak cengkeh

Kandungan minyak atsiri cengkeh (CEO) terutama mengandung fenilpropanoid seperti eugenol dan turunannya bersama dengan kadar kecil (Hadidi *et al.*, 2020). Senyawa organik  $\beta$ -caryophyllene (13%) dan  $\alpha$ -humulene (Hadidi *et al.*, 2020). Benzil alkohol (Unalan *et al.*, 2019)

### II.2.2.6 Manfaat minyak atsiri cengkeh

Minyak atsiri cengkeh memiliki berbagai aplikasi dalam industri makanan, sanitasi, biomedis, farmasi, pengemasan aktif dan kosmetik, karena sifat biologisnya termasuk antioksidan, antimikroba, antiseptik, pestisida, aktivitas analgesik dan antikarsinogenik (Hadidi *et al.*, 2020). Antiinflamasi, antijamur, antialergi, antikarsinogenik dan antimutagenik (Anwer *et al.*, 2014). Sifat antibakterinya telah terbukti sangat efektif

melawan strain bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas fluorescens* serta mampu meningkatkan viabilitas sel (Unalan *et al.*, 2019).

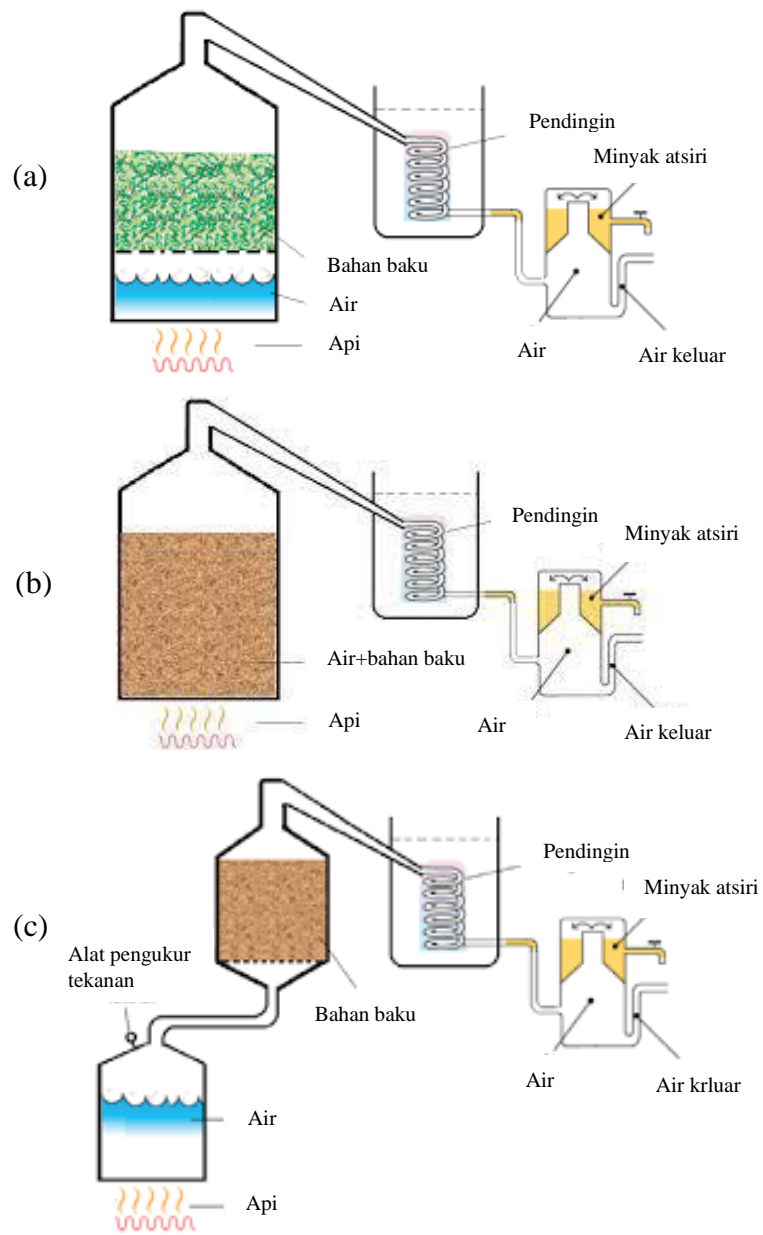
#### II.2.2.7 Kekurangan minyak atsiri

Kekurangan minyak atsiri adalah memiliki sifat senyawa yang volatil, peka terhadap panas, oksidasi yang mudah dan sukar latur dalam air, karena sifatnya yang volatil, maka dalam kondisi penyimpanan dan pengolahan akan sangat cepat mengalami kerusakan (Hadidi *et al.*, 2020), dengan kekurangannya minyak atsiri tetapi senyawa tersebut memiliki manfaat yang sangat luas, maka diperlukan beberapa perlindungan eksternal untuk pemanfaatan yang tepat (Pellicer *et al.*, 2019).

#### II.2.3 Teknik isolasi minyak atsiri

Minyak atsiri dapat didesilasi dari bagaian tanaman seperti daun batang, akar, kulit, dan batang. Berbagai jenis teknik isolasi minyak atsiri seerti destilasi kukus, destilasi rebus, destilasi uap, ekstraksi dan enfleorasi. Berbagai jenis destilasi ditunjukkan pada **Gambar 1**. Destilasi kukus (a) sangat sesuai dengan untuk isolasi minyak atsiri serei, kenanga dan cengkeh. Destilasi rebus (b) sangat sesuai untuk isolasi minyak atsiri empon-empon seperti jahe, kencur, kunyit, temu manga dan lain-lain.

Teknik destilasi rebus bahan baku harus dihancurkan sampai halus dan dicampur dengan air, menggunakan perbandingan yang sesuai. Teknik ini memerlukan api yang sedang supaya sampel tidak hangus. Teknik yang banyak digunakan untuk isolasi minyak atsiri berbahan baku keras seperti daun, batang dan akar di gunakan dengan destilasi uap (c). keberhasilan teknik ini sangat ditentukan oleh tekanan uap yang dihasilkan oleh *boiler*. Untuk optimasi hasil, biasanya bahan baku perlu dikeringkan untuk mengurangi kandungan air dan dihaluskan untuk mengeluarkan semua minyak atsiri dalam jaringan tanaman.



**Gambar 1.** Teknik isolasi minyak atsiri; (a) destilasi kukus (b) destilasi rebus (c) destilasi uap (Riyanto, 2017)

### II.2.3.1 Perlakuan bahan

#### 1. Tumbuk

Jahe segar yang sudah dipisahkan dari kotoran berupa tanah dan lainnya. Jika masih mengandung air atau basah dijemur atau dianginkan hingga kering. Ditubuk menggunakan dengan alu.

#### 2. Rajang

Jahe segar yang sudah dipisahkan dari kotoran, dirajang tipis melintang memotong jaringan serat jahe emprit. Dikumpulkan dalam wadah yang sudah disiapkan.

#### 3. Parut

Jahe segar yang sudah disiapkan dari kotoran diparut dengan parutan kelapa hingga jahe emprit habis terparut.

### II.2.3.2 Isolasi minyak atsiri empon-empon

#### Destilasi air atau rebus

Bahan baku yang telah disiapkan dimasukkan kedalam distilator dan tambahkan air. Merangkai distilator hingga siap untuk digunakan. Selajutnya panaskan ketel dengan api untuk memulai dengan waktu 5-6 jam.

Destilat yang di hasilkan ditampung dalam separator, akan terbentuk dua lapisan yakni air dan minyak. Pisahkan dengan corong pisah, minyak yang diperoleh ditambahkan Natrium sulfat anhydrous, untuk memurnikan dari air yang masih terikut, kemudian minyak didekantir dan disimpan dalam botol kaca.

#### Destilasi kukus

Bahan baku yang telah disimpan dimasukkan kedalam desikator dan tambahkan air. Rangkai distilator hingga siap untuk digunakan. Panaskan ketel denga api untuk memulai proses dengan waktu 5-6 jam. Pada jam ke 2 ditambahkan air panas untuk menambah air yang ada dalam ketel.

Distilat yang dihasilkan ditampung dalam separator. Akan terbentuk dua lapisan yakni air dan minyak. Pisahkan dengan corong pisah, minyak yang diperoleh ditambahkan Natrium sulfat anhydrous, untuk memurnikan dari air yang masih terikut, kemudian minyak didekantir dan disimpan dalam botol kaca.

## Distilasi uap

Bahan baku yang telah disiapkan dimasukan kedalam distilator dan panaskan *boiler* untuk mempersiapkan uap panas yang akan digunakan untuk menyuling. Api dijaga agar tekanan konstan agar tekanan uap yang dihasilkan juga setabil. Saat tekanan yang kita inginkan telah tercapai, maka kran dibuka sedikit-demi sedikit untuk mengalirkan uap panas kedalam ketel bahan baku.

Distilat yang dihasilkan ditampung dalam separator akan terbentuk dua lapisan yakni air dan minyak. Pisahkan dengan corong pisah, minyak yang diperoleh ditambahkan Natrium sulfat anhydrous, untuk memurnikan dari air yang masih terikut, kemudian minyak didekantir dan disimpan dalam botol kaca (Riyanto, 2017).

### II.2.4 Enkapsulasi

Enkapsulasi didefinisikan sebagai suatu proses dimana lapis salut tipis polimer dideposisi di sekeliling bahan padat atau pada tetesan cairan (*mikrosfer*) yang terbentuk, berukuran beberapa nanometer sampai beberapa ribu nanometer istilah nano-mikrokapsul merupakan terminologi yang digunakan untuk hasil nano-mikroenkapsulasi. Nano-mikrokapsul terdiri dari inti, atau sering disebut nukleus atau isi dan dinding luar yang disebut kulit. Cangkang atau lapis tipis (*film*) pelindung nano-mikrokapsul dapat mengandung inti cair atau padat bahkan gas. Oleh karena itu, zat yang bersifat hidrofil atau hidrofob dapat diisikan ke dalam nano-mikrokapsul. Proses nano-mikroenkapsulasi dengan cara koaservasi pemisahan fasa telah dikembangkan sejak awal tahun 1940-an oleh B. K. Green di Perusahaan *National Cash Register Co* (NCR), Amerika Serikat. Salah satu produk komersial nano-mikroenkapsulasi yang berhasil di pasaran ialah kertas tulis tanpa (kertas) karbon (misalnya pada tiket pesawat terbang).

Pada bidang farmasi, nano-mikroenkapsulasi dapat dimanfaatkan untuk tujuan:

1. Perubahan bentuk cairan menjadi bentuk padat
2. Perubahan koloid dan sifat permukaan
3. Perlindungan terhadap pengaruh lingkungan
4. Pengontrolan pelepasan obat atau ketersediaan hayati zat yang disalut
5. Pencegahan terjadinya reaksi antara zat-zat yang tidak tercampur
6. Pengamanan terhadap zat yang beracun dan merusak

#### 7. Penutupan rasa dan bau yang tidak enak.

Teknologi nano-mikroenkapsulasi telah digunakan secara luas di berbagai industri, termasuk industri farmasi. Dalam 40 tahun terakhir cukup banyak produk farmasi yang menggunakan teknologi nano-mikroenkapsulasi. Industri farmasi memanfaatkan nano-mikroenkapsulasi untuk mengatasi masalah formulasi dan sistem penghantaran pada bentuk sediaan farmasi, seperti kapsul, tablet, serbuk, sediaan topikal, dan injeksi. Selain dari industri farmasi, teknologi nano-mikroenkapsulasi telah dimanfaatkan pula secara luas di industri makanan, kosmetika, hortikultura, cat, percetakan, fotografi, komputer, pupuk, adhesif, pembersih, dan industri "*aerospace*".

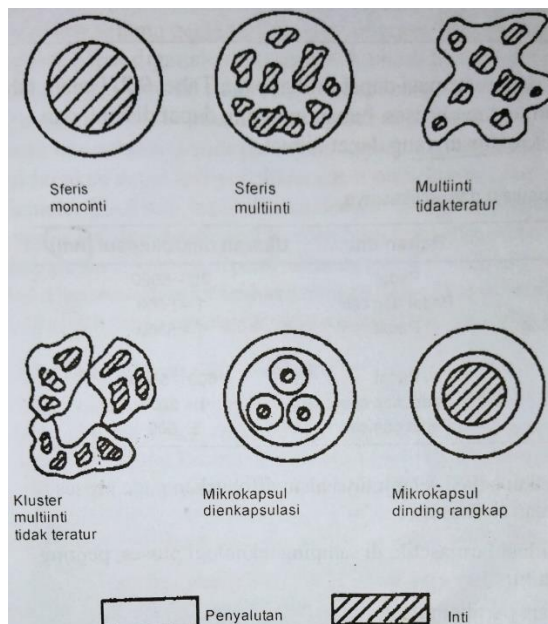
Walaupun sudah dikembangkan sejak puluhan tahun lalu, proses nano-mikroenkapsulasi masih memiliki banyak masalah yang harus dipecahkan. Masalah yang sering dihadapi antara lain adalah deposisi lapis salut yang tidak sempurna atau tidak rata, pengelompokan (semacam aglomerasi) mikrokapsul, pelepasan zat inti yang tidak memuaskan atau tidak reproduksibel dan masalah peningkatan skala produksi.

Setiap produk nano-mikroenkapsulasi membutuhkan desain pendekatan secara individual, dan belum ada cara yang sesuai dan dapat digunakan untuk semua teknologi nano-mikroenkapsulasi.

Masalah potensial lain dalam teknologi mikroenkapsulasi di industri farmasi adalah masalah lapis penyalut yang tidak diabsorpsi dan selama bahan polimer tersebut tidak bereaksi dengan permukaan tubuh yang berkontak, polimer dapat digunakan secara aman. Akan tetapi, pada produk yang dalam absorpsi internalnya akan menunjukkan kontraindikasi, polimer tersebut tidak dapat digunakan. Oleh sebab itu, sifat biodegradabilitas polimer merupakan salah satu pertimbangan yang perlu diperhatikan untuk sediaan nano-mikrokapsul farmasetik.

Bentuk nano-mikrokapsul dapat berupa globular atau sferoidal, seperti ginjal, butir padi, flokul, dan masif. Dinding dapat berupa lapisan dinding satu lapis atau beberapa lapis. Nano-mikrokapsul dapat mengandung satu atau lebih inti. Inti sebagai zat yang disalut dapat berupa bahan padat atau cair. Komposisi inti dapat bervariasi, misalnya beberapa zat padat tunggal atau campuran zat aktif, penstabil, pengencer, dan zat tambahan atau pemercepat pelepasan zat aktif. Zat cair dapat berupa zat terlarut atau zat

terdispersi. Variasi inti dan komposisinya memberikan fleksibilitas dan kegunaan yang akan memengaruhi desain dan pengembangan sediaan nano-mikrokapsul **Gambar 2**.



**Gambar 2.** Beberapa struktur nano-mikrokapsul (Agoes, 2010)

#### II.2.4.1 Proses pembuatan nano-mikrokapsulasi

Metode nano-mikrokapsulasi dibagi dua yaitu proses kimia dan fisika. Proses kimia diantaranya: koaservasi kompleks, inkompabilitas polimer-polimer, polimerisasi antarmuka dalam media cair, polimerisasi insitu, pengeringan dalam cairan, gelasi termal dan ionik dalam media cair dan desolvasi dalam media cair (Hadidi *et al.*, 2020) (Pellicer *et al.*, 2019). Proses fisika: semprot kering (*spray-drying*), semprot beku (*freeze-drying*), fluidisasi unggun, deposisi elektrostatis, ekstruksi sentrifugal, disket spin atau pemisahan suspensi rasional (Chenni *et al.*, 2020) (Djiuardi *et al.*, 2018). Proses mekanik melibatkan reaksi kimia, sedangkan proses kimia yang sepenuhnya bergantung pada fenomena fisika (Agoe, 2010) (Yang *et al.*, 2018).

#### II.2.4.2 Hal yang harus diperhatikan

Dalam proses nano-mikrokapsulasi, disamping teknologi proses, penting sekali diperhatikan 3 hal, yaitu:

1. Karakteristik dari partikel inti
2. Seleksi formulasi bahan penyalut



### 3. Peralatan serta prosedur penyalutan

#### II.2.4.3 Bahan pelapis pada nano-mikroenkapsulasi

Di antara material yang dapat digunakan untuk proses nano-mikroenkapsulasi dapat dikelompokkan sebagai berikut:

1. Polimer larut air, yang terdiri dari senyawa polisakarida dan nanopolisakarida
2. Polimer larut dalam pelarut organik
3. Dispersi letik atau pseudoletik
4. Senyawa nanopolimer (Agoes, 2010)

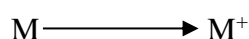
#### II.2.5 Gas Chromatography - Mass Spectrometry (GC-MS)

*Gas Chromatography - Mass Spectrometry* (GC-MS) adalah dua metode analisis yang dihubungkan untuk dikombinasikan menjadi metode analisa campuran suatu senyawa kimia, dengan menggabungkan dua metode ini, maka dapat diketahui senyawa apa saja yang terkandung dalam suatu campuran, baik secara kualitatif atau kuantitatif.

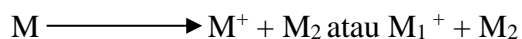
Kromatografi gas berfungsi sebagai alat pemisah sebagai komponen campuran dalam sampel, sedangkan *spektrofotometer massa* berfungsi untuk mendeteksi masing-masing komponen yang telah dipisahkan pada sistem kromatografi gas. *Spektrofotometer massa* merupakan alat analisis yang mempunyai kemampuan aplikasi yang paling luas, yang dapat dipergunakan untuk memperoleh informasi mengenai komposisi sampel dasar dari suatu bahan, struktur dari molekul anorganik, organik dan biologi, komposisi kualitatif dan kuantitatif dari kompleks, struktur dan komposisi dari permukaan padat dan perbandingan isotropik atom-atom didalam sampel (Yoviani, 2017).

##### II.2.5.1 Prinsip dasar GC-MS

Metode *spektroskopi massa* didasarkan pada perubahan komponen cuplikan menjadi ion-ion gas dan memisahkannya berdasarkan perbandingan massa terhadap muatan ( $m/z$ ). Bila suatu molekul berbentuk gas disinari oleh elektron berenergi tinggi didalam sistem hampa akan terjadi ionisasi, ion molekul akan terbentuk dan ion molekul yang tidak stabil pecah menjadi ion ion yang lebih kecil. Lepasnya elektron dari molekul menghasilkan radikal kation dan proses ini dapat dinyatakan sebagai berikut:



Ion molekul  $M^+$  biasanya terurai kembali menjadi sepasang pecahan atau fragmen yang dapat berupa radikal dan ion atau molekul yang lebih kecil dan radikal kation.



Dari kromatogram GC-MS akan diperoleh informasi jumlah senyawa yang terdeteksi dan dari spektra GC-MS akan diperoleh informasi struktur senyawa yang terdeteksi. Dalam kromatografi gas, fasa gerak adalah gas pembawa, biasanya suatu gas inert seperti helium atau gas yang tidak rekatif seperti nitrogen. Fasa gerak membawa sampel melalui fasa diam yang ditempatkan pada suatu kolom. Sampel dalam fasa gerak berinteraksi dengan fasa diam dan kecepatan yang berbeda-beda. Saat terjadi interaksi, yang tercepat berinteraksi akan keluar dari kolo lebih dulu, sedangkan yang lambat akan keluar paling akhir.

Detektor akan memberikan sinyal yang kemudian ditampilkan dalam komputer sebagai kromatogram. Pada kromatogram sumbu  $x$  menunjukkan waktu retensi,  $R_t$  (*Retention time*, waktu saat sampel diinjeksikan sampai elusi berakhir), sedangkan sumbu  $y$  menunjukkan intensitas sinyal. Dalam detektor selain memberikan sinyal sebagai kromatogram, komponen yang telah terpisah akan ditembak oleh elektron sehingga akan terpecah menjadi *fragmen fragmen* dengan perbandingan massa dan muatan tertentu ( $m/z$ ). *Fragmen-fragmen* dengan  $m/z$  ditampilkan komputer sebagai spektra massa, dimana sumbu  $x$  menunjukkan perbandingan  $m/z$  sedangkan sumbu  $y$  menunjukkan intensitas. Dari spektra tersebut dapat diketahui struktur senyawa dengan cara membandingkannya dengan spectra massa senyawa standard dari literature. Pendekatan pustaka terhadap spektra massa dapat digunakan untuk identifikasi bila indeks kemiripan atau *Similarity Indeks* ( $SI \geq 80\%$ ) (Yoviani, 2017).

### II.2.5 Scanning Electron Microscope (SEM)

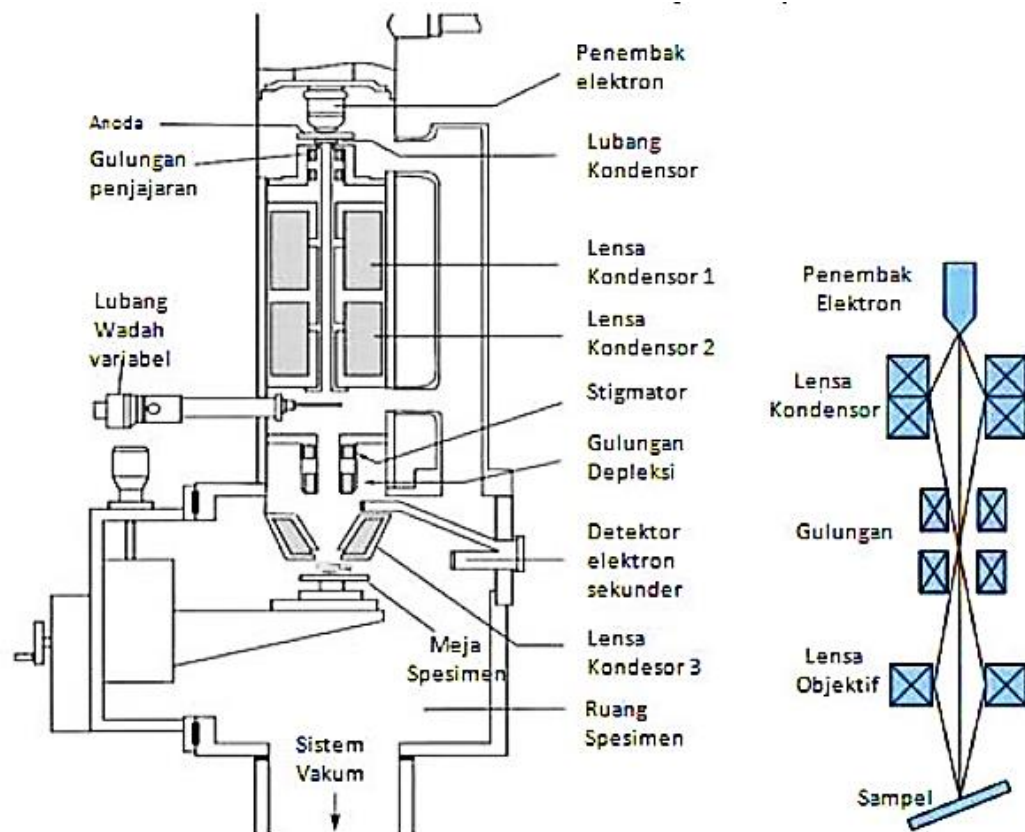
*Scanning Electron Microscope* (SEM) adalah jenis mikroskop elektron yang berfungsi untuk mengetahui permukaan morfologi suatu sampel uji mikro dari suatu material. Pemindaian yang dilakukan menggunakan SEM menggunakan pancaran tinggi elektron (Rajaratnam, 2006), elektron yang berinteraksi dengan atom yang membentuk sampel menghasilkan sinyal yang berisi informasi tentang sampel dari permukaan (topografi), komposisi dan sifat lainnya seperti daya konduksi listrik.

Hasil karakterisasi SEM berupa pencitraan topografi material yang memiliki perbedaan bentuk dan warna. SEM dengan mikroskop optik dapat digunakan untuk mempelajari tekstur, topografi dan sifat permukaan bubuk atau padatan karena ketajaman fokus dari alat SEM yang menghasilkan gambar dengan kualitas tiga dimensi yang pasti (West, 1999). Prinsip kerja dari SEM yaitu dengan menembakkan sampel dengan suatu sinar elektron berenergi tinggi yang berasal dari *electron gun*, biasanya dengan energi 1-20 keV, secara kontinu yang dipercepat di dalam kumparan elektromagnetik yang dihubungkan dengan tabung sinar katoda. Deteksi elektron yang dihamburkan oleh sampel memberikan informasi mengenai keadaan permukaan suatu sampel senyawa. Sinar elektron yang ditembakkan melewati 36 sampel dan kemudian mendeteksi "*secondary electron*" dan *backscattered electron* yang dikeluarkan.

*Secondary electron* berasal dari 5-15 nm dari permukaan sampel dan memberikan informasi berupa topografi dan untuk tingkat yang kurang, pada variasi unsur dalam sampel. *Backscattered electron* yang terlepas dari daerah sampel yang lebih dalam menghasilkan informasi terutama pada jumlah atom rata-rata dari sampel.

*Backscattered electron* yang dipantulkan dari sampel dideteksi dan dikuatkan oleh tabung multiplier untuk ditransmisikan ke scanner lalu ke TV, sehingga bentuk dan ukuran sampel terlihat dalam bentuk sinaran (*imaging beam*).

Untuk itu SEM pasti dilengkapi dengan alat khusus untuk melihat kandungan unsur pada suatu material yaitu *Energy Dispersive X-Ray* (EDX) merupakan alat yang digunakan untuk mengetahui komposisi elemen-elemen pada sampel yang dianalisis. Detektor dalam SEM berguna untuk mendeteksi elektron yang dipantulkan dan menentukan lokasi berkas. Lokasi permukaan benda yang ditembakki berkas kemudian di scan ke seluruh area pengamatan (Abdullah & Khairurrijal, 2009)



**Gambar 3.** *Scanning Electron Microscope (SEM)* (Abdullah & Khairurrijal, 2009)

Pada permukaan spesimen dapat dilakukan dengan menganalisis komposisi unsur dengan menangkap dan mengolah sinyal dari fluoresensi sinar-X yang dikeluarkan oleh suatu volume kecil dari permukaan spesimen. Teknik yang dipakai adalah *Energy Dispersive X Ray* (EDX atau EDS) yang menghasilkan kandungan unsur secara kualitatif maupun kuantitatif pada suatu daerah kecil dari permukaan spesimen. SEM yang dilengkapi dengan EDX dapat digunakan untuk mengidentifikasi unsur-unsur yang dimiliki oleh fasa yang terlihat pada suatu gambar mikrostruktur serta menginformasikan jumlah / proporsi dari tiap-tiap jenis mineral atau unsur yang diperoleh tersebut (Abdullah & Khairurrijal, 2009).

## II.2.6 Particle Size Analyzer (PSA)

Ukuran partikel dapat dianalisis menggunakan PSA, dimana menggunakan teknik *Dyanmic light scattering*. Teori *Dynamic light scattering* teknik yang dipakai untuk mengukur ukuran partikel dengan rentang beberapa nanometer sampai beberapa mikron. Penggunaan ide konsepnya adalah bahwa partikel kecil dalam suspensi bergerak dengan pola secara acak.

Ahli mikrobiologis dengan nama *Brown* yang pertama menemukan efek ini, dimana pengamatan objek melalui organisme hidup melalui *light microscopy* pergerakan partikel kecil dalam fluida dinamakan gerak brownian, dan dapat mudah diamati untuk partikel dengan ukuran kira-kira 0,5 - 1 mikron dengan mikroskop pada perbesaran 200-400 kali. Pengamatan partikel besar dibanding partikel kecil, menunjukkan bahwa partikel besar bergerak lebih lambat dibanding partikel kecil pada temperatur yang sama. Mengacu kepada pengembangan *Einsten* dalam teori molekular kinetiknya, bahwa molekul banyak yang kecil dari partikel dapat memberi perubahan arah partikel dan kecepatan kombinasi efek ini diamati seperti pergerakan acak partikel keseluruhan.

Ketika sumber mempunyai frekuensi yang diketahui diarahkan pada partikel yang bergerak, maka sinar menyebar, tetapi pada frekuensi yang berbeda. Perubahan itu dinamakan *Doppler shift* atau *broadening* (perluasan) dan konsepnya sama untuk sinar ketika berinteraksi dengan partikel kecil yang bergerak untuk tujuan pengukuran partikel, perubahan dalam frekuensi cahaya dihubungkan terhadap ukuran partikel yang menyebabkan perubahan pengarahannya pada kecepatan rata-rata partikel, partikel kecil menyebabkan perubahan yang besar pada frekuensi cahaya daripada partikel besar. Perbedaan dalam frekuensi dari sebaran cahaya terhadap ukuran partikel yang berbeda digunakan untuk menentukan ukuran dari partikel yang diukur.

Alat DLS yang digunakan dalam pembelajaran ini terdiri dari tiga komponen sebuah laser dari spectra secara fisika memancarkan panjang gelombang 514 nm dari argon. Sebuah goinometer dari *Brookhaven* menjaga sebaran yang ada antara insiden sinar laser dan partikel dengan ukuran nano, dimana keduanya ditempatkan kedalam bath. Akhirnya, detektor dari *Brookhaven* mendeteksi sebaran sinar dalam 90 derajat dari insiden sinar ketika sudut antara goinometer dan detektor tepat 90 derajat.

## II.2.7 Antibakteri

Bakteriologi adalah ilmu yang mempelajari tentang perikehidupan bakteri. Bakteri merupakan makhluk hidup mikroskopis bersel tunggal (uniseluler). Bakteriologi merupakan bagian dari mikrobiologi. Mikrobiologi merupakan ilmu yang mempelajari perikehidupan makhluk-makhluk hidup yang berukuran mikroskopis (mikroorganisme).

Mikrobiologi mengkaji selain bakteri, juga mengkaji tentang virus, fungi, protozoa, dan alga. Bakteri merupakan organisme yang memiliki dinding sel. Oleh karena itu, jika dikaji dari struktur selnya (kandungan dinding sel), maka bakteri dikelompokkan ke dalam tumbuhan. Jika dikaji dari kemampuan beberapa sel bakteri yang bergerak pindah tempat, maka bakteri dikelompokkan ke dalam hewan. Namun demikian, dalam klasifikasi makhluk hidup dengan sistem 5 dunia menurut *Whittaker* pada tahun 1969, bakteri dikelompokkan ke dalam dunia monera (Tanah, 2015).

### II.2.7.1 Keuntungan dan kerugian bakteri

Beberapa bakteri dapat menguntungkan dan ada juga beberapa bakteri yang merugikan bagi makhluk hidup lain. Bakteri yang menguntungkan, dapat dipergunakan untuk mensejahterakan kehidupan makhluk hidup lain. Dalam bidang pangan, misalnya bakteri dipergunakan dalam industri makanan (misalnya pembuatan *nata de coco*). Bakteri juga berperan dalam bidang kesehatan, yaitu sebagai pengurai sisa-sisa pencernaan makanan di usus besar manusia, agar feces lebih mudah dikeluarkan ke luar tubuh. Dalam bidang lingkungan, bakteri dapat berperan sebagai pengurai berbagai senyawa organik yang berada di lingkungan, sehingga memperlancar siklus materi dan energi. Ada juga beberapa bakteri yang dapat dipergunakan dalam bioteknologi bakteri, misalnya dalam memproduksi insulin rekombinan pada bakteri.

Selain peranan beberapa bakteri yang menguntungkan, ada beberapa bakteri yang merugikan bagi makhluk hidup lain. Ada beberapa bakteri yang tergolong ke dalam bakteri patogen, yaitu bakteri yang dapat menimbulkan penyakit pada manusia dan hewan. Berbagai macam penyakit infeksi pada manusia disebabkan oleh bakteri, baik bakteri Gram positif maupun bakteri Gram negatif, dan baik bakteri yang berbentuk kokus, basil, maupun spiral. Beberapa bakteri dapat merusak bahan pangan, sehingga masa simpan bahan pangan tersebut menjadi tidak lama.

### II.2.7.2 Morfologi bakteri

Menurut Hastuti (2012) bahwa pengukuran yang tepat terhadap sel bakteri dapat dilakukan dengan menggunakan mikrometer okuler. Namun demikian, sebelum digunakan mikrometer okuler harus ditera lebih dahulu harga skalanya dengan memakai mikrometer objektif yang telah memiliki harga skala yang pasti. Ukuran sel bakteri, umumnya dinyatakan dalam satuan mikrometer ( $\mu\text{m}$ ). Sel bakteri umumnya mempunyai ukuran 0,5 - 1,0  $\mu\text{m}$  kali 2,0 - 5,0  $\mu\text{m}$ . Tortora, *et al.* (2010) mengatakan bahwa rentang ukuran diameter sel bakteri adalah 0,2 - 2,0  $\mu\text{m}$ , dan panjang selnya berkisar antara 2 - 8  $\mu\text{m}$ . Terkait dengan ukuran sel bakteri patogenik, Spesies bakteri patogenik memiliki ukuran antara 0,4 - 2  $\mu\text{m}$ , dan nampak di bawah mikroskop cahaya dan mikroskop elektron. Bila dibandingkan dengan partikel virus, sel bakteri mempunyai ukuran lebih besar.

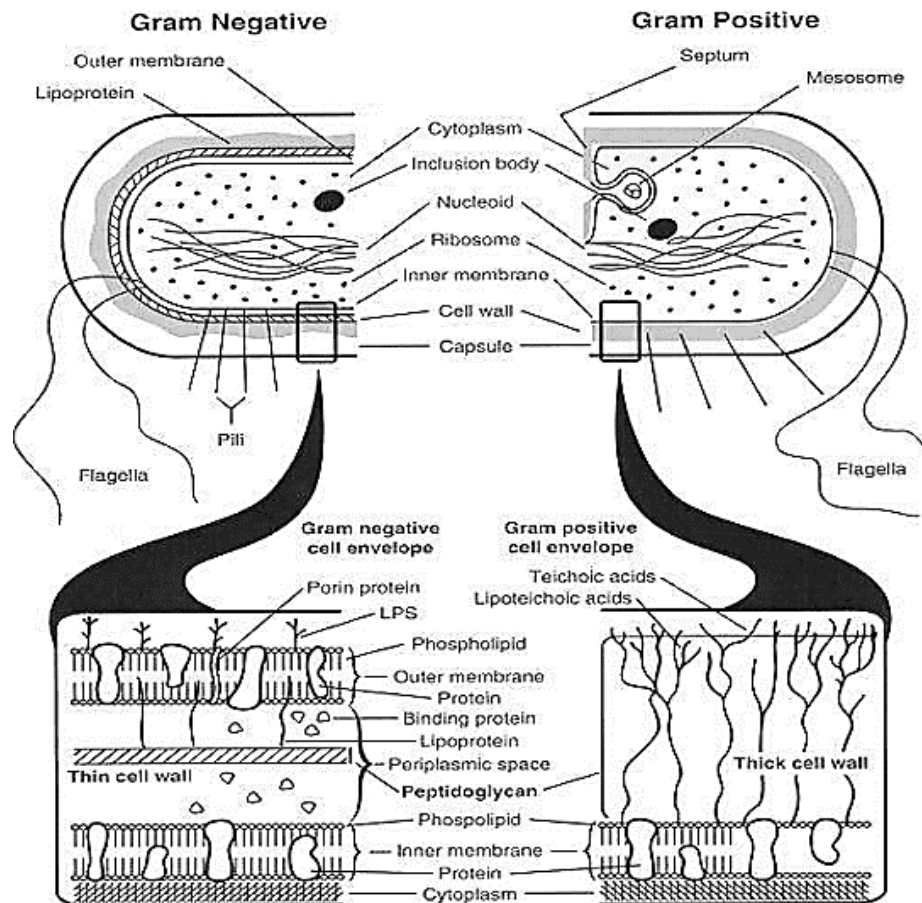
Terkait dengan bentuk sel bakteri, terdapat tiga bentuk dasar, yaitu:

1. Sel bakteri berbentuk bola atau kokus, jamak = koki (*Coccus*). Berdasarkan atas pengelompokkan selnya, bentuk kokus ini kemudian dikelompokkan menjadi.
  - a. *Dilokokus*, yaitu penataan sel bakteri *kokus* dalam kelompok dua-dua sel.
  - b. *Streptokokus*, yaitu rangkaian sel bakteri *kokus* membentuk rantai panjang atau pendek.
  - c. *Tertrad*, yaitu penataan sel bakteri *kokus* dalam kelompok empat-empat sel, membentuk persegi empat.
  - d. *Stafilokokus*, yaitu kumpulan sel-sel bakteri *kokus* yang tidak beraturan (bergerombol) membentuk seperti penataan buah anggur.
  - e. *Sarcina*, yaitu kumpulan sel-sel bakteri *kokus* membentuk kubus, yang terdiri dari delapan sel atau lebih.
2. Sel bakteri berbentuk batang atau basil (*Bacillus*). Bentuk bakteri basil, akan membentuk beberapa macam pengelompokkan selnya, yaitu:
  - a. *Diplobasil*, yaitu penataan sel bakteri basil yang berkelompok dua-dua sel, atau berpasangan (dua-dua sel).
  - b. *Streptobasil*, yaitu penataan sel bakteri basil yang membentuk rantai.
3. Sel bakteri berbentuk spiral, tunggal = spirillum, jamak = spirilia. Bakteri yang berbentuk spiral, tidak membentuk pengelompokkan atau saling menempelkan dinding selnya dengan dinding sel bakteri lain. Bakteri spiral selalu berada secara

terpisah-pisah (tunggal). Masing-masing spesies berbeda dalam panjang sel, serta ketegaran dinding selnya. Bakteri yang ukurannya pendek dengan spiral yang tidak lengkap, dikelompokkan ke dalam bakteri berbentuk koma atau vibrio.

### II.2.7.3 Dinding sel bakteri

Komponen dan ketebalan lapisan-lapisan pada dinding sel untuk bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif berbeda. Ada perbedaan lain selain sifat dinding sel antara sel bakteri Gram positif dengan sel bakteri Gram negatif. Perbandingan dinding sel bakteri Gram positif dengan bakteri Gram negatif, ditunjukkan pada **Gambar 4**.



**Gambar 4.** Perbandingan struktur dinding sel bakteri Gram positif dengan sel bakteri Gram negatif (Tanah, 2015)



Perbedaan ciri sel bakteri Gram positif dan sel bakteri Gram negatif dapat dilihat pada **Tabel 5**.

**Tabel 5.** Perbedaan ciri sel bakteri Gram negatif dan Gram positif

No	Aspek perbedaan	Sel bakteri Gram positif	Sel bakteri Gram negatif
1	Struktur dinding sel	Tebal (15 - 80 nm) Berlapis tunggal Kandungan lipid rendah (1 - 4%)	Tipis (10 - 15 nm) Berlapis tiga Kandungan lipid tinggi (11 - 22%)
2	Komposisi dinding sel	Peptidoglikan sebagai lapisan tunggal. Komposisi utama merupakan lebih dari 50% berat kering sel bakteri.	Peptidoglikan sebagai lapisan kaku sebelah dalam. Jumlahnya sedikit, 10% berat kering sel bakteri.
3	Kerentanan terhadap penisilin	Ada asam teikoat Lebih rentan	Tidak ada asam teikoat Kurang rentan
4	Pertumbuhan dihambat oleh zat warna dasar, misalnya ungu kristal	Dihambat dengan nyata	Tidak dihambat dengan nyata
5	Persyaratan nutrisi	Lebih rumit	Kurang rumit
6	Gangguan fisik	Lebih resisten (kurang rentan)	Kurang resisten (lebih rentan)

#### II.2.7.4 Bakteri *Klebsiella pneumoniae*

Bakteri *Klebsiella pneumoniae* merupakan bakteri Gram negatif (-), berbentuk batang pendek, memiliki ukuran  $0,5-0,5 \times 1,2 \mu$ . Bakteri ini memiliki kapsul berspora. *Klebsiella pneumoniae* tidak mampu bergerak karena tidak memiliki flagel tetapi mampu memfermentasikan karbohidrat membentuk asam dan gas. Klasifikasi Bakteri *Klebsiella pneumoniae*, yaitu:

Spesies	: <i>K. pneumoniae</i>
Keluarga	: <i>Enterobacteriaceae</i>
Ordo	: <i>Enterobacterales</i>
Kelas	: <i>Gammaproteobacteria</i>
Filum	: <i>Pseudomonadota</i>
Genus	: <i>Klebsiella</i>
Domain	: Bakteri

Bakteri *Klebsiella pneumoniae* ditemukan sebagai penyebab terbanyak ISPB diikuti oleh *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Bakteri *Klebsiella pneumoniae* merupakan bakteri yang menghasilkan enzim *Extended Spectrum  $\beta$ -Lactamase* (ESBL) (Rakhashiya *et al.*, 2016).

*Klebsiella pneumoniae* dapat menyebabkan pneumonia. Pneumonia adalah proses infeksi akut yang mengenai jaringan paru-paru (*alveoli*). *Klebsiella pneumoniae* umumnya menyerang orang dengan kekebalan tubuh lemah, seperti alkoholis, orang dengan penyakit diabetes, dan orang dengan penyakit kronik paru-paru. Biasanya penyakit pneumonia memiliki penyebab dan gejala penyakit.

Pneumonia adalah peradangan paru-paru yang disebabkan oleh infeksi. Pneumonia bisa menimbulkan gejala yang ringan hingga berat. Beberapa gejala umumnya dialami penderita pneumonia adalah batuk berdahak, demam, dan sesak napas. Pneumonia juga dikenal dengan istilah paru-paru basah. Bakteri apa yang menyebabkan penyakit pneumonia adalah saat bakteri melewati mekanisme pertahanan tubuh, masuk ke dalam paru-paru, dan menyebabkan radang. Beberapa bakteri yang dapat menyebabkan pneumonia, meliputi *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus sp.*, *Mycoplasma sp.*, *Staphylococcus sp.*, *Haemophilus sp.*, dan *Legionella sp.* Penyakit pneumonia apakah berbahaya.

Berbagai penyebab yang membuat paru-paru mengalami infeksi, mulai dari virus, bakteri, hingga jamur. Jika tidak diatasi dengan tepat, pneumonia dapat memicu komplikasi, seperti infeksi aliran darah, abses paru, hingga efusi pleura. Bagaimana penularan *Klebsiella pneumoniae* dapat terjadi.

Penularan *Klebsiella pneumoniae* dapat terjadi dikarenakan aspek ekologi tertentu seperti tanah, air limbah, hewan, dan produk makanan yang dipengaruhi oleh bakteri *Klebsiella pneumoniae*. Sumber penularan pada manusia adalah karena kontak erat dengan darah, air liur, feses dan urine dari hewan pembawa isolat ESBL atau konsumsi air yang terkontaminasi atau produk makanan.

### II.2.7.5 Bakteri *Micrococul luteus*

Bakteri *Micrococcus luteus* adalah bakteri aerobik, Gram positif (+) yang memiliki diameter ukuran 0,5-3,5 m dan dalam kelompok tidak beraturan. Klasifikasi Bakteri *Micrococul luteus*, yaitu:

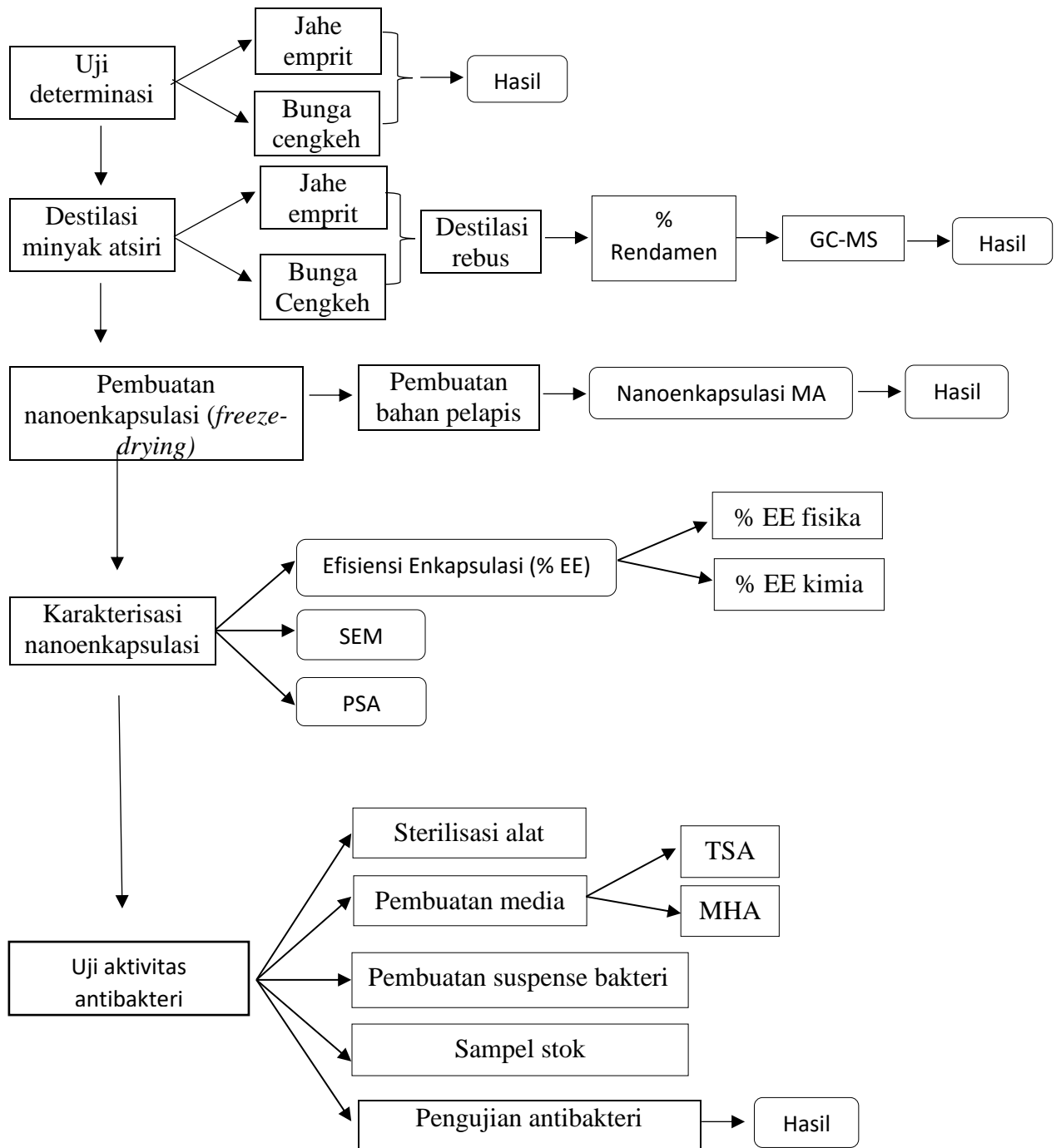
Spesies : *M. Luteus*  
 Keluarga : *Micrococcaceae*  
 Ordo : *Actinomycetales*  
 Filum : *Actinomycetota*  
 Genus : *Micrococcus*  
 Domain : Bakteri  
 Filum : *Actinomycetota*

*Micrococcus luteus* dapat bertindak sebagai patogen oportunistik. Ini telah dikaitkan dengan berbagai penyakit termasuk meningitis, artritis septik, endokarditis, infeksi kulit kronis pada pasien HIV-positif, infeksi kateter, dan infeksi paru (pneumonia). Cara penularannya adalah kontak langsung atau tidak langsung dengan tanah, air, udara, dan debu.

## II.3 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan hal-hal tersebut di atas, dapat dirumuskan hipotesis penelitian sebagai berikut:

1. Jika hasil formulasi nanoenkapsulasi bahan inti minyak atsiri jahe emprit, bunga cengkeh dan campuran kedua minyak atsiri menggunakan bahan pelapis maltodekstrin dan gum arab dengan metode *freeze-drying*, maka diperoleh formulasi nanoenkapsulasi yang tepat.
2. Jika hasil karakterisasi nilai % EE, morfologi, ukuran partikel nanoenkapsulasi bahan inti minyak atsiri jahe emprit, bunga cengkeh dan campuran kedua minyak atsiri, maka diperoleh hasil karakterisasi nilai nanoenkapsulasi yang baik.
3. Jika hasil formulasi nanoenkapsulasi bahan inti minyak atsiri jahe emprit, bunga cengkeh dan campuran kedua minyak atsiri mampu membunuh terhadap *Klebsiella pneumoniae* dan *Micrococcus luteus*, maka hasil formulasi nanoenkapsulasi dapat digunakan sebagai antibakteri.



**Gambar 5.** Prosedur penelitian

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### III.1 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: Minyak atsiri jahe emprit (*Zingiber officinale* Roscoe) dan Minyak atsiri bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L.) Meer. & L.M Perry) yang didapat di Pasar Pakem Yogyakarta, Natrium alginate (NA), Gliserol monostearate (GMS), Maltodekstrin (MD), Gum arab (GA), Kalsium Klorida ( $\text{CaCl}_2$ ), NaCl steril, *Tryptone Soya Agar* (TSA), *Mueller Hinton Agar* (MHA), *Amoxicilin* 500 mg, bakteri *Klebsiella pneumoniae*, bakteri *Micrococcus luteus*, Etanol 96%, N-Heksana dan Aquadest.

#### III.2 Peralatan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat destilasi rebus terdiri dari: Ketel bahan, Pipa penyulingan, Kondensor dan Separator. Seperangkat alat kimia, yaitu: Autoklaf, *micropipet* 100  $\mu$ , *hot plate*, Ultra-Turrax (IKA T25 digital), Inkubator (memmert) (IN 55), Laminar dan *Freeze dryer* (Christ Alpha 1-2 LDplus). Instrumen yang digunakan diantaranya: PSA (*Particle Size Analyzer*) (Horiba SZ-100), GC (*Gas Chromatography*) (Buck Scientific Model 910), GC-MS (*Gas Chromatography - Mass Spectrometry*) (Shimadzu) QP-2010 SE, SEM (*Scanning Electron-Microscopy*) (Phenom Desktop ProXL) dan *Interscience coloni counta* SCAN 500®, *vesion* 8.0.5.0 digunakan untuk mengukur diameter zona hambat antibakteri.

#### III.3 Prosedur Penelitian

Proses penelitian pembuatan enkapsulasi terdiri dari beberapa tahapan yaitu: tahapan pertama uji determinasi sampel, tahapan kedua destilasi minyak atsiri jahe emprit dan bunga cengkeh, tahap ketiga pembuatan nanoenkapsulasi dengan metode *freeze dryer*, tahapan keempat karakterisasi nilai % EE, morfologi, ukuran partikel nanoenkapsulasi dan kelima pengujian antibakteri.

### **III.3.1 Uji determinasi sampel**

Sampel rimpang jahe emprit dan bunga cengkeh yang didapatkan dari Pasar Pakem Yogyakarta dilakukan uji identifikasi yang dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT Unit I), Departemen Biologi Farmasi Fakultas Farmasi UGM.

### **III.3.2 Destilasi minyak atsiri**

Proses destilasi minyak atsiri jahe emprit (GEO) diperoleh dengan cara destilasi rebus. Proses yang dilakukan dengan cara, jahe emprit sebanyak 4 Kg dicuci, ditimbang sebanyak 2 Kg dimasukkan kedalam mesin penghancur dan dihancurkan. Sampel jahe emprit yang sudah menjadi bubur dimasukkan kedalam ketel bahan, ditambahkan 10 L air dan dilakukan proses destilasi rebus dengan nyala api sedang selama 2 jam (satu kali proses penyulingan).

Proses destilasi rebus berlangsung dimana uap minyak dan uap air didalam ketel bahan mengalir ke kondensator, berlanjut menuju separator. Hasil kondensasi terdiri dari campuran minyak dan air, kemudian dilakukan proses pemisahan minyak dan air dengan cara membuka kran tabung. Minyak atsiri jahe emprit dimasukkan kedalam gelas beker 100 mL, ditambahkan natrium sulfat anhidrat. Proses destilasi minyak atsiri jahe emprit dilakukan 2 kali penyulingan dikarenakan ketel bahan yang berukuran kecil. Minyak atsiri jahe (GEO) yang dihasilkan selanjutnya dikarakterisasi dan dianalisis menggunakan GC-MS.

Minyak atsiri bunga cengkeh (CEO) sebanyak 1,25 Kg dilakukan proses yang sama dengan GEO hanya saja tanpa dihancurkan kedalam mesin penghancur dan satu kali proses destilasi rebus selama 3 jam. Minyak bunga cengkeh (CEO) yang didapat selanjutnya dikarakterisasi dan dianalisis menggunakan GC-MS.

#### **III.3.2.1 karakterisasi minyak atsiri**

Karakterisasi minyak atsiri jahe emprit (GEO) berdasarkan SNI 06-2-1312-1998 untuk menentukan berat jenis (SNI, 1998), sedangkan untuk minyak atsiri bunga cengkeh (COE) berdasarkan SNI 06-4267-1996 untuk menentukan berat jenis dan % kandungan eugenol (SNI,1996). Selanjutnya dilakukan karakterisasi warna, bau, dan % rendamen

Berat jenis minyak atsiri dengan cara disiapkan piknometer kosong, ditimbang piknometer kosong, ditimbang piknometer berisi air dan ditimbang piknometer berisi minyak atsiri. Masing-masing perlakuan dilakukan tiga kali pengulangan, dicatat dan dilakukan perhitungan, yaitu:

$$\text{Berat jenis} = d \frac{25}{25} = \frac{(m_1 - m)}{(m_2 - m)} \dots \dots \dots (1)$$

**Keterangan:**

- m adalah massa piknometer kosong (g)
- m1 adalah massa piknometer berisi minyak atsiri pada suhu 25 °C (g)
- m2 adalah massa piknometer berisi air pada suhu 25 °C (g)

Perlakuan ini sesuai dengan SNI minyak atsiri jahe emprit dilakukan penimbangan pada suhu 25 °C (SNI, 1998). Minyak atsiri bunga cengkeh pada suhu 27,5 °C (SNI, 1996). Setelah berat jenis minyak diketahui maka dilanjutkan untuk menghitung % rendamen minyak atsiri.

Nilai % rendamen minyak atsiri dilakukan masing-masing minyak baik minyak atsiri jahe emprit dan bunga cengkeh, yaitu:

$$\% R = \frac{mh}{mb} \times 100\% \dots \dots \dots (2)$$

**Keterangan:**

- mh adalah massa hasil minyak atsiri (g)
- mb adalah massa bahan (g)

Menentukan warna minyak atsiri dilakukan dengan cara dimasukan minyak atsiri jahe emprit kedalam tabung reaksi satu dan minyak atsiri bunga cengkeh dimasukan kedalam tabung reaksi dua. Kedua minyak didalam tabung reaksi ditentukan warna minyaknya dengan menggunakan mata telanjang. Setelah karakterisasi warna dilanjutkan untuk karakterisasi bau masing-masing minyak atsiri. Minyak atsiri jahe emprit dan bunga cengkeh yang didalam tabung reaksi dikipas-kipas menggunakan tangan dan dicium dari bau tiap-tiap minyak atsiri.

### III.3.2.2 Analisis *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS)

GC-MS Shimadzu QP 2010 SE dilakukan optimasi terlebih dahulu, pengaturan optimasi dapat dilihat pada **Tabel 6**.

**Tabel 6.** Optimasi GC-MS

Parameter	Kondisi optimasi
Gas pembawa	<i>Helium</i> (Fase gerak)
Jenis detektor	<i>Flame ionization detector</i> (FID)
Suhu awal	60 °C
Kenaikan program	10 °C/min
Suhu akhir	200 °C
Pada suhu 200 °C ditahan	5 °C/min
Volume injeksi	0,1 µL

GC-MS sendiri terdiri dari dua bagian, bagian GC dan MS. GC sendiri terdiri dari tempat aliran gas atau *gas supply* (Helium) yang akan mengalir melalui *Gas Flow Controller* (GFC). Sampel diinjeksi sebanyak 0,1 µL melalui injector, dimana sampel akan masuk melalui injektor. Gas akan masuk dan mengalirkan sampel kedalam kolom, yang terbawa oleh gas alir helium.

Di dalam kolom akan terjadi proses pemisahan, senyawa masuk kedalam *interface* satu persatu, masuk ke *ion source* (tempat terjadinya ionisasi), maka molekul tadi menjadi ion molekul. Selanjutnya masuk ke *analyzer*, dideteksi oleh detektor, kemudian semuanya akan terhubung ke data *recorder* atau data sistem sehingga semua proses bisa dikendalikan dan hasil analisis juga bisa kita interpretasikan dari data sistem ini. Dilakukan analisis yang sama untuk sampel minyak atsiri bunga cengkeh.

### III.3.3 Pembuatan nanoenkapsulasi

Pembuatan nanoenkapsulasi yaitu menggunakan metode *freeze dryer* (Lischer *et al.*, 2019) (Akdeniz *et al.*, 2017). Pembuatan ini menggunakan kelompok bahan yaitu: bahan inti, bahan pelapis (kulit) dan bahan emulsi. Bahan inti menggunakan tiga formulasi: pertama: minyak atsiri jahe emprit (GEO), kedua: minyak atsiri bunga cengkeh (CEO) dan ketiga: campuran kedua minyak atsiri (GCEO). Bahan pelapis menggunakan maltodekstrin (MD) dan gum arab (GA). Bahan emulasi digunakan Natrium alginate (NA) dan gliserol monostearate (GMS) (Djuardi *et al.*, 2018). Proses pembuatan



nanoenkapsulasi sendiri memiliki formulasi bahan inti yang berbeda-beda.

Formulasi nanoenkapsulasi terdiri dari 12 formulasi, yaitu: 4 formulasi menggunakan bahan inti minyak atsiri jahe emprit (GEO), 4 formulasi minyak atsiri bunga cengkeh (CEO) dan 4 formulasi terakhir menggunakan campuran kedua minyak atsiri (GCEO). Formulasi ini memiliki perbandingan antara bahan inti dan bahan pelapis (1:2) (Lischer *et al.*, 2019) (Marquiafável *et al.*, 2015). Formulasi dapat dilihat pada **Tabel 7** untuk formulasi nanoenkapsulasi minyak atsiri jahe emprit, **Tabel 8** untuk formulasi nanoenkapsulasi bunga cengkeh dan **Tabel 9** untuk formulasi nanoenkapsulasi campuran kedua minyak atsiri.

**Tabel 7.** Formulasi nanoenkapsulasi minyak atsiri jahe emprit (GEO)

Formulasi	GEO:(MD:GA) 1:2			NA (g)	GMS (g)	CaCl <sub>2</sub> (g)	Aquades (g)
	GEO (g)	MD (g)	GA (g)				
GEO 1	2	2	2	0,5	0,125	1,25	ad 25
GEO 2	3	3	3	0,5	0,125	1,25	ad 25
GEO 3	4	4	4	0,5	0,125	1,25	ad 25
GEO 4	5	5	5	0,5	0,125	1,25	ad 25

**Tabel 8.** Formulasi nanoenkapsulasi minyak atsiri bunga cengkeh (CEO)

Formulasi	CEO:(MD:GA) 1:2			NA (g)	GMS (g)	CaCl <sub>2</sub> (g)	Aquades (g)
	CEO (g)	MD (g)	GA (g)				
CEO 1	2	2	2	0,5	0,125	1,25	ad 25
CEO 2	3	3	3	0,5	0,125	1,25	ad 25
CEO 3	4	4	4	0,5	0,125	1,25	ad 25
CEO 4	5	5	5	0,5	0,125	1,25	ad 25

**Tabel 9.** Formulasi nanoenkapsulasi campuran kedua minyak atsiri (GCEO)

Formulasi	GCEO:(MD:GA) 1:2			NA (g)	GMS (g)	CaCl <sub>2</sub> (g)	Aquades (g)
	GEO:CEO (g)	MD (g)	GA (g)				
GCEO 1	1:1	2	2	0,5	0,125	1,25	ad 25
GCEO 2	1:2	3	3	0,5	0,125	1,25	ad 25
GCEO 3	1,5:2,5	4	4	0,5	0,125	1,25	ad 25
GCEO 4	2:3	5	5	0,5	0,125	1,25	ad 25

**Keterangan:**

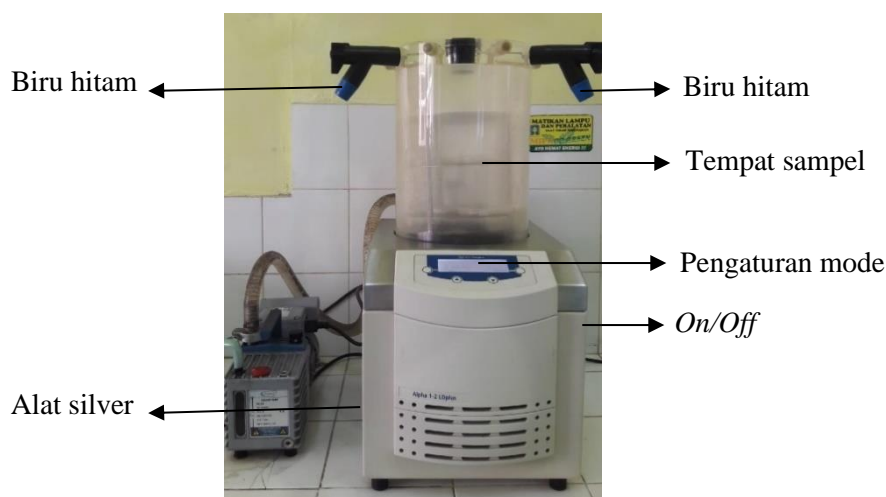
GEO	adalah minyak atsiri jahe emprit
CEO	adalah minyak atsiri bunga cengkeh
GCEO	adalah campuran minyak atsiri jahe emprit dan minyak atsiri bunga cengkeh
MD	adalah Maltodekstrin
GA	adalah Gum arab
NA	adalah Natrium alginate
GMS	adalah Gliserol monostearat
CaCl <sub>2</sub>	adalah Kalsium klorida
ad/adde	adalah tambahkan/sampai

Langkah awal pembuatan nanoenkapsulasi minyak atsiri adalah membuat bahan emulsi dengan cara: dimasukan natrium alginate 2% kedalam gelas kimia 50 mL, ditambahkan aquades ad 25 g, distirer pada suhu 70 °C sampai homogen. Selanjutnya didiamkan pada suhu 4 °C selama 24 jam. Kemudian larutan natrium alginat dihomogenisasi dengan Ultra-Turrax dengan densitas putaran 12.000 rpm selama 5 menit sampai homogen, ditambahkan pengemulsi gliserol monostearat 0,5%, diUltra-Turrax dengan putaran 12.000 rpm selama 10 menit sampai homogen, ditambahkan kalsium klorida 5%, diUltra-Turrax dengan putaran 12.000 rpm selama 10 menit sampai homogen. Ditambahkan dengan bahan pelapis nanoenkapsulasi yaitu maltodekstrin dan gum arab (MD:GA) (sesuai tabel formulasi), dengan cara ditimbang dan dimasukan Maltodekstrin, diUltra-Turrax dengan putaran 5.000 rpm selama 10 menit sampai homogen. Selanjutnya ditambahkan gum arab, diUltra-Turrax dengan putaran 5.000 rpm selama 5 menit sampai homogen. Ditambahkan dengan bahan inti sesuai dengan formulasi, baik itu minyak atsiri jahe emprit, bunga cengkeh dan campuran kedua minyak atsiri. Setelah ditambahkan bahan inti, diUltra-Turrax dengan putaran 10.000 rpm selama 10 menit sampai minyak terenkapsulasi oleh bahan pelapis.

Emulsi nanoenkapsulasi yang sudah homogen dipindahkan kedalam petri dish, diberi label, diberi plastik *wrap* dan dimasukan kedalam *freezer* selama 24 jam, di*freeze dryer* dengan cara: putar alat silver kedalam untuk dipakai dan keluar setelah dipakai (untuk mengeluarkan udara, agar kondisi tidak vakum), masukan sampel kedalam alat sesuai kandungan bahan inti minyak atsiri, putar bagian biru hitam dalam keadaan lurus

kebawah atau vertikal (keadaan vakum), dihidupkan tombol *power*, tekan *mode*, pilih *warm up*, ditunggu selama 20 menit dan setelah alarem bunyi tekan *Yes*, ditekan menu, pilih *main drying*, untuk menseting waktu, *set shange volue* diisi waktunya (jam), tekan exit. Set selama 5 jam dengan suhu  $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$  dan vakum 0,12 mbar (Lischer *et al.*, 2019) (Afriani *et al.*, 2015). Ditunggu proses sedang berjalan, jika proses sudah selesai pilih posisi *standby* dan matikan alat. Pastikan tidak dalam keadaan vakum dengan cara putar bagian bitu hitam ke samping atau horizontal (tidak dalam keadaan vakum). Kemudian dibuka tabung dan diambil sampel. Gambar alat *freeze dryer* pada **Gambar 6**. Setelah 12 formulasi nanoenkapsulasi sudah selesai, dibuat kontrol negatif. Kontrol negatif dibuat dengan perlakuan yang sama hanya saja tanya bahan inti. Kemudian 12 sampel nanoenkapsulasi dilakukan *screening product*.

*Screening product* adalah adalah penyeleksian secara fisika baik itu berdasarkan keadaan, warna dan bau setiap formulasi naoenkapsulasi. Formulasi nanoenkapsulasi yang akan lanjut ke tahapan berikutnya adalah nanoenkapsulasi dengan keadaan cukup kering sampai dengan sangat kering. Setelah hasil *screening product* selesai dilanjutkan ke proses uji karakterisasi dan uji antibakteri.



**Gambar 6.** *Freeze dryer* (Christ Alpha 1-2 LDplus)

### III.3.4 Karakterisasi nanoenkapsulasi

Minyak atsiri yang telah di *freeze-drying* dan *screening product* dilakukan beberapa tahapan karakterisasi nanoenkapsulasi, diantaranya: *screening* nilai % Efisiensi Enkapsulasi (% EE), uji SEM dan uji PSA. Pengujian *screening* nilai % Efisiensi Enkapsulasi (% EE) terdiri dari nilai % EE fisika dan kimia.

#### III.3.4.1 Pengujian *screening* nilai % Efisiensi Enkapsulasi (% EE)

Pengujian *screening* nilai % Efisiensi Enkapsulasi (% EE) terdiri dari nilai % EE fisika dan kimia. Nilai % EE fisika didapatkan dengan cara menimbang berat formulasi nanoenkapsulasi yang telah di *freeze-dryer* menggunakan neraca analitik, dicatat sebagai  $m_2$  (g), dibagi berat bahan yang digunakan dalalam pembuatan formulasi nanoenkapsulasi (tanpa pelarut), dicatat sebagai  $m_1$  (g), dikalikan 100%, dicatat hasil % EE fisika. Rumus dapat dilihat pada Rumus 3 (De Matos *et al.*, 2018).

Rumus nilai % EE fisika, yaitu:

$$\% \text{ EE fisika} = \frac{m_2}{m_1} \times 100\% \dots\dots\dots(3)$$

#### Keterangan:

% EE fisika	Persen nilai efisiensi enkapsulasi secara fisika (%)
$m_1$	Massa bahan kering sebelum <i>freeze dryer</i> (tanpa pelarut) (g)
$m_2$	Massa bahan nanoenkapsulasi setelah <i>freeze dryer</i> (g)

Nilai % EE fisika akan digunakan untuk menghitung *screening* nilai % Efisiensi Enkapsulasi (% EE). Selanjutnya setelah nilai % EE fisika didapatkan maka dilanjutkan untuk mengetahui nilai % EE kimia.

Tahapan untuk mengetahui nilai % EE kimia adalah dengan melakukan ekstraksi dan uji menggunakan instrumen GC pada formulasi nenoenkapsulasi. Ekstraksi nanoenkapsulasi dengan cara ditimbang formulasi nanoenkapsulasi sebanyak 3 g, dimasukan kedalam gelas kimia 50 mL, dimasukan n-heksan 10 mL, dimasukan *magnetic stirrer*, distirrer dengan putaran 130 rpm, suhu 25 °C selama 6 jam. Selanjutnya di uji menggunakan instrumen GC, dengan cara sampel didiamkan selama 2 jam, disaring dan dilakukan pengujian menggunakan GC (De Matos *et al.*, 2018). Pengujian menggunakan

instrumen GC dengan cara, instrumen GC dioptimasi terlebih dahulu sesuai dengan kondisi optimasi GC-MS. Adapun optimasi GC pada **Tabel 10**.

**Tabel 10.** *Optimasi Gas Chromatography*

<b>Parameter</b>	<b>Kondisi optimasi</b>
Gas pembawa	<i>Nitrogen</i>
Jenis detektor	<i>Flame ionization detector (FID)</i>
Jenis kolom	<i>Capillary column</i>
Suhu awal	60 °C
Kenaikan program	10 °C/min
Suhu akhir	200 °C
Pada suhu 200 °C ditahan	5 °C/min
Volume injeksi	0,5 µL

Setelah dilakukan optimasi *Gas Chromatography* (GC), dilanjutkan untuk sistem mekanisme cara kerja pada GC. Mekanisme cara kerja pada GC dimana gas pembawa (*carrier gas*) ini sebagai eluen. Pengontrol aliran gas (GFC) sebagai pengatur aliran gas yang akan masuk kedalam kolom. Sampel diinjeksikan kedalam injektor 0,5 µL, sampel akan masuk kedalam kolom dan akan terjadi pemisahan. Sistem pemanasan kolom (*column oven*) memiliki fungsi untuk sistem pemanasan, selanjutnya sampel akan terdeteksi satu persatu sesuai dengan hasil pemisahan di dalam kolom. Sampel akan dibaca oleh sistem pengolahan data dan akan muncul sebagai sinyal kromatogram sesuai dengan waktu retensinya masing-masing. Informasi data ini akan dilanjutkan untuk menghitung nilai % EE kimia.

Rumus perhitungan nilai % EE kimia merupakan total nilai luas area uji GC nanoenkapsulasi setelah *difreeze-dryer* (La nanoenkapsulasi), dibagi total nilai luas area uji GC minyak atsiri murni (La EO), dan dikali 100% maka akan didapatkan nilai % EE kimia sesuai dengan Rumus 4.

Rumus nilai % EE kimia:

$$\% \text{ EE Kimia} = \frac{\text{La nanoenkapsulasi}}{\text{La EO}} \times 100\% \dots\dots(4)$$

**Keterangan:**

% EE kimia	Persen nilai efisiensi enkapsulasi secara kimia (%)
La nanoenkapsulasi	Total luas area uji GC nanoenkapsulasi setelah <i>difreeze-dryer</i>
La EO	Total luas area uji GC minyak atsiri murni

Setelah didapatkan nilai % EE kimia maka akan dilanjutkan untuk melakukan *screening* nilai % Efisiensi Enkapsulasi (% EE) untuk mendapatkan formulasi nanoenkapsulasi yang terbaik dari tiap formulasi bahan inti, baik itu minyak atsiri jahe mprit, minyak atsiri bunga cengkeh dan campuran kedua minyak. *Screening* nilai % Efisiensi Enkapsulasi (% EE) ini dengan cara menghitung total nilai % EE fisika dan kimia masing-masing 20% dan 80% sesuai dengan Rumus 5.

Rumus *Screening* nilai % Efisiensi Enkapsulasi (% EE):

$$\text{Screening \% EE} = 20\% \text{ EE fisika} + 80\% \text{ EE kimia} \dots\dots(5)$$

**Keterangan:**

<i>Screening</i> % EE	Persen nilai efisiensi enkapsulasi (%)
20% EE kimia	20% nilai % EE kimia (%)
80% EE fisika	20% nilai % fisika (%)

Setelah didapatkan *screening* nilai % Efisiensi Enkapsulasi (% EE) maka dilakukan tahapan pemilihan formulasi nanoenkapsulasi yang terbaik dari perwakilan formulasi tiap bahan inti baik itu GEO, CEO dan GCEO.

#### III.3.4.2 *Scanning electron microscopy* (SEM)

Sampel nanoenkapsulasi GEO1, CEO1 dan GCEO3 disiapkan untuk dilakukan karakteristik uji SEM (*Scanning Electron-Microscopy*) (Phenom Desktop ProXL). SEM yang memiliki ilustrasi tidak langsung mengamati sampel, tetapi *mapping* dari berkas-berkas elektron yang terrefleksikan dari sampel yang ditangkap oleh detektor. Cara kerja SEM dimana *electron gun* akan memancarkan berkas elektron (*Electron beam*) sebagai katoda, berkas elektron kemudian dipercepat oleh anoda, sebuah lubang di anoda memungkinkan elektron untuk melanjutkan ke kolom menuju lensa. Lensa-lensa magnetik yang berupa kondensor, *objective lens* dan *scancoils* kemudian memfokuskan menuju suatu titik pada permukaan sampel. Ketika elektron mengenai sampel maka akan terjadi hamburan elektron dari permukaan sampel dan akan dideteksi oleh detektor dan dimunculkan dalam bentuk gambar pada monitor. Detektor tersebut antara lain berupa *secondary electrons*, *primary backscattered electrons* dan *X-rays* (Rakmai *et al.*, 2017). Didapatkan hasil berupa informasi permukaan sampel GEO1, CEO1 dan GCEO3. Selanjutnya sampel diuji menggunakan PSA.

### III.3.4.3 *Particle Size Analyzer* (PSA)

Pengujian dilakukan sesuai dengan penelitian dengan sedikit modifikasi (Carreras *et al.*, 2013). Sampel GEO1, CEO1, dan GCEO3 disiapkan dan dilakukan pengujian PSA (Horiba SZ-100) satu persatu dengan cara: sampel ditimbang sebanyak 0,5 g, dimasukkan kedalam beker gelas, ditambahkan aquadest ad 10 mL sampai tanda batas tera dan di stirer selama 2 jam sampai homogen. Kemudian larutan tersebut dipipet sebanyak 0,5 mL, dimasukkan kedalam labu ukur 5 mL, ditambahkan dengan etanol 96 % ad 5 mL sampai tanda batas tera dan digojok sampai homogen. Formulasi sampel yang sudah siap untuk diuji PSA dituang kedalam kufet, dibersihkan menggunakan *tissue*, selanjutnya dianalisis menggunakan instrumen PSA (*Particle Size Analyzer*).

Pengujian *Particle Size Analyzer* dilakukan dengan pemberian sinar laser. Ketika sinar laser ditembakkan kedalam partikel, sinar akan menyebar kesegala araha dalam fluida. Sinar tersebar dilepas dan terhalang oleh sebagian volume partikel yang dideteksi oleh perbedaan sudut awal dan sinar tadang. Setelah sampel selesai dianalisis maka hasil pembacaan analisis akan keluar. Hasil analisis yang diperoleh berupa grafik distribusi ukuran partikel (*Z-Average*) (nm) dan distribusi ukuran partikel (PI) dibaca dan dicatat. Selanjutnya sampel meakukan uji antibakteri.

## III.3.5 Uji aktivitas antibakteri

### III.3.5.1 Sterilisasi alat

Proses sterilisasi alat yang akan digunakan dalam menumbuhkan sampel bakteri dilakukan dengan menggunakan autoklaf, seperti kawat ose, petridish, media TSA, tabung reaksi, dll.

### III.3.5.2 Pembuatan media

#### Media *Tryptone Soya Agar* (TSA)

*Tryptone Soya Agar* (TSA) dibuat dari 40 g/1000 mL. Ditimbang *Tryptone Soya Agar* (TSA) sebanyak 0,8 g, dimasukkan kedalam gelas beker, ditambahkan dengan aquadest ad 20 mL aquades, ditutup dengan kapas dan aluminium foil, selanjutnya dimasukkan kedalam autoklaf untuk disterilisasi. Setelah itu, dituangkan ke dalam tabung reaksi sebanyak  $\pm$  5 mL sebanyak 2 buah (satu untuk bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan

satu untuk bakteri *Micrococcus luteus*), dimiringkan dan didiamkan selama  $\pm$  30 menit sampai media memadat, media TSA yang sudah memadat ditutup dengan kapas.

Selanjutnya kawat ose dipanaskan diatas spiritus, ditunggu beberapa detik, diambil bakteri *Klebsiella pneumoniae* dengan menggunakan kawat ose dan digoreskan dengan zig-zak pada media TSA (didalam tabung reaksi yang telah dibuat), ditutup dengan kapas, diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam, kemudian diamati ada atau tidaknya koloni bakteri yang tumbuh pada media TSA. Dilakukan percobaan yang sama untuk bakteri *Micrococcus luteus*. Media TSA yang sudah diinokulasi selama 24 jam digunakan untuk pembuatan suspensi bakteri.

#### Media *Mueller Hinton Agar* (MHA)

MHA (38 g/1000 mL) ditimbang sebanyak 9,12 g, dimasukan kedalam gelas beker, ditambahkan dengan aquadest ad 240 mL menggunakan gelas beker, ditutup dengan kapas dan aluminium foil, selanjutnya dimasukan kedalam autoklaf untuk disterilisasi setelah itu dituang ke dalam 12 buah cawan petri masing-masing sebanyak 20 mL ketebalan 5 mm (enam buah untuk bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan enam buah untuk *Micrococcus luteus*), didiamkan pada suhu ruangan selama  $\pm$  30 menit sampai media memadat. Media MHA digunakan untuk uji aktivitas antibakteri.

#### III.3.5.3 Pembuatan suspensi bakteri

Bakteri uji yang telah diinokulasi yaitu bakteri pada media *Tryptone Soya Agar* (TSA), diambil dengan kawat ose steril lalu disuspensikan kedalam tabung yang berisi 2 mL larutan NaCl 0,9%, Dilakukan untuk bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan *Micrococcus luteus*.

#### III.3.5.4 Sampel stok

Disiapkan sampel yang akan diuji antibakteri terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan *Micrococcus luteus*, yaitu:

1. Formulasi nanoenkapsulasi GEO1
2. Formulasi nanoenkapsulasi CEO1
3. Formulasi nanoenkapsulasi GCEO3
4. GEO (*Ginger Essential Oil*)



5. CEO (*Clove Essential Oil*)
6. GCEO (*Ginger and Clove Essential Oil*)
7. Kontrol positif digunakan obat antibakteri *Amoxicilin* 500 mg
8. Kontrol negatif digunakan formulasi nanoenkapsulasi tanpa bahan inti (minyak atsiri)

#### III.3.5.5 Pengujian antibakteri

Uji zona hambat antibakteri dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri sediaan formulasi nanoenkapsulasi GEO1, CEO1, GECO3, minyak atsiri murni jahe emprit (GEO), minyak atsiri bunga cengkeh (CEO), campuran kedua minyak atsiri (GECO), kontrol positif (*Amoxicilin* 500 mg) dan kontrol negatif (formulasi nanoenkapsulasi tanpa bahan inti minyak atsiri) terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* dan *Micrococcus luteus*, yang dilakukan dengan metode difusi sumuran. Pengujian antibakteri dengan cara mengukur diameter zona hambat pertumbuhan bakteri terhadap sampel stok yang dianalisis.

Cara pengujian dilakukan didalam *laminar flow*, yaitu: disiapkan suspensi bakteri, dimasukkan kedalam media MHA yang sudah memadat, mikropipet, lampu spiritus dan sendok spatula. Selanjutnya, nyalakan lampu siritus, media MHA yang sudah memadat digores dengan suspense bakteri sampai merata, dibuat sumuran (*metode cut well*) sesuai dengan jumlah sumuran yang dibutuhkan (diameter sumuran 6 mm), dimasukkan sampel fomulasi GEO1, CEO1, GECO3, kontrol positif dan kontrol negatif dengan cara serbuk dimasukkan langsung menggunakan spatula (samapi sumuran terisi sampel uji). Sampel minyak atsiri murni GEO, CEO dan GCEO dengan cara dimikropipet sebanyak 0,5 µl, diinkubasi dalam inkubator pada suhu  $37 \pm 2$  °C selama 24 jam. Selanjutnya diukur diameter zona hambat (zona jernih) disekitar sumuran, menggunakan *interscience coloni counta* SCAN 500®.

## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **IV.1 Uji Determinasi**

Sampel rimpang jahe emprit dan bunga cengkeh yang digunakan dalam proses penelitian sudah dilakukan uji determinasi untuk mengidentifikasi kebenaran dari sampel tanaman yang digunakan. Hasil identifikasi jahe emprit yang digunakan dalam proses penelitian ini yaitu jahe emprit dengan *family Zingiberaceae* dan spesies *Zingiber Officinale* Roscoe sedangkan pada bunga cengkeh dengan *family Myrtaceae* dan spesies *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M. Perry.

#### **VI.2 Destilasi Minyak Atsiri**

Sebelum dilakukan destilasi sampel jahe emprit dicuci terlebih dahulu, agar tidak banyak pengotor yang terbawa dalam proses destilasi, kemudian sampel dihancurkan, tujuan penghancuran untuk membuak pori-pori sampel dan minyak yang dihasilkan lebih maksimal. Tujuan penambahan air dalam proses destilasi untuk memudahkan proses destilasi, dan sampel di dalam ketel bahan tidak gosong.

Proses yang digunakan adalah proses destilasi rebus. Proses ini berlangsung dengan nyala api sedang, dikarenakan jika dengan nyala api besar bisa menyebabkan sampel didalam ketel bahan menjadi gosong dan minyak atsiri yang dihasilkan berwarna kuning tua (Riyanto, 2017). Proses destilasi menghasilkan uap destilasi yang melalui pipa penyulingan, berlanjut ke kodensor dan menuju keseparator. Dinama keran sperator dibuka secara pelan-pelan dan dilakukan pemisahan antara air (hidrosol) dengan minyak atsiri jahe emprit. Minyak atsiri jahe emprit dimasukan kedalam gelas beker dan ditambahkan natrium sulfat anhidrat. Setelah selesai proses destilasi minyak atsiri jahe emprit dengan 2 kali destilasi, dilanjutkan untuk sampel bunga cengkeh. Sampel minyak atsiri yang dihasilkan dikarakterisasi dan dianalisis dengan GC-MS.

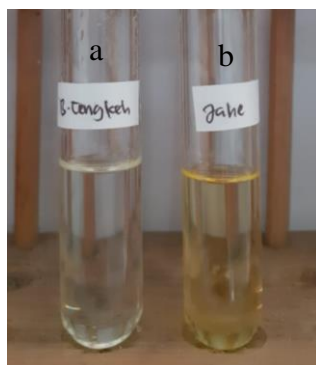
### VI.2.1 Karakterisasi minyak atsiri

Karakterisasi minyak atsiri dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kualitas minyak atsiri yang kita gunakan apakah sudah sesuai dengan SNI ataukah belum, walaupun dalam penelitian ini tidak semua perlakuan yang ada didalam SNI dilakukan semuanya.

Berat jenis minyak atsiri jahe emprit sebesar 0,8740 g/mL, sedangkan berdasarkan SNI 06-2-1312-1998 minyak atsiri jahe memiliki berat jenis sebesar 0,8720 – 0,8890 g/mL hal ini artinya sampel minyak atsiri jahe emprit yang digunakan telah memenuhi kriteria SNI. Minyak atsiri bunga cengkeh memiliki berat jenis sebesar 1,0584 g/mL, sedangkan berdasarkan SNI 06-4267-1996 minyak atsiri cengkeh memiliki berat jenis 1,04 - 1,07 g/mL hal ini artinya sampel minyak atsiri bunga cengkeh memenuhi kriteria SNI. Maka hasil dari perbandingan antara hasil proses destilasi dengan SNI menunjukkan bahwa antara minyak atsiri dengan air terpisah dengan optimal (Riyanto *et al.*, 2021). Nilai % Rendamen yang dihasilkan oleh minyak atsiri jahe emprit sebesar 0,6817% dan minyak atsiri bunga cengkeh sebesar 4,6569%. Selanjutnya untuk mengetahui kandungan *eugenol* pada kedua sampel minyak atsiri dengan menggunakan GC-MS.

Senyawa *Eugenol* pada minyak atsiri jahe emprit tidak ada, hal ini dikarenakan komponen utama minyak atsiri jahe (*Zingiber Officinale*) adalah *Zingiberene* (Riyanto, 2017), bukan *Eugenol* seperti minyak atsiri bunga cengkeh. Dalam SNI 06-2-1312-1998 minyak atsiri jahe untuk senyawa *Eugenol* tidak dijadikan setandar mutu di dalam SNI (SNI, 1998), sedangkan senyawa *Eugenol* pada minyak atsiri bunga cengkeh didapatkan sebesar 92,97% dan dijadikan setandar mutu dalam SNI 06-4267-1996 yaitu sebesar 80-95% maka hal ini minyak atsiri bunga cengkeh memenuhi standar mutu SNI (SNI, 1996).

Minyak jahe emprit dan bunga cengkeh menghasilkan warna minyak atsiri kuning jernih dan bening, dapat dilihat pada **Gambar 7**. Karakterisasi bau menghasilkan bau khas minyak jahe dan khas minyak cengkeh. Atrinya saat proses destilasi rebus minyak atsiri tidak mengalami kerusakan dikarenakan beberapa faktor salah satunya adalah nyala api yang terlalu besar dalam proses destilasi. Nyala api yang terlalu besar dapat menyebabkan warna sampel menjadi kuning tua atau warna gosong dan menyebabkan bau khas setiap minyak hilang atau bau gosong (Riyanto, 2017).



**Gambar 7.** Hasil destilasi; (a) minyak atsiri bunga cengkeh (CEO) dan (b) minyak atsiri jahe emprit (GEO)

#### VI.2.2 Analisis *Gas Cromatografy-Mass Spectrometry* (GC-MS).

Optimasi pada sistem GC-MS Shimadzu QP 2010 SE merupakan langkah awal yang sangat diperlukan sebelum melakukan analisis menggunakan GC-MS. Optimasi ini bertujuan agar terjadi pemisahan sempurna antar *peak* sampel minyak atsiri, sehingga pengukuran kadar setiap senyawa minyak atsiri tidak dipengaruhi oleh senyawa lain.

Setelah proses optimasi selesai, dilakukan pengujian sampel minyak atsiri dan dihasilkan kromatogram. Adapun hasil uji GC-MS minyak atsiri jahe emprit dapat dilihat pada **Tabel 11**.

**Tabel 11.** Hasil analisis GC-MS sampel minyak atsiri jahe emprit (GEO)

No	Nama Senyawa	Luas Puncak (%)	
		Penelitian	(Riyanto, 2017)
1	<i>α.-Pinen</i>	1,60	2,14
2	<i>Camphene</i>	8,47	9,50
3	<i>β.-Myrcene</i>	1,42	1,28
4	<i>Bornylene</i>	2,18	-
5	<i>1,8-Cineole</i>	2,53	-
6	<i>Linalooll</i>	1,14	1,50
7	<i>Borneoll</i>	1,51	2,23
8	<i>3-Cyclohexene-1-methanol</i>	0,44	0,56
9	<i>β.-Citronellol</i>	0,40	1,86
10	<i>Z-Citral</i>	6,78	5,69
11	<i>Geraniol</i>	2,39	9,90
12	<i>E-Citral</i>	9,94	8,55
13	<i>Endoboenyl acetate</i>	1,55	1,00
14	<i>Citronellyl acetate</i>	0,64	1,77
15	<i>Neryl acetate</i>	7,47	-
16	<i>α.-Cubebene</i>	0,48	-
17	<i>β.-Farnesene</i>	0,42	0,48
18	<i>β.-Sesquiphellandrene</i>	0,40	0,67
19	<i>ar-Curcumene</i>	17,00	12,07
20	<i>Zingiberene</i>	5,01	13,22
21	<i>Farnesene</i>	4,11	10,29
22	<i>β.-Bisabolene</i>	9,52	-
23	<i>β.-Sesquiphellandrene</i>	10,09	9,65
24	<i>Diepi-.α.-Cedren</i>	0,38	0,37
25	<i>α.-Cedrol</i>	0,58	0,70
26	<i>α.-Cedrol</i>	0,31	0,70
27	<i>2(1H)-Naphthalenone</i>	0,42	0,47
28	<i>1H-Cycloprop[e]azulen-4-ol</i>	0,34	0,37
29	<i>Acetic acid</i>	0,55	0,70
30	<i>(-)-Caryophyllene oxide</i>	1,92	0,37

Berdasarkan **Tabel 11** hasil penelitian analisis GC-MS sampel minyak atsiri jahe emprit memiliki 30 senyawa yang berbeda, sedangkan berdasarkan (Riyanto, 2017) menyatakan komponen senyawa minyak atsiri jahe (*Zingiber officinale*) memiliki 25 senyawa. Perbedaan pada penelitian yaitu memiliki senyawa *Bornylene* (2,18%), *1,8-*

*Cineole* (2,53%), *Neryl acetate* (7,47%),  $\alpha$ -*Cubebene* (0,47%), dan  $\beta$ -*Bisabolene* (9,51%), perbedaan ini dikarenakan menggunakan sampel yang berbeda. Hal ini dapat dilihat dari 10 kandungan utama pada penelitian adalah *ar-Curcumene* (17,00%),  $\beta$ -*Sesquiphellandrene* (10,09%), *E-Citral* (9,94%),  $\beta$ -*Bisabolene* (9,51%), *Neryl acetate* (7,47%), *Z-Citral* (6,78%), *Zingiberene* (5,01%), *Farnesene* (4,11%), *1,8-Cineole* (2,53%) dan *Geraniol* (2,39%), sedangkan berdasarkan (Riyanto, 2017) 10 kandungan utama adalah *Zingiberene* (13,22%), *Curcumene* (12,07%),  $\alpha$ -*Farnesene* (10,29%), *Geraniol* (9,90%),  $\beta$ -*Sesquiphellandrene* (9,65%), *Camphene* (9,50%), *E-Citral* (8,55%), *Z-Citral* (5,69%), *Eucaliptol* (5,12), dan *Borneol* (2,23%). Keduanya sama-sama sampel jahe tetapi dengan asal bahan yang berbeda sehingga ada beberapa kandungan senyawa utama dan konsentrasi senyawa memiliki perbedaan. Adapun hasil uji GC-MS minyak atsri bunga cengkeh dapat dilihat pada **Tabel 12**.

**Tabel 12.** Hasil analisis GC-MS sampel minyak atsiri bunga cengkeh (CEO)

No	Nama Senyawa	Luas puncak (%)	
		Penelitian	( <i>Lestari, 2017</i> )
1	<i>Eugenol</i>	92,97	87,92
2	$\alpha$ - <i>Copaene</i>	0,03	0,35
3	<i>Trans</i> ( $\beta$ )- <i>Caryophyllene</i>	2,51	4,16
4	$\alpha$ - <i>Humulene</i>	0,33	0,47
5	<i>1-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-4-methyl</i>	0,09	0,23
6	<i>Zingiberene</i>	0,19	0,24
7	$\beta$ - <i>Bisabolene</i>	0,08	-
8	<i>Phenol</i>	3,54	5,50
9	(-)- <i>Caryophyllene oxide</i>	0,27	0,40
10	<i>Geraniol</i>	-	0,45
11	<i>Cadinene</i>	-	0,28

Pada **Tabel 12** hasil penelitian GC-MS sampel minyak atsiri bunga cengkeh memiliki 9 senyawa, yaitu: *Eugenol* (92,97%),  $\alpha$ -*Copaene* (0,03%), *Trans* ( $\beta$ )-*Caryophyllene* (2,51%),  $\alpha$ -*Humulene* (0,33%), *1-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-4-methyl* (0,09%), *Zingiberene* (0,19),  $\beta$ -*Bisabolene* (0,08%), *Phenol* (3,54%) dan (-)-*Caryophyllene oxide* (0,27%), sedangkan berdasarkan (*Lestari, 2017*) memiliki 10 senyawa, yaitu: *Eugenol* (87,92%),  $\alpha$ -*Copaene* (0,35%), *Trans* ( $\beta$ )-*Caryophyllene* (4,16%),  $\alpha$ -*Humulene* (0,47%), *1-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-4-methyl* (0,23%),

*Zingiberene* (0,24), *Phenol* (5,50%), *(-)-Caryophyllene oxide* (0,40%), *Geranial* (0,45%), dan *Cadinene* (0,28%).

Perbedaan pada penelitian yaitu memiliki senyawa  $\beta$ -*Bisabolene*, sedangkan berdasarkan (Lestari, 2017) adalah *Geranial* (0,45%), dan *Cadinene* (0,28%). Hal ini dikarenakan sampel yang digunakan berbeda, maka akan adanya perbedaan. Dapat dilihat berdasarkan 5 senyawa utama minyak atsiri cengkeh dalam penelitian, yaitu: *Eugenol* (92,97%), *Phenol* (3,54%), *Trans* ( $\beta$ )-*Caryophyllene* (2,51%),  $\alpha$ -*Humulene* (0,33%), dan *(-)-Caryophyllene oxide* (0,27%), sedangkan berdasarkan (Lestari, 201) menyatakan 5 senyawa utama, yaitu: *Eugenol* (87,92%), *Phenol* (5,50%), *Trans* ( $\beta$ )-*Caryophyllene* (4,16%),  $\alpha$ -*Humulene* (0,47%), dan *Geranial* (0,45%).

### VI.3 Pembuatan Nanoenkapsulasi

Nanoenkapsulasi secara umum, proses nanoenkapsulasi terdiri dari penyisipan bahan bioaktif dalam kapsul nano untuk melindunginya dari kondisi lingkungan yang memburuk seperti suhu tinggi, oksigen, cahaya, variasi pH, interaksi yang tidak diinginkan dengan senyawa lain, dll. (Lammari *et al.*, 2020). Nanoenkapsulasi memiliki ukuran partikel berapa nanometer sampai beberapa ribu nanometer (Agoes, 2010).

Hasil pembuatan nanoenkapsulasi minyak atsiri menggunakan metode *freeze-drying* (Lischer *et al.*, 2019) (Akdeniz *et al.*, 2017). Sebanyak 12 formulasi yang terdiri dari 4 formulasi menggunakan bahan inti minyak atsiri jahe emprit, 4 formulasi menggunakan minyak atsiri bunga cengkeh dan 4 formulasi lagi menggunakan campuran kedua minyak dapat dilihat tiap masing-masing tabel. Hasil pembuatan nanoenkapsulasi Minyak atsiri jahe emprit dapat dilihat pada **Tabel 13**.

**Tabel 13.** Hasil *freeze-drying* minyak atsiri jahe emprit (GEO)

No	Formulasi	Keadaan	Warna	Bau
1	GEO 1	Sangat kering	Putih	Tidak menyengat
2	GEO 2	Basah	Putih kekuningan	Tidak menyengat
3	GEO 3	Basah	Putih kekuningan	Menyengat
4	GEO 4	Kering	Putih kekuningan	Sangat menyengat

Berdasarkan **Tabel 13**, pembuatan nanoenkapsulasi minyak atsiri jahe emprit dengan 4 formulasi GEO1, GEO2, GEO3 dan GEO4 menghasilkan nanoenkapsulasi dengan keadaan sangat kering, basah, basah dan kering. Hasil keadaan warna GEO1 putih, GEO2-GEO4 putih kekuningan, sedangkan untuk bau sedikit tidak menyengat, tidak menyengat, menyengat, dan sangat menyengat, hasil dapat dilihat pada **Gambar 8**.

**Tabel 14.** Hasil *freeze-drying* minyak atsiri bunga cengkeh (CEO)

No	Formulasi	Keadaan	Warna	Bau
1	CEO 1	Sangat kering	Putih	Tidak menyengat
2	CEO 2	Basah	Putih kekuningan	Tidak menyengat
3	CEO 3	Kering	Putih kekuningan	Menyengat
4	CEO 4	Kering	Putih kekuningan	Sangat menyengat

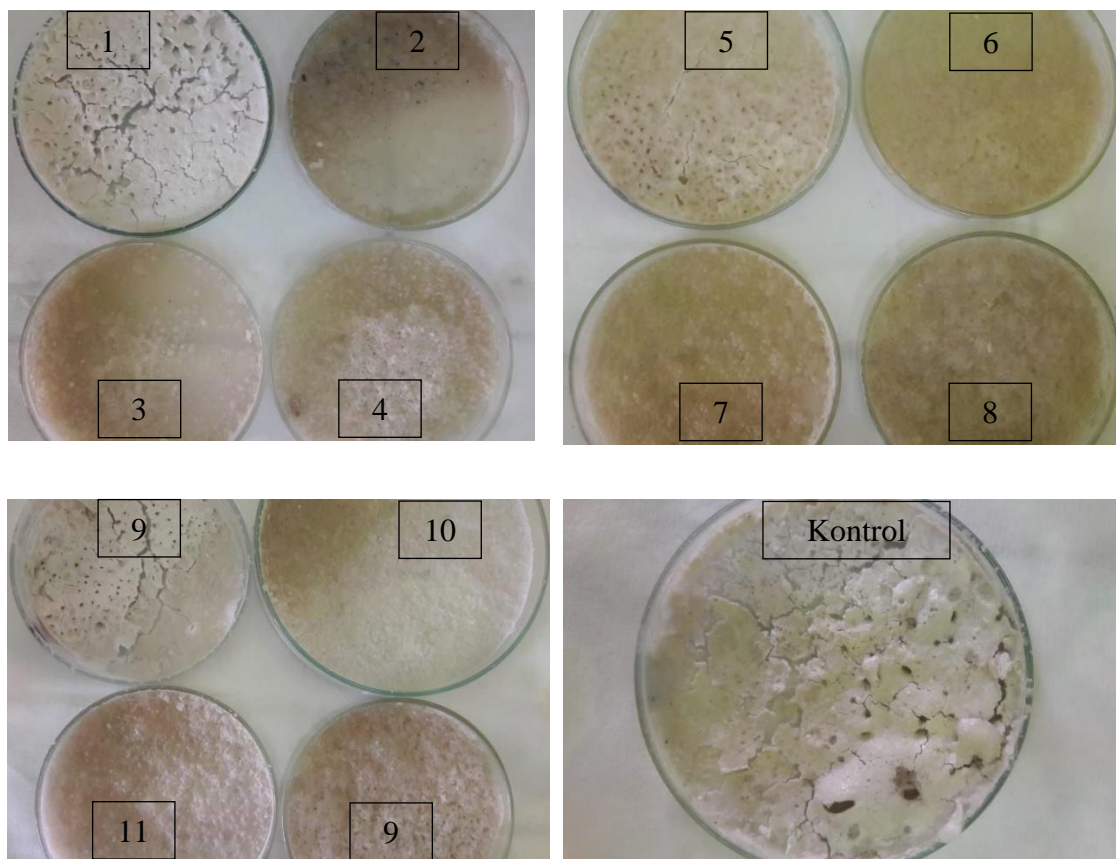
Berdasarkan **Tabel 14**, pembuatan nanoenkapsulasi minyak atsiri bunga cengkeh dengan 4 formulasi CEO1, CEO2, CEO3 dan CEO4 menghasilkan nanoenkapsulasi dengan keadaan sangat kering, basah, kering dan kering. Hasil keadaan warna CEO1 putih, CEO2-CEO4 putih kekuningan, sedangkan untuk bau sedikit tidak menyengat, tidak menyengat, menyengat dan sangat menyengat, hasil dapat dilihat pada **Gambar 8**.

**Tabel 15.** Hasil *freeze-drying* campuran kedua minyak atsiri (GCEO)

No	Formulasi	Keadaan	Warna	Bau
1	GCEO 1	Sangat kering	Putih	Tidak menyengat
2	GCEO 2	Kering	Putih kekuningan	Tidak menyengat
3	GCEO 3	Cukup kering	Putih kekuningan	Menyengat
4	GCEO 4	Kering	Putih kekuningan	Sangat menyengat

Berdasarkan **Tabel 15**, pembuatan nanoenkapsulasi campuran kedua minyak atsiri dengan 4 formulasi GCEO1, GCEO 2, GCEO3 dan GCEO4 menghasilkan nanoenkapsulasi dengan keadaan sangat kering, kering, cukup kering dan kering. Hasil keadaan warna GCEO 1 putih, GCEO2- GCEO4 putih kekuningan, sedangkan untuk bau tidak menyengat, tidak menyengat, menyengat dan sangat menyengat, hasil dapat dilihat pada **Gambar 8**.





**Gambar 8.** Hasil proses *freeze-drying*, 1. GEO1, 2. GEO2, 3. GEO3, 4. GEO4, 5. CEO1, 6. CEO2, 7. CEO3 dan 8. CEO4, 9. GCEO1, 10. GCEO 2, 11. GCEO3, 12. GCEO4 dan Kontrol

Berdasarkan hasil dari 12 formulasi nanoenkapsulasi minyak atsiri, peneliti melakukan *screening product*. *Screening product* adalah penyeleksian secara fisika baik berdasarkan keadaan, warna dan bau setiap formulasi nanoenkapsulasi. Formulasi nanoenkapsulasi yang akan lanjut ke tahapan berikutnya adalah nanoenkapsulasi dengan keadaan cukup kering sampai dengan sangat kering. Hal ini karena sampel nanoenkapsulasi yang memiliki hasil keadaan basah sangatlah kurang baik, dimana bahan inti berupa minyak atsiri keluar di *petri dish* dan bau khas minyak atsiri itu sendiri.

Hal ini bisa terjadi salah satunya adalah bahan pelapis (maltodekstrin dan gom arab) dengan bahan inti (minyak atsiri) perbandingan dalam formulasi kurang baik sehingga bahan pelapis kurang mampu mengikat bahan inti (Lischer *et al.*, 2019). Jumlah sediaan yang sama (ad 25 g) dan jumlah pelarut (air) yang berkurang sehingga mempengaruhi

proses ultaturax (proses pembuatan emulsi nanoenkapsulasi) sampai sediaan difreeze-drying. Sampel nanoenkapsulasi sebanyak 12 formulasi dilakukan *screening*. Hasil *screening* tersebut dapat dilihat pada **Tabel 16**.

**Tabel 16.** Hasil *screening* dari proses *freeze-drying*

No	Formulasi	Keadaan	Warna	Bau
1	GEO 1	Sangat kering	Putih	Tidak menyengat
2	GEO 4	Kering	Putih kekuningan	Tidak menyengat
3	CEO 1	Sangat kering	Putih	Tidak menyengat
4	CEO 3	Kering	Putih kekuningan	Menyengat
5	CEO 4	Kering	Putih kekuningan	Sangat menyengat
6	GCEO 1	Sangat kering	Putih	Tidak menyengat
7	GCEO 2	Kering	Putih kekuningan	Tidak menyengat
8	GCEO 3	Cukup kering	Putih kekuningan	Menyengat
9	GCEO 4	Kering	Putih kekuningan	Sangat menyengat
10	Kontrol	Sangat kering	Putih	Bahan tambahan

Berdasarkan **Tabel 16**, dapat dilihat bahwa hasil *screening* yang berhasil dilanjutkan untuk tahapan selanjutnya dari 12 formulasi adalah 9 formulasi. 2 formulasi bahan inti minyak atsiri jahe, 3 minyak atsiri bunga cengkeh dan 4 campuran kedua minyak atsiri, yaitu: GEO1, GEO4, CEO1, CEO3, CEO4, GCEO1, GCEO2, GCEO3 dan GCEO4 dengan keadaan hasil sangat kering, kering, sangat kering, kering, kering, sangat kering, kering, cukup kering dan kering. Hasil dapat dilihat pada **Gambar 8**. Dari hasil 9 formulasi tersebut bahwa metode *freeze-drying* untuk pembuatan nanoenkapsulasi cukup baik digunakan dikarenakan dari 9 formulasi ini bahan inti (minyak atsiri) tidak ke luar ke permukaan bahan pelapis sehingga sediaan nanoenkapsulasi tidak menjadi basah, berminyak dan bau tidak menyengat keluar. Hal ini dapat dibuktikan pada hasil sampel kontrol (tanpa minyak atsiri) yang menghasilkan keadaan yang sangat kekekering, warna putih dan bau bahan tambahan, artinya sediaan ini baik metode, bahan pelapis dan emulsi bekerja dengan baik.

Keunggulan dari metode *freeze-drying* dibandingkan metode lainnya adalah menjaga kualitas produk pengeringan, sehingga produk yang dihasilkan jauh lebih baik dibandingkan dengan metode pengeringan lainnya (Lischer *et al.*, 2019) (Akdeniz *et al.*, 2017). Hal ini karena metode *freeze-drying* memiliki prinsip kerja, dimana cairan

diatomisasi menuju udara dingin atau gas yang akan menyebabkan tetesan partikel cair memadat. Tetesan cairan dapat mengandung fasa padat atau fasa cair kedua diemulsifikasi, yang akan terenkapsulasi dapat mencapai 40 % atau lebih tinggi. Tabung proses sering berupa pengering semprot yang sistem pemanasannya tidak dijalankan, sedangkan metode *spray-drying* akan melakukan atomisasi suatu larutan yang mengandung produk yang akan dikeringkan dengan menggunakan udara bertekanan tinggi atau gas nitrogen melalui suatu ruang pengering, dan penengrangan dilakukan dengan aliran udara hangat (Agoes, 2010). Minyak atsiri sendiri senyawa volatil yang mudah menguap (Djuardi *et al.*, 2018). Baik itu dari suhu, panas dan oksigen (Lammari *et al.*, 2020). Pada dasarnya semua senyawa penyusun minyak atsiri tidak setabil atau peka terhadap suhu tinggi (Sastrohamidjojo, 2004) (Pellicer *et al.*, 2019). Selanjutnya 9 formulasi nanoenkapsi tersebut dilanjutkan untuk uji karakterisasi nanoenkapsulasi.

#### VI.4 Karakterisasi Nanoenkapsulasi

Minyak atsiri yang telah dilakukan *freeze-drying* dan *screening product* selanjutnya dilakukan beberapa tahapan karakterisasi nanoenkapsulasi, diantaranya: pengujian *screening* nilai % Efisiensi Enkapsulasi (% EE), uji SEM dan uji PSA. Pengujian *screening* nilai % Efisiensi Enkapsulasi (% EE) terdiri dari nilai % EE fisika dan kimia.

Tujuan dari karakterisasi nanoenkapsulasi sendiri ununtuk mendapatkan formulasi nanoenkapsulasi yang terbaik dari masing-masing bahan inti nanoenkapsulasi, baik itu minyak atsiri jahe meprit, minyak atsiri bunga cengkeh dan campuran kedua minyak atsiri.

##### VI.4.1 Pengujian *screening* nilai % Efisiensi Enkapsulasi (% EE)

Pengujian *screening* nilai % Efisiensi Enkapsulasi (% EE) terdiri dari nilai % EE fisika dan kimia. Nilai % EE fisika adalah berat formulasi nanoenkapsulasi setelah proses *freeze-dryer* sebagai  $m_2$  (g), dibagi bahan yang digunakan dalalam pembuatan formulasi nanoenkapsulasi (tanpa pelarut) sebagai  $m_1$  (g), dan dikalikan 100%. Rumus dapat dilihat pada Rumus 3. Hasil nilai % EE fisika dapat dilihat pada **Tabel 17**.

**Tabel 17.** Hasil nilai % EE fisika

No	Formulasi	m <sub>1</sub> (g)	m <sub>2</sub> (g)	EE fisika (%)
1	GEO 1	7,875	4,903	62,260
2	GEO 4	16,875	10,456	61,961
3	CEO 1	7,875	7,050	89,524
4	CEO 3	13,875	12,382	89,240
5	CEO 4	16,875	14,117	83,656
6	GCEO 1	7,875	5,461	69,346
7	GCEO 2	10,875	9,054	83,255
8	GCEO 3	13,875	11,822	85,204
9	GCEO 4	16,875	11,095	65,748
10	Kontrol	5,875	5,289	90,026

Berdasarkan **Tabel 17** dapat dilihat bahwa formulasi nanoenkapsulasi GEO1, GEO4, CEO1, CEO3, CEO4, GCEO1, GCEO2, GCEO3, GCEO4 dan kontrol memiliki nilai % EE fisika, yaitu: 61,260; 61,961; 89,542; 89,240; 83,656; 69,346; 83,255; 85,204; 65,748 dan 90,026%. Jika di lihat dari nilai % EE fisika yang kecil dikarenakan beberapa faktor yaitu: saat proses Ultra-Turrax selesai, sampel dipindahkan ke dalam *petri dish* maka emulsi nanoenkapsulasi ada yang tertinggal, dan saat selesai proses *freeze-dryer* sampel tertinggal di *petri dish*. Artinya beberapa faktor tersebut yang menyebabkan nilai m<sub>2</sub> semakin berkurang dan nilai % EE fisika menjadi kecil. Berdasarkan penelitian (Yang *et al.*, 2018) salah satu faktor nilai % EE kecil adalah adanya residu yang jatuh dari *petri dish* saat sampel selesai melakukan proses *freeze-dryer*. Namun hasil penelitian memiliki nilai % EE fisika diatas 40%, artinya metode yang digunakan sudah cukup baik. Dimana berdasarkan (Agoes, 2017) menyatakan metode *freeze-drying* mampu mengenkapsulasi mencapai nilai 40% atau lebih tinggi. Selain pemilihan metode, hal yang penting dalam enkapsulasi adalah bahan pelapis, untuk mendapatkan pelepasan enkapsulasi yang terkontrol (Yang *et al.*, 2018).

Bahan pelapis yang digunakan dalam penelitian adalah maltodekstrin (MD) dan gom arab (GA) hal ini dikarenakan maltodekstrin memiliki kelarutan yang baik dalam air dan nilai viskositas rendah bahkan pada konsentrasi tinggi. Memiliki bermacam-macam fitur fungsional, termasuk pembesaran dan pembentuk film, pengikat lemak kemampuan dan pengurangan permeabilitas oksigen dalam matriks dinding (Lischer *et al.*, 2019) (Turasan

*et al.*, 2015). Gom arab memiliki kelarutan air yang tinggi dan viskositas rendah dibandingkan jenis getah lainnya. Selain itu, dapat membuat film pelindung disekitar bahan inti dan bertindak seperti pengemulsi. Mencegah agregasi dengan membentuk lapisan tebal (Lischer *et al.*, 2019). Sebagai bahan pengental, pembentuk lapisan tipis dan pengemulsi (Lischer *et al.*, 2019) (Turasan *et al.*, 2015).

Hasil nilai % EE yang dilaporkan dalam literatur selain bergantung pada bahan inti dan bahan pelapis, bahan pengemulsi juga mempengaruhi enkapsulasi (Radünz *et al.*, 2019). Berdasarkan (Radünz *et al.*, 2019) Pembuatan enkapsulasi minyak atsiri bunga cengkeh dengan pengemulsi natrium alginat : gliserol monostearat mampu menghasilkan nilai HLB, % EE, konsentrasi hambat minimum dan aktivitas antikosidan masing-masing sebesar: 3,8; 92,12%; 23,66 mg mL<sup>-1</sup> dan 7,69 lebih tinggi dibandingkan dengan dengan bahan pelapis natrium alginat : polioksietilen sorbitan monolaurat sebesar: 16,7; 83,60%; 12,46 mg mL<sup>-1</sup> dan 2,16.

Nilai % EE fisika pada **Tabel 17**, akan digunakan untuk nilai % Efisiensi Enkapsulasi (% EE). Dimana nilai % Efisiensi Enkapsulasi (% EE) bukan hanya dari nilai % EE fisika saja melainkan dari nilai % EE kimia. Nilai % EE kimia dihasilkan dengan analisis menggunakan GC. Rumus perhitungan nilai % EE kimia adalah total nilai luas area uji GC nanoenkapsulasi setelah *freeze-dryer* (La nanoenkapsulasi), dibagi total nilai luas area uji GC minyak atsiri murni (La EO), dan dikali 100% maka akan didapatkan nilai % EE kimia sesuai dengan Rumus 4. Nilai % EE kimia dapat dilihat pada **Tabel 18**.

**Tabel 18.** Hasil nilai % EE kimia

No	Formulasi	La EO	La nanoenkapsulasi EO	EE kimia (%)
1	GEO 1	147938,6687	49038,5047	33,1479
2	GEO 4		42706,7722	28,8679
3	CEO 1	58411,1805	54143,7589	92,6942
4	CEO 3		51234,7608	87,7140
5	CEO 4		53475,6342	91,5503
6	GCEO 1		45937,4075	72,7481
7	GCEO 2	63145,8899	48301,0834	76,4913
8	GCEO 3		49937,4075	79,0826
9	GCEO 4		44576,6133	70,5931

**Keterangan:**

% EE kimia	Persen nilai efisiensi enkapsulasi secara kimia (%)
La EO	Total luas area uji GC minyak atsiri murni
La nanoenkapsulasi EO	Total luas area uji GC nanoenkapsulasi

Berdasarkan **Tabel 18**, dapat dilihat bahwa formulasi nanoenkapsulasi GEO1, GEO4, CEO1, CEO3, CEO4, GCEO1, GCEO2, GCEO3 dan GCEO4 memiliki nilai % EE kimia, yaitu 33,1479; 28,8679; 92,6942; 87,7140; 91,5503; 72,7481; 76,4913; 79,0826; dan 70,5931%. Nilai % EE kimia akan digunakan untuk *screening* nilai % Efisiensi Enkapsulasi (% EE). Dimana *screening* nilai % Efisiensi Enkapsulasi (% EE) diambil dari nilai % EE fisika (20%) dan kimia (80%) sesuai dengan rumus nomor 5. Hasil *screening* nilai % Efisiensi Enkapsulasi (% EE) dapat dilihat pada **Tabel 19**.

**Tabel 19.** Hasil *screening* nilai % Efisiensi Enkapsulasi (% EE)

No	Formulasi	EE Fisika 20 %	EE Kimia 80 %	Total % EE <i>screening</i>
1	GEO 1	12,4521	26,5183	38,9704
2	GEO 4	12,3923	23,0943	35,4866
3	CEO 1	17,9048	74,1553	92,0601
4	CEO 3	17,8479	70,1712	88,0191
5	CEO 4	16,7313	73,2403	89,9715
6	GCEO 1	13,8692	58,1984	72,0677
7	GCEO 2	16,6510	61,1930	77,8440
8	GCEO 3	17,0407	63,2661	80,3068
9	GCEO 4	13,1496	56,4744	69,6241

Berdasarkan **Tabel 19**, dapat dilihat bahwa *screening* nilai % Efisiensi Enkapsulasi (% EE) diambil dari nilai % EE fisika dan kimia masing-masing 20% dan 80%. Didapatkan *screening* nilai % Efisiensi Enkapsulasi (% EE) GEO1, GEO4, CEO1, CEO3, CEO4, GCEO1, GCEO2, GCEO3 dan GCEO4, yaitu: 38,9704; 35,4866; 92,0601; 88,0191; 89,9715; 72,0677; 77,8440; 80,3068; dan 69,6241%. Berdasarkan *screening* nilai % Efisiensi Enkapsulasi (% EE) tiap formulasi diambil satu formulasi yang terbaik setiap bahan inti minyak atsiri. Oleh karena itu dari 9 formulasi yang memiliki nilai *screening* nilai % Efisiensi Enkapsulasi (% EE) tertinggi adalah formulasi GEO1, CEO1 dan GCEO3 untuk melanjutkan analisis berikutnya. Formulasi yang terbaik yaitu GO1, CO1

dan GCEO 1 dengan nilai *screening* % EE sebesar 33,1479; 92,6942 dan 79,082%. 3 formulasi nanoenkapsulasi ini yang akan dilanjutkan untuk karakterisasi SEM, PSA dan uji antibakteri.

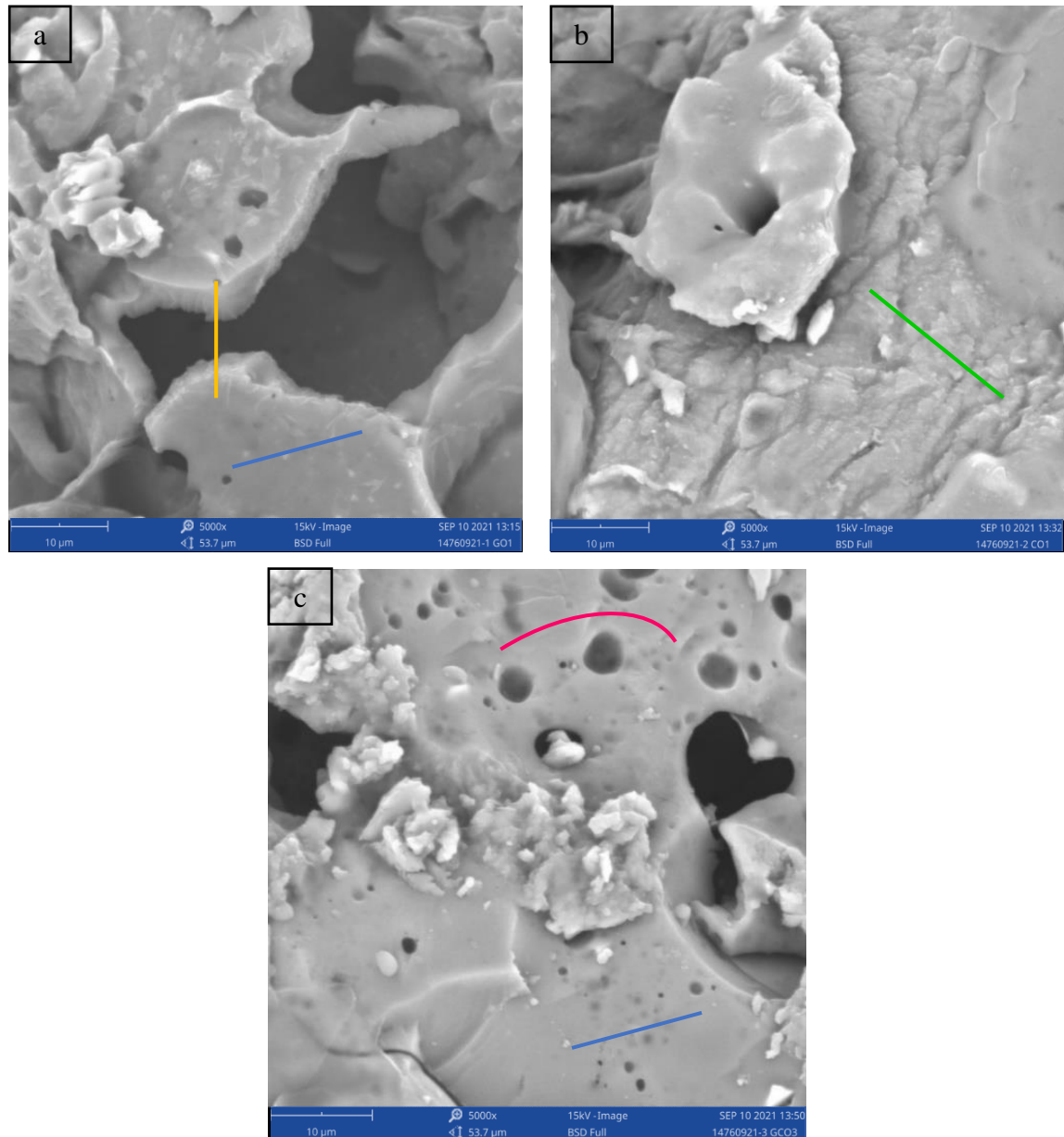
#### VI.4.2 *Scanning Electron Microscopy* (SEM)

SEM adalah jenis mikroskop elektron untuk mengetahui gambar permukaan sampel melalui *scanning* sinar elektron energi tinggi dalam pola *scan* yang cepat. SEM merupakan satu dari instrumen yang serba guna dimana pengujian ini berfungsi untuk mengetahui struktur mikro (Umar, 2019). Informasi tentang pembentukan pelapis enkapsulasi pada enkapsulasi dapat ditelaah menggunakan SEM.

Pengujian SEM yang digunakan secara *Secondary Electrons* (SE) dengan pembesaran 5000 $\times$ . Hasil dari uji SEM dapat dilihat pada **Gambar 9**. Sampel GEO1 memiliki permukaan halus, pori-pori sedikit dan mengalami kerusakan. Sampel CEO1 memiliki permukaan berkeriput, pori-pori sedikit dan tidak mengalami kerusakan. Permukaan yang rusak dan berkeriput dapat disebabkan karena sampel nanoenkapsulasi sebelum proses uji SEM sampel dihancurkan terlebih dahulu. Sampel enkapsulasi yang dihaluskan dapat menyebabkan permukaan memiliki sudut tajam pada pinggir partikel (kerusakan). Hal ini akan menyebabkan daerah tipis selama penyalutan sehingga menyebabkan pola pelepasan bahan inti (aktif) dan perlindungan terhadap pengaruh lingkungan menjadi tidak sempurna (Agoes, 2017). Padahal tujuan sampel nanoenkapsulasi dihancurkan untuk mendapatkan partikel yang kecil sehingga memudahkan untuk uji SEM, PSA dan antibakteri ternyata kurang tepat. Faktor lain yang menyebabkan kerusakan dan keriput adalah formulasi yang kurang baik, antara bahan inti dan bahan pelapis atau dinding kapsul tidak cukup kuat untuk menahan tekanan di dalam partikel enkapsulasi (Umi Khasanah *et al.*, 2015).

Sampel GCEO3 memiliki permukaan halus, pori-pori banyak dan tidak mengalami kerusakan. Artinya formulasi nanoenkapsulasi GCEO3 memiliki formulasi yang baik dibandingkan GEO1 dan CEO1. Bentuk enkapsulasi yang ideal adalah bentuk sferis, tanpa keriput atau pinggir partikel yang rusak (Agoes, 2017).

Berdasarkan penelitian (Syahputra, 2017) bahwa enkapsulasi menggunakan bahan inti ekstrak the alga coklat, bahan pelapis maktodekstrin dan gum arab dengan metode *freeze-drying* menghasilkan permukaan yang halus, ratakan kecil dan berongga (**Gambar 10**). Hasil tersebut tidak jauh berbeda dengan hasil penelitian, artinya nanoenkapsulasi dalam penelitian menghasilkan permukaan nanoenkapsulasi yang baik.

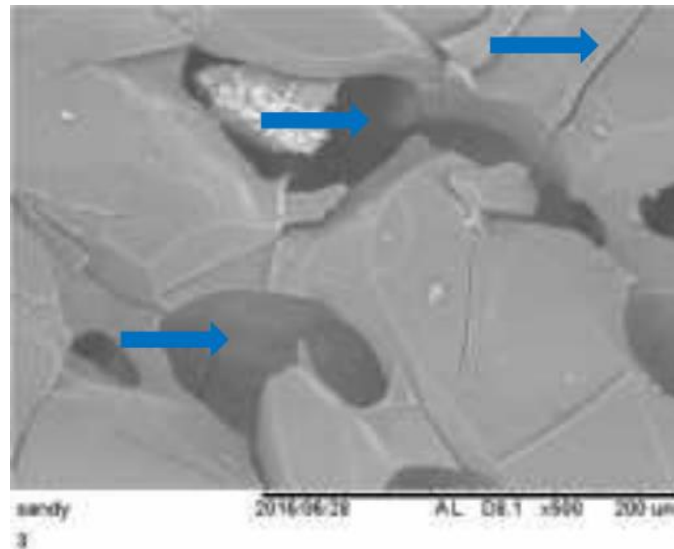


**Gambar 9.** Scanning Electron Microscopy (SEM); a. GEO1; b. CEO1 dan c. GCEO3



**Keterangan:**

- Kerusakan
- Halus
- Keriput
- ⤿ Pori-pori



**Gambar 10.** Enkapsulasi ekstrak teh alga coklat (Syahputra, 2017)

**Keterangan:**

- ➔ Halus, terdapat retakan kecil dan berongga

#### VI.4.3 Particle Size Analyzer (PSA)

Penentuan ukuran dan distribusi ukuran nanopartikel merupakan komponen yang penting dari suatu sistem nanopartikel karena dapat mempengaruhi sifat dari nanopartikel (Umar, 2019). Karakteristik ini dapat diukur menggunakan instrumen *Particle Size Analyzer* (PSA). Instrumen PSA yang di gunakan menggunakan metode *Dynamic Light Scattering* (DLS). Perinsip PSA dengan metode DLS adalah mengukur gerak *Particles in Brownian motion* (*Brownian* partikel zat) dan medium dengan mengkorelasikannya dengan ukuran partikel tersebut. Gerak *Brownian* adalah Gerakan partikel zat dan apartikel medium yang tidak pernah berhenti dan bersifat acak. Gerakan ini sangat tergantung dengan ukuran partikel dan menyebabkan partikel terdifusi pada medium. Kecepatan gerak *Brownian* ditentukan oleh koefisien difusi translasi yang diubah menjadi

ukuran partikel menggunakan persamaan *Stokes Einstein*. Hasil uji PSA untuk sampel GEO1, CEO1 dan GCEO3 dapat dilihat pada **Tabel 20**.

**Tabel 11.** Hasil uji *Particle Size Analyser* (PSA)

No	Formulasi	Ukuran partikel (Z-Average) (nm)	Distribusi ukuran partikel (PI)
1	GEO 1	233,0	0,175
2	CEO 1	191,0	0,275
3	GCEO 3	247,3	0,239

Berdasarkan **Tabel 20**, dapat dilihat sampel GEO1, CEO1 dan GCEO3 memiliki ukuran partikel sebesar 233,0; 191,0 dan 247,3 nm. Ketiga formulasi nanoenkapsulasi dapat disimpulkan bahwa ketiga sediaan yang dibuat sudah dapat dikatakan sediaan nanopartikel karena memiliki ukuran yang masuk dalam rentang suatu sistem nanopartikel yaitu 1-1000 nm (Umar, 2019). Dalam terminologi ilmiah, nano berarti  $10^{-9}$  (0,000000001), satu nanometer adalah seper seribu mikrometer, atau seper satu juta milimeter, atau seper satu miliar meter. Beberapa nanopartikel merupakan turunan dari nanokapsul-nanosfer dimana bahan aktif terintegrasi secara ketat (*intimate*) pada inti yang memelar atau nanokapsul.

Setiap partikel dengan ukuran diameter  $< 1 \mu\text{m}$  adalah nanopartikel. Beberapa lembaga mendorong peningkatan batasan menjadi  $< 100 \text{ nm}$  karena menunjukkan beberapa sifat fisika yang unik dan berpotensi menunjukkan sifat biologi yang bermanfaat. Untuk ukuran  $< 100 \text{ nm}$  lebih mudah dihasilkan dari material keras (*hard material*) dibandingkan dengan molekul obat dan polimer yang merupakan bahan lunak (*soft material*). Untuk material keras, seperti silika, oksida logam dan dinamon dengan suhu lebur lebih besar dari  $1000 \text{ }^\circ\text{C}$  (Agoes, 2017). Selain ukuran partikel PSA mampu menganalisis distribusi ukuran partikel (PI) pada suatu sampel.

*Indeks polidispersitas* (PI) merupakan salah satu parameter yang dapat menunjukkan distribusi ukuran partikel dalam suatu sistem nanopartikel (Nidhin *et al.* 2008). Hasil analisis PI dapat dilihat pada **Tabel 20**. Dimana sampel GEO1, CEO1 dan GCEO3 menghasilkan nilai PI sebesar 0,175; 0,275 dan 0,239. Secara keseluruhan nilai PI ketiga sampel formulasi nanoenkapsulasi sangat baik, masuk ke dalam rentang distribusi partikel yang sempit dan dapat dikatakan homogen. Nilai PI memiliki rentang nilai 0,1-0,5 menunjukkan distribusi ukuran yang sempit sedangkan diatas 0,5-0,7 menunjukkan distribusi ukuran yang sedang dan diatas 0,7 menunjukkan distribusi ukuran yang luas (Lu *et al.*, 2011). Dari ketiga sampel nanoenkapsulasi akan dilanjutkan untuk melakukan uji antibakteri.

### **VI.5 Uji Aktivitas Antibakteri**

Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi dan metode pengenceran. Pada penelitian ini digunakan metode *Disc diffusion test* atau uji difusi disk dilakukan dengan mengukur diameter zona bening (*clear zone*) yang merupakan petunjuk adanya respon penghambatan pertumbuhan bakteri oleh suatu senyawa antibakteri dalam suatu senyawa tersebut.

Metode difusi merupakan salah satu metode yang sering digunakan. Metode difusi dapat dilakukan dengan 3 cara yaitu metode silinder, metode sumuran atau lubang dan metode cakram kertas. Metode silinder memiliki kekurangan risiko tingginya silinder dapat jatuh. Metode cakram kertas memiliki kelurangan kurang kuantitatif dikarenakan tidak semua zat aktif terserap dalam agar dan mudahnya terjadi kontaminasi, maka metode difusi dilakukan dengan cara sumuran atau lubang, dengan kelebihan sangat minimal terjadinya kontaminasi dikarenakan sumuran atau lubang dalam satu cawan petri dapat diatur jumlah, jarak dan diameter sumuran.

Metode sumuran atau lubang yaitu membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian, kemudian sumuran dimasukan sampel yang akan diuji. Setelah dilakukan inkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya zona hambatan di sekeliling sumuran atau lubang menggunakan *interscience coloni counta* SCAN 500®,

vesion 8.0.5.0. Hasil aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae* dilihat pada **Tabel 21**.

**Tabel 12.** Hasil aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae*

No	Formulasi	Percobaan 1 (mm)	Percobaan 2 (mm)	Rata-rata nilai zona hambat (mm)	Katagori hambat
1	GEO 1	11,4	9,6	10,5	Kuat
2	CEO 1	17,8	15,8	16,8	Kuat
3	GCEO 3	17,8	21,9	19,9	Kuat
4	Minyak atsiri jahe emprit (GEO)	13,5	12,1	12,8	Kuat
5	Minyak atsiri bunga cengkeh (CEO)	19,0	19,3	19,2	Kuat
6	campuran kedua minyak (jahe emprit dan bunga cengkeh) (GCEO)	16,3	16,5	16,4	Kuat
7	Kontrol positif (Antibotik Amoxicilin 500 mg)	29,6	30,1	29,9	Sangat kuat

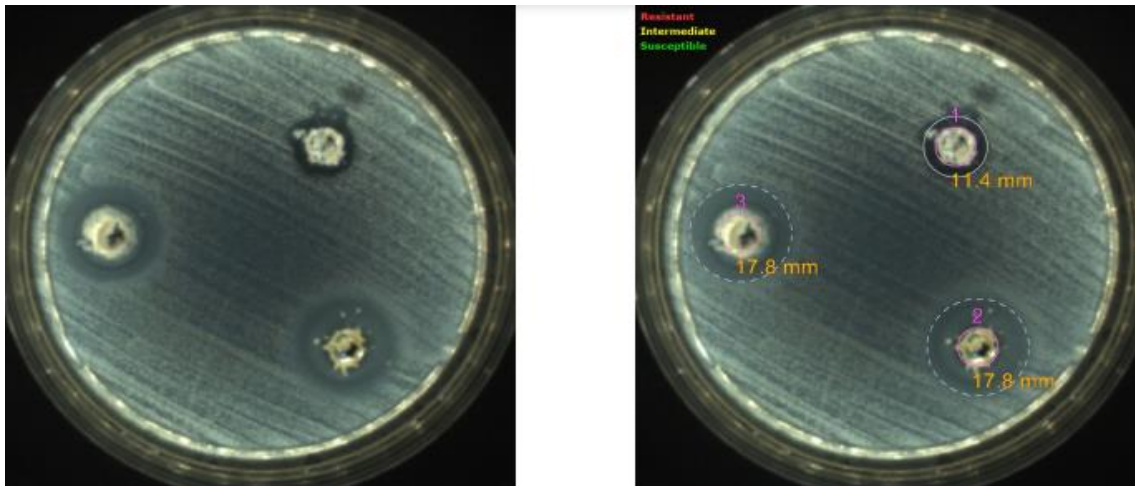
Menurut (Hidayat, 2015) jika diameter zona hambat berukuran kurang dari  $\leq 5$  mm maka respon zona hambat dikategorikan ke dalam lemah. Jika zona hambat yang terbentuk 5-10 mm, maka respon zona hambat masuk ke dalam kategori sedang, sedangkan 10-20 mm kategori kuat, dan  $\geq 21$  mm kategori sangat kuat.

Berdasarkan **Tabel 21** dapat dilihat bahwa uji aktivitas antibakteri (*Klebsiella pneumoniae*) terhadap formulasi GEO1, CEO1 dan GCEO3 memiliki nilai zona hambat sebesar 10,5; 16,8 dan 19,9 mm dengan katagori zona hambat kuat. Minyak atsiri jahe emprit (GEO), minyak atsiri bunga cengkeh (CEO), campuran kedua minyak atsiri (GCEO) dan kontrol positif memiliki nilai zona hambat sebesar 12,8; 19,2; 16,4 dan 29,9 mm dengan katagori zona hambat kuat, kuat, kuat dan sangat kuat.

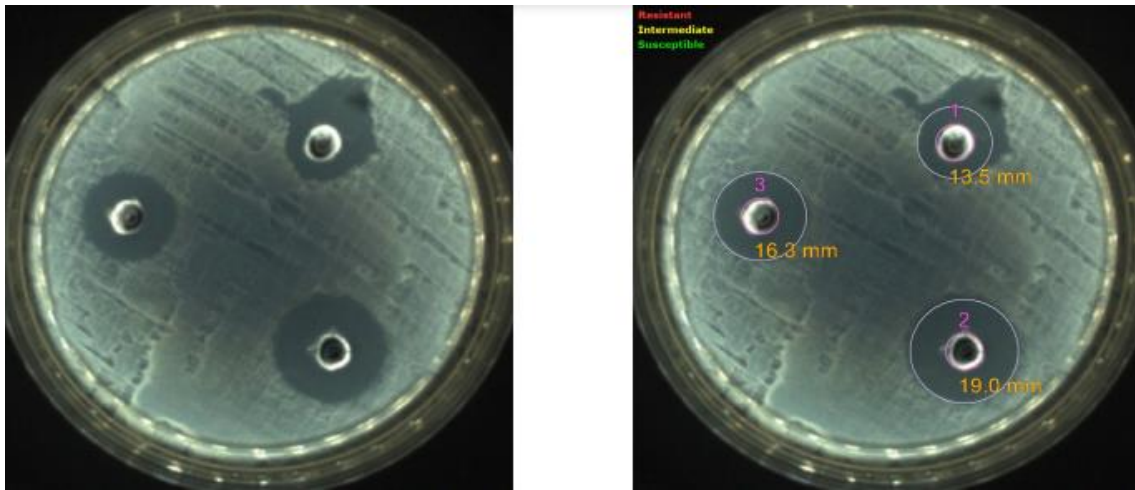
Pada sampel formulasi GEO1 memiliki nilai zona hambat 10,5 mm, sedangkan minyak atsiri jahe emprit (GEO) 12,8 mm (lebih tinggi) keduanya dalam katagori zona hambat kuat. Sampel formulasi CEO1 memiliki nilai zona hambat 16,8 mm, sedangkan minyak atsiri bunga cengkeh (CEO) 19,2 mm keduanya dalam katagori zona hambat kuat. Hal ini bisa disebabkan karena pada saat memasukan sampel GEO1 kedalam sumuran

media *Mueller Hinton Agar* (MHA) tidak rata jumlahnya, dikarenakan bentuk sediaan serbuk bukan cair yang menggunakan mikropipet.

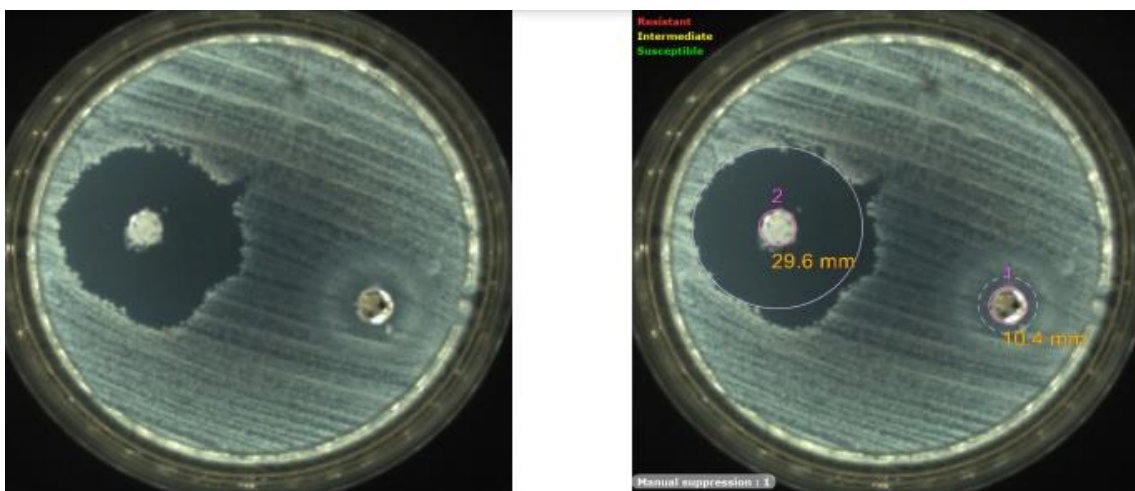
Sampel GCEO3 memiliki nilai zona hambat 19,9 mm, sedangkan campuran kedua minyak atsiri (GCEO) 16,4 mm (lebih kecil) dalam katagori zona hambat kuat memiliki sediaan nanoenkapsulasi yang baik. Hal ini dapat di lihat dengan data uji SEM dimana formulasi nanoenkapsulasi GCEO3 memiliki permukaan halus, pori-pori banyak dan tidak mengalami kerusakan. Artinya formulasi nanoenkapsulasi GCEO3 bahan inti yang berada didalamnya terenkapsulasi dengan baik dan mampu membunuh bakteri *Klebsiella pneumoniae*.



**Gambar 11.** Hasil aktivitas antibakteri GEO1, CEO1, dan GCEO3 terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae*



**Gambar 12.** Hasil aktivitas antibakteri GEO, CEO, dan GCEO terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae*



**Gambar 13.** Hasil aktivitas antibakteri kontrol negatif dan positif terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae*

Hasil aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Micrococcus luteus*. dilihat pada **Tabel 22.**

**Tabel 13.** Hasil aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Micrococcus luteus*

No	Formulasi	Perconaan 1 (mm)	Perconaan 2 (mm)	Rata-rata nilai zona hambat (mm)	Katagori hambat
1	GEO 1	10,7	11,5	11,1	Kuat
2	CEO 1	19,3	19,3	19,3	Kuat
3	GCEO 3	17,8	16,3	17,1	Kuat
4	Minyak atsiri jahe emprit (GEO)	15,2	14,1	14,7	Kuat
5	Minyak atsiri bunga cengkeh (CEO)	20,4	18,9	19,7	Kuat
6	campuran kedua miyak (jahe emprit dan bunga cengkeh) (GCEO)	20,0	19,3	19,7	Kuat
7	Kontrol positif (Antibotik Amoxicilin 500 mg)	45,9	48,5	47,2	Sangat kuat

Berdasarkan **Tabel 22**, dapat dilihat bahwa uji aktivitas antibakteri (*Micrococcus luteus*) terhadap formulasi GEO1, CEO1 dan GCEO3 memiliki nilai zona hambat lebih tinggi yaitu sebesar 11,1; 19,3 dan 17,1 mm dengan katagori zona hambat kuat. Minyak atsiri jahe emprit (GEO), minyak atsiri bunga cengkeh (CEO) dan campuran kedua minyak atsiri (GCEO) memiliki nilai zona hambat sebesar 14,7; 19,7; 19,7 dan 47,2 mm dengan katagori zona hambat kuat. Artinya formulasi nanoenkapsulasi GEO1, CEO1 dan GCEO3 bahan inti yang berada didalamnya terenkapsulasi dengan baik dan mampu membunuh bakteri *Micrococcus luteus*. Sampel kontrol positif memiliki nilai zona hambat sebesar 47,2 mm dengan katagori zona hambat sangat kuat.

Nilai zona hambat secara berturut-turut, yaitu: GEO1, CEO1 dan GCEO3 masing-masing sebesar 11,1; 19,3 dan 17,1 mm dengan katagori zona hambat kuat. Dapat dilihat bahwa dengan formulasi yang sama antara sampel GEO1 dengan CEO1 (bahan inti dan pelapis), tetapi nilai zona hambat CEO1 lebih tinggi dibandingkan GEO1. Artinya bahan inti minyak atsiri bunga cengkeh memiliki nilai antibakteri lebih tinggi dibandingkan minyak atsiri jahe emprit terhadap bakteri *Micrococcus luteus*. Hal ini dapat dilihat juga

pada formulasi GCEO3 dimana perbandingan minyak atsiri jahe emprit dan bunga cengkeh sebesar (1,5:2,5) menghasilkan zona hambat bakteri semakin tinggi dengan nilai 19,7 mm terhadap bakteri *Micrococcus luteus*.

Senyawa pada minyak atsiri jahe emprit dan bunga cengkehlah yang mampu membunuh sebagai antibakteri. 10 kandungan senyawa utama minyak atsiri jahe cengkeh adalah *ar-Curcumene*,  $\beta$ -*Sesquiphellandrene*, *E-Citral*,  $\beta$ -*Bisabolene*, *Neryl acetate*, *Z-Citral*, *Zingiberene*, *Farnesene*, *1,8-Cineole*, dan *Geraniol*.

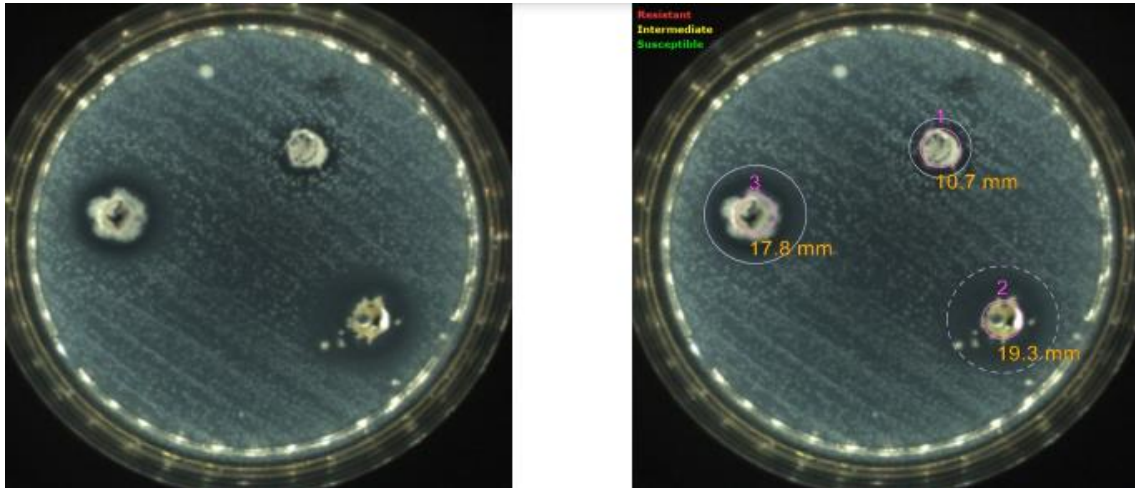
Senyawa *ar-Curcumene* berkhasiat sebagai pengikat radikal bebas dan antiinflamasi. *Beta-Sesquiphellandrene* sebagai antivirus. *E-Citral* sebagai aroma yang digunakan dalam wewangian untuk efek jeruknya, bumbu dan untuk memperkuat minyak lemon. *Z-Citral* sebagai penolak nyamuk. *Beta-Bisabolene* sebagai antibakteri, antijamur, dan antiinsetisida. *Zingiberene* memiliki khasiat sebagai antioksidan alami, antijamur, antivirus. *Alpha.-Farnesene* sebagai alarem feromon pada rayap atau hama penarik makanan pohon apel. *Geraniol* sebagai penolak nyamuk dan sebagai salah satu 599 adiktif rokok untuk meningkatkan rasa pada rokok (Riyanto, 2017).

Minyak atsiri bung cengkeh memiliki 9 senyawa utama, yaitu: *Eugenol*,  $\alpha$ -*Copaene*, *Trans* ( $\beta$ )-*Caryophyllene*,  $\alpha$ -*Humulene*, *1-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-4-methyl*, *Zingiberene*,  $\beta$ -*Bisabolene*, *Phenol*, dan (-)-*Caryophyllene oxide*.

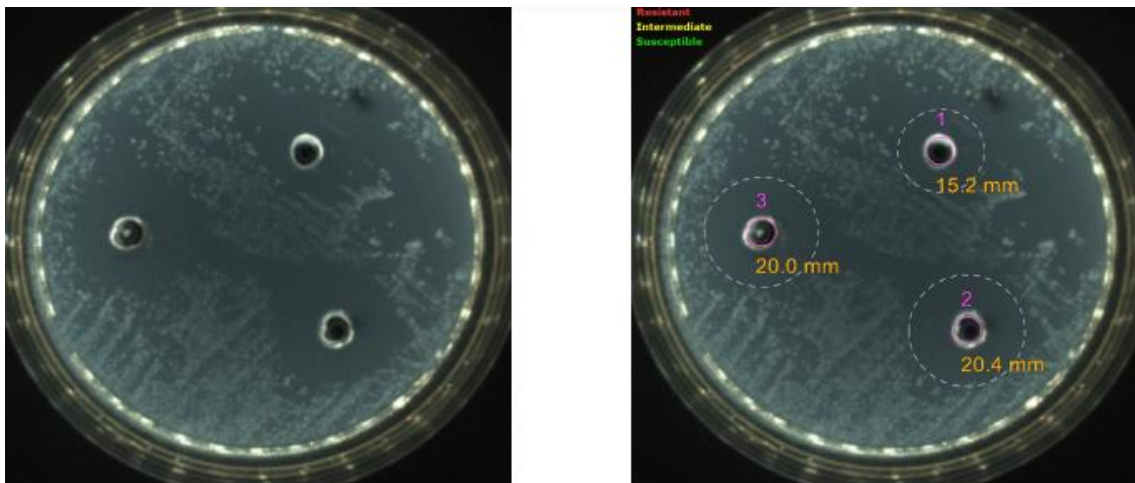
Senyawan *Eugenol* berkhasiat sebagai mengurangi gejala sikit gigi, antibakteri, analgesik, antioksidan dan antiinflamasi. *Phenol* sebagai antioksidan dan antibakteri. *Trans* ( $\beta$ )-*Caryophyllene* sebagai bubuk kristal putih.  $\alpha$ -*Humulene* sebagai pengobatan herbal apada obat gatal dan nyeri. *Geraniol* sebagai penolak nyamuk yang sensitif (Riyanto, 2017).

Menurut (Shirotake, 2014) mekanisme senyawa sebagai antimikroba akan bekerja secara ekstraseluler dan intraseluler. Ekstraseluler dengan cara menghambat sintesis dinding sel, menurunkan permeabilitas membran sel dan menurunkan fungsi asam nukleat, sedangkan intraseluler dengan cara menghambat sintesis protein dan sintesis asam folat pada mikroba. Oleh karena itu pada penelitian terdapat zona hambat atau zona bening yang memandai bahwa senyawa-senyawa pada minyak atsiri jahe emprit dan bunga cengkeh dapat digunakan sebagai antibakteri terhadap *Klebsiella pneumoniae* dan *Micrococcus luteus*.

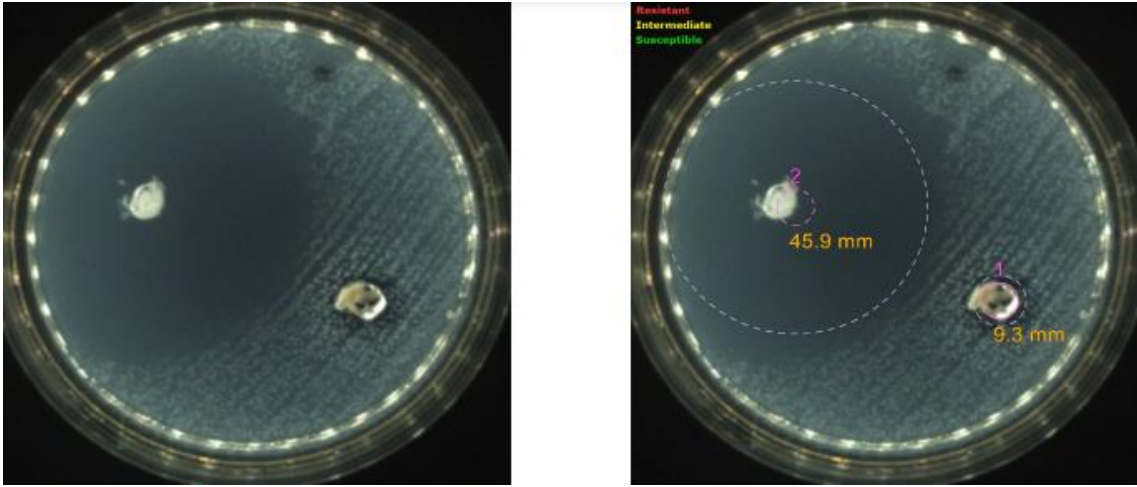




**Gambar 14.** Hasil aktivitas antibakteri GEO1, CEO1 dan GCEO3 terhadap bakteri *Micrococcus luteus*



**Gambar 15.** Hasil aktivitas antibakteri GEO, CEO dan GCEO terhadap bakteri *Micrococcus luteus*



**Gambar 16.** Hasil aktivitas antibakteri kontrol negatif dan positif terhadap bakteri *Micrococcus luteus*

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### V.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Hasil formulasi nanoenkapsulasi GEO1, CEO1 dan GCEO3 dengan keadaan sangat kering, sangat kering dan cukup kering. Warna putih, putih dan putih kekuningan. Bau tidak menyengat, tidak menyengat, dan sangat menyengat.
2. Hasil karakterisasi formulasi nanoenkapsulasi GEO1, CEO1 dan GCEO3 untuk nilai % EE sebesar: 12,5774; 18,0343; 17,1007%. Hasil karakterisasi SEM terhadap formulasi GEO 1 memiliki permukaan halus, pori-pori sedikit dan mengalami kerusakan, CEO1 memiliki permukaan berkeriput, pori-pori sedikit dan tidak mengalami kerusakan dan GCEO3 memiliki permukaan halus, pori-pori banyak dan tidak mengalami kerusakan. Hasil karakterisasi PSA terhadap formulasi GEO1, CEO1 dan GCEO3 memiliki ukuran parikel sebesar 233,0; 191,0 dan 247,3 nm dengan nilai PI sebesar 0,175; 0,275 dan 0,239.
3. Formulasi GEO1, CEO1 dan GCEO3 dapat membunuh antibakteri terhadap *Klebsiella pneumoniae* dengan nilai zona hambat sebesar 10,5; 16,8 dan 19,9 mm dengan katagori kuat, sedangkan terhadap bakteri *Micrococcus luteus* sebesar 11,1; 19,3 dan 17,1 mm dengan katagori kuat.

#### V.2 Saran

Dengan penelitian ini, diharapkan untuk dapat dikembangkan sebagai alternatif dalam pembuatan nanoenkapsulasi baik dalam segi formulasi, minyak atsiri, dan bakteri yang digunakan.



## DAFTAR PUSTAKA

- Afriani, F., Dahlan, K., Nikmatin, S., & Zuas, O. (2015). Alginate Affecting The Characteristics Of Porous Beta-Tcp/Alginate Composite Scaffolds. *Journal of Optoelectronic and Biomedical Materials*, September. <https://publons.com/publon/31759775/>
- Akdeniz, B., Sumnu, G., & Sahin, S. (2017). The effects of maltodextrin and gum Arabic on encapsulation of onion skin phenolic compounds. *Chemical Engineering Transactions*, 57, 1891–1896. <https://doi.org/10.3303/CET1757316>
- Alsaif, F., Somily, A., Alhammad, G., Almousa, A., Albasett, A., Almutawa, A., Albatli, A., Albatly, L., Alsuhaibani, R., Alajlan, Z., & Otayf, M. (2019). Isolation and identification of bacteria in mosque carpets: A cross-sectional study in Riyadh, Saudi Arabia. *International Journal of Occupational and Environmental Medicine*, 10(2), 94–96. <https://doi.org/10.15171/ijoem.2019.1569>
- Anwer, M. K., Jamil, S., Ibnouf, E. O., & Shakeel, F. (2014). Enhanced antibacterial effects of clove essential oil by nanoemulsion. *Journal of Oleo Science*, 63(4), 347–354. <https://doi.org/10.5650/jos.ess13213>
- Bassam Husain Mashat, B. H. M. (2015). Bacterial and Chemical Contamination Associated Carpet Dust in the Holy Mosque, Makkah Al-Mukarramah. *Journal of King Abdulaziz University - Meteorology, Environment and Arid Land Agriculture Sciences*, 26(2), 83–90. <https://doi.org/10.4197/met.26-2.9>
- Budiati, T., Suryaningsih, W., Umaroh, S., Poerwanto, B., Bakri, A., & Kurniawati, E. (2018). Antimicrobial activity of essential oil from Indonesian medicinal plants against food-borne pathogens. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 207(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/207/1/012036>
- Cahyono, E., Rimawati, B. C., & Kusuma, E. (2019). Antidepressant activity of patchouli alcohol microcapsule. *Journal of Physics: Conference Series*, 1321(2). <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1321/2/022039>
- Cai, C., Ma, R., Duan, M., & Lu, D. (2019). Preparation and antimicrobial activity of thyme essential oil microcapsules prepared with gum arabic. *RSC Advances*, 9(34), 19740–19747. <https://doi.org/10.1039/c9ra03323h>
- Carreras, N., Acuña, V., Martí, M., & Lis, M. J. (2013). Drug release system of ibuprofen in PCL-microspheres. *Colloid and Polymer Science*, 291(1), 157–165. <https://doi.org/10.1007/s00396-012-2768-x>
- Challaraj Emmanuel, E. S., Biji, V., & Krishna, G. N. (2020). A characteristic study on

- the effect of ginger and nutmeg extracts on *Pseudomonas* and *E.coli* biofilms. *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*, 11(1), 386–396. <https://doi.org/10.26452/ijrps.v11i1.1832>
- Chenni, M., El Abed, D., Neggaz, S., Rakotomanomana, N., Fernandez, X., & Chemat, F. (2020). Solvent free microwave extraction followed by encapsulation of *O. basilicum* L. essential oil for insecticide purpose. *Journal of Stored Products Research*, 86, 101575. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2020.101575>
- Correa-pacheco, Z. N., & Bautista-ba, S. (2017). *LWT - Food Science and Technology Physicochemical characterization of chitosan nanoparticles and nanocapsules incorporated with lime essential oil and their antibacterial activity against food-borne pathogens*. 77, 15–20. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.11.022>
- Das, A., Dey, S., Sahoo, R. K., Sahoo, S., & Subudhi, E. (2019). Antibiofilm and Antibacterial Activity of Essential Oil Bearing *Zingiber officinale* Rosc. (Ginger) Rhizome Against Multi-drug Resistant Isolates. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 22(4), 1163–1171. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2019.1683080>
- De Matos, E. F., Scopel, B. S., & Dettmer, A. (2018). Citronella essential oil microencapsulation by complex coacervation with leather waste gelatin and sodium alginate. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 6(2), 1989–1994. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2018.03.002>
- Djiuardi, E., Fardiaz, D., & Purwadaria, H. K. (2018). Stability and characteristics of encapsulated nutmeg essential oil as flavor ingredient. *Acta Horticulturae*, 1213, 41–47. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2018.1213.5>
- Goes, Goeswin (2010). *Enkapsulasi Farmasetik*. Bandung. ITB
- Hadidi, M., Pouramin, S., Adinepour, F., Haghani, S., & Jafari, S. M. (2020). Chitosan nanoparticles loaded with clove essential oil: Characterization, antioxidant and antibacterial activities. *Carbohydrate Polymers*, 236(February), 116075. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116075>
- Hidayat, H. (2015). Identifikasi Morfologi Dan Uji Aktivitas Antimikroba Terhadap Bakteri *Escherichia Coli* Dari Fermentasi Buah Markisa (*Passiflora* Sp.). *Jurnal Eksakta*, 15(1–2), 76–85. <https://doi.org/10.20885/eksakta.vol15.iss1-2.art8>
- Jayanudin, J. (2018). Komposisi kimia minyak atsiri daun cengkeh dari proses penyulingan uap. *Jurnal Teknik Kimia Indonesia*, 10(1), 37. <https://doi.org/10.5614/jtki.2011.10.1.5>
- Lammari, N., Louaer, O., Meniai, A. H., & Elaissari, A. (2020). Encapsulation of essential oils via nanoprecipitation process: Overview, progress, challenges and

prospects. *Pharmaceutics*, 12(5), 1–21.  
<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12050431>

- Lestari, Widya C., (2017). Efek Antibakteri Uap Minyak Atsiri Bunga Cengkeh (*Syzygium Aromaticum* L.) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia Coli* Dan *Staphylococcus Aureus* Dengan Metode Gaseous Contact. UII
- Lin, L., Chen, W., Li, C., & Cui, H. (2019). Enhancing stability of *Eucalyptus citriodora* essential oil by solid nanoliposomes encapsulation. *Industrial Crops and Products*, 140(July), 111615. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111615>
- Lischer, K., Hermansyah, H., & Mahira, K. F. (2019). Encapsulation Of Agarwood Essential Oil With Maltodextrin And Gum Arabic. *Encapsulation Of Agarwood Essential Oil With Maltodextrin And Gum Arabic*, 10(8), 1541–1547.
- Marquiafável, F. S., Nascimento, A. P., Barud, H. da S., Marquele-Oliveira, F., de-Freitas, L. A. P., Bastos, J. K., & Berretta, A. A. (2015). Development and characterization of a novel standardized propolis dry extract obtained by factorial design with high artepillin C content. *Journal of Pharmaceutical Technology and Drug Research*, 4(1), 1. <https://doi.org/10.7243/2050-120x-4-1>
- Mohamed Ali, M. M., Alemar, F., Alrtail, A., Rzeg, M. M., Albakush, A. M., & Ghenghesh, K. S. (2014). High isolation rates of multidrug-resistant bacteria from water and carpets of mosques. *Libyan Journal of Medicine*, 9(1). <https://doi.org/10.3402/ljm.v9.25415>
- Pellicer, J. A., Fortea, M. I., Trabal, J., Rodríguez-López, M. I., Gabaldón, J. A., & Núñez-Delicado, E. (2019). Stability of microencapsulated strawberry flavour by spray drying, freeze drying and fluid bed. *Powder Technology*, 347, 179–185. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2019.03.010>
- Radünz, M., da Trindade, M. L. M., Camargo, T. M., Radünz, A. L., Borges, C. D., Gandra, E. A., & Helbig, E. (2019). Antimicrobial and antioxidant activity of unencapsulated and encapsulated clove (*Syzygium aromaticum*, L.) essential oil. *Food Chemistry*, 276, 180–186. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.173>
- Rahouma, A., Elghamoudi, A., Nashnoush, H., Belhaj, K., Tawil, K., & Ghenghesh, K. S. (2010). Isolation of antibiotic-resistant pathogenic and potentially pathogenic bacteria from carpets of mosques in Tripoli, Libya. *Libyan Journal of Medicine*, 5(1). <https://doi.org/10.3402/ljm.v5i0.5536>
- Rakhashiya, P. M., Patel, P. P., & Thaker, V. S. (2016). Whole genome sequences and annotation of *Micrococcus luteus* SUBG006, a novel phytopathogen of mango. *Genomics Data*, 6, 10–11. <https://doi.org/10.1016/j.gdata.2015.07.022>

- Rakmai, J., Cheirsilp, B., Torrado-Agrasar, A., Simal-Gándara, J., & Mejuto, J. C. (2017). Encapsulación de aceite esencial de milenrama en hidroxipropil-beta-ciclodextrina. Caracterización fisicoquímica y evaluación de bioeficiencia. *CYTA - Journal of Food*, 15(3), 409–417. <https://doi.org/10.1080/19476337.2017.1286523>
- Rialita, Tita; Rahayu, Winiati Pudji; Nuraida, Lilis; Nurtama, B. (2015). Aktivitas Antimikroba Minyak Esensial Jahe Merah Schum ) Terhadap Bakteri Patogen Dan Perusak Pangan. *Agritech*, 35(1), 43–52.
- Riyannto (2017). Minyak Atsiri Empon-empon: Kandungan Senyawan dan Manfaatnya. Yogyakarta. Universitas Islam Indonesia
- Riyanto, Umayah, S., & Marhaendro, P. (2021). The uniqueness of isolation of nutmeg essential oil from nutmeg seeds (*Myristica fragrans* houtt.) and its effects on physical and chemical properties. *Indian Journal of Natural Products and Resources*, 12(2), 247–255.
- Sastrohamidjojo, Hardjono (2004). Kimia Minyak Atsiri. Yogyakarta. Gajah Mada University Press.
- Turasan, H., Sahin, S., & Sumnu, G. (2015). Encapsulation of rosemary essential oil. *LWT - Food Science and Technology*, 64(1), 112–119. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.05.036>
- Umi Khasanah, L., Anandhito, B. K., Rachmawaty, T., Utami, R., & Manuhara, G. J. (2015). Pengaruh Rasio Bahan Penyalut Maltodekstrin, Gum Arab, Dan Susu Skim Terhadap Karakteristik Fisik Dan Kimia Mikrokapsul Oleoresin Daun Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*). *Jurnal Agritech*, 35(04), 414. <https://doi.org/10.22146/agritech.9325>
- Unalan, I., Endlein, S. J., Slavik, B., Buettner, A., Goldmann, W. H., Detsch, R., & Boccaccini, A. R. (2019). Evaluation of electrospun poly( $\epsilon$ -caprolactone)/gelatin nanofiber mats containing clove essential oil for antibacterial wound dressing. *Pharmaceutics*, 11(11). <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics11110570>
- Wang, X., Shen, Y., Thakur, K., Han, J., Zhang, J. G., Hu, F., & Wei, Z. J. (2020). Antibacterial Activity and Mechanism of Ginger Essential Oil against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Molecules*, 25(17). <https://doi.org/10.3390/molecules25173955>
- Xu, J. G., Liu, T., Hu, Q. P., & Cao, X. M. (2016). Chemical composition, antibacterial properties and mechanism of action of essential oil from clove buds against *staphylococcus aureus*. *Molecules*, 21(9), 1–13. <https://doi.org/10.3390/molecules21091194>



Yang, Y. H., Li, X. Z., & Zhang, S. (2018). Preparation methods and release kinetics of: Litsea cubeba essential oil microcapsules. *RSC Advances*, 8(52), 29980–29987. <https://doi.org/10.1039/c8ra05769a>

## LAMPIRAN

### Perhitungan % Rendamen minyak atsiri

#### 1. Minyak atsiri jahe enprit (GEO)

Diketahui : Berat sampel = 4 Kg = 4000 g

volume GEO = 31,2 mL

piknometer kosong = 22,339 g

piknometer + air = 32,352 g

piknometer + GEO = 31,091 g

Ditanyakan :  $\rho$  minyak atsiri.....?

$$\begin{aligned}\text{Jawab} : \rho \text{ minyak atsiri} &= \frac{(\text{piknometer} + \text{GEO}) - (\text{piknometer kosong})}{(\text{piknometer} + \text{air}) - (\text{piknometer kosong})} \\ &= \frac{(31,091 \text{ g}) - (22,339 \text{ g})}{(32,352 \text{ g}) - (22,339 \text{ g})} = 0,8740 \text{ g}\end{aligned}$$

Catatan g = mL sedangkan Kg = L

Ditanyakan : m minyak atsiri.....?

$$\begin{aligned}\text{Jawab} : \rho \times v \\ &= 0,8740 \text{ g/mL} \times 31,2 \text{ mL} = 27,2688 \text{ g}\end{aligned}$$

Ditanyakan : % Rendamen minyak atsiri.....?

$$\begin{aligned}\text{Jawab} : \% \text{ Rendamen} &= \frac{\text{Berat hasil}}{\text{Berat sampel}} \\ &= \frac{27,2688 \text{ g}}{4000 \text{ g}} \times 100\% = 0,6817\%\end{aligned}$$

#### 2. Minyak atsiri bunga cengkeh (CEO)

Diketahui : Berat sampel = 1,25 Kg = 125 g

volume CEO = 55 mL

piknometer kosong = 22,339 g

piknometer + air = 32,352 g

piknometer + CEO = 32,937 g

Ditanyakan :  $\rho$  minyak atsiri.....?

$$\text{Jawab} : \rho \text{ minyak atsiri} = \frac{(\text{piknometer} + \text{CEO}) - (\text{piknometer kosong})}{(\text{piknometer} + \text{air}) - (\text{piknometer kosong})}$$

$$= \frac{(32,937 \text{ g}) - (22,339 \text{ g})}{(32,352 \text{ g}) - (22,339 \text{ g})} = 1,0584 \text{ g}$$

Catatan g = mL sedangkan Kg = L

Ditanyakan : m minyak atsiri.....?

Jawab :  $\rho \times v$   
 $= 1,0584 \text{ g/mL} \times 55 \text{ mL} = 58,212 \text{ g}$

Ditanyakan : % Rendamen minyak atsiri.....?

Jawab : % Rendamen =  $\frac{\text{Berat hasil}}{\text{Berat sampel}}$   
 $= \frac{58,212 \text{ g}}{1250 \text{ g}} \times 100\% = 4,656\%$

## Perhitungan media uji aktivitas antibakteri

### 1. Media *Tryptone Soya Agar* (TSA)

Diketahui : *Tryptone Soya Agar* (TSA)  $40\text{ g}/1000\text{ mL}$   
 $\Sigma$  sediaan ad 20 mL

Ditanyakan : Berapa berat TSA yang ditimbang.....?

Jawab : *Tryptone Soya Agar* (TSA)  $= \frac{40\text{ g}}{1000\text{ mL}} \times 20\text{ mL}$   
 $= 0,8\text{ g}$

Dilartukan dengan Aquadest ad 20 mL

### 2. Media *Mueller Hinton Agar* (MHA)

Diketahui : Media *Mueller Hinton Agar* (MHA)  $38\text{ g}/1000\text{ mL}$   
12 buah cawan petri (6 untuk *Klebsiella pneumoniae* dan 6 untuk  
*Micrococcus luteus*), 1 cawan petri sebanyak 20 mL ketebalan 5 mm.

Ditanyakan : Berapa berat MHA yang ditimbang.....?

Jawab : Media *Mueller Hinton Agar* (MHA)  $= \frac{38\text{ g}}{1000\text{ mL}} \times 240\text{ mL}$   
 $= 9,12\text{ g}$

Dilartukan dengan Aquadest ad 240 mL

Hasil uji Determinasi jahe emprit dan bunga cengkeh



**UNIVERSITAS GADJAH MADA  
FAKULTAS FARMASI**

Sekip Utara, Yogyakarta 55281 Telp./Fax. +62 274 543120  
<http://farmasi.ugm.ac.id>, E-mail: [farmasi@ugm.ac.id](mailto:farmasi@ugm.ac.id)

**SURAT KETERANGAN**

**No.: 20.25.10/UN1/FFA/BF/PT/2021**

Yth. Sri Umayah  
Mahasiswa FMIPA (NIM: 19923013)  
Universitas Islam Indonesia

25 Oktober 2021

Dalam rangka menindaklanjuti permohonan identifikasi sampel yang disampaikan ke Departemen Biologi Farmasi Fakultas Farmasi UGM, maka berikut kami sampaikan keterangan atas hasil identifikasi yang telah dilakukan oleh tenaga ahli kami :

No.Pendaftaran	Jenis	Suku
78	<i>Zingiber officinale</i> Roscoe	Zingiberaceae
	<i>Syzygium aromaticum</i> (L.) Merr. & L.M. Perry	Myrtaceae

Demikian surat ini dibuat untuk dapat digunakan sebagaimana mestinya.

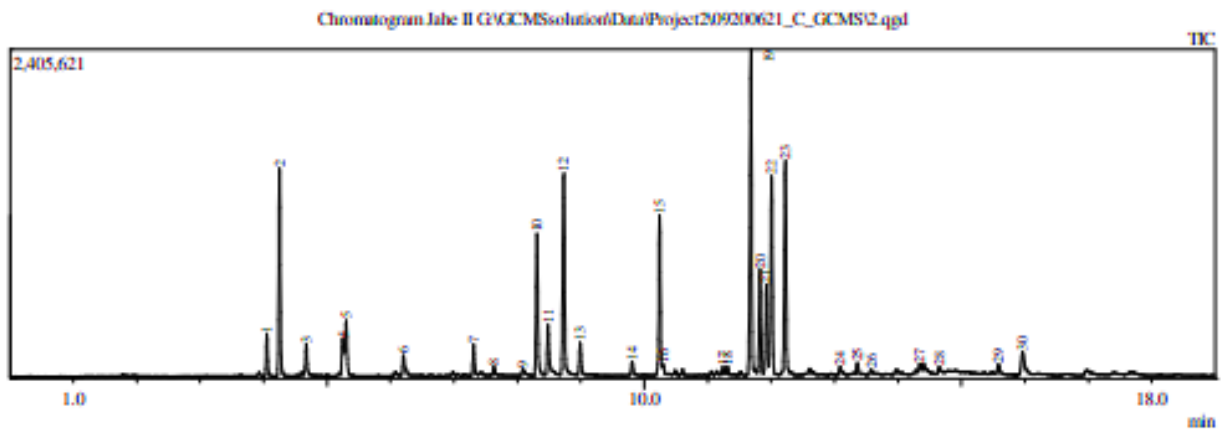
Mengetahui,  
Dekan



Ketua Departemen Biologi Farmasi

## Hasil uji GC-MS minyak atsiri jahe emprit

Sample Information	
Analyzed by	: Admin
Analyzed	: 6/30/2021 9:12:42 AM
Sample Name	: Jahe II
Sample ID	: 2
Injection Volume	: 0.10
Data File	: G:\GCMSsolution\Data\Project209200621_C_GCMS2.qgd
Tuning File	: C:\GCMSsolution\System1\Tuning 15 Juni 2021.qgt



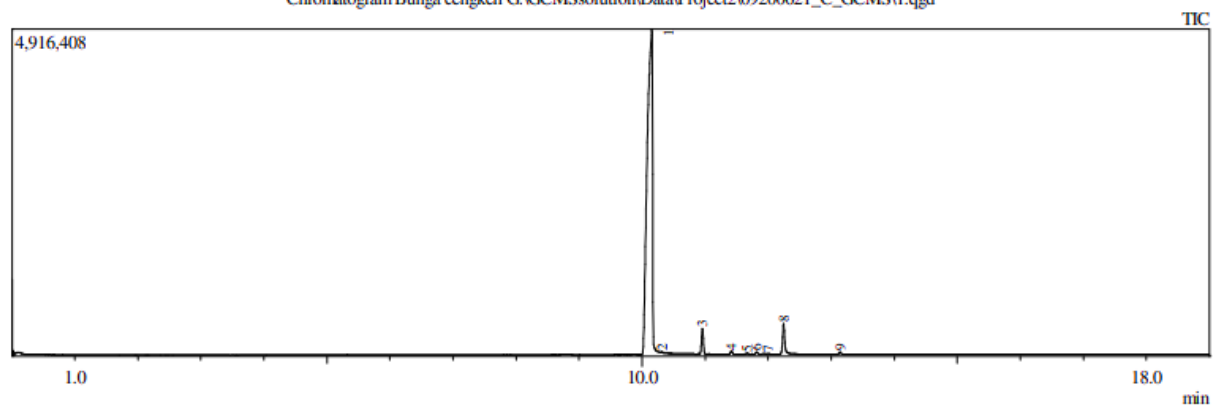
Peak Report TIC						
Peak#	R.Time	I.Time	F.Time	Area	Area%	Height
1	4.049	3.970	4.110	502316	1.60	309163
2	4.248	4.200	4.340	2651018	8.47	1518434
3	4.673	4.615	4.730	445975	1.42	230604
4	5.246	5.210	5.275	683066	2.18	269957
5	5.300	5.275	5.365	792508	2.53	405636
6	6.205	6.130	6.295	357325	1.14	145445
7	7.309	7.265	7.380	472847	1.51	227229
8	7.632	7.595	7.685	136863	0.44	64485
9	8.086	8.050	8.155	125520	0.40	50561
10	8.307	8.255	8.405	2121372	6.78	1035249
11	8.481	8.440	8.555	748815	2.39	355847
12	8.728	8.670	8.830	3113830	9.94	1465966
13	8.991	8.945	9.065	485060	1.55	236605
14	9.808	9.765	9.860	200222	0.64	100707
15	10.244	10.170	10.280	2340333	7.47	1167766
16	10.299	10.280	10.350	149109	0.48	73518
17	11.241	11.195	11.275	132511	0.42	63576
18	11.310	11.275	11.355	125413	0.40	64233
19	11.682	11.610	11.730	5329050	17.00	2379193
20	11.826	11.780	11.880	1567312	5.01	775107
21	11.926	11.880	11.960	1288292	4.11	658621
22	12.009	11.960	12.080	2979528	9.52	1449376
23	12.225	12.165	12.300	3158049	10.09	1553846
24	13.086	13.045	13.130	120292	0.38	56688
25	13.361	13.325	13.410	183031	0.58	85594
26	13.577	13.540	13.640	96647	0.31	36530
27	14.342	14.310	14.375	131190	0.42	62943
28	14.653	14.610	14.700	107273	0.34	41421
29	15.582	15.540	15.640	171913	0.55	65235
30	15.961	15.905	16.085	600177	1.92	165040
				31310857	100.00	15114575

## Hasil uji GC-MS minyak atsiri bunga cengkeh

### Sample Information

Analyzed by : Admin  
 Analyzed : 6/30/2021 8:38:59 AM  
 Sample Name : Bunga cengkeh  
 Sample ID : 1  
 Injection Volume : 0.10  
 Data File : G:\GCMSsolution\Data\Project2\09200621\_C\_GCMS\1.qgd  
 Tuning File : C:\GCMSsolution\System\Tune1\Tuning 15 Juni 2021.qgt

Chromatogram Bunga cengkeh G:\GCMSsolution\Data\Project2\09200621\_C\_GCMS\1.qgd



Peak#	R.Time	LTime	F.Time	Area	Area%	Height
1	10.151	9.980	10.425	28783405	92.97	4881224
2	10.320	10.295	10.345	10161	0.03	7488
3	10.957	10.910	11.010	777416	2.51	381456
4	11.415	11.370	11.470	101434	0.33	46152
5	11.667	11.625	11.710	27791	0.09	13542
6	11.820	11.780	11.860	59715	0.19	30215
7	11.998	11.970	12.070	23836	0.08	9631
8	12.245	12.170	12.375	1094655	3.54	463117
9	13.139	13.070	13.190	82083	0.27	34828
				30960496	100.00	5867653

## Hasil uji *Gas Chromatography* (GC) minyak atsiri jahe emprit (GEO)

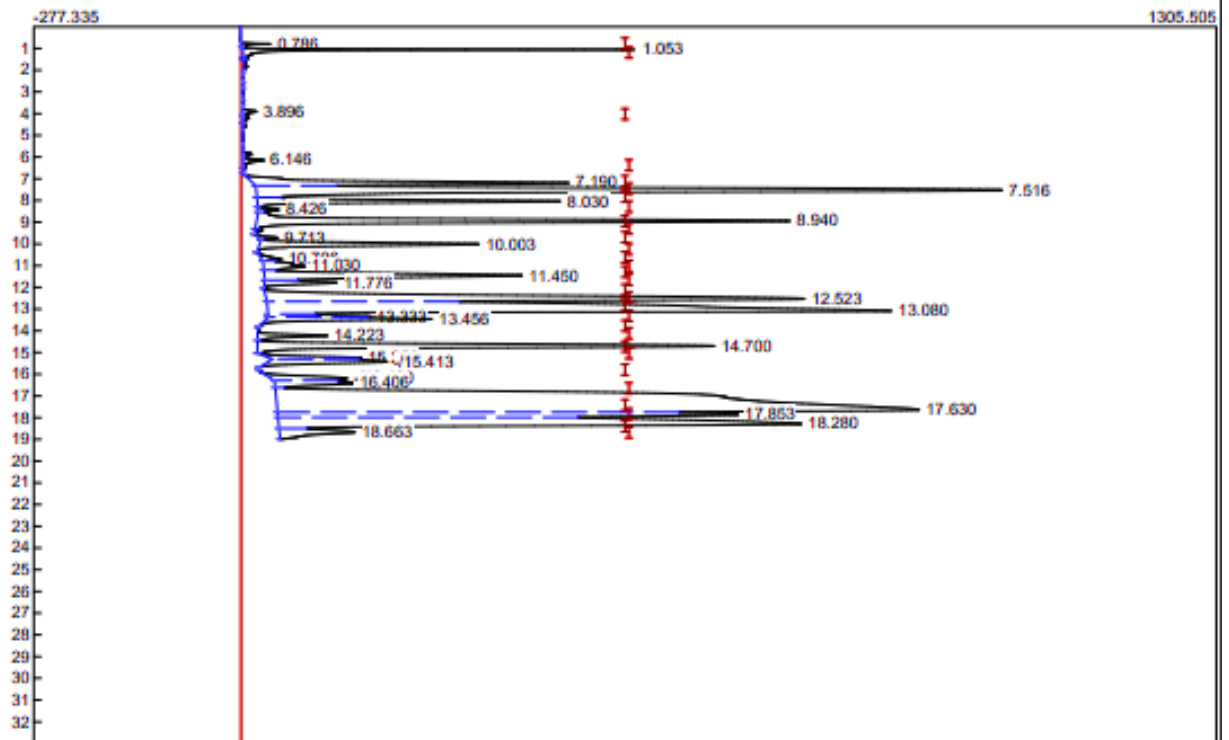
Lab name: lab  
 Analysis date: 03/15/2022 09:54:31  
 Method: Syringe Injection  
 Lab ID:  
 Description: FID-CHANNEL 1  
 Column: RESTEK 15METER MXT-1  
 Carrier: Nitrogen 25 PSI  
 Temp. prog:  
 Events: C:\Peak426-32bifuji.evt  
 Components:  
 Sample: minyak jahe  
 Comments: fid 250  
 inct 230

### Temperature program:

Init temp	Hold	Ramp	Final temp
60.00	0.000	10.000	200.00
200.00	5.000	0.000	200.00

### Events:

Time	Event
0.001	ZERO
0.001	A ON (StopFlow)





Retention	Component	Area	Area %
0.786		136.8578	0.0906
1.053		2073.8680	1.3725
3.896		146.9108	0.0972
6.146		271.5819	0.1797
7.190		4484.9426	2.9681
7.516		13795.9480	9.1302
8.030		3701.4950	2.4496
8.426		225.6437	0.1493
8.940		8126.5232	5.3781
9.713		174.0978	0.1152
10.003		3040.7738	2.0124
10.706		276.0860	0.1827
11.030		910.2240	0.6024
11.450		4564.6440	3.0209
<hr/>			
11.776		968.9107	0.6412
12.523		11008.5732	7.2855
13.080		17581.6876	11.6356
13.333		870.8736	0.5763
13.456		1989.5846	1.3167
14.223		854.7702	0.5657
14.700		7172.7291	4.7469
15.256		1015.8554	0.6723
16.406		1378.1804	0.9121
17.630		39545.7447	26.1714
17.853		7757.4362	5.1339
18.280		14306.0794	9.4678
18.663		1558.6470	1.0315
		147938.6687	100.0000

## Hasil uji *Gas Chromatography* (GC) minyak atsiri bunga cengkeh (CEO)

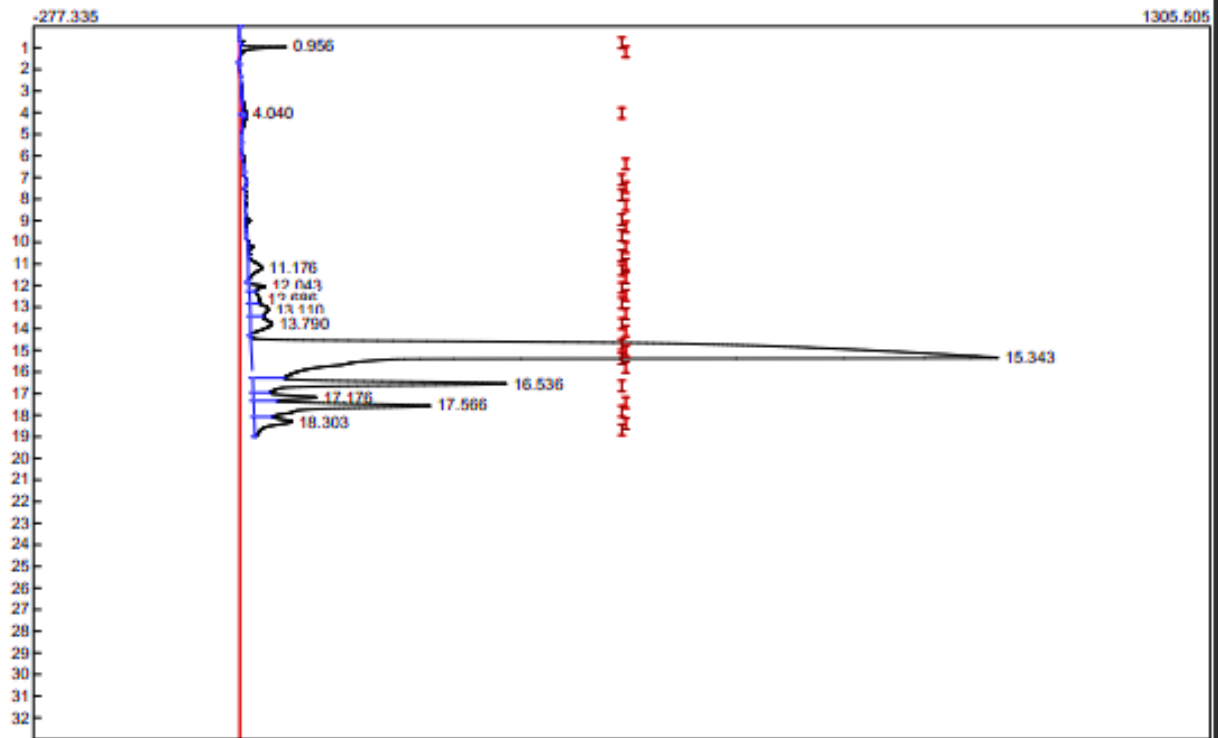
Lab name: lab  
 Analysis date: 03/15/2022 10:21:01  
 Method: Syringe Injection  
 Lab ID:  
 Description: FID-CHANNEL 1  
 Column: RESTEK 15METER MXT-1  
 Carrier: Nitrogen 25 PSI  
 Temp. prog:  
 Events: C:\Peak426-32b\fuji.evt  
 Components:  
 Sample: Minyak cengkeh.  
 Comments: fid 250  
 inct 230

### Temperature program:

Init temp	Hold	Ramp	Final temp
60.00	0.000	10.000	200.00
200.00	5.000	0.000	200.00

### Events:

Time	Event
0.001	ZERO
0.001	A ON (StopFlow)



Retention	Component	Area	Area %
0.956		400.2385	0.6852
4.040		116.6941	0.1998
11.176		578.3961	0.9902
12.043		292.3400	0.5005
12.686		390.4002	0.6684
13.110		724.0246	1.2395
13.790		952.4526	1.6306
15.343		43417.6780	74.3311
16.536		4937.3356	8.4527
17.176		1166.2330	1.9966
17.566		4249.0134	7.2743
18.303		1186.3744	2.0311
		58411.1805	100.0000

## Hasil uji *Gas Chromatography* (GC) campuran kedua minyak atsiri (GCEO)

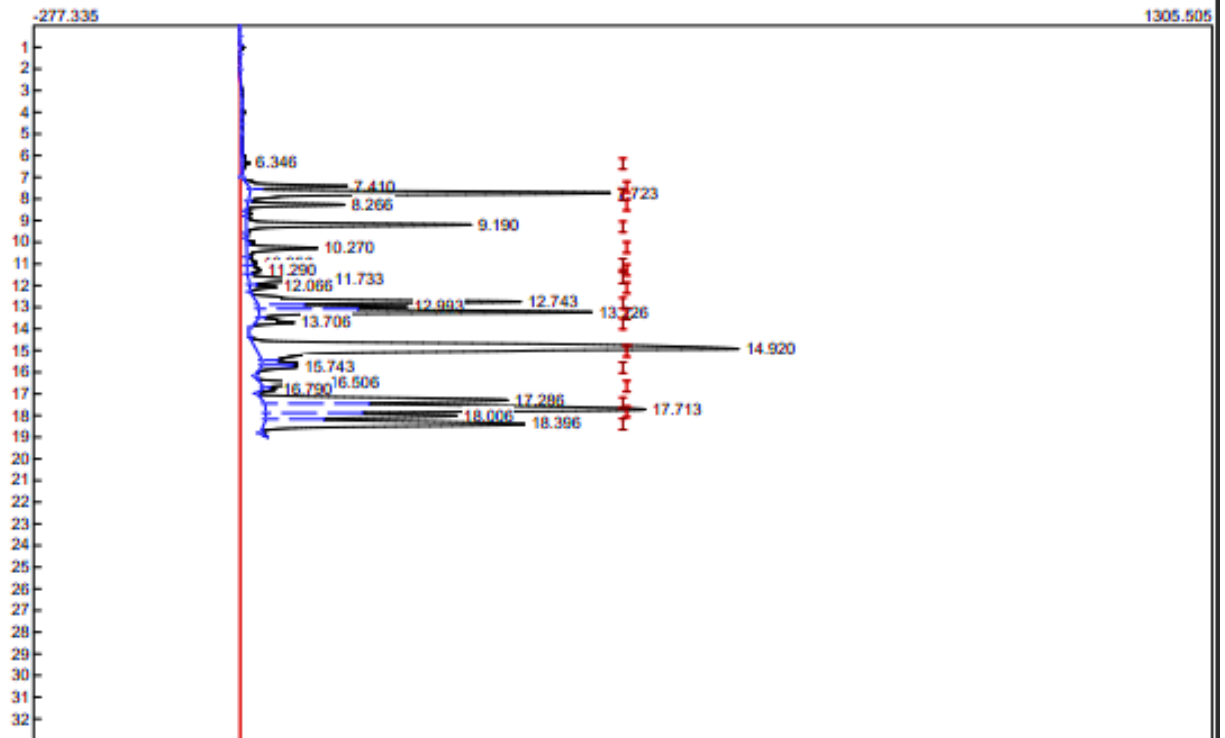
Lab name: lab  
 Analysis date: 03/15/2022 10:48:17  
 Method: Syringe Injection  
 Lab ID:  
 Description: FID-CHANNEL 1  
 Column: RESTEK 15METER MXT-1  
 Carrier: Nitrogen 25 PSI  
 Temp. prog:  
 Events: C:\Peak426-32bifuji.evt  
 Components:  
 Sample: Minyak Campuran  
 Comments: fid 250  
 inct 230

### Temperature program:

Init temp	Hold	Ramp	Final temp
60.00	0.000	10.000	200.00
200.00	5.000	0.000	200.00

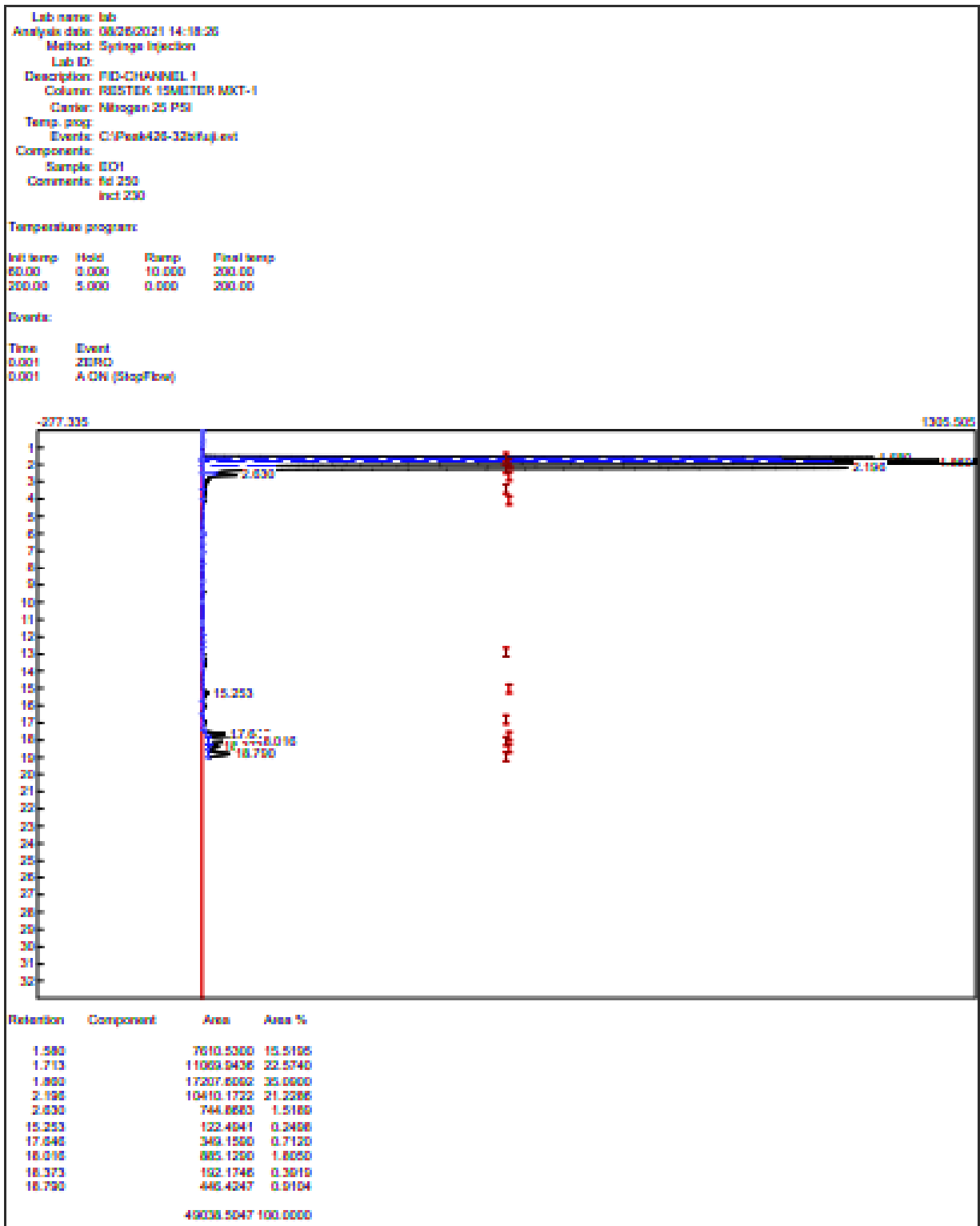
### Events:

Time	Event
0.001	ZERO
0.001	A ON (StopFlow)



Retention	Component	Area	Area %
6.346		127.0930	0.2013
7.410		1242.9080	1.9683
7.723		5335.3918	8.4493
8.266		1084.9796	1.7182
9.190		2908.4078	4.6059
10.270		1069.9492	1.6944
10.956		194.2682	0.3076
11.290		295.3516	0.4677
11.733		1245.5762	1.9725
12.066		329.5038	0.5218
12.743		3647.0610	5.7756
12.993		1745.9092	2.7649
13.226		4716.1438	7.4686
13.706		611.9976	0.9692
<hr/>			
14.920		14185.1828	22.4641
15.600		488.5570	0.7737
15.743		518.2390	0.8207
16.506		924.7062	1.4644
16.790		177.8400	0.2816
17.286		4695.8708	7.4365
17.713		9058.2298	14.3449
18.006		3117.9012	4.9376
18.396		5424.8218	8.5909
		63145.8894	100.0000

## Hasil uji GEO1 Gas Chromatography (GC)



## Hasil uji GEO4 Gas Chromatography (GC)

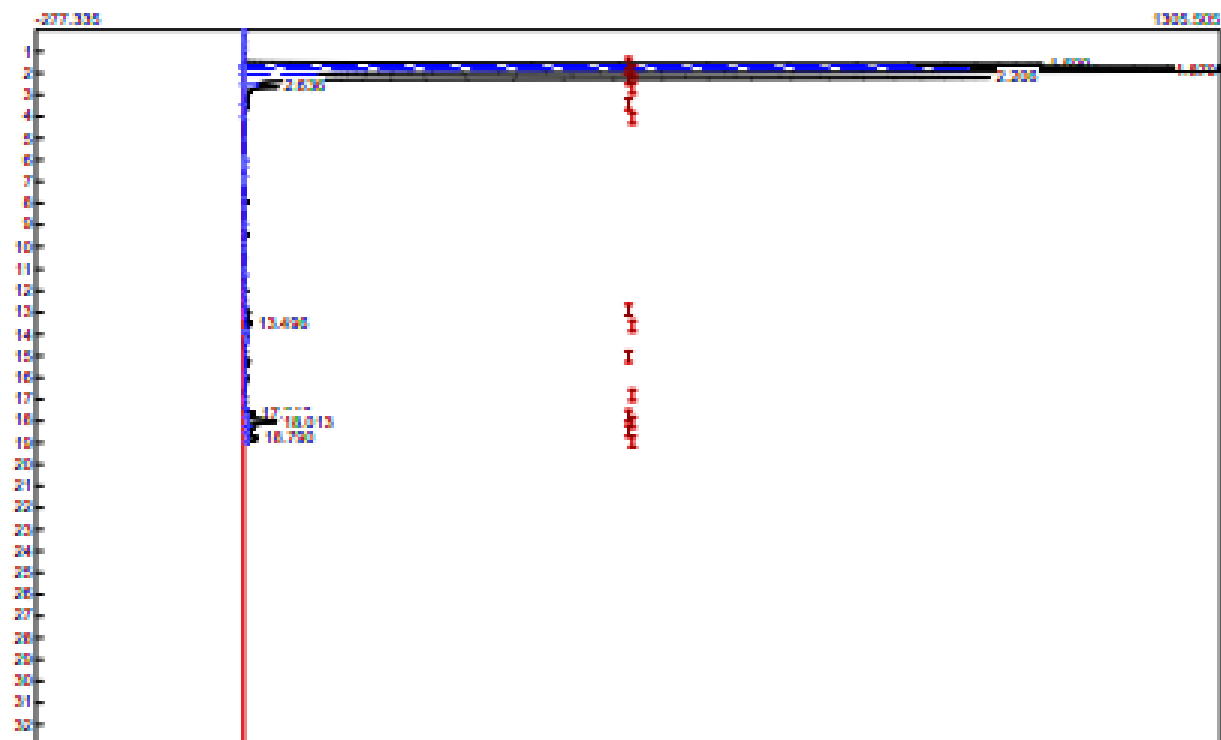
Lab name: lab  
 Analysis date: 08/26/2021 14:49:48  
 Method: Syringe Injection  
 Lab ID:  
 Description: FID-CHANNEL 1  
 Column: RESTEK 15METER MXT-1  
 Carrier: Nitrogen 25 PSI  
 Temp. prog:  
 Event: C:\Peak428-32bit\uj1.evt  
 Component:  
 Sample: GEO4  
 Comments: Rd 250  
 Incl 230

### Temperature program:

Init temp	Hold	Ramp	Final temp
60.00	0.000	10.000	200.00
200.00	5.000	0.000	200.00

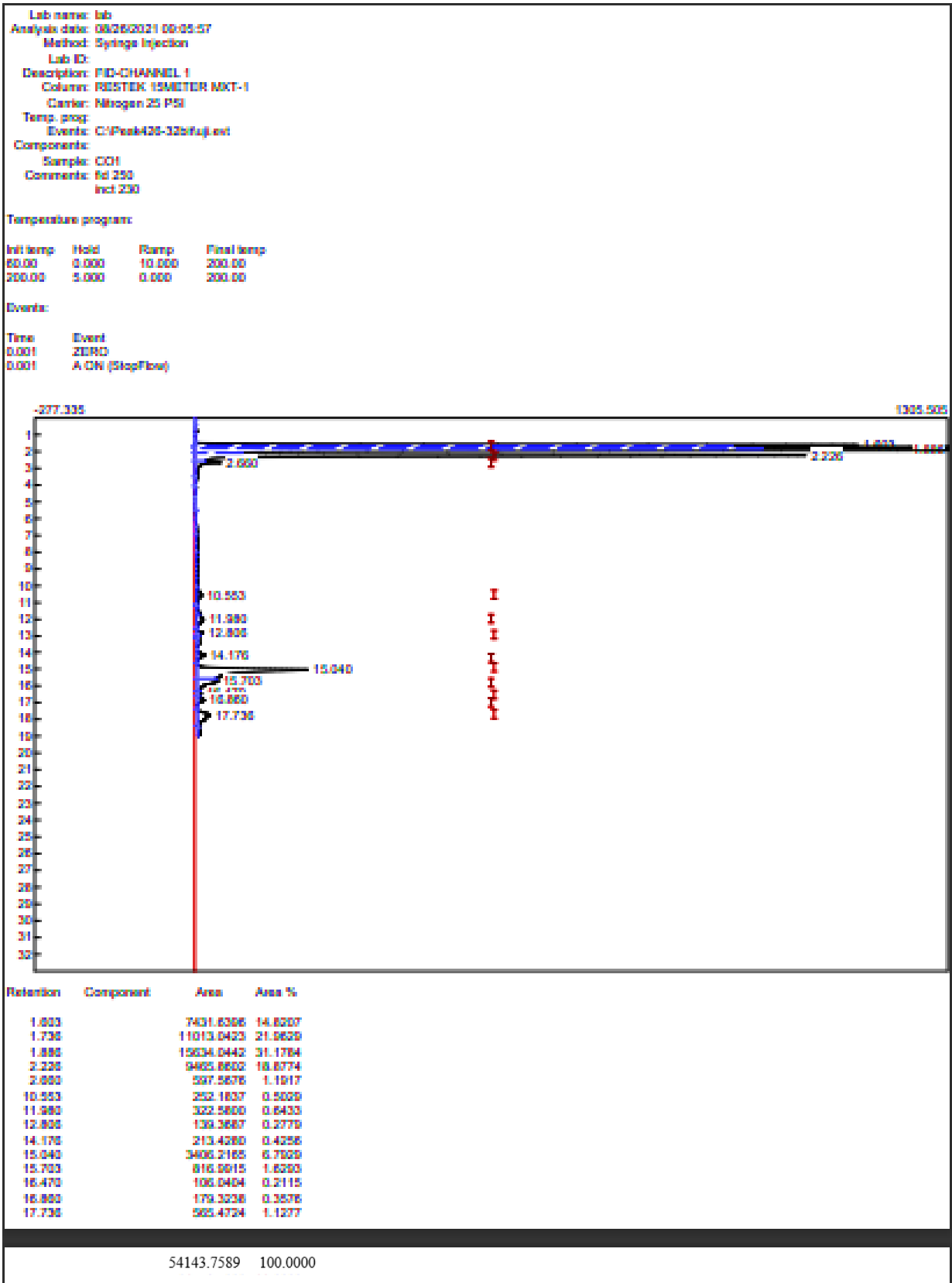
### Event:

Time	Event
0.001	ZERO
0.001	A.ON (StopFlow)



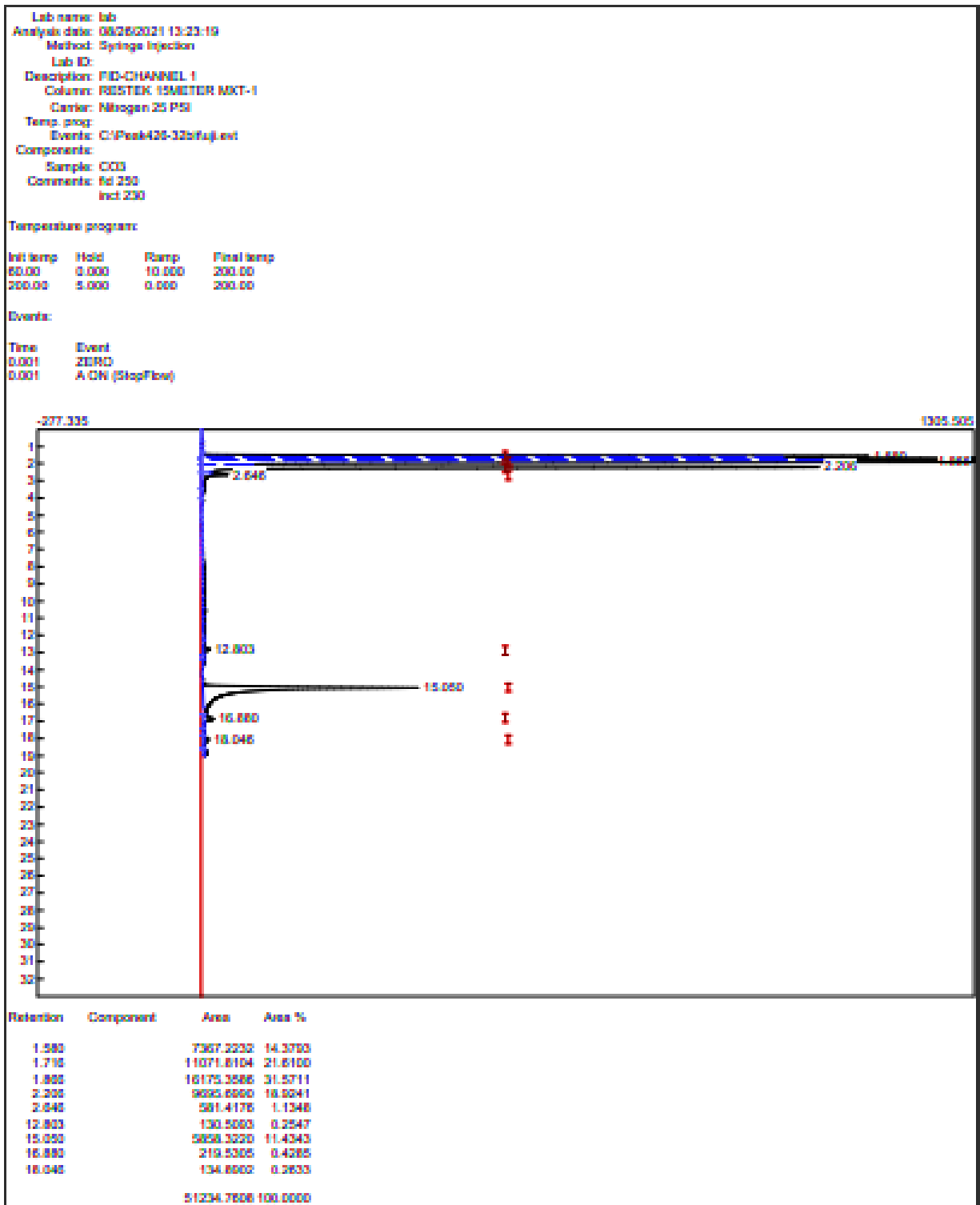
Retention	Component	Area	Area %
1.330		7156.1744	16.7518
1.723		9947.4800	23.2923
1.870		14676.3552	35.0676
2.200		9164.7704	21.4508
2.838		592.5328	1.3874
13.490		123.2664	0.2888
17.646		101.6112	0.2379
18.013		482.9146	1.1308
18.790		163.7664	0.3835
		42706.7722	100.0000

# Hasil uji CEO1 Gas Chromatography (GC)

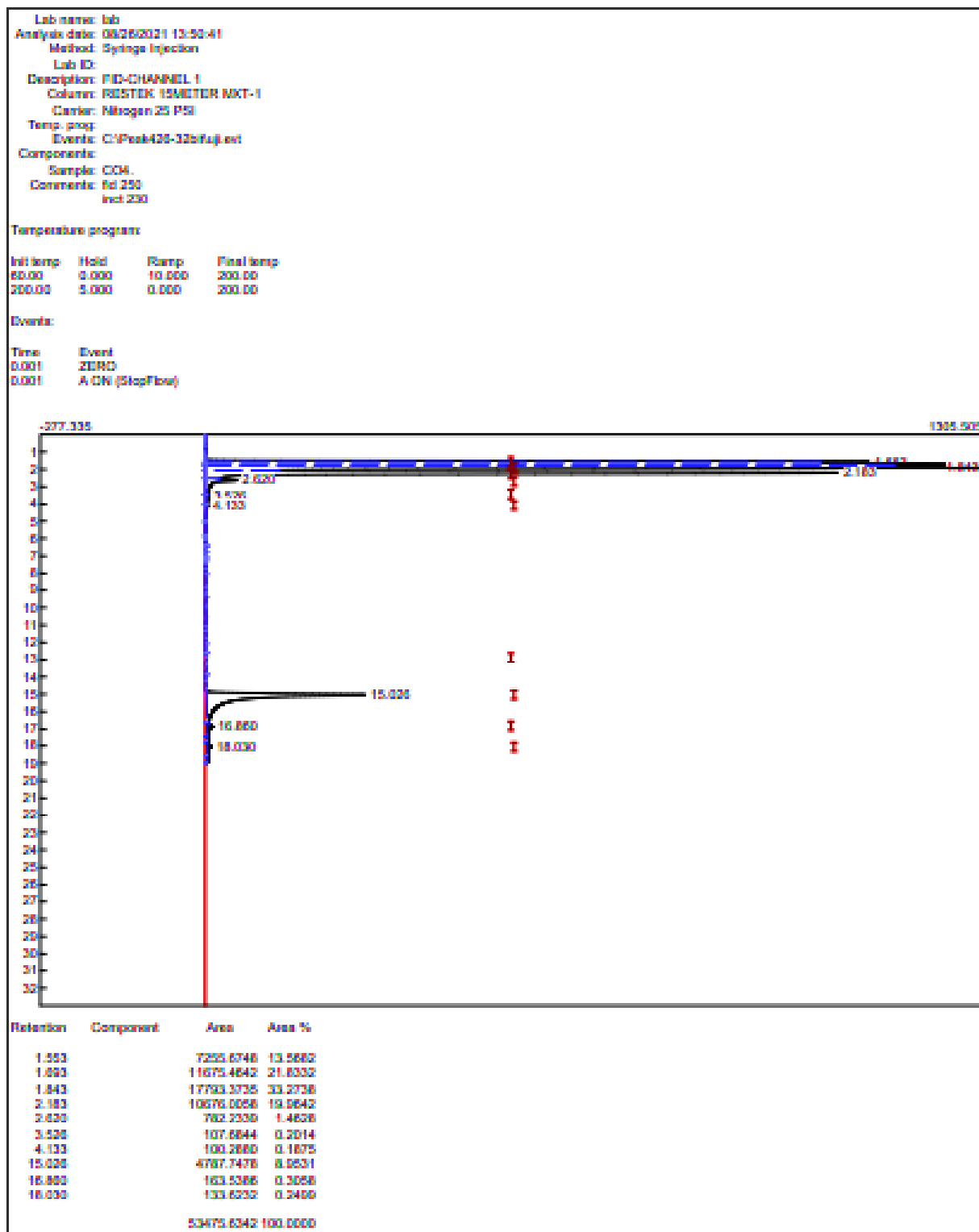




## Hasil uji CEO3 Gas Chromatography (GC)



## Hasil uji CEO4 Gas Chromatography (GC)



## Hasil uji GCEO1 Gas Chromatography (GC)

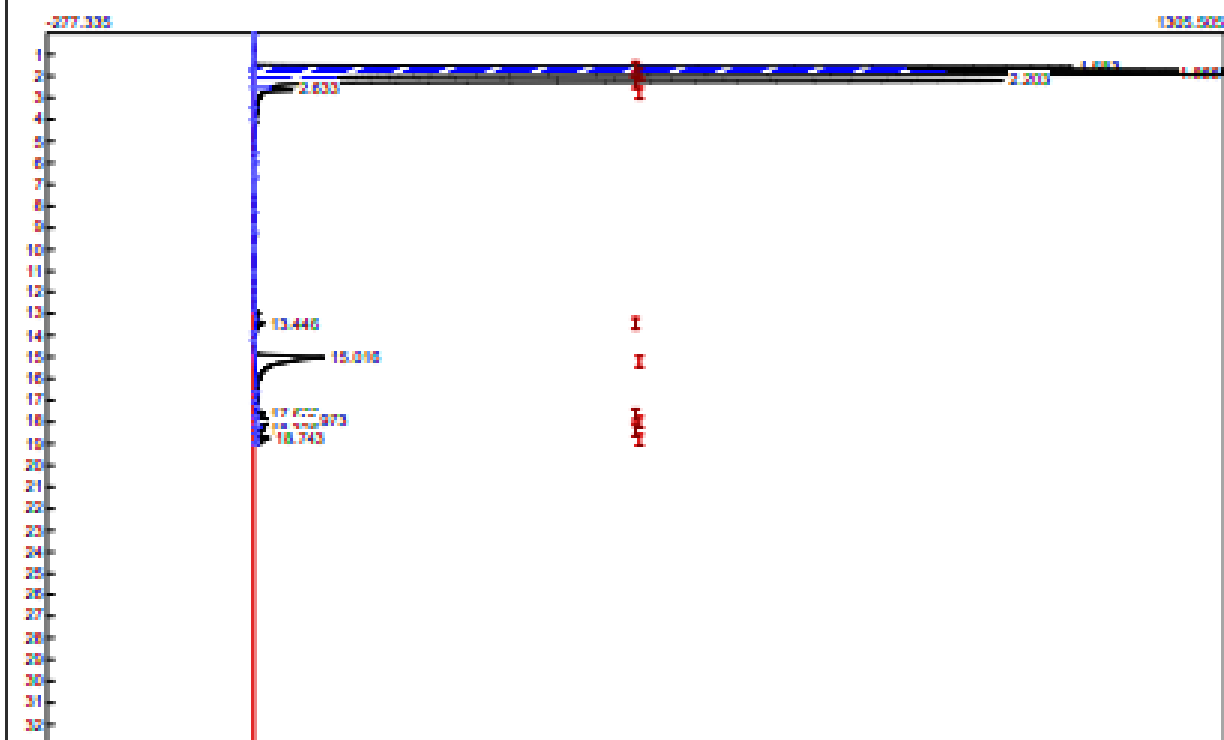
Lab name: lab  
 Analysis date: 08/27/2021 09:51:58  
 Method: Syringe Injection  
 Lab ID:  
 Description: FID-CHANNEL 1  
 Column: RESTEK 15METER MKT-1  
 Carrier: Nitrogen 25 PSI  
 Temp. prog:  
 Events: C:\Peak420-32bit\glint  
 Components:  
 Sample: GCEO1  
 Comments: Rel 250  
 Incl 250

### Temperature program:

Init temp	Hold	Ramp	Final temp
60.00	0.000	10.000	200.00
200.00	5.000	0.000	200.00

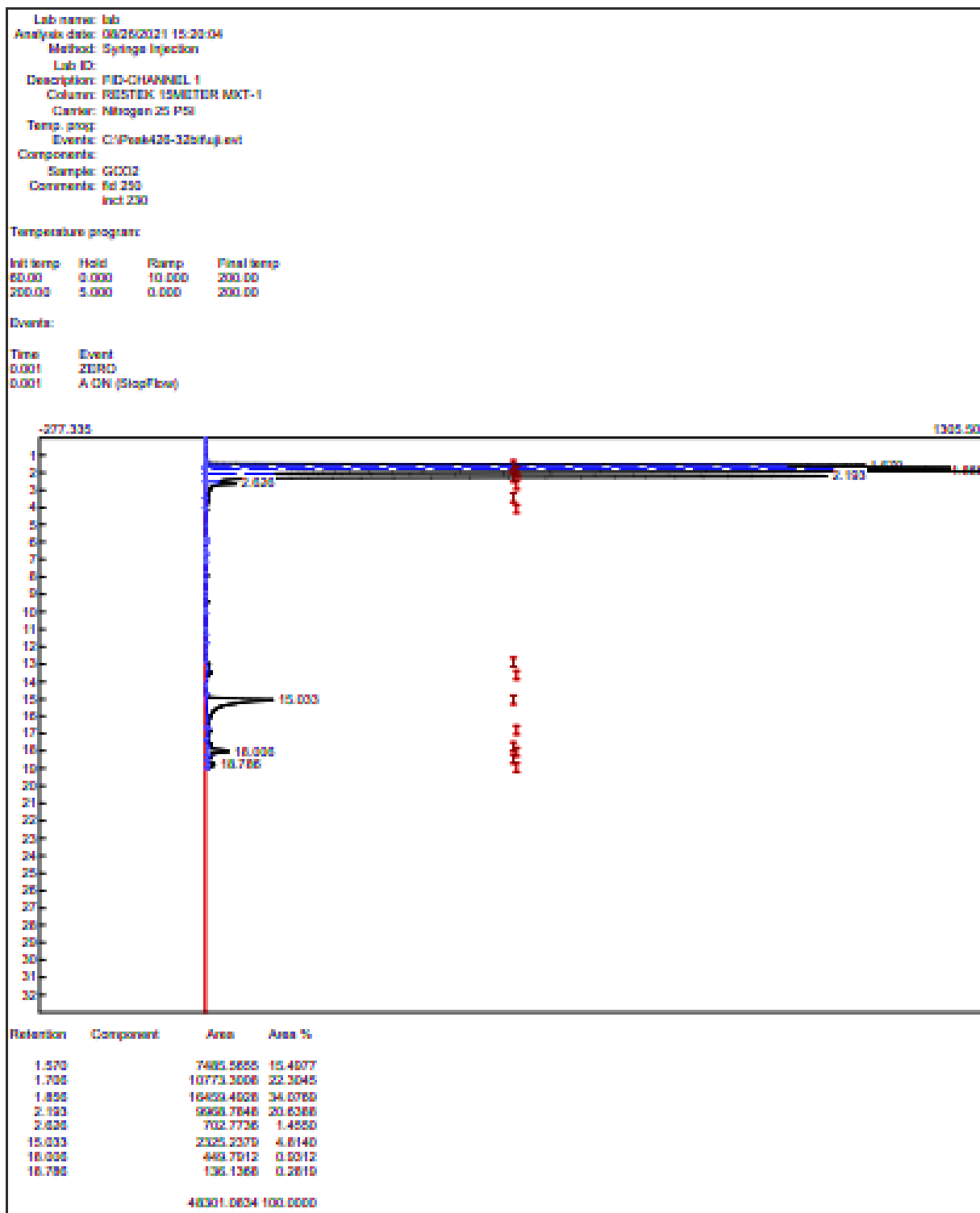
### Events:

Time	Event
0.001	ZERO
0.001	A ON (StopFlow)

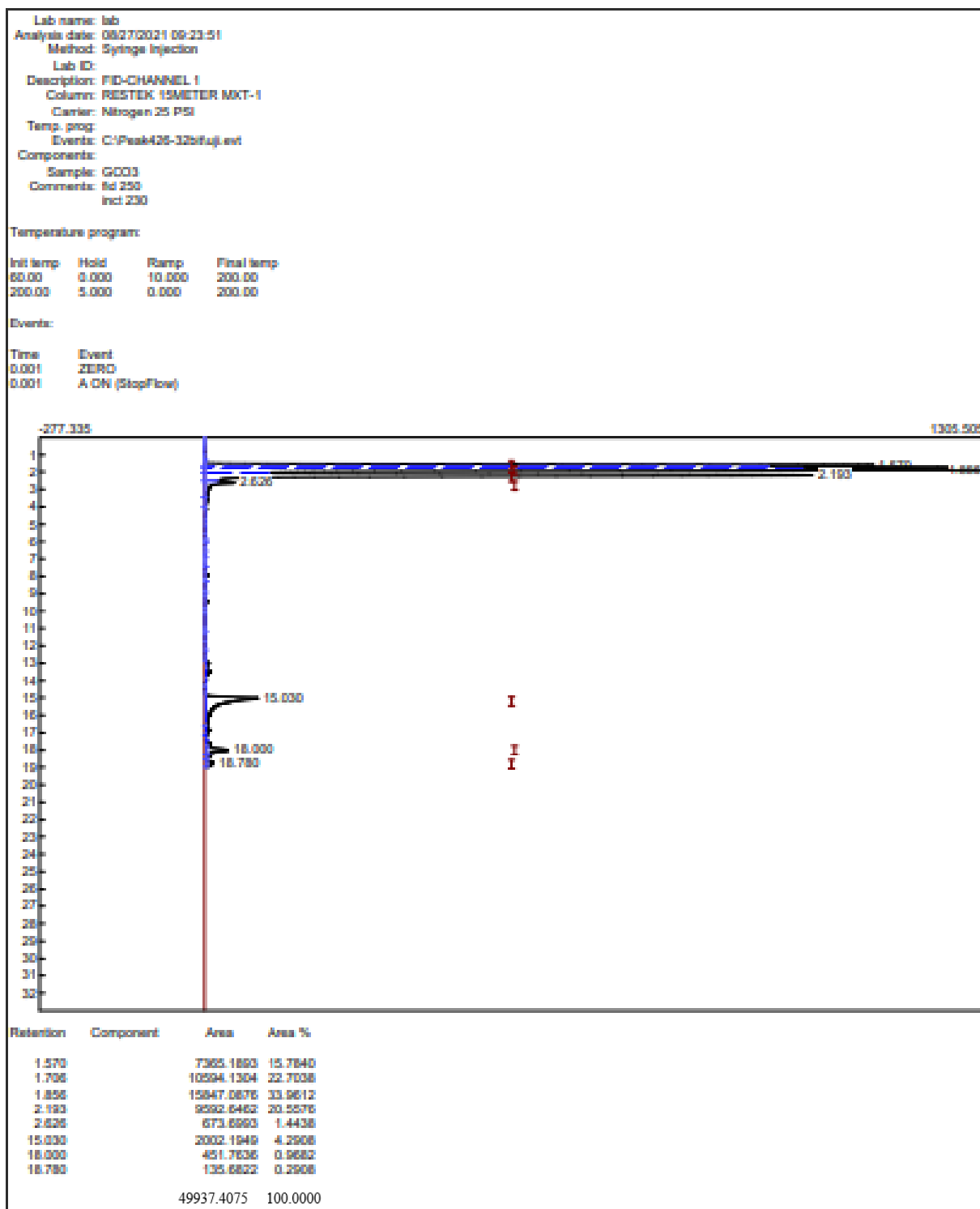


Retention	Component	Area	Area %
1.583		7289.3666	15.8680
1.716		10031.3832	21.8371
1.888		13352.1304	33.4167
2.203		9385.4010	20.3873
2.833		710.7112	1.5471
13.446		118.6862	0.2584
15.016		2030.6728	4.4205
17.856		108.6671	0.2373
17.973		613.7054	1.3362
18.326		105.2880	0.2282
18.743		210.8626	0.4503
		45937.4675	100.0000

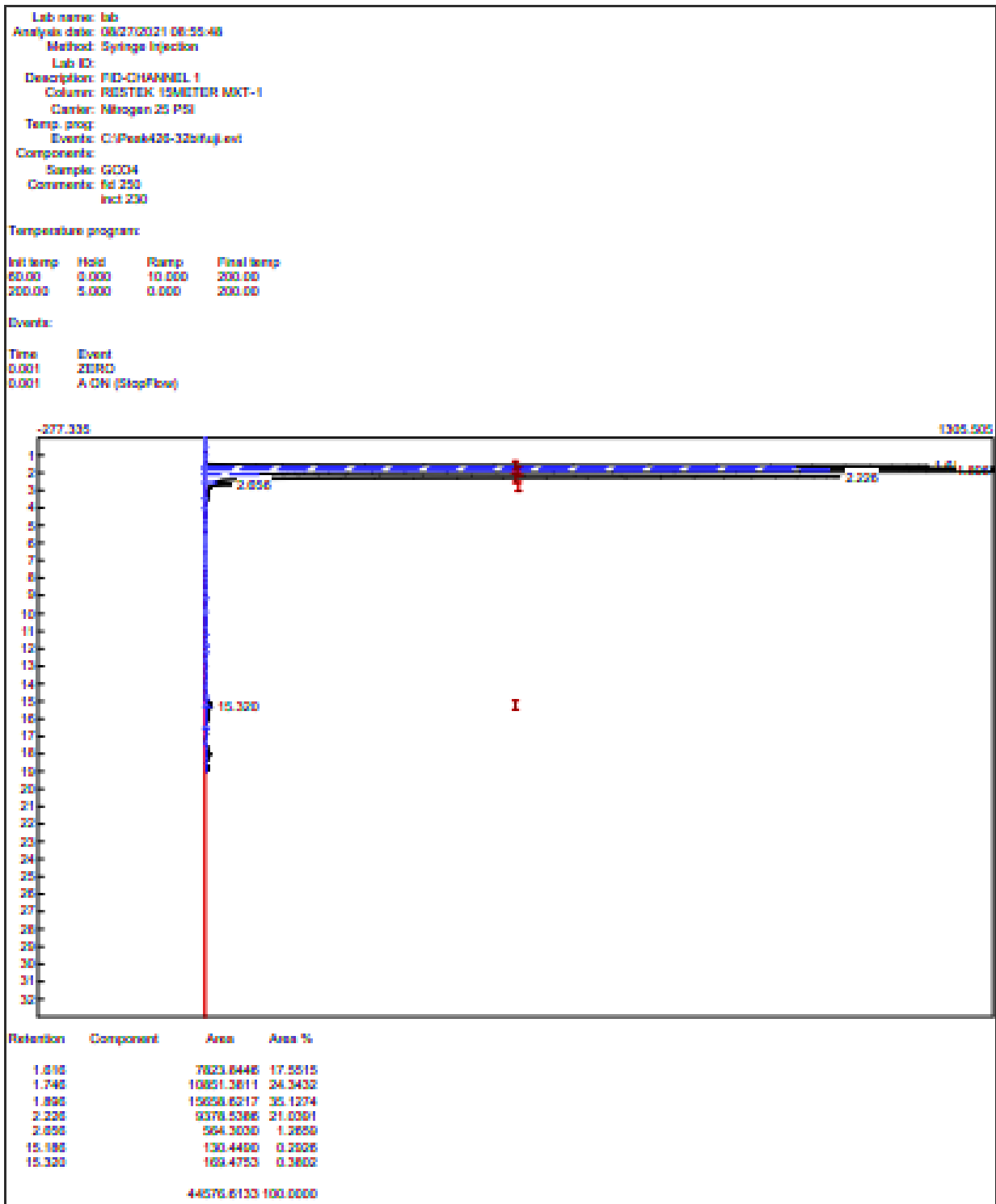
## Hasil uji GCEO2 Gas Chromatography (GC)



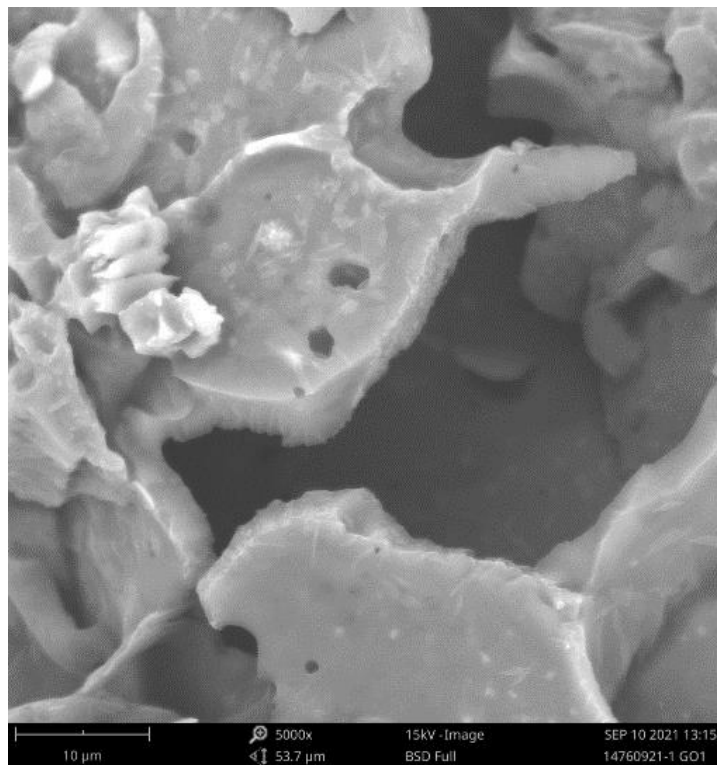
## Hasil uji GCEO3 Gas Chromatography (GC)



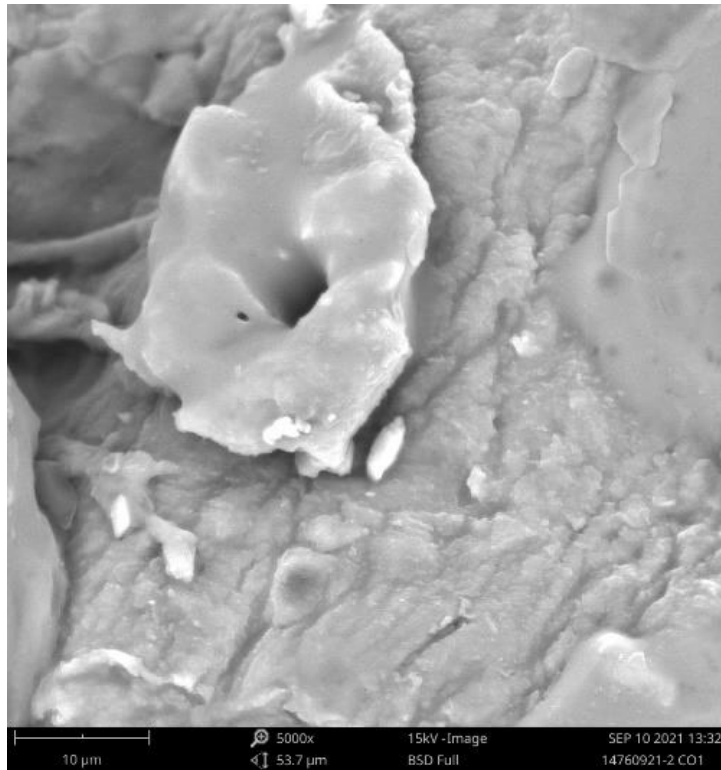
# Hasil uji GCEO4 Gas Chromatography (GC)



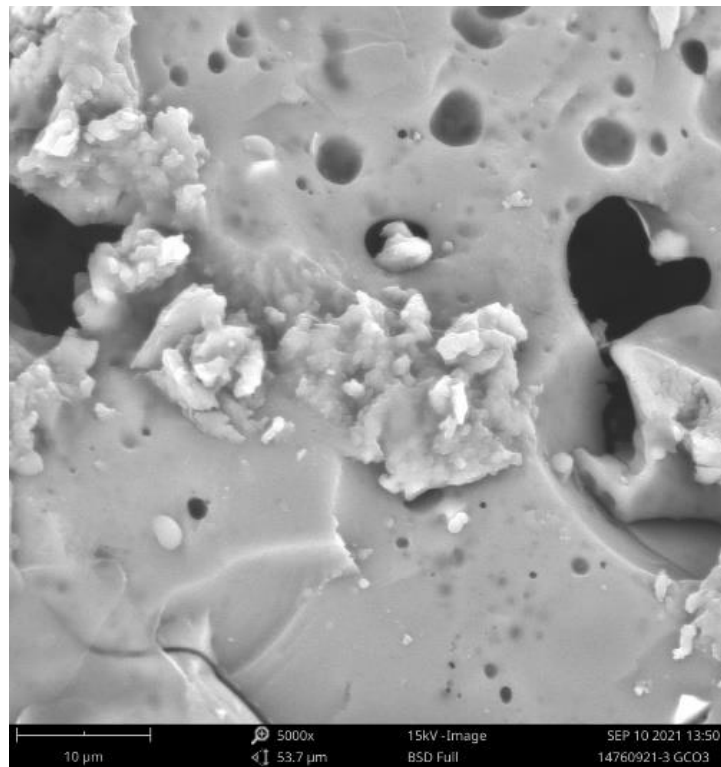
Hasil uji GEO1 *Scanning electron microscopy* (SEM)



Hasil uji CEO1 *Scanning electron microscopy* (SEM)




Hasil uji GCEO3 *Scanning electron microscopy* (SEM)





## Hasil uji *Particle Size Analyzer* (PSA)

	<b>LABORATORIUM PENGUJIAN OBAT, MAKANAN DAN KOSMETIK</b> <b>UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA</b> Jl. Kaliurang KM. 14,5 Sleman Yogyakarta - Telp. (0274) 898444 ext. 3037 - Fax. (0274) 896439						
<b>SERTIFIKAT PENGUJIAN</b> <b>TEST CERTIFIED</b>							
Nomor: 114/LPOMK/VIII/2021 Number Halaman: 2 dari 2 Page							
<b>HASIL PENGUJIAN</b> <b>TEST RESULT</b>							
No	Nama Sampel	Kode	Label	Parameter	Satuan	Hasil Uji*	Metode Uji
1	CO1 (1)	007/C/PSA/IX/2021	L1	Nano Partikel	nm	191,0	<i>Dinamic light scattering menggunakan alat PSA</i>
2	GCO3 (1)	008/C/PSA/IX/2021	L2			247,3	
3	GO1 (1)	009/C/PSA/IX/2021	L3			233,0	
Keterangan * :				Yogyakarta, 8 September 2021 Manajer Teknis  apt. Annisa Fitria, S.Farm., M.Sc. NIP. 126130401.			
<b>Catatan :</b> 1. Hasil pengujian ini hanya berlaku untuk sampel yang diuji <i>Notes</i> These test result are only valid for the tested samples 2. Sertifikat ini tidak boleh diperbanyak/diqandakan tanpa izin dari Manajer Teknis Laboratorium <i>The certificate shall not be reproduced (copied) without the written permission of the laboratory Technical Manager</i>							

Hasil uji GEO1 Particle Size Analyzer (PSA)



HORIBA SZ-100 for Windows [Z Type] Ver2.00

# SZ-100

009.C.PSA.IX.2021.nsz

## Measurement Results

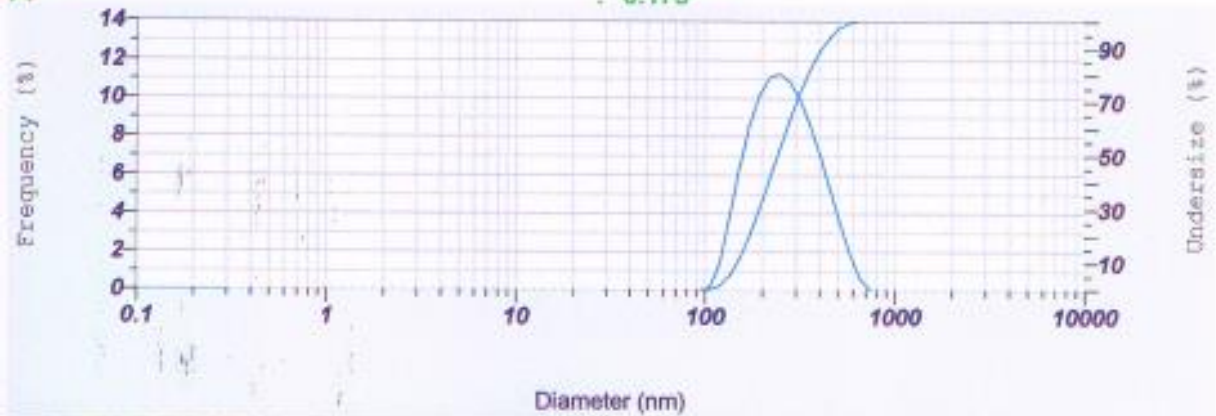
Date : Monday, September 06, 2021 2:30:20 PM  
 Measurement Type : Particle Size  
 Sample Name : GO1 (1)  
 Scattering Angle : 90  
 Temperature of the Holder : 24.8 °C  
 Dispersion Medium Viscosity : 1.087 mPa·s  
 Transmission Intensity before Meas. : 23349  
 Distribution Form : Standard  
 Distribution Form(Dispersity) : Monodisperse  
 Representation of Result : Scattering Light Intensity  
 Count Rate : 1348 kCPS

## Calculation Results

Peak No.	S.P.Area Ratio	Mean	S. D.	Mode
1	1.00	262.3 nm	103.6 nm	232.1 nm
2	—	— nm	— nm	— nm
3	—	— nm	— nm	— nm
Total	1.00	262.3 nm	103.6 nm	232.1 nm

## Cumulant Operations

Z-Average : 233.0 nm  
 PI : 0.175



No.	Diameter	Frequency	Cumulation	No.	Diameter	Frequency	Cumulation	No.	Diameter	Frequency	Cumulation	No.	Diameter	Frequency	Cumulation
1	0.34	0.000	0.000	23	4.42	0.000	0.000	43	57.26	0.000	0.000	64	745.89	0.000	100.000
2	0.38	0.000	0.000	24	4.97	0.000	0.000	44	64.32	0.000	0.000	65	837.07	0.000	100.000
3	0.43	0.000	0.000	24	5.61	0.000	0.000	45	72.37	0.000	0.000	66	945.74	0.000	100.000
4	0.48	0.000	0.000	25	6.34	0.000	0.000	46	82.33	0.000	0.000	67	1068.52	0.000	100.000
5	0.54	0.000	0.000	26	7.17	0.000	0.000	47	93.32	0.000	0.000	68	1207.74	0.000	100.000
6	0.60	0.000	0.000	27	8.10	0.000	0.000	48	105.10	0.001	0.001	69	1363.97	0.000	100.000
7	0.67	0.000	0.000	28	9.13	0.000	0.000	49	118.74	0.003	0.003	70	1541.04	0.000	100.000
8	0.75	0.000	0.000	29	10.34	0.000	0.000	50	134.16	0.006	0.006	71	1741.03	0.000	100.000
9	0.83	0.000	0.000	30	11.74	0.000	0.000	51	151.27	0.012	0.012	72	1964.14	0.000	100.000
10	0.92	0.000	0.000	31	13.33	0.000	0.000	52	171.25	0.021	0.021	73	2222.51	0.000	100.000
11	1.02	0.000	0.000	32	15.11	0.000	0.000	53	194.26	0.033	0.033	74	2511.05	0.000	100.000
12	1.13	0.000	0.000	33	17.08	0.000	0.000	54	219.80	0.048	0.048	75	2837.04	0.000	100.000
13	1.25	0.000	0.000	34	19.33	0.000	0.000	55	248.26	0.066	0.066	76	3206.30	0.000	100.000
14	1.38	0.000	0.000	35	21.86	0.000	0.000	56	279.04	0.088	0.088	77	3621.42	0.000	100.000
15	1.52	0.000	0.000	36	24.67	0.000	0.000	57	312.27	0.113	0.113	78	4087.03	0.000	100.000
16	1.67	0.000	0.000	37	27.75	0.000	0.000	58	348.20	0.142	0.142	79	4607.61	0.000	100.000
17	1.83	0.000	0.000	38	31.11	0.000	0.000	59	387.44	0.174	0.174	80	5197.99	0.000	100.000
18	2.00	0.000	0.000	39	35.75	0.000	0.000	60	430.66	0.210	0.210	81	5861.02	0.000	100.000
19	2.19	0.000	0.000	40	40.76	0.000	0.000	61	478.71	0.250	0.250	82	6601.10	0.000	100.000
20	2.40	0.000	0.000	41	46.13	0.000	0.000	62	531.71	0.294	0.294	83	7422.85	0.000	100.000
21	2.63	0.000	0.000	42	51.87	0.000	0.000	63	589.76	0.350	0.350	84	8410.96	0.000	100.000

Hasil uji CEO1 Particle Size Analyzer (PSA)



HORIBA SZ-100 for Windows [Z Type] Ver2.00

# SZ-100

007.C.PSA.IX.2021.nsz

## Measurement Results

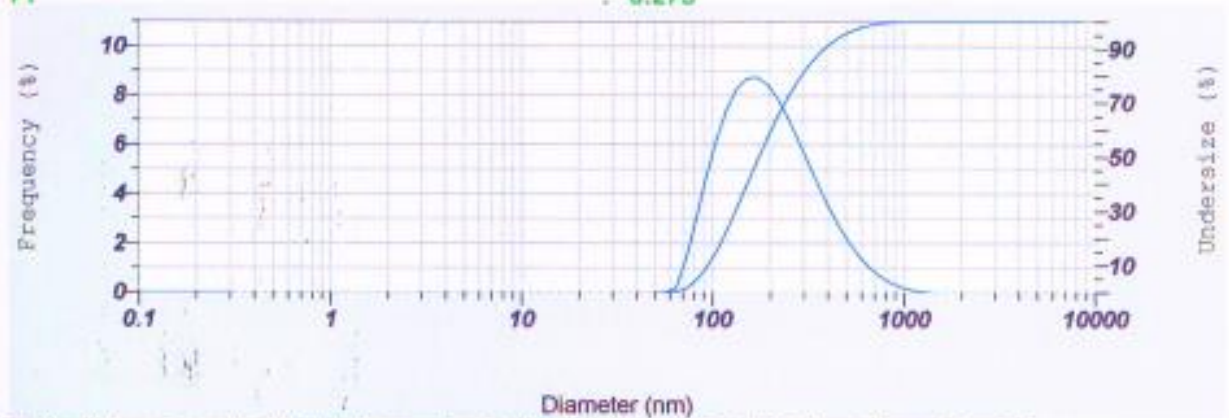
**Date** : Monday, September 06, 2021 2:08:52 PM  
**Measurement Type** : Particle Size  
**Sample Name** : CO1 (1)  
**Scattering Angle** : 90  
**Temperature of the Holder** : 24.9 °C  
**Dispersion Medium Viscosity** : 1.086 mPa·s  
**Transmission Intensity before Meas.** : 33174  
**Distribution Form** : Standard  
**Distribution Form(Dispersity)** : Monodisperse  
**Representation of Result** : Scattering Light Intensity  
**Count Rate** : 158 kCPS

## Calculation Results

Peak No.	S.P.Ares Ratio	Mean	S. D.	Mode
1	1.00	214.3 nm	133.3 nm	160.8 nm
2	--	-- nm	-- nm	-- nm
3	--	-- nm	-- nm	-- nm
<b>Total</b>	<b>1.00</b>	<b>214.3 nm</b>	<b>133.3 nm</b>	<b>160.8 nm</b>

## Cumulant Operations

**Z-Average** : 191.0 nm  
**PI** : 0.275



No.	Diameter	Frequency	Cumulation	No.	Diameter	Frequency	Cumulation	No.	Diameter	Frequency	Cumulation	No.	Diameter	Frequency	Cumulation
1	0.24	0.000	0.000	23	4.45	0.000	0.000	43	57.06	0.006	0.000	64	740.89	0.665	99.257
2	0.38	0.000	0.000	24	4.97	0.000	0.000	44	64.50	0.176	0.176	65	857.07	0.420	99.678
3	0.43	0.000	0.000	25	5.63	0.000	0.000	45	72.87	1.386	1.562	66	945.74	0.221	99.899
4	0.49	0.000	0.000	26	6.34	0.000	0.000	46	82.33	2.973	4.535	67	1060.53	0.106	99.985
5	0.56	0.000	0.000	27	7.17	0.000	0.000	47	93.00	4.665	9.200	68	1207.24	0.051	99.994
6	0.63	0.000	0.000	27	8.10	0.000	0.000	48	105.10	6.189	15.389	69	1383.97	0.000	99.994
7	0.72	0.000	0.000	28	9.15	0.000	0.000	49	118.74	7.406	22.795	70	1541.04	0.000	99.994
8	0.80	0.000	0.000	29	10.34	0.000	0.000	50	134.10	8.246	31.041	71	1741.10	0.000	99.994
9	0.90	0.000	0.000	30	11.66	0.000	0.000	51	151.37	8.665	39.706	72	1967.14	0.000	99.994
10	1.00	0.000	0.000	31	13.20	0.000	0.000	52	171.29	8.734	48.440	73	2222.51	0.000	99.994
11	1.15	0.000	0.000	32	14.91	0.000	0.000	53	195.48	8.441	56.881	74	2511.05	0.000	99.994
12	1.30	0.000	0.000	33	16.84	0.000	0.000	54	216.80	7.873	64.754	75	2837.84	0.000	99.994
13	1.47	0.000	0.000	34	19.03	0.000	0.000	55	246.88	7.105	71.859	76	3205.35	0.000	99.994
14	1.66	0.000	0.000	35	21.50	0.000	0.000	56	279.04	6.222	78.081	77	3621.45	0.000	99.994
15	1.87	0.000	0.000	36	24.28	0.000	0.000	57	315.27	5.288	83.369	78	4091.83	0.000	99.994
16	2.11	0.000	0.000	37	27.45	0.000	0.000	58	356.20	4.366	87.735	79	4622.81	0.000	99.994
17	2.38	0.000	0.000	38	31.01	0.000	0.000	59	402.44	3.501	91.236	80	5222.96	0.000	99.994
18	2.70	0.000	0.000	39	35.03	0.000	0.000	60	454.89	2.723	93.959	81	5901.00	0.000	99.994
19	3.05	0.000	0.000	40	39.58	0.000	0.000	61	513.71	2.020	95.979	82	6667.10	0.000	99.994
20	3.45	0.000	0.000	41	44.72	0.000	0.000	62	580.41	1.469	97.448	83	7532.85	0.000	99.994
21	3.98	0.000	0.000	42	50.53	0.000	0.000	63	655.78	1.036	98.483	84	8510.56	0.000	100.000

Hasil uji GCEO3 Particle Size Analyzer (PSA)



HORIBA SZ-100 for Windows [Z Type] Ver2.00

# SZ-100

008.C.PSA.IX.2021.nsz

## Measurement Results

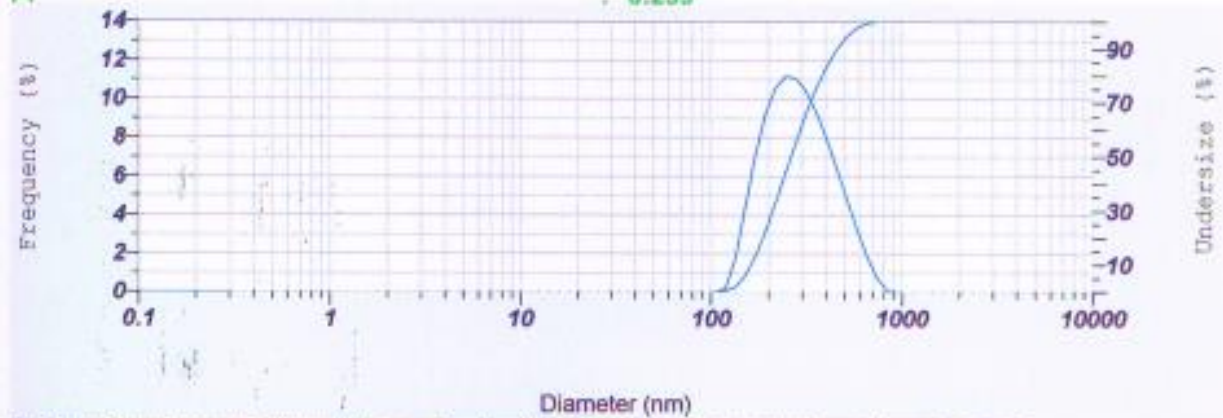
Date : Monday, September 06, 2021 2:22:31 PM  
 Measurement Type : Particle Size  
 Sample Name : GCO3 (1)  
 Scattering Angle : 90  
 Temperature of the Holder : 24.8 °C  
 Dispersion Medium Viscosity : 1.087 mPa·s  
 Transmission Intensity before Meas. : 27724  
 Distribution Form : Standard  
 Distribution Form(Dispersity) : Monodisperse  
 Representation of Result : Scattering Light Intensity  
 Count Rate : 3010 KCPS

## Calculation Results

Peak No.	S.P.Area Ratio	Mean	S. D.	Mode
1	1.00	290.2 nm	118.4 nm	233.0 nm
2	—	— nm	— nm	— nm
3	—	— nm	— nm	— nm
Total	1.00	290.2 nm	118.4 nm	233.0 nm

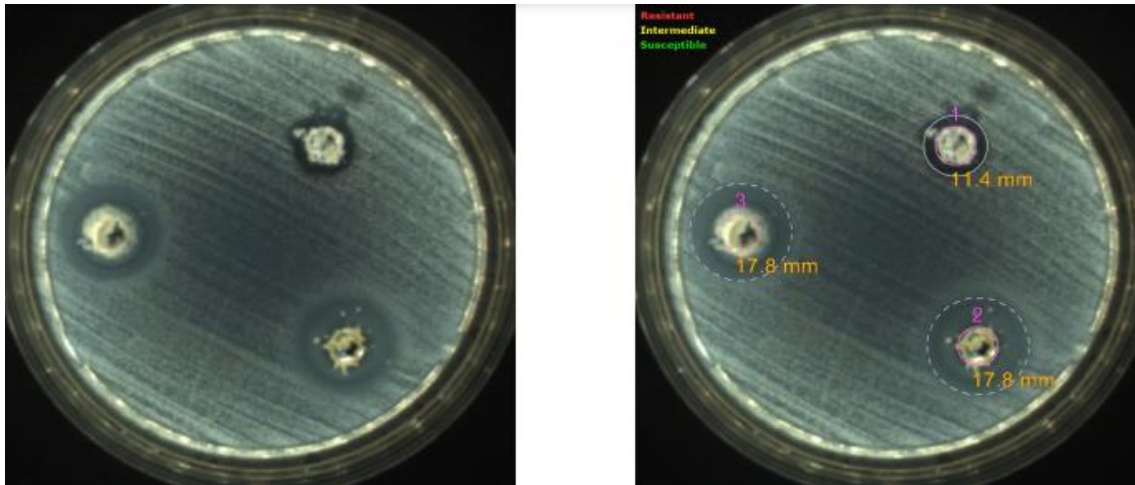
## Cumulant Operations

Z-Average : 247.3 nm  
 PI : 0.239

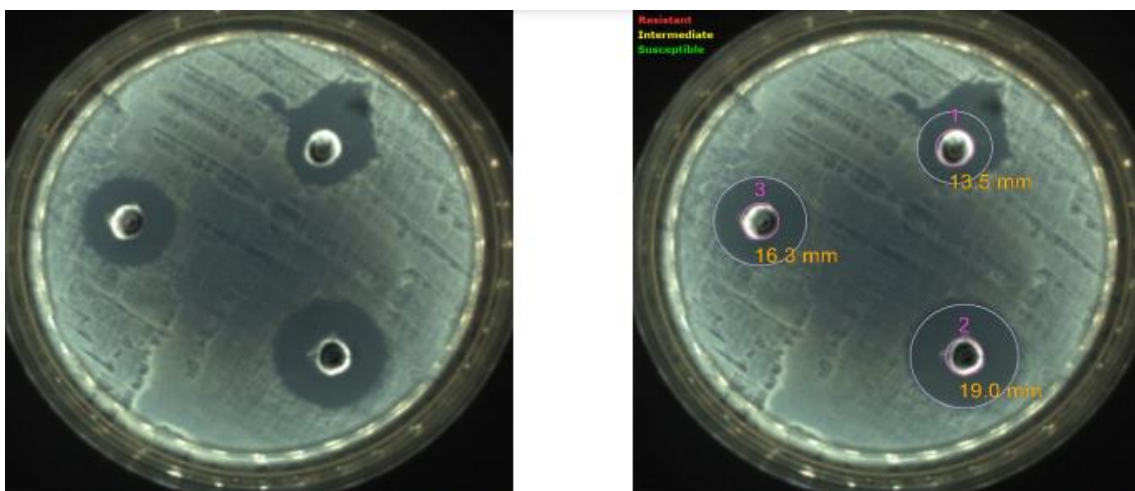


No.	Diameter	Frequency	Cumulation	No.	Diameter	Frequency	Cumulation	No.	Diameter	Frequency	Cumulation	No.	Diameter	Frequency	Cumulation
1	5.34	0.000	0.000	22	4.40	0.000	0.000	43	27.06	0.000	0.000	64	740.89	0.000	99.978
2	5.36	0.000	0.000	23	4.87	0.000	0.000	44	84.50	0.000	0.000	65	837.07	0.000	100.000
3	5.35	0.000	0.000	24	5.81	0.000	0.000	45	72.67	0.000	0.000	66	645.74	0.000	100.000
4	5.49	0.000	0.000	25	6.34	0.000	0.000	46	82.35	0.000	0.000	67	1108.32	0.000	100.000
5	5.55	0.000	0.000	26	7.17	0.000	0.000	47	83.05	0.000	0.000	68	1207.24	0.000	100.000
6	5.82	0.000	0.000	27	8.15	0.000	0.000	48	105.10	0.000	0.000	69	1303.97	0.000	100.000
7	5.70	0.000	0.000	28	9.15	0.000	0.000	49	118.74	0.190	0.190	70	1541.04	0.000	100.000
8	5.80	0.000	0.000	29	10.34	0.000	0.000	50	134.58	1.966	1.966	71	1741.10	0.000	100.000
9	5.80	0.000	0.000	30	11.86	0.000	0.000	51	161.57	4.387	6.399	72	1987.14	0.000	100.000
10	1.02	0.000	0.000	31	13.20	0.000	0.000	52	171.25	7.080	13.366	73	2222.51	0.000	100.000
11	1.15	0.000	0.000	32	14.91	0.000	0.000	53	193.48	9.311	22.587	74	2511.25	0.000	100.000
12	1.30	0.000	0.000	33	16.64	0.000	0.000	54	218.80	10.561	33.128	75	2857.94	0.000	100.000
13	1.47	0.000	0.000	34	18.03	0.000	0.000	55	246.88	11.44	44.272	76	3205.35	0.000	100.000
14	1.66	0.000	0.000	35	21.80	0.000	0.000	56	270.04	11.047	55.319	77	3621.46	0.000	100.000
15	1.87	0.000	0.000	36	24.29	0.000	0.000	57	315.27	10.365	65.714	78	4061.63	0.000	100.000
16	2.11	0.000	0.000	37	27.45	0.000	0.000	58	356.30	9.322	75.036	79	4622.81	0.000	100.000
17	2.39	0.000	0.000	38	31.01	0.000	0.000	59	402.44	7.957	82.993	80	5222.86	0.000	100.000
18	2.70	0.000	0.000	39	35.03	0.000	0.000	60	454.69	6.421	89.414	81	5901.02	0.000	100.000
19	3.05	0.000	0.000	40	39.58	0.000	0.000	61	513.71	4.819	94.233	82	6661.10	0.000	100.000
20	3.45	0.000	0.000	41	44.77	0.000	0.000	62	580.41	3.290	97.483	83	7532.05	0.000	100.000
21	3.89	0.000	0.000	42	50.63	0.000	0.000	63	655.78	1.820	99.303	84	8510.56	0.000	100.000

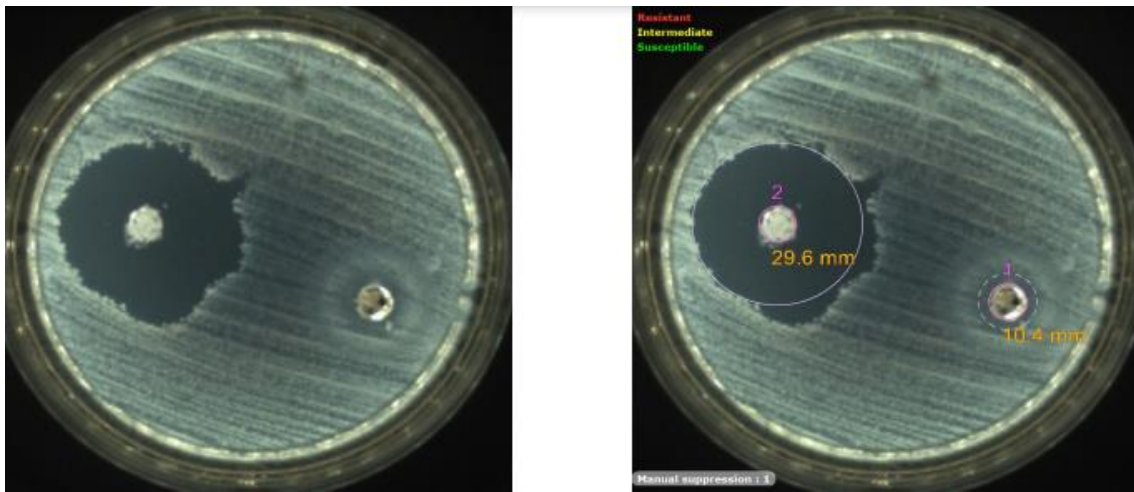
Percobaan pertama formulasi GEO1, CEO1 dan GCEO3 bakteri *Klebsiella pneumoniae*



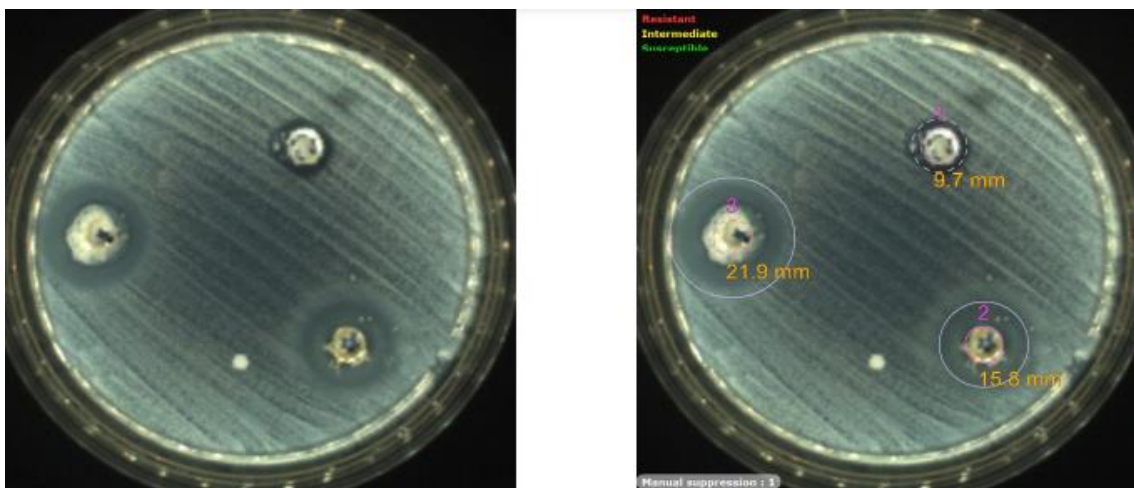
Percobaan pertama formulasi GEO, CEO dan GCEO bakteri *Klebsiella pneumoniae*



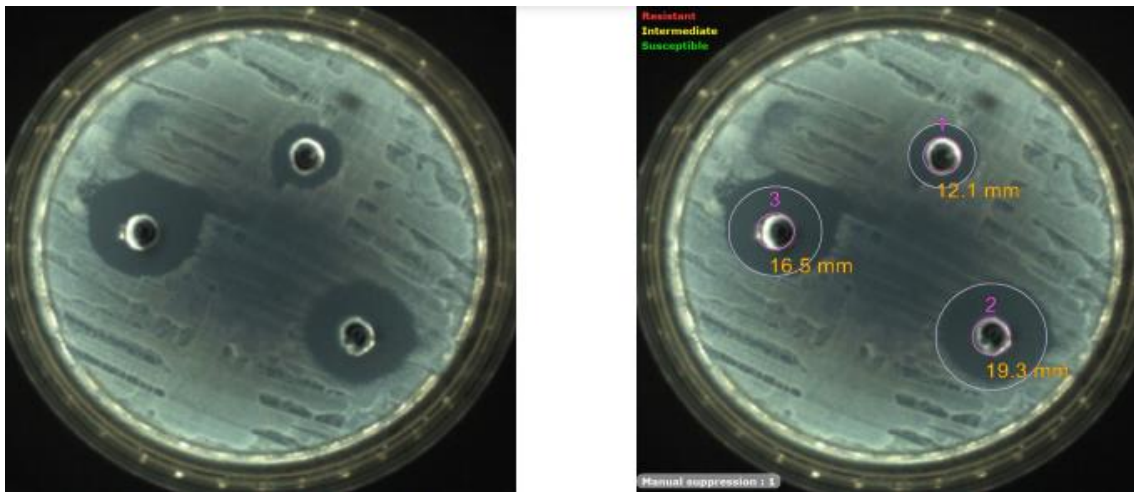
Percobaan pertama kontrol negatif dan positif bakteri *Klebsiella pneumoniae*



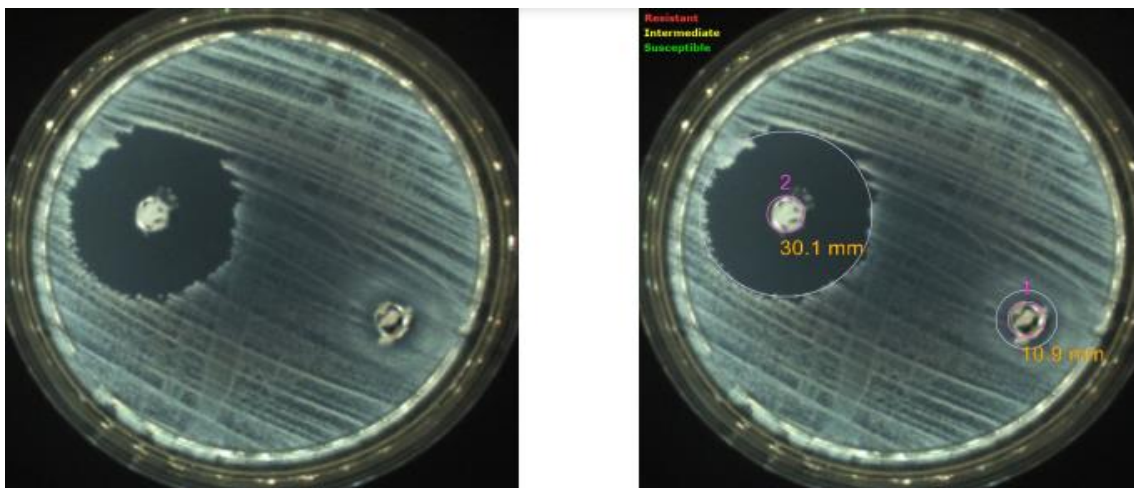
Percobaan kedua formulasi GEO1, CEO1 dan GECO3 bakteri *Klebsiella pneumoniae*



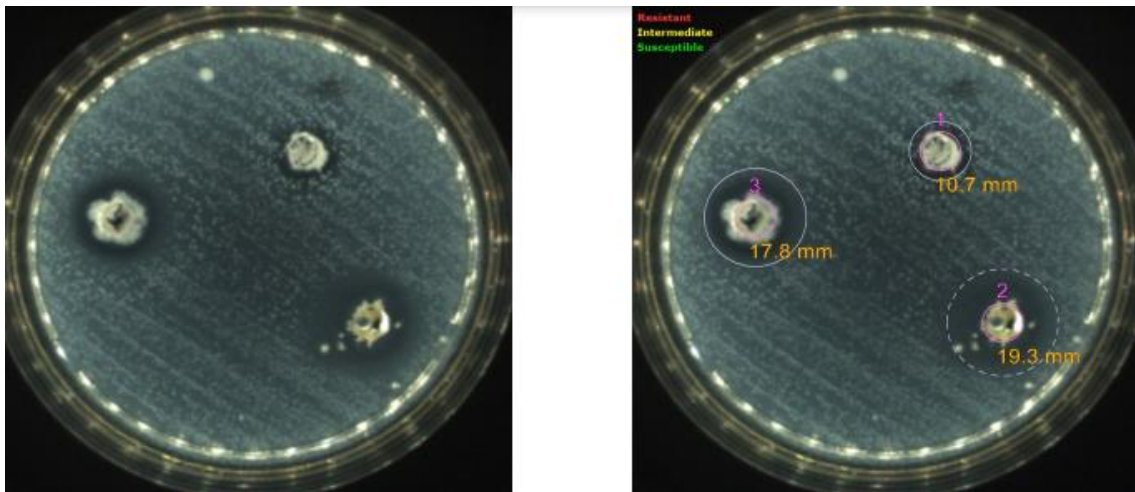
Percobaan kedua formulasi GEO, CEO dan GECO bakteri *Klebsiella pneumoniae*



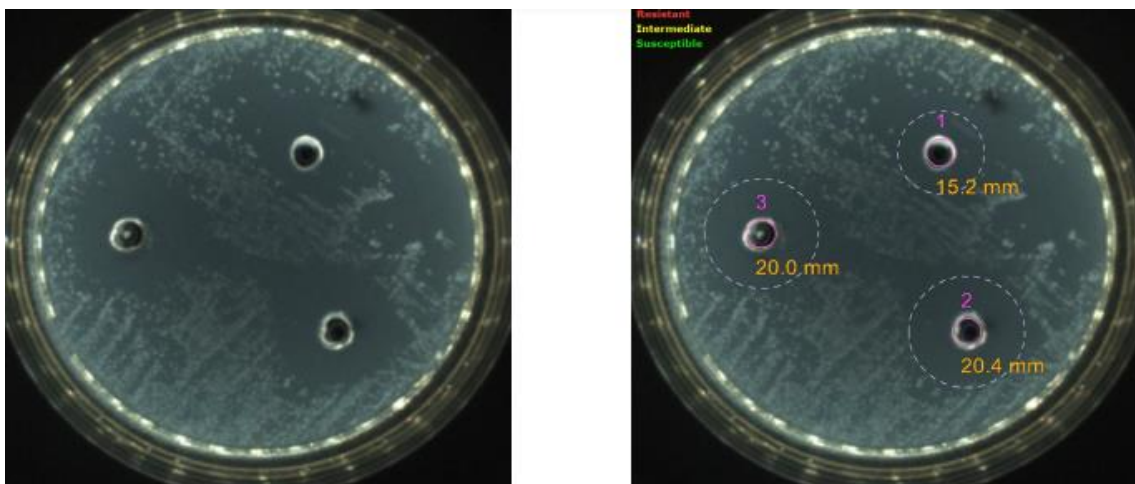
Percobaan kedua kontrol negatif dan positif bakteri *Klebsiella pneumoniae*



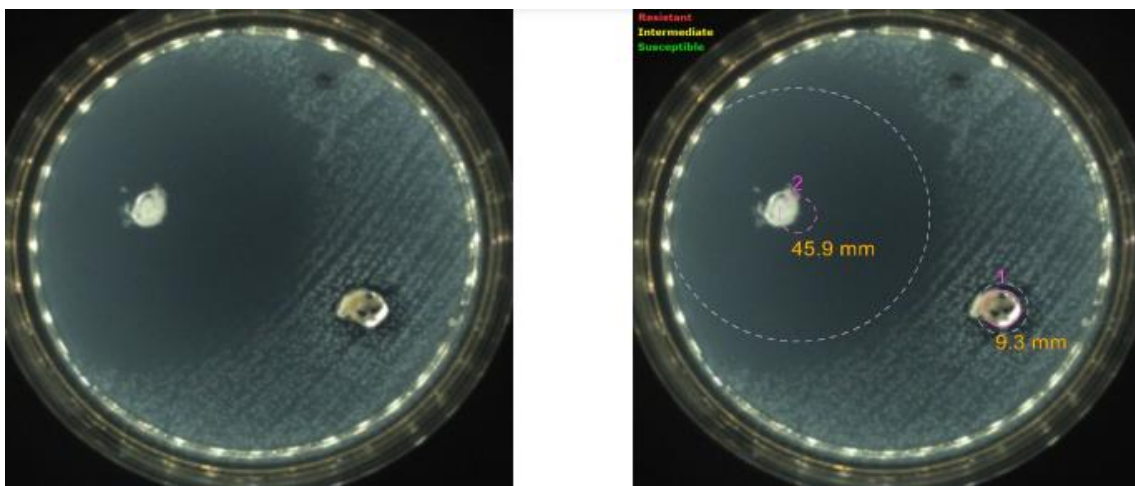
Percobaan pertama formulasi GEO1, CEO1 dan GECO3 bakteri *Micrococcus luteus*.



Percobaan pertama formulasi GEO, CEO dan GECO bakteri *Micrococcus luteus*.

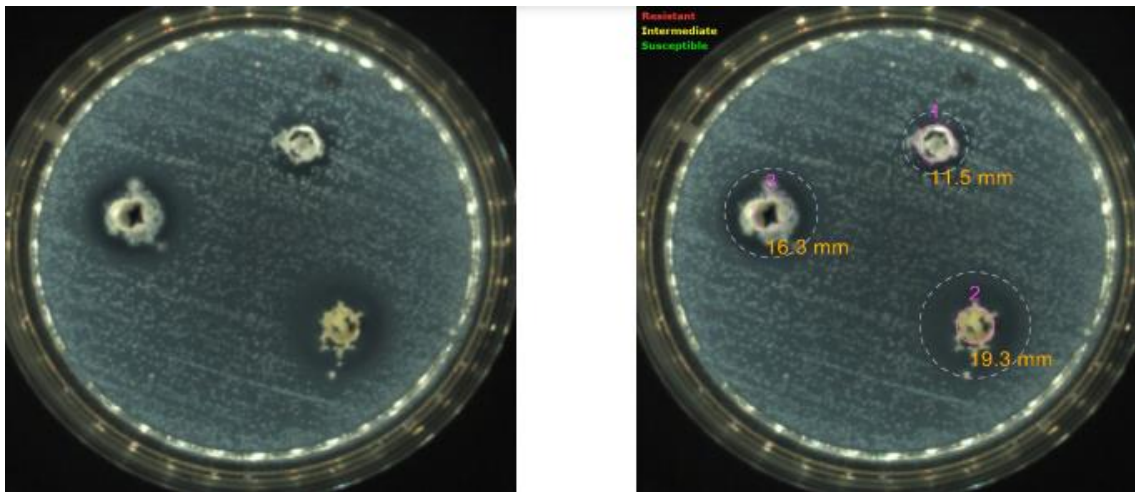


Percobaan pertama kontrol negatif dan positif bakteri *Micrococcus luteus*.

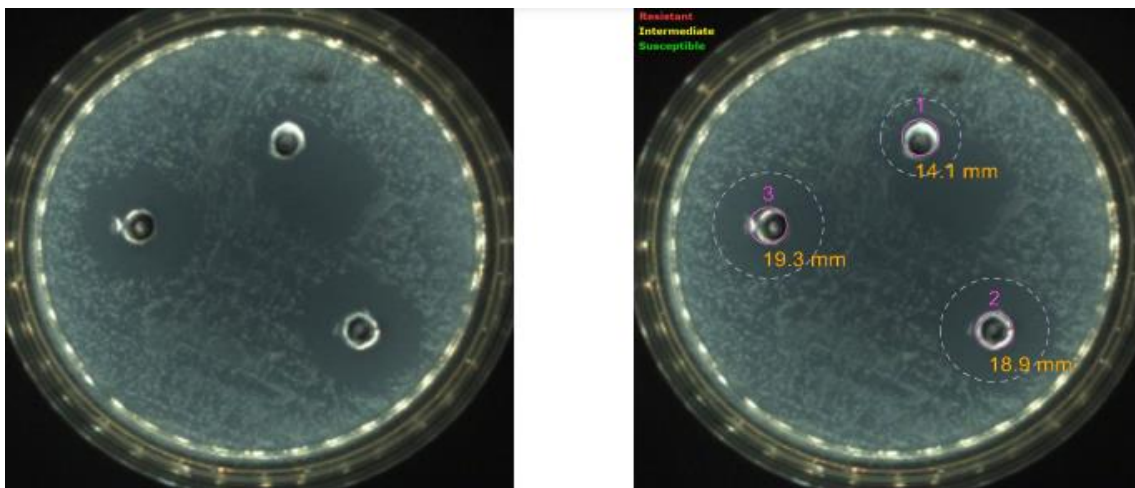




Percobaan kedua formulasi GEO1, CEO1 dan GECO3 bakteri *Micrococcus luteus*.



Percobaan kedua formulasi GEO, CEO dan GECO bakteri *Micrococcus luteus*.



Percobaan kedua kontrol negatif dan positif bakteri *Micrococcus luteus*.

