

**ANALISIS MINYAK ATSIRI DAN UJI AKTIVITAS  
ANTIBAKTERI DARI MINYAK ATSIRI LADA  
HITAM LAMPUNG ( *Piper nigrum* L)**

**LAPORAN TUGAS AKHIR**

**VIRGINIA KARUSHA**

**13151042**



**SEKOLAH TINGGI FARMASI BANDUNG  
PROGRAM STUDI STRATA I FARMASI  
BANDUNG**

**2017**

**ANALISIS MINYAK ATSIRI DAN UJI AKTIVITAS  
ANTIBAKTERI DARI MINYAK ATSIRI LADA  
HITAM LAMPUNG ( *Piper nigrum* L )**

**LAPORAN TUGAS AKHIR**

Diajukan untuk Memenuhi Persyaratan Kelulusan  
Program Strata Satu

**VIRGINIA KARUSHA**

**13151042**

Bandung, Agustus 2017

Menyetujui

Pembimbing Utama

Pembimbing Serta

(Wendi Andriatna, ST., M.Si)

(Anne Yuliantini, M.Si)

## **PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI**

Skripsi yang tidak dipublikasikan ini terdaftar dan tersedia di Perpustakaan Sekolah Tinggi Farmasi Bandung (STFB), dan terbuka untuk umum. Referensi - referensi kepustakaan diperbolehkan untuk dicatat, tetapi pengutipan hanya dapat dilakukan atas seizin pengarang dan harus disertai dengan kebiasaan ilmiah yaitu menyebutkan sumbernya. Memperbanyak atau menerbitkan sebagian atau seluruh skripsi haruslah atas seizin Ketua Program Studi di lingkungan Sekolah Tinggi Farmasi Bandung (STFB).

*Dipersembahkan untuk kedua orangtua, kakak dan adik tercinta.*

## ABSTRAK

### ANALISIS MINYAK ATSIRI DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI MINYAK ATSIRI LADA HITAM LAMPUNG (*Piper nigrum L*)

Oleh :  
Virginia Karusha  
13151042

Lada merupakan salah satu jenis rempah yang cukup penting di Indonesia karena peranannya. Sekitar  $\pm$  90% dari produksinya ditujukan untuk ekspor, dengan kualitas memenuhi ketentuan sesuai dengan SNI. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kadar air minyak atsiri, analisis komponen minyak atsiri dan uji aktivitas antibakteri minyak atsiri lada hitam. Penelitian ini meliputi preparasi sampel, penyulingan minyak dengan metode destilasi uap, analisis minyak atsiri dengan metode KG-SM dan uji aktivitas antibakteri dengan metode mikrodilusi. Hasil menunjukkan kadar air sebesar 7%. Hasil analisis minyak atsiri dengan menggunakan alat KG-SM, pada sampel diperoleh lima komponen tertinggi yaitu senyawa *dl-limonene* (18,14%), *Alpha pinene* (12,10%), *delta-3 carene* (9,85%), *2-beta-pinene* (8,23%), dan *trans-caryophyllene* (7,51%). Minyak atsiri lada hitam (*Piper nigrum L*) pada konsentrasi 25% efektif menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan pada konsentrasi 3,12% efektif menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*. Dalam penelitian ini kualitas dari lada hitam lampung memenuhi standar SNI.

Kata Kunci : Minyak atsiri lada hitam, destilasi uap, KG-SM, mikrodilusi

## **ABSTRACT**

### **ANALYSIS ESSENTIAL OIL AND TESTING ANTIBACTERIAL ACTIVITY FROM ESSENTIAL OIL OF LAMPUNG BLACK PEPPER (*Piper nigrum L*)**

**By :  
Virginia Karusha  
13151042**

Pepper is the one type of ingredient that important in Indonesia because of it's role. Approximately  $\pm$  90% of its production is destined for export, with quality meet the requirements appropriate with SNI. This research aims to determind the content of essential oil, analysis essential oil and test antibacterial activity from essential oil of black papper. This research included sample preparation, distillation of oil by steam distillation method, analysis essential oil by GC-MS method and antibacterial activity test with microdilution method. The results of analysis water is 7%. The result of GC-MS analyzed of volatile oil obtained five components the highest components are dl-limonene (18,14%), Alpha pinene (12,10%), delta-3 carene (9,85%), 2-beta-pinene (8,23%), dan trans-caryophyllene (7,51%). Essential oil at concentration 25% effective inhibit the growth of *Staphylococcus aureus* and at concentration 3,12% effective inhibit the growth of *Escherichia coli*. In this research the quality of Lampung black pepper meets the SNI standard.

**Keywords:** Black pepper essential oil, steam distillation, GC-MS, microdilution.

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirabbil'alamin...

Dengan menyebut nama Allah SWT yang Maha Pengasih lagi Maha Panyayang, penulis panjatkan puja dan puji syukur atas kehadirat-Nya, yang telah melimpahkan rahmat, hidayah, dan karunia-Nya kepada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan tugas akhir dengan judul **“ANALISIS MINYAK ATSIRI DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI MINYAK ATSIRI LADA HITAM LAMPUNG ( *Piper nigrum L* ) ”**. Laporan tugas akhir ini merupakan salah satu persyaratan wajib bagi mahasiswa program pendidikan Strata Satu (S1) untuk mengikuti Sidang Akhir di Sekolah Tinggi Farmasi Bandung (STFB). Penyusunan laporan tugas akhir ini tentunya tidak terlepas dari partisipasi dan bantuan dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan banyak terima kasih, terutama kepada :

1. Allah SWT Yang Maha Pengasih Lagi Maha Penyayang, atas segala rahmat, hidayah serta nikmat dan karunia-Nya yang telah diberikan kepada penulis.
2. Orang tua tercinta, yang tak henti-hentinya memberikan dukungan berupa do'a, kasih sayang, semangat dan materil sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan tugas akhir ini.
3. Wendi Andriatna, S.T., M.Si. selaku dosen pembimbing utama yang telah meluangkan waktu untuk memberikan masukan, bimbingan, dan motivasi yang membangun kepada penulis hingga laporan tugas akhir ini terselesaikan dengan baik.

4. Anne Yuliantini, M.Si., Apt. selaku dosen pembimbing serta atas ketulusan hati dan kesabarannya dalam membimbing, mendukung, dan mengarahakan penulis hingga laporan tugas akhir ini terselesaikan dengan baik.
5. Serta berbagai pihak yang belum tertulis dan yang tidak mungkin disebutkan satu persatu yang telah berperan dalam penyusunan laporan tugas akhir ini. Penulis hanya bisa berdoa, semoga Allah membalas kebaikan-kebaikan mereka dengan setimpal. Amin.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan tugas akhir penelitian ini masih jauh dari kesempurnaan, karena keterbatasan pengetahuan maupun pengalaman penulis. Oleh karena itu penulis mohon maaf bila ada kesalahan dalam penulisan proposal penelitian dan penulis mengharapkan segala bentuk kritik maupun saran yang bersifat membangun dari pembaca.

Bandung, Agustus 2017

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK .....	i
KATA PENGANTAR .....	iii
DAFTAR ISI .....	v
DAFTAR LAMPIRAN .....	vii
DAFTAR GAMBAR .....	viii
DAFTAR TABEL .....	ix
DAFTAR SINGKATAN .....	x
Bab I Pendahuluan .....	1
I.1 Latar Belakang .....	1
I.2 Rumusan Masalah .....	2
I.3 Tujuan Penelitian .....	3
I.4 Manfaat Penelitian .....	3
Bab II Tinjauan Pustaka .....	4
II.1 Klasifikasi Lada Hitam .....	4
II.2 Sejarah Tanaman Lada.....	5
II.3 Biologi Lada .....	5
II.4 Kandungan Kimia Lada .....	6
II.5 Proses Pengolahan Lada Hitam .....	8
II.6 Minyak Atsiri.....	11
II.7 Isolasi Minyak Atsiri .....	12
II.8 Kromatografi Gas- Spektroskopi Massa (KG-SM).....	14
II.9 Aktivitas Antibakteri.....	18
II.10 Metode Pengujian Aktivitas Antibakteri.....	22
Bab III Metodologi Penelitian .....	25
Bab IV Alat dan Bahan.....	26

IV.1 Alat .....	26
IV.2 Bahan .....	26
Bab V Prosedur .....	27
V.1 Preparasi Sampel .....	27
V.2 Proses Penyulingan Minyak Atsiri Lada Hitam.....	27
V.3 Optimasi Alat Kromatografi Gas-Spektroskopi Massa .....	29
V.4 Analisis Minyak Atsiri Lada Hitam.....	29
V.5 Penetapan Berat Jeni (BJ) Minyak Atsiri Lada.....	30
V.6 Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Lada Hitam .....	30
Bab VI Hasil dan Pembahasan .....	34
Penetapan Kadar Air Bahan Baku .....	34
Proses Penyulingan Lada Hitam.....	35
Penetapan Bobot Jenis (BJ) Minyak Atsiri Lada Hitam.....	36
Sistem Alat KG-SM .....	38
Aktivitas Antibakteri Minyak Lada Hitam .....	46
Bab VII Kesimpulan & Saran.....	50
VII.1 Kesimpulan .....	50
VII.1 Saran .....	50
DAFTAR PUSTAKA.....	52
LAMPIRAN .....	56

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Perhitungan Kadar Air Lada Hitam .....	57
Lampiran 2. Perhitungan Kadar Minyak Atsiri Lada Hitam .....	58
Lampiran 3. Perhitungan Bobot Jenis (BJ) Minyak Atsiri Lada Hitam .....	56
Lampiran 4. Komponen senyawa Kimia Lada Hitam (Piper Nigrum L) .....	60
Lampiran 5. Dokumentasi Hasil Penelitian .....	61
Lampiran 6. Kondisi GC-MS .....	62
Lampiran 7. Hasil Determinasi.....	63

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar II.1 Tanaman Lada.....	4
Gambar II.2 Lada Hitam.....	4
Gambar II.3 Bagan alir proses pengolahan lada hitam .....	10
Gambar II.4 Diagram Alir Kromatografi Gas-Spektroskopi Massa (KG-SM).....	18
Gambar VI.1 Kromatogram KG Minyak Atsiri Lada Hitam.....	39
Gambar VI.2a Spektrogram Massa Puncak 11 .....	41
Gambar VI.2b Spektro Massa Senyawa dl-limonene Data Library KG-SM.....	41
Gambar VI.3a Spektrogram Massa Puncak 2.....	42
Gambar VI.3b Spektro Massa Senyawa alpha pinene Data Library KG-SM.....	42
Gambar VI.4a Spektrogram Massa Puncak 8.....	43
Gambar VI.4b Spektro Massa Senyawa delta-3-Carene Data Library KG-SM.....	43
Gambar VI.5a Spektrogram Massa Puncak 6.....	44
Gambar VI.5b Spektro Massa Senyawa 2-Beta-Pinene Data Library KG-SM.....	44
Gambar VI.6a Spektrogram Massa Puncak 38.....	45
Gambar VI.6b Spektro Massa Senyawa trans-caryophyllene Data Library KG-SM.....	45

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel II.1 Persyaratan Mutu Lada Hitam .....	8
Tabel II.2 Perbedaan Ciri-Ciri Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif .....	22
Tabel VI.1 Kadar Air Lada Hitam .....	34
Tabel VI.2 Kadar Minyak Atsiri Lada Hitam .....	35
Tabel VI.3 Bobot Jenis (BJ) Minyak Atsiri Lada Hitam .....	36
Tabel VI.4 Kondisi KG-SM Untuk Analisis Komponen Minyak Atsiri Lada Hitam .....	38
Tabel VI.5 Komponen Senyawa Minyak Atsiri Lada Hitam .....	39
Tabel VI.6 Komponen Utama Minyak Atsiri Lada Hitam .....	40
Tabel VI.7 Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Lada Hitam Terhadap Bakteri S. Aureus .....	46
Tabel VI.8 Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Lada Hitam Terhadap Bakteri E.Coli .....	47

## DAFTAR SINGKATAN

<b>SINGKATAN</b>	<b>NAMA</b>
KG-SM	Kromatografi Gas-Spektroskopi Massa
SNI	Standar Nasional Indonesia
BJ	Bobot Jenis
DMSO	Dimethyl Sulfoxide
NA	Nutrient Agar
MHB	Muller Hinton Broth
CLSI	Clinical and Laboratory Standard Institute

## Bab I Pendahuluan

### 1.1 Latar Belakang

Lada merupakan salah satu jenis rempah yang paling penting diantara rempah-rempah lainnya, baik ditinjau dari segi perannya dalam menyumbangkan devisa Negara maupun dari segi kegunaannya yang sangat khas dan tidak dapat diganti dengan rempah lainnya. Daerah utama penghasil lada hitam adalah Lampung. Sekitar  $\pm$  90% dari produksinya ditujukan untuk ekspor. Di pasar dunia, lada putih asal Indonesia dikenal sebagai *Muntok White Pepper*. Sedangkan lada hitam dikenal dengan nama *Lampung Black Pepper*.

Lada mendapatkan julukan “raja rempah-rempah” disebabkan efeknya bisa menghangatkan badan, lada sangat diperlukan oleh masyarakat di negara-negara subtropis yang suhunya relatif dingin. Manfaat lada yang utama adalah sebagai bumbu masak yang bisa membuat rasa masakan menjadi sedap. Selain untuk bumbu masak, lada bersama beberapa jenis rempah lain dan umbi-umbian juga digunakan sebagai bahan ramuan jamu tradisional (Andoko, 2002).

Lada mengandung minyak atsiri, pinena, kariofilena, limonena, filandrena, alkaloid, piperina, kavisina, piperitina, piperidina dan zat pahit (Septiatin, 2008). Lada umumnya diolah lebih lanjut menjadi oleoresin lada (*pepper oleoresin*) atau minyak lada (*pepper oil*).

Minyak tersebut dalam dunia farmasi dimanfaatkan sebagai antinyeri dan antimikroba (Lutony, 1994).

Aktivitas antimikroba dari lada hitam dapat digunakan untuk mengatasi keracunan makanan. *Foodborne disease* (sering juga disebut sebagai keracunan makanan) yaitu sakit yang ditimbulkan karena mengkonsumsi makanan yang terkontaminasi. Dari 76.000 kasus foodborne disease di US, 5000 diantaranya berakhir dengan kematian. Sebagian besar keracunan makanan disebabkan oleh bakteri patogen, fungi, virus, dan parasit. Penyebab foodborne disease secara garis besar disebabkan oleh bakteri (Bacterial foodborne diseases). *Bacterial foodborne disease* disebabkan oleh *Campylobacter jejuni*, *Salmonella sp*, *Escherichia coli* yang merupakan bakteri Gram negatif dan *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium botulisme* yang merupakan bakteri Gram positif.

Dari penjelasan yang telah dipaparkan peneliti ini dilakukan untuk mengetahui komponen minyak atsiri lada hitam Lampung, mengetahui aktivitas antibakteri lada hitam Lampung (*Piper nigrum L*) terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Masalah yang dapat dirumuskan dari uraian latar belakang adalah:

- 1) Apa saja komponen kimia minyak atsiri lada hitam Lampung (*Piper Nigrum L*) ?
- 2) Apakah minyak atsiri lada hitam Lampung dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan Gram negatif?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis minyak atsiri lada hitam yang dihasilkan dari destilasi uap menggunakan KG-SM, mengetahui aktivitas antibakteri dari minyak atsiri lada hitam Lampung terhadap pertumbuhan bakteri Gram positif dan Gram negatif.

## **1.4 Manfaat Penelitian**

Penelitian ini dilakukan untuk menganalisis minyak atsiri lada hitam Lampung dan memberikan informasi apakah minyak atsiri lada hitam Lampung ini mempunyai aktivitas antibakteri atau tidak.

## BAB II Tinjauan Pustaka

### II.1. Klasifikasi Lada Hitam



Gambar II.1 Tanaman lada



Gambar II.2 Lada hitam

Klasifikasi tanaman lada adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Class	: Dicotyledoneae
Ordo	: Piperales
Familia	: Piperaceae
Genus	: Piper
Species	: <i>Piper nigrum</i> L

(Tjitrosoepomo, 2007)

## **II.2 Sejarah Tanaman Lada**

Sentra produksi lada di Indonesia adalah daerah Lampung, Sumatera Selatan dan Kepulauan Bangka Belitung. Ketiga daerah ini memproduksi kurang lebih 90% dari produksi lada di Indonesia. Daerah penghasil lada lainnya yaitu Bengkulu, Lampung, Aceh, Sumatera Barat, Kalimantan Barat, Kalimantan Timur, Kalimantan Selatan, dan Sulawesi Selatan. Di luar Indonesia yaitu di India, Tiongkok, Thailand, Vietnam, Amerika Selatan, India Selatan. Tanaman lada ini menghasilkan 2 jenis lada yaitu lada putih dan lada hitam. Perbedaan lada putih dan lada hitam hanya terletak pada cara penanganan pasca panen saja. Lada putih diperoleh dari buah lada yang kulitnya dihilangkan, sedangkan lada hitam diperoleh dari buah lada yang kulitnya tidak dihilangkan (Tjitrosoepomo, 1994).

## **II.3 Biologi Lada**

Lada merupakan tanaman tahunan dari keluarga Piperaceae. Tanaman lada memiliki akar tunggang dengan akar utama dapat menembus tanah sampai kedalaman 1-2 m. Batang tanaman lada berbuku-buku dan berbentuk sulur yang dapat dikelompokkan menjadi empat macam sulur, yaitu sulur gantung, sulur panjang, sulur buah, dan sulur tanah. Daun lada merupakan daun tunggal dengan duduk daun berseling dan tumbuh pada setiap buku. Warna daun hijau muda pada waktu muda dan daun tua berwarna hijau mengkilat pada permukaan atas. Pertulangan daun melengkung dengan tepi daun bergelombang atau rata. Bunga-bunga terdapat pada cabang plagiotrophic (horizontal) yang tersusun dalam bulir (spica) atau

untai (amentum). Buah lada termasuk buah buni berbentuk bulat berwarna hijau dan pada waktu masak berwarna merah. Biji lada berwarna putih cokelat dengan permukaan licin (Wahid, 1996).

Tanaman lada merupakan tanaman tahunan yang tingginya dapat mencapai 10 m dan diameter tajuk dapat mencapai 1,5 m bila dibudidayakan dengan baik (Wahid, 1996). Sulur panjang tumbuh lebih baik dalam lingkungan kurang cahaya (fototropisme negatif) sedangkan sulur buah dalam keadaan cukup cahaya (fototropisme positif). Intensitas cahaya yang dibutuhkan berkisar antara 50% sampai 75%. Lada dapat tumbuh dengan baik didaerah dengan ketinggian 0-500 m dpl. Curah hujan yang paling baik untuk tanaman lada adalah 2000 – 3000 mm/tahun dengan hari hujan 110-170 hari, dan musim kemarau 2-3 bulan/tahun. Kelembaban udara yang sesuai adalah sekitar 70% - 90% dengan kisaran suhu 25-35°C. Tanaman lada dapat tumbuh pada semua jenis tanah, terutama tanah berpasir dan gembur dengan unsur hara yang cukup serta pH tanah yang sesuai berkisar antara 5-6,5 (Balittri, 2007).

#### **II.4 Kandungan Kimia Lada**

Lada hitam mengandung bahan aktif seperti amida fenolat, asam fenolat, dan flavonoid yang bersifat antioksidan sangat kuat. Selain mengandung bahan-bahan antioksidan, lada hitam juga mengandung piperin yang diketahui berkhasiat sebagai obat analgesik, antipiretik, antiinflamasi, serta memperlancar proses pencernaan (Meghwal dan Goswami, 2012). Seperti yang kita ketahui lada mempunyai sifat yang khas yaitu rasanya pedas dan aromanya yang khas. Rasa pedas tersebut disebabkan adanya zat piperin, piperanin dan kavisin

(Rismunandar, 2003). Kandungan lada hitam sangat beranekaragam dan piperin merupakan kandungan utama serta kavisin yang merupakan isomer dari piperin. Piperin adalah senyawa alkaloid (Evan, 1997) yang paling banyak terkandung dalam lada hitam dan semua tanaman yang termasuk dalam famili Piperaceae. Senyawa amida (piperin) berupa kristal berbentuk jarum, berwarna kuning, tidak berbau, tidak berasa, lama-kelamaan pedas, larut dalam etanol, asam cuka, benzena, dan kloroform (Amaliana, 2008). Piperin memiliki manfaat sebagai anti-inflamasi, antiarthritik (Bang et al., 2009; Sudjarwo, 2005), analgesik (Sudjarwo, 2005), depresan sistem saraf pusat dan anticonvulsan (Deepthi *et al.*, 2012). Kombinasi zat-zat yang terkandung mengakibatkan lada hitam memiliki rasa pedas, berbau khas dan aromatik. Kandungan zat yang memberikan warna, bau dan aroma dalam lada hitam adalah  $\alpha$ -terpinol, acetophenone, hexonal, nerol, nerolidol, 1,8 cineol, dihydrocarveol, citral,  $\alpha$ -pinene dan piperolnol. Piperin memiliki banyak efek farmakologi yaitu sebagai antiinflamasi, antimikroba, hepatoprotektor, antikanker dan meningkatkan efek antioksidan sel (Selvendiran *et al.*, 2003).

Persyaratan mutu lada hitam menurut SNI 0005-2013 :

Tabel II.1  
Persyaratan mutu lada hitam

	Spesifikasi	Satuan	Persyaratan	
			mutu I	mutu II
1	kadar air, (b/b) maks	%	12,0	14,0
2	Kadar biji enteng, (b/b) maks	%	2,0	5,0
3	Kadar benda asing, (b/b) maks	%	1,0	2,0
4	Kadar cemaran kapang, b/b) maks	%	1,0	1,0
5	Salmonella	Detection/25g	negatif	Negatif
6	E.coli	MPN/g	<3	<3

(\*) : SNI 0005-2013

## II.5 Proses Pengolahan Lada Hitam

Tahap-tahap pengolahan lada hitam adalah sebagai berikut :

- 1) Perontokan
  - a. Untuk mempercepat perontokan atau pelepasan gagang buah lada atau dompolan, maka buah lada yang baru dipetik ditumpuk pada lantai beralas tikar dengan ketebalan tumpukan antara 30 cm sampai  $\pm 1$  meter selama 2 - 3 hari. Tumpukan tersebut biasanya ditutup dengan karung..
  - b. Setelah itu lada dipisahkan dari dompolan atau gagang dengan menggunakan saringan yang terbuat dari anyaman bambu dan ditempatkan agak tinggi serta dibawahnya ditaruh suatu wadah atau tampah sebagai penampung buah lada.

- c. Tangkai atau gagang dari buah yang tertinggal pada saringan bambu dipisahkan dan ditampung pada wadah khusus.

## 2) Pengeringan.

- a. Buah lada yang sudah terpisah dari gagangnya, kemudian dijemur dibawah sinar matahari selama 3 - 7 hari tergantung dari keadaan cuaca.
- b. Pengeringan buah lada dilakukan dengan mempergunakan tikar, tampah atau plastik. Untuk meningkatkan efisiensi pengeringan dan mencegah pengotoran lada, pengeringan dapat diperbaiki dengan mempergunakan lantai pengeringan yang dibuat lebih tinggi dari tanah.
- c. Pada waktu proses pengeringan, tumpukan lada dibolak-balik atau ditipiskan dengan ketebalan tumpukan 10 cm menggunakan garuk dari kayu agar pengeringan lebih cepat dan merata.
- d. Penentuan akhir dari pengeringan lada dapat dilakukan secara organoleptik yaitu dengan diraba atau dipijat dengan jari tangan dimana lada dianggap kering bila dipijat memberikan suara menggeretak dan pecah. Di samping itu dapat juga dilakukan dengan alat pengukur kadar air, sesuai dengan kadar air yang diinginkan.

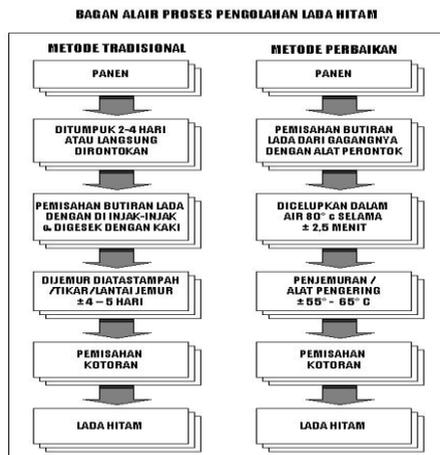
## 3) Pembersihan dan sortasi

Lada kering kemudian ditampi dengan tampah, yaitu untuk membuang bahan-bahan yang ringan serta benda asing lainnya

seperti tanah, pasir, daun kering, gagang, serat-serat dan juga sebagian lada enteng.

- 4) Pengemasan dan penyimpanan
  - a. Lada kering yang telah bersih kemudian dimasukkan dalam karung atau wadah penyimpanan lain yang kuat dan bersih.
  - b. Karung atau wadah tersebut kemudian disimpan diruangan penyimpanan yang kering dan tidak lembab ( $\pm 70\%$ ), dengan diberi alas dari bambu atau kayu setinggi  $\pm 15$  cm dari permukaan lantai sehingga bagian bawah karung tidak berhubungan langsung dengan lantai.

Untuk pengolahan hasil lada hitam, dari 100 kg lada basah yang masih bergagang diperoleh lada basah tanpa gagang antara 70 - 80 kg atau rata-rata 80 kg serta selanjutnya akan diperoleh lada hitam kering sebanyak antara 25 - 33 kg atau rata-rata 31 kg (Rismunandar, 2003).



Gambar II.3: Bagan alir proses pengolahan lada hitam

## II.6 Minyak Atsiri

Minyak atsiri atau yang disebut juga dengan essential oils, etherial oils, atau volatile oils adalah komoditi ekstrak alami dari jenis tumbuhan yang berasal dari daun, bunga, kayu, biji-bijian bahkan putik bunga. Setidaknya ada 150 jenis minyak atsiri yang selama ini diperdagangkan di pasar internasional dan 40 jenis diantaranya dapat diproduksi di Indonesia. Meskipun banyak jenis minyak atsiri yang bisa diproduksi di Indonesia, baru sebagian kecil jenis minyak atsiri yang telah berkembang dan sedang dikembangkan di Indonesia (Gunawan, 2010). Minyak atsiri ini merupakan minyak yang mudah menguap, dengan komposisi dan titik didih yang berbeda-beda. Setiap substansi yang dapat menguap memiliki titik didih dan tekanan uap tertentu dan hal ini dipengaruhi oleh suhu (Guenther, 2006).

Kegunaan minyak atsiri sangat luas dan spesifik, khususnya dalam berbagai industri. Banyak contoh kegunaan minyak atsiri antara lain dalam industri kosmetik seperti sabun, pasta gigi, sampo dan *lotion*. Dalam industri makanan digunakan sebagai bahan penyedap atau penambah cita rasa. Dalam industri parfum sebagai pewangi dalam berbagai produk minyak wangi. Dalam industri farmasi dapat sebagai antinyeri, antiinfeksi, dan antibakteri. Minyak atsiri juga dapat digunakan sebagai insektisida (Lutony, 1994).

Minyak atsiri juga dapat sebagai antimikroba. Minyak atsiri bagi manusia terutama pada dosis yang tinggi atau berlebihan dapat menyebabkan depresi susunan syaraf yang disertai dengan gejala

kejang dan kematian. Beberapa jenis minyak atsiri dapat digunakan sebagai bahan antiseptik eksternal dan internal, sebagai bahan analgetik, haemolitik, sedatif, stimulan untuk obat sakit perut dan sebagai obat cacing (Guenther, 1987). Minyak atsiri pada umumnya mempunyai bau khas aromatik dan tidak berwarna, akan tetapi bila dibiarkan lebih lama maka warnanya akan berubah kecoklatan karena terjadi proses oksidasi. Untuk mencegah oksidasi, minyak atsiri disimpan pada tempat yang sejuk dan kering dalam wadah tertutup rapat. Umumnya minyak atsiri larut dalam pelarut organik dan tidak larut dalam air. Sebagian besar minyak atsiri terdiri dari persenyawaan hidrokarbon isosiklik serta golongan hidrokarbon yang telah mengikat oksigen seperti alkohol, fenol, dan lain-lain. Minyak atsiri mengandung bermacam-macam komponen kimia yang berbeda-beda dan dapat digolongkan ke dalam empat kelompok, yaitu terpena yang ada hubungannya dengan isopren, persenyawaan berantai lurus tidak mengandung rantai cabang, turunan benzen, dan bermacam-macam senyawa lain, misalnya turunan alkohol (linalool, borneol, sineol, eugenol), aldehyd (benzaldehyd, anisaldehyd, sitral), keton (kamfor, mentol, piperiton) (Guenther, 1987).

## **II.7 Isolasi Minyak Atsiri**

Menurut Guenther (1987), dikenal tiga cara penyulingan minyak atsiri, yaitu penyulingan air, penyulingan air dan uap dan penyulingan uap langsung. Ketiga cara penyulingan tersebut mempunyai kelebihan dan kekurangan masing-masing tergantung dari bahan dan kondisi bahan yang akan disuling. Cara yang paling cocok untuk penyulingan minyak lada adalah cara uap air.

### 1. Penyulingan dengan air (*water distillation*)

Pada metode ini, bahan yang akan disuling kontak langsung dengan air mendidih. Bahan tersebut mengapung di atas air atau terendam secara sempurna tergantung dari bobot jenis dan jumlah bahan yang disuling. Air dipanaskan dengan metode pemanasan yang biasa dilakukan, yaitu dengan panas langsung, mantel uap, pipa uap melingkar tertutup, atau dengan memakai pipa uap berlingkar terbuka atau berlubang. Ciri khas dari metode ini ialah kontak langsung antara bahan dengan air mendidih. Beberapa jenis bahan harus disuling dengan metode ini, karena bahan harus tercelup dan dapat bergerak bebas dalam air mendidih. Jika disuling dengan metode uap langsung, bahan ini akan merekat dan membentuk gumpalan besar yang kompak, sehingga uap tidak dapat berpenetrasi ke dalam bahan.

### 2. Penyulingan dengan uap air (*water steam distillation*)

Pada metode penyulingan ini, bahan olah diletakkan di atas rak-rak atau saringan berlubang. Ketel suling diisi dengan air sampai permukaan air berada tidak jauh di bawah saringan. Air dapat dipanaskan dengan berbagai cara yaitu dengan uap jenuh yang basah dan bertekanan rendah. Ciri khas dari metode ini adalah uap selalu dalam keadaan basah, jenuh, dan tidak terlalu panas; bahan yang disuling hanya berhubungan dengan uap dan tidak dengan air panas.

### 3. Penyulingan dengan uap.

Metode ketiga disebut penyulingan uap atau penyulingan uap langsung dan prinsipnya sama dengan yang telah dibicarakan di atas, kecuali air tidak diisikan dalam ketel. Uap yang digunakan adalah uap jenuh atau uap kelewat panas pada tekanan lebih dari 1 atmosfer.

Uap dialirkan melalui pipa uap berlingkar yang berpori yang terletak di bawah bahan, dan uap bergerak ke atas melalui bahan yang terletak di atas saringan.

### **II.8 Kromatografi Gas-Spektroskopi Massa (KG-SM).**

Analisis minyak atsiri lada hitam biasanya dilakukan dengan menggunakan Kromatografi Gas- Spektroskopi Massa (KG-SM). Dimana analisis sampel dapat menunjukkan perbedaan antara kualitatif dengan kuantitatif dari komponen minyak atsiri. Kromatografi Gas-Spektroskopi Massa (KG-SM) merupakan metode pemisahan senyawa organik yang menggabungkan dua metode analisis senyawa yaitu Kromatografi Gas (KG) berfungsi sebagai alat pemisah berbagai komponen campuran dalam sampel, sedangkan Spektroskopi Massa (SM) berfungsi untuk mendeteksi masing-masing molekul komponen yang telah dipisahkan pada sistem kromatografi gas. Analisis dengan kromatografi gas spektroskopi massa merupakan metode yang cepat dan akurat untuk memisahkan campuran yang rumit, mampu menganalisis cuplikan dalam jumlah yang sangat kecil dan menghasilkan data yang berguna mengenai struktur serta identitas senyawa organik (Agusta, 2000).

Kromatografi gas (KG) merupakan salah satu jenis kromatografi yang menggunakan gas sebagai fase gerak. Sementara itu, fase diamnya dapat berupa zat padat atau zat cair yang diikatkan pada pendukung padat. Syarat suatu senyawa dapat dianalisis dengan KG adalah senyawa tersebut harus bersifat mudah menguap (volatil). Oleh karena itu, senyawa-senyawa yang bersifat non volatil harus

diubah terlebih dahulu menjadi senyawa yang mudah menguap dengan cara derivatisasi. Peralatan kromatografi gas yang umum terdiri dari atas gas pembawa, ruang suntik sampel, kolom yang diletakkan dalam oven yang dikontrol secara termostatik, sistem deteksi dan pencatat (detektor dan rekorder, serta komputer yang dilengkapi dengan perangkat pengolahan data) (Gandjar dan Rohman, 2007).

Gas pembawa biasanya berupa gas permanen yang mempunyai kapasitas adsorpsi yang sangat rendah seperti helium, nitrogen, hidrogen atau campuran argon dan metana. Fungsi gas pembawa adalah membawa sampel ke dalam sistem kromatografi gas (Gandjar dan Rohman, 2007).

Beberapa jenis injektor telah dikembangkan untuk tujuan menghantarkan sampel yang telah teruapkan menuju kolom KG dengan peleburan pita awal yang sesempit mungkin. Tempat masuk sampel yang sering dirujuk dengan injektor atau lubang injeksi dapat dikelompokkan menjadi 2 kelompok utama yaitu injektor penguapan (*vaporization injector*) dan injektor pada kolom (*on column injector*). Injektor penguapan menggunakan suhu yang tinggi untuk menguapkan sampel-sampel cair dengan cepat. Biasanya digunakan *syringe* untuk menghantarkan sampel ke dalam lubang injeksi yang telah dipanaskan. Dalam kasus ini sampel akan menguap secara cepat lalu bercampur dengan gas pembawa dan sampel akan dipindahkan ke dalam kolom (Gandjar dan Rohman, 2007).

Kolom merupakan tempat terjadinya proses pemisahan karena di dalamnya terdapat fase diam. Oleh karena itu kolom merupakan komponen yang sangat penting pada KG. Terdapat 2 jenis kolom pada KG yaitu kolom kemas (*packing column*) dan kolom kapiler (*capillary column*) (Gandjar dan Rohman, 2007).

Detektor merupakan perangkat yang diletakkan pada ujung kolom, tempat keluar fase gerak yang akan berinteraksi dengan molekul-molekul solut yang keluar dari kolom. Detektor pada kromatografi adalah suatu sensor elektronik yang berfungsi mengubah sinyal gas pembawa dan komponen-komponen di dalamnya menjadi sinyal elektronik. Sinyal elektronik detektor akan sangat berguna untuk analisis kualitatif maupun kuantitatif terhadap komponen-komponen yang terpisah diantara fase diam dan fase gerak (Gandjar dan Rohman, 2007).

Hasil analisis kromatografi gas yang ditampilkan dalam bentuk kromatogram. Dari kromatogram dapat diperoleh informasi mengenai jumlah komponen kimia yang terdapat dalam campuran yang dianalisis yang ditunjukkan oleh jumlah puncak yang terbentuk pada kromatogram berikut kuantitasnya masing-masing. Pembentukan kromatogram ini didasarkan pada jumlah total ion yang terbentuk dari masing-masing komponen kimia tersebut. Artinya jika suatu komponen berada dalam persentase tinggi pada campuran yang dianalisis, maka jumlah ion yang terbentuk dari molekul komponen tersebut akan tinggi juga. Sehingga puncak yang tampil pada kromatogram juga memiliki luas area yang besar.

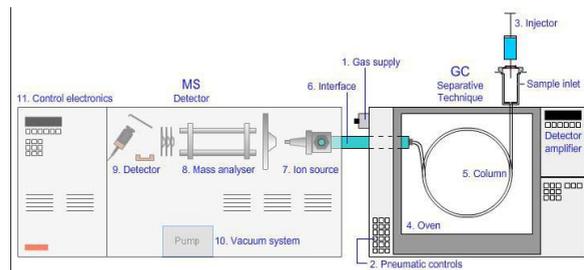
Sebaliknya, jika suatu komponen kimia dalam campuran tersebut terdapat dalam persentase kecil, maka puncak yang tampil pada kromatogramnya otomatis akan kecil (Agusta, 2000).

Spektroskopi massa merupakan suatu metode analisis instrumental yang dipakai untuk identifikasi molekul-molekul gas bermuatan berdasarkan massa atau pola fragmentasinya. Metode spektroskopi massa ini didasarkan pada pengubahan komponen cuplikan menjadi ion-ion gas dan memisahkannya berdasarkan perbandingan massa terhadap muatan ( $m/e$ ) (Saputera, 2012).

Prinsip dari spektroskopi massa yaitu sampel ditembakkan dengan suatu berkas elektron yang menghasilkan suatu molekul ion atau fragmen ionik spesi asal. Campuran partikel bermuatan yang dihasilkan itu kemudian dipisahkan menurut massanya ( $m/z$ ) yang direkam menghasilkan spektrum massa (Irsyaf, 2014).

Spektrum massa hasil analisis sistem spektroskopi massa merupakan gambaran mengenai jenis dan jumlah fragmen molekul yang terbentuk dari suatu komponen kimia. Setiap fragmen yang terbentuk dari pemecahan suatu komponen kimia memiliki berat molekul yang berbeda dan ditampilkan dalam bentuk diagram dua dimensi,  $m/z$  ( $m/e$ , massa/muatan) pada sumbu X dan intensitas pada sumbu Y yang disebut dengan spektrum massa. Pola fragmentasi molekul yang terbentuk untuk setiap komponen kimia sangat spesifik sehingga dapat dijadikan sebagai patokan untuk menentukan struktur molekul suatu komponen kimia. Selanjutnya, spektrum massa

komponen kimia yang diperoleh dari hasil analisis diidentifikasi dengan cara membandingkan spektrum massa analit dengan spektrum massa pustaka data/data *library*. Ada beberapa produk pustaka data yang dapat digunakan untuk tujuan ini, misalnya *National Institute Standard of Technology* (NIST), NBS75K dan *Wiley Library* (Agusta, 2000).



Gambar II.4 Diagram Alir Kromatografi Gas-Spektroskopi Massa (KG-SM)

## II.9 Aktivitas Antibakteri

### Bakteri

Antibakteri adalah suatu senyawa yang mampu menghambat pertumbuhan maupun membunuh mikroorganisme. Aktivitas antimikroba dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain, konsentrasi atau intensitas zat antimikroba, jumlah mikroorganisme,

keasaman atau kebasaaan (pH), potensi suatu zat antimikrobadalam larutan yang diuji, dan kepekaan suatu mikroba terhadap konsentrasi antibakteri (Pelczar dan Chan, 1986).

Mekanisme kerja zat antibakteri secara umum antibakteri obat atau senyawa kimia yang digunakan untuk membasmi bakteri, khususnya bakteri yang merugikan manusia. Berdasarkan sifat toksisitas selektif, ada antibakteri yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri, dikenal aktivitas bakteriostatik. Kadar minimal yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan bakteri atau membunuhnya, masing-masingdikenal dengan Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM). Antibakteri tertentu aktivitasnya dapat meningkatkan kemampuan bakterisida. Aktivitas antibakteri dibagi dalam empat kelompok :

1) Antibakteri yang menghambat metabolisme sel bakteri.

Pada mekanisme ini diperoleh efek bakteriostatik. Antibakteri yang termasuk dalam golongan ini adalah sulfonamide, trimetoprim, asam p-aminosalisilat dan sulfon. Kerja antibakteri ini adalah menghambat pembentukan asam folat, bakteri membutuhkan asam folat untuk kelangsungan hidupnya dan bakteri memperoleh asam folat dengan mensintesis sendiri dari asam para amino benzoat (PABA). Sulfonamid dan sulfon bekerja bersaing dengan PABA dalam pembentukan asam folat. Sedang trimetoprim bekerja dengan menghambat enzim dihidrofolat reduktase (Setiabudy dan Gan, 1995).

2) Antibakteri yang menghambat sintesis dinding sel bakteri

Dinding sel bakteri terdiri dari peptidoglikan, sintesis peptidoglikan akan dihalangi oleh adanya antibiotik seperti penisilin, sefalosporin, basitrasin, vankomisin, sikloserin. Sikloserin akan menghambat reaksi paling dini dalam proses sintesis dinding sel sedang yang lainnya menghambat di akhir sintesis peptidoglikan, sehingga mengakibatkan dinding sel menjadi tidak sempurna dan tidak mempertahankan pertumbuhan sel secara normal, sehingga tekanan osmotik dalam sel bakteri lebih tinggi daripada tekanan di luar sel maka kerusakan dinding sel bakteri akan menyebabkan lisis, yang merupakan dasar efek bakterisidal pada bakteri yang peka (Setiabudy dan Gan, 1995). Antibakteri yang mengganggu membran sel bakteri Sitoplasma dibatasi oleh membran sitoplasma yang merupakan penghalang dengan permeabilitas yang selektif. Membran sitoplasma akan mempertahankan bahan-bahan tertentu di dalam sel serta mengatur aliran keluar-masuknya bahan-bahan lain. Jika terjadi kerusakan pada membran ini akan mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel atau matinya sel (Pelczar dan Chan, 1986).

### 3) Antibakteri yang menghambat sintesis protein sel bakteri

Kehidupan sel bakteri tergantung pada terpeliharanya molekul molekul protein dan asam nukleat dalam keadaan alamiah. Jika kondisi atau substansi yang dapat mengakibatkan terdenaturasinya protein dan asam nukleat dapat merusak sel tanpa dapat diperbaiki kembali. Suhu tinggi dan konsentrasi pekat beberapa zat kimia dapat mengakibatkan koagulasi (denaturasi) yang bersifat irreversible terhadap komponen-komponen seluler yang vital ini (Pelczar dan Chan, 1986).

- 4) Antibakteri yang menghambat sintesis atau merusak asam nukleat sel bakteri

Protein, DNA, dan RNA berperan penting dalam proses kehidupan normal sel bakteri. Apabila terjadi gangguan pada pembentukan atau pada fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel (Pelczar dan Chan, 1986).

Berdasarkan pewarnaan Gram, bakteri dapat dibedakan menjadi dua golongan, yaitu bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Bakteri Gram negatif zat lipidnya akan larut selama pencucian dengan alkohol sehingga pori-pori pada dinding sel akan membesar, permeabilitas dinding sel menjadi besar, sehingga zat warna yang sudah diserap mudah dilepaskan dan kuman menjadi tidak berwarna. Pada bakteri Gram positif, akan mengalami denaturasi protein pada dinding selnya dengan pencucian oleh alkohol sehingga protein menjadi keras dan kaku, pori-pori mengecil, permeabilitas kurang sehingga kompleks ungu kristal iodium dipertahankan dan sel kuman tetap berwarna ungu. Hal ini disebabkan karena bakteri Gram positif dan Gram negatif mempunyai susunan kimia dinding sel yang berbeda. Salah satu contoh dari bakteri Gram positif adalah *Staphylococcus aureus* dan bakteri Gram negatif adalah *Eschericia coli* (Syahrurachman dkk, 1994). Adapun perbedaan antara bakteri Gram positif dan bakteri Gram negative yang dapat dilihat pada Tabel II.2

Tabel II.2  
Perbedaan Ciri-Ciri Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif

Ciri	Gram Positif	Gram Negatif
Struktur Dinding Sel	Tebal 15-80 nm	Tipis 10-15 nm
	Berlapis Tunggal (mono)	Berlapis tiga (multi)
Kerentanan terhadap penisilin	Lebih rentan	Kurang rentan
Persyaratan nutrisi	Relatif murni pada banyak spesies	Relatif sederhana
Resistensi terhadap gangguan fisik	Lebih resisten	Kurang resisten
Komposisi dinding sel	Kandungan lipid rendah (1-4%)	Kandungan lipid tinggi(11-22%)
	Peptidoglikan ada sebagai lapisan tunggal, komponen utama merupakan lebih dari 50% berat kering pada beberapa sel bakteri	Peptidoglikan ada didalam lapisan kaku sebelah dalam, jumlahnya sedikit merupakan sekitar 10% berat kering
	Ada asam teikoat	Tidak ada asam teikoat

## II.10 Metode Pengujian Aktivitas Antibakteri

Penentuan kepekaan bacteria pathogen terhadap antibakteri dapat dilakukan dengan salah satu dari dua metode pokok yaitu dilusi atau difusi. Menurut Pratiwi (2008), pengujian aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi dan dilusi.

### 1. Metode difusi

#### a. Metode *disc diffusion* (tes Kirby & Bauer)

Piringan yang berisi sampel antibakteri diletakkan di atas permukaan agar yang telah ditanami bakteri, diinkubasi selama 18-24 jam pada

suhu 37°C kemudian diamati pertumbuhan bakteri, area jernih di sekitar piringan mengindikasikan adanya penghambatan pertumbuhan bakteri oleh sampel antibakteri.

b. Metode *E-test*

Strip plastik yang mengandung sampel antibakteri dari kadar terendah hingga tertinggi diletakkan pada permukaan media agar yang telah ditanami bakteri, diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Pengamatan dilakukan pada area jernih disekitar strip plastik yang mengindikasikan adanya penghambatan pertumbuhan bakteri oleh sampel antibakteri

c. *Ditch-plate technique*

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

d. *Cup-plate technique*

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

## 2. Metode dilusi

Metode ini menggunakan antimikrobia dengan kadar yang menurun secara bertahap, baik dengan medium cair atau padat. Kemudian medium diinokulasi bakteri uji dan dieramkan (Jawetz dkk, 2005). Tahap akhir metode ini, dilarutkan antimikrobia dengan kadar yang menghambat atau mematikan. Uji kepekaan cara dilusi cair dengan menggunakan tabung reaksi, tidak praktis dan jarang dipakai, namun kini ada cara yang lebih sederhana dan banyak dipakai, yakni menggunakan *microdilution plate* (Jawetz dkk, 2005). Keuntungan uji mikrodilusi cair adalah bahwa uji ini memberi hasil kuantitatif yang menunjukkan jumlah antimikroba yang dibutuhkan untuk mematikan bakteri (Jawetz dkk, 2005).