

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Kunyit

#### 2.1.1 Tanaman Kunyit dan Manfaatnya

Tanaman kunyit merupakan salah satu tanaman rempah dan juga obat, habitat asli dari tanaman kunyit ini berasal dari wilayah Asia khususnya Asia Tenggara. Tanaman Kunyit mengalami penyebaran ke daerah seperti Indonesia, Malaysia, Australia bahkan menyebar sampai ke wilayah Afrika. Kebanyakan masyarakat Indonesia dan India serta bangsa Asia umumnya pernah mengkonsumsi tanaman kunyit ini, baik digunakan sebagai pelengkap bumbu masakan, jamu atau digunakan juga untuk menjaga kesehatan dan kecantikan (Hapsoh dkk., 2011).

Dalam taksonomi tumbuhan, kunyit dikelompokkan sebagai berikut (Hapsoh dkk., 2011) :

Divisi (Divisio) : Spermatophyta (tumbuhan berbiji)

(Sub-divisio) : Angiospermae (berbiji tertutup)

Kelas (class) : Monocotyledonae (biji berkeping satu)

Bangsa (ordo) : Zingiberales

Suku (family) : Zingiberaceae (temu-temuan)

Marga (genus) : Curcuma

Jenis (species) : *Curcuma longa linn*

*Curcuma domestica Val*



**Gambar 2 1 Daun Kunyit (*Curcuma longa L*) (Dokumentasi Pribadi)**

Tanaman kunyit merupakan tanaman menahun yang mempunyai ciri khas tumbuh berkelompok membentuk rumpun. Tanaman kunyit ini tumbuh bercabang yang memiliki tinggi 40-100 cm. Daun tunggal, serta memiliki bentuk bulat telur atau lanset dan memanjang sekitar 10-40 cm, dan lebar daun kunyit sekitar 8-12,5 cm serta pertulangan menyirip dengan warna hijau pucat, ujung dan pangkal daun kunyit berbentuk runcing dengan tepi daun yang rata. Bagian batang tanaman kunyit merupakan batang semu, tegak dan berbentuk bulat serta membentuk rimpang dengan warna hijau kekuningan dan tersusun dari pelepasan daun (agak lunak). Bunga dari tanaman kunyit ini berbunga majemuk yang berambut serta bersisik dari pucuk batang semu, dengan ukuran panjang sekitar 10-15 cm terdapat mahkota sekitar 3 cm dengan lebar 15 cm serta berwarna putih atau kekuningan. Kulit luar rimpang berwarna jingga kecoklatan, dengan daging buah berwarna merah jingga kekuning-kuningan (Hapsoh dan Hasanah, 2011).

Tanaman kunyit ini memiliki khasiat sebagai jamu dan juga obat tradisional untuk berbagai jenis penyakit. Senyawa yang terkandung didalam tanaman kunyit antara lain seperti kurkumin dan minyak atsiri. Senyawa tersebut memiliki khasiat sebagai antibakteri, antioksidan, antikanker, antitumor, antiracun serta antipikun. Secara tradisional oleh masyarakat dari berbagai negara tanaman kunyit digunakan untuk mengobati berbagai jenis penyakit, seperti penyakit yang disebabkan oleh parasit, mikroba, penyakit mata, gigitan serangga, sakit perut (kembung, diare, sembelit) serta digunakan pada gangguan pencernaan, asma, gangguan hati dan juga untuk menghilangkan gatal-gatal dan penyakit kulit lain, selain itu digunakan untuk mengurangi rasa nyeri dan sakit pada penderita rematik arthritis (Hartati & Balitro, 2013).

Dalam bidang keamanan pangan, kandungan minyak atsiri pada kunyit memberikan efek antimikroba sehingga dapat dimanfaatkan untuk mengawetkan makanan. Minyak ini terbukti bersifat membunuh (bakterisidal) terhadap bakteri golongan *Bacillus cereus* B. *Subtilis*, dan B. *Megaterium*. Selain itu minyak atsiri mampu menghambat pertumbuhan sel vegetatif bacillus dan menghambat pertumbuhan sporanya. Kandungan minyak atsiri dapat diperoleh dari seluruh bagian tanaman, mulai dari akar, rimpang, daun hingga bunga (Fannia K dkk., 2019).

### **2.1.2 Kandungan Kunyit**

Kandungan kimia yang terdapat pada kunyit akan lebih tinggi apabila berasal dari dataran rendah dibandingkan dengan kunyit yang berasal dari dataran tinggi. Kandungan kimia yang

penting pada tanaman kunyit adalah kurkumin, minyak atsiri, resin, desmetoksikurkumin, oleoresin, dan bidesmetoksikurkumin, damar, gom, lemak, protein, kalsium, fosfor, dan besi. Kandungan kimia kunyit yang terdiri dari protein (30%), karbohidrat (3%), moisture (13,1%), lemak (5,1%), serta mineral (3,5%). Minyak esensial (5,8%) dihasilkan dengan destilasi uap dari rimpang yaitu zingiberene (25%) , sesquiterpines (53%), a-phellandrene (1%), cineol (1%), sabinene (0.6%), serta borneol (0.5%). Kurkumin (diferuloylmethane) (3–4%) adalah komponen aktif dari kunyit yang berperan untuk warna kuning, dan terdiri dari Curcumin I (94%), Curcumin II (6%) serta Curcumin III (0.3%) (Kusbiantoro, 2018).

Minyak atsiri adalah minyak dari tanaman yang komponennya secara umum mudah menguap sehingga banyak yang menyebutnya dengan istilah minyak terbang. Minyak atsiri tersusun dari jalur biosintesis metabolit sekunder yaitu jalur asetat-mevalonat untuk golongan terpenoid jalur sikimat-fenil propan untuk golongan aromatik (Rollando,2019). Kandungan minyak atsiri yang terkandung dalam kunyit sekitar 3-5%). Selain bagian rimpang, bagian tanaman kunyit lain yaitu daunnya memiliki aktivitas antimikroba yang mengandung minyak atsiri (Septiana dkk., 2015). Daun kunyit mengandung minyak atsiri golongan *sesquiterpen, diterpen, monoterpen, politerpen, flavonoid, alkohol, keton, aldehid, ester dan juga eter* (Aseptianova, 2019).

## 2.2 Senyawa Antibakteri dan Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri

Senyawa antibakteri termasuk kedalam senyawa metabolit sekunder yang dapat ditemukan pada organisme memiliki manfaat untuk menghambat pertumbuhan mikroba atau bakteri. Senyawa metabolit ini memiliki sifat sebagai antibakteri, dan secara umum memiliki mekanisme kerjanya dengan mendenaturasi protein, menghambat kerja enzim, mengubah permeabilitas membran, serta bekerja dengan merusak dinding sel(Febrianasari, 2018).

Berikut beberapa senyawa metabolit sekunder yang mempunyai cara berbeda-beda dalam menghambat pertumbuhan bakteri diantaranya :

- a. Flavonoid dapat ini memiliki peran langsung sebagai antibiotik dengan cara mengganggu fungsi dari mikroorganisme seperti bakteri dan virus (Dwayana & Johannes, 2013). Mekanisme kerja dari senyawa flavonoid sebagai antimikroba dibagi menjadi tiga bagian diantaranya adalah menghambat sintesis asam nukleat, menghambat energi serta menghambat fungsi membran sel (Hendra dkk., 2011). Senyawa flavonoid ini menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom, serta lisosom sebagai hasil interaksi antara flavonoid dengan DNA

bakteri, mekanisme kerja dari flavonoid dalam menghambat fungsi membrane sel adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler serta terlarut sehingga dapat merusak membrane sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler. Flavonoid ini dapat menghambat pada sitikrom C reduktase sehingga pembentukan metabolisme terhambat.

- b. Terpenoid, senyawa terpenoid juga diketahui aktif dalam melawan bakteri , tetapi mekanisme kerja antibakterial triterpenoid masih belum benar-benar diketahui. Aktivitas antibakteri terpenoid diduga melibatkan pemecahan membran oleh komponen-komponen lipofilik (Rahmawati dkk., 2019). Selain penjelasan senyawa fenolik dan terpenoid memiliki target utama yaitu membran sitoplasma yang mengacu pada sifat alamnya yang hidrofobik.
- c. Saponin, mekanisme senyawa saponin sebagai antibakteri yaitu dengan menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel saponin dapat menjadi antibakteri karena zat aktif permukaanya itu mirip dengan detergen, maka dari itu saponin dapat menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan merusak permeabilitas membran. (Bontjura dkk., 2015)
- d. Steroid, mekanisme kerja steroid sebagai antibakteri adalah berhubungan dengan membran lipid dan sensitivitas terhadap komponen steroid yang menyebabkan kebocoran pada liposom (Bontjura dkk., 2015). Steroid ini dapat berinteraksi dengan membran fosfolipid sel yang bersifat permeabel terhadap senyawa- senyawa lipofilik sehingga menyebabkan integritas membran menurun serta morfologi membraan sel berubah yang menyebabkan sel rapuh dan lisis.

### **2.3 *Propionibacterium acnes***

#### **2.3.1 Definisi *Propionibacterium acnes***

*Propionibacterium acnes* merupakan floral normal dari kelenjar polisebaseus kulit manusia, bakteri *Propionibacterium acnes* ini menyebabkan jerawat dengan menghasilkan lipase yang memecah asam lemak bebas dari lipid kulit (Miratunnisa dkk., 2015).

#### **2.3.2 Klasifikasi Bakteri *Propionibacterium acnes***

Salah satu bakteri yang mengakibatkan timbulnya jerawat dibagian permukaan kulit salah satunya yaitu bakteri *Propionibacterium acnes*. Berikut klasifikasi dari bakteri *Propionibacterium acnes* :

Kingdom : Bacteria

Phylum : Actinobacteria

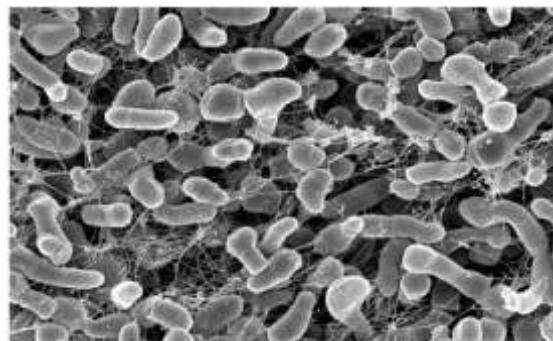
Class : Actinobacteria

Order : Actinomycetales

Family : Propionibacteriaceace

Genus : *Propionibacterium*

Spesies : *Propionibacterium acnes* (Miralunnisa dkk.,2015)



Gambar 2 .2 *Propionibacterium acnes* Sumber : (Science Direct,2016)

### 2.3.3 Morfologi Bakteri *Propionibacterium acnes*

Bakteri *Propionibacterium acnes* merupakan bakteri batang gram positif, memiliki panjang yang bervariasi antara 1-1,5  $\mu\text{m}$ , serta nonmotil, bersifat pleiomorfisme, anaerobik dan berproliferasi pada lingkungan yang mengandung banyak lemak. Bakteri *Propionibacterium acnes* ini akan berada pada glandula sebasea seumur hidup. Proliferasi yang berlebih dari bakteri *Propionibacterium acnes* akan menghidrolisa trigliserida sebum, dan menghasilkan asam lemak bebas yang dapat meningkatkan pembentukan mikrokomedo (Murlistyarini S, 2019). Pertumbuhan optimum bakteri *Propionibacterium acnes* pada suhu 30-37°C, koloni bakteri pada medium agar berwarna kuning muda hingga merah muda (Miralunnisa dkk., 2015). Bakteri *Propionibacterium acnes* ini dapat melakukan fermentasi glukosa sehingga dapat menghasilkan asam propionat dan asetat dalam jumlah yang banyak (Narulita, 2017).

*Propionibacterium acnes* merupakan flora normal yang dapat ditemukan pada beberapa bagian tubuh manusia. Bakteri ini memang sudah ada pada manusia sejak bayi dengan jumlah yang sedikit serta akan bertambah banyak saat memasuki masa pubertas yang berkaitan dengan meningkatnya produksi sebum didalam folikel sebasea. Kulit merupakan habitat

utama dari bakteri *Propionibacterium acnes*, namun bakteri ini juga dapat ditemukan pada usus besar, rongga mulut, saluran telinga luar dan juga konjungtiva (Mollerup *et al*, 2016).

Bakteri *Propionibacterium acnes* ini dapat tumbuh dengan baik pada saat musim dingin dan akan kurang tahan pada saat musim panas. Sinar ultraviolet dapat membunuh bakteri ini pada permukaan kulit serta mampu untuk menembus epidermis bagian bawah dan juga bagian atas dermis oleh karena itu berpengaruh pada bakteri yang terdapat pada bagian bawah *glandula sebacea* (Narulita,2017).

#### **2.3.4 Patogenitas *Propionibacterium acnes***

Bakteri *Propionibacterium acnes* ini memiliki kemampuan untuk melakukan invasi kedalam jaringan sehingga akan menghasilkan beberapa produk enzim yang akan menimbulkan terjadinya suatu penyakit . Didapatkan bahwa bakteri *Propionibacterium acnes* memiliki produk eksoseluler berupa phospholipase C, lipase, hyaluronidase, acid phosphatase, neuroaminidase, histamin, bacteriocins, serta triptamin yang memiliki peran dalam patogenesis acne vulgaris (Wilyani, 2017).

Patogenesis dalam terbentuknya jerawat terdapat ada empat faktor, diantaranya adalah hiperproliferasi epidermis folikular sehingga terjadi adanya sumbatan folikel, produksi sebum yang berlebihan, inflamasi, serta aktivitas bakteri . *Propionibacterium acnes* merupakan bakteri yang menimbulkan jerawat terbanyak (Fitriani, 2020). Jerawat terjadi karena adanya hipersensitivitas kelenjar sebaceous ke tingkat androgen dalam sirkulasi normal, yang diperburuk oleh bakteri *Propionibacterium acnes* serta peradangan (Sifatullah, 2021). Hormon androgen akan menimbulkan peningkatan ukuran kelenjar sebacea dan juga merangsang produksi sebum. Epitel folikel rambut yang terdapat pada bagian atas akan berubah menjadi hiperkeratotik, sehingga akan terjadi sumbatan pada muara folike rambut. Serta pada folikel rambut terdapat bakteri sehingga folikel akan membesar dan pecah. Remaja yang menderita jerawat akan memiliki konsentrasi *Propionibacterium acnes* yang lebih tinggi dibandingkan mereka yang tidak memiliki jerawat,namun tidak ada hubungannya antara jumlah bakteri *Propionibacterium acnes* dan tingkat keparahan jerawat. Patogenesis jerawat yang disebabkan oleh bakteri *Propionibacterium acnes* adalah dengan menguraikan trigliserida yang merupakan komponen sebum menjadi asam lemak bebas, oleh karena itu akan terjadi kolonisasi *Propionibacterium acnes* dan menyebabkan terjadinya inflamasi. Selain itu juga, antibodi terhadap antigen dinding sel bakteri *Propionibacterium acnes* juga dapat meningkatkan respon dari inflamasi melalui aktivitas komplemen (Resti Ramdani, 2015)

## **2.4 *Staphylococcus epidermidis***

### **2.4.1 Definisi *Staphylococcus epidermidis***

*Staphylococcus epidermidis* adalah bakteri yang termasuk kedalam bakteri Gram-Positif, koloni yang berwarna putih dan kokus berkelompok tidak teratur bakteri ini akan tumbuh cepat pada suhu 37°C. Koloni pada pembenihan akan berkilau, berbentuk bulat halus, menonjol, tidak menghasilkan pigmen serta berwarna putih porsel oleh karena itu bakteri *Staphylococcus epidermidis* disebut *Staphylococcus albus, koagulatif-negatif*, serta tidak meragi manitol (Lenny, 2016).

### **2.4.2 Klasifikasi *Staphylococcus epidermidis***

Adapun klasifikasi dari bakteri *Staphylococcus epidermidis* sebagai berikut :

Domain : Bacteria

Filum : Firmicutes

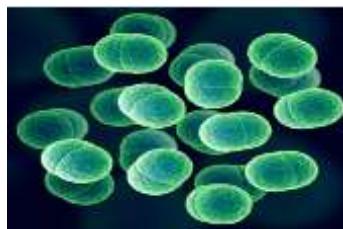
Kelas : Bacilli

Bangsa : Bacillales

Suku : Staphylococcaceae

Marga : Staphylococcus

Jenis : *Staphylococcus epidermidis* (Ashari, 2019)



Gambar 2 .3 *Staphylococcus epidermidis*

Sumber : <https://blog.microbiologics.com>

### **2.4.3 Morfologi *Staphylococcus epidermidis***

Bakteri *Staphylococcus epidermidis* memiliki beberapa ciri morfologi seperti warna koloni putih susu atau agak krem, bentuk koloni dari bakteri ini bulat dengan tepian timbul serta sel bentuk bola dengan diameter 0,5-1,5  $\mu\text{m}$ . Bakteri *Staphylococcus epidermidis* bersifat anaerob fakultatif. Bakteri *Staphylococcus epidermidis* ini juga menyebabkan infeksi kulit ringan yang ditandai dengan pembentukan abses. Bakteri *Staphylococcus epidermidis* biotipe-1 dapat

menimbulkan infeksi kronis pada manusia (Lenny,2016). Bakteri *Staphylococcus* dapat tumbuh dengan mudah pada berbagai macam media, serta bakteri ini bermetabolisme aktif dengan cara meragikan karbohidrat dan juga menghasilkan pigmen yang bervariasi mulai dari pigmen yang berwarna putih hingga kuning tua.

#### **2.4.4. Patogenitas *Staphylococcus epidermidis***

Bakteri *Staphylococcus epidermidis* terdapat pada kulit manusia sebagai flora normal dan bakteri ini tidak menjadi masalah bagi orang normal yang keadaanya sehat. Namun, bakteri *Staphylococcus epidermidis* ini akan menjadi patogen oportunistis yang menyebabkan infeksi nosokomial pada persendian serta pembuluh darah. Bakteri ini dapat memproduksi sejenis zat racun atau toksin, dan juga memproduksi semacam lendir yang berfungsi untuk memudahkannya menempel dimana-mana, termasuk diperlukaan benda-benda yang terbuat dari plastik ataupun kaca. Lendir ini pun yang menyebabkan bakteri *Staphylococcus epidermidis* lebih tahan terhadap fagositosis (salah satu mekanisme pembunuhan bakteri oleh sistem kekebalan tubuh) dan beberapa antibiotik tertentu (Lenny,2016).

Peran *Staphylococcus epidermidis* dalam patogenesis jerawat adalah dengan menyebabkan iritasi pada daerah sekitar bagian yang berjerawat, serta menyebabkan abses selanjutnya akan membengkak, pecah serta menyebarkan radang ke jaringan kulit (Retnaningsih dkk., 2019).

### **2.5 Minyak Atsiri**

Minyak atsiri atau minyak eteris merupakan kelompok besar minyak nabati yang berwujud cairan kental pada suhu ruang namun akan mudah menguap sehingga akan memberikan aroma yang khas. Minyak atsiri umumnya tidak namun bila dibiarkan terlalu lama warna dari minyaknya akan berubah menjadi warna kecoklatan, hal ini dapat terjadi karena adanya oksidasi. Untuk mencegah hal tersebut sebaiknya minyak atsiri disimpan di tempat yang sejuk serta kering dan dimasukkan kedalam wadah tertutup rapat serta berwarna gelap. Minyak atsiri pada umumnya akan larut menggunakan pelarut organik serta tidak larut dalam air. Penyusun minyak atsiri sebagian besar terdiri dari persenjawaan hidrokarbon asiklik serta hidrokarbon isosiklik dan hidrokarbon yang mengikat oksigen seperti fenol, alkohol dan juga eter (Hanief dkk., 2013).

Pada tanaman atau tumbuhan, minyak atsiri banyak terdapat didalam berbagai jaringan, seperti pada rambut kelenjar (pada suku Labiatae), pada sel-sel parenkim (pada suku Zingiberaceae dan Piperaceae) , dan didalam rongga-rongga skizogen dan lisigen (pada suku Myrtaceae, Rutaceae dan Pinaceae) serta didalam saluran minyak ( pada suku Umbelliferae),

dan juga terdapat didalam semua jaringan (pada suku Coniferae). Minyak eteris atau minyak atsiri yang terkandung didalam tumbuhan itu berperan sebagai pengusir serangga pemakan daun. Serta minyak atsiri pada tanaman juga bermanfaat sebagai pemberi bau seperti pada bunga bermanfaat dalam membantu penyerbukan, dan pada buah berfungsi sebagai media distribusi ke biji ( hasyim,2014).

Semua minyak atsiri itu terdiri dari campuran kimia yang cukup rumit. Hampi tiap semua jenis senyawa organik dapat ditemukan didalam minyak atsiri (hidrokarbon, alkohol, keton, aldehid, eter, ester, dan yang lainnya), dan hanya sedikit yang mempunyai komponen tunggal dalam persentasenya ( minyak cengkeh mengandung tidak lebih dari 85% substansi fenolik, sebagian besar mengandung eugenol). Seringkali *trace constituent*-nya memiliki rasa dan bau yang penting terhadap keseluruhan minyak atsiri. Jika tidak adanya satu komponen akan sangat berpengaruh yaitu mengubah aroma. Tanaman yang memiliki spesies yang sama akan tetapi tumbuh ditempat yang berbeda, biasanya akan memiliki komponen yang sama juga namun kemungkinan peresentasenya berbeda.

Sifat fisika dari minyak atsiri itu diantaranya dapat larut dalam alkohol, eter, dan pelarut organik lainnya tetapi tidak akan larut dalam air, bau karakteristik, minyak atsiri bersifat optis aktif (indeks refraksi). Didalam tumbuhan atau tanaman minyak atsiri akan terdistribusi banyak terutama pada daun dan bunga.

Menurut Nurfitriani (2013), ada beberapa parameter yang dapat digunakan untuk tetapan fisik minyak atsiri antara lain sebagai berikut :

a) Berbau karakteristik

Pada produksi perfume ataupun wangi-wangian, minyak atsiri ini berperan sebagai zat pengikat bau (*fixative*). Minyak eteris, minyak menguap serta minyak (esensial oil, volatil oil) merupakan sebutan lain dari minyak atsiri. Minyak atsiri mempunyai bau yang khas sesuai dengan tanaman penghasilnya.

b) Bobot jenis

Bobot jenis merupakan perbandingan berat sampel diudara dengan suhu 25°C terhadap berat air dengan jumlah volume serta suhu yang sama. Dalam hal ini piknometer digunakan untuk penetapan bobot jenis. Penentuan bobot jenis ini merupakan parameter penting untuk menentukan mutu serta kemurnian minyak atsiri.

c) Indeks bias

Indeks bias suatu zat adalah merupakan kecepatan cahaya dalam udara dan juga kecepatan cahaya dalam zat tersebut. Jika suatu cahaya melewati media yang padat ke media yang lebih padat, maka sinar ini akan memblok atau disebut dengan membias dari garis normal. Dalam

penentuan indeks bias itu menggunakan alat bernama refraktometer. Indeks bias berguna dalam mengidentifikasi suatu zat dan deteksi ketidakmurnian.

d) Putaran optik

Setiap jenis minyak atsiri itu memiliki kemampuan memutar bidang polarisasi cahaya ke arah kiri ataupun ke arah kanan. Besarnya pemutaran bidang polarisasi itu ditentukan oleh jenis minyak atsiri, suhu dan juga panjang gelombang cahaya. Alat yang digunakan untuk putaran optik yaitu polarimeter.

## **2.6 Metode Isolasi Minyak Atsiri**

Minyak atsiri dapat diperoleh dengan beberapa metode. Tetapi minyak atsiri sebagian besar dapat diperoleh melalui metode penyulingan yang dikenal dengan metode hidrodestilasi. Cara lain yang dapat digunakan untuk memperoleh minyak atsiri adalah dengan metode ekstraksi yang menggunakan pelarut. Dalam industri minyak atsiri dapat diperoleh dengan beberapa macam metode penyulingan diantaranya :

### **2.6.1 Destilasi dengan Air (*Water Distillation*)**

Pada destilasi menggunakan air bahan yang akan di destilasi atau disulung akan berkontak langsung dengan air (direbus). Ketika bobot jenis sampel lebih rendah dari air maka bahan akan mengapung diatas air sebaliknya bahan akan terendam secara sempurna apabila bobot jenisnya lebih besar dari air. Proses penyulingan menggunakan air ini akan sempurna terjadi apabila bahan yang disulung bergerak bebas didalam air. Untuk menghindari tekanan akibat berat bahan, metode penyulingan dengan air harus menggunakan ketel yang memiliki diameter lebih besar dibandingkan dengan tingginya (Suryani E, 2020). Sampel seperti tepung dan bunga akan sangat tepat jika didestilasi menggunakan air karena sampel tersebut akan mudah menggumpal jika terkena panas, untuk bahan yang mudah larut dalam air akan kurang tepat jika didestilasi menggunakan air. Dikarenakan adanya kontak langsung antara bahan dengan air maka akan terjadi hidrolisis pada minyak tersebut sehingga penyulingan memiliki kualitas yang kurang baik serta tidak bermutu tinggi (Suswono, 2012).

### **2.6.2 Destilasi dengan Air dan Uap (*Water and Steam Distillation*)**

Pada proses destilasi atau penyulingan menggunakan air dan uap bahan tidak akan berkontak langsung dengan air, karena bahan yang akan diambil minyaknya diletakan diatas saringan yang berlubang serta terdapat air yang mendidih dibawah saringan (dikukus). Sampel atau bahan yang akan diambil minyaknya hanya berkontak dengan uap, kejadian yang tidak

diinginkan seperti gosong dapat dihindari ketika uap terlalu panas, serta selalu dalam keadaan jenuh atau basah (Suryani E, 2020). Bahan seperti rumput, daun, dan biji-bijian jika akan disulung atau didestilasi sangat cocok menggunakan metode destilasi uap air, waktu yang diperlukan untuk penyulingan lebih sebentar serta efisien dan juga hasil rendemen yang dihasilkan lebih tinggi oleh karena itu destilasi air dan uap lebih unggul dibandingkan destilasi dengan metode lain. Metode penyulingan dengan uap dan air tepat jika digunakan untuk industri minyak atsiri dalam skala kecil ataupun menengah karena biaya yang dibutuhkan dalam pengoperasiannya lebih kecil dan konstruksi alat sederhana serta mudah dirawat. Adapun kelemahan pada metode destilasi ini adalah kurang sempurnanya proses penyulingan seperti jumlah uap yang dibutuhkan cukup besar. Ketika uap tidak cukup besar maka yang akan terjadi adalah penggumpalan, karena sejumlah uap akan mengembun dalam jaringan tanaman sehingga bahan akan bertambah basah (Suswono, 2012).

### **2.6.3 Destilasi dengan Uap (*Steam Distillation*)**

Pada metode destilasi atau penyulingan menggunakan uap dilakukan dengan sumber panas yang terpisah dari bahan yang akan diambil minyaknya atau menggunakan *steam boiler*. Metode ini tepat digunakan untuk bahan yang memiliki titik didih yang tinggi, seperti bahan dari kayu, akar, serta biji-bijian yang mengandung komponen minyak. Pada metode destilasi ini yang mesti diperhatikan dalam proses penyulingan ini adalah mengawasi suhu pada ketel agar tidak melampaui suhu *superheated steam*. Tujuannya adalah untuk menghindari rendemen minyak atsiri rendah karena terjadinya pengeringan pada bahan, selain itu juga komponen pada minyak akan berkurang ketika tekanan dan suhu terlalu tinggi sehingga mengakibatkan proses resinfikasi minyak. Karena adanya pemanasan yang tinggi maka minyak atsiri yang terkandung dalam bahan akan mudah rusak, serta metode ini kurang tepat digunakan untuk bahan seperti bunga, karena akan merusak komponen yang terkandung dalam minyak (Suryani E, 2020).

### **2.6.4 Solvent Extraction**

Metode *Solvent extraction* atau lebih dikenal dengan istilah ekstraksi cair-cair adalah metode yang digunakan untuk memisahkan senyawa berdasarkan kelarutannya terhadap *solvent* dan sifat dua bahan yang tidak saling mlarut. Pada metode ini pengambilan minyak pada sampel diambil dengan bantuan pelarut. Biasanya metode ini digunakan dalam pembuatan parfum, minyak sayur ataupun biodiesel serta digunakan pada sampel yang memiliki sifat mudah rusak untuk mendapatkan minyak atsiri dalam jumlah yang besar dan juga segi biaya yang rendah (Meidinah S, 2021).

### **2.6.5 *Soxhlet Extraction***

*Soxhlet extraction* pada awalnya metode ini digunakan untuk mengekstraksi lipid dari bahan padat. Ekstraksi dengan metode *soxhlet* untuk mendapatkan zat dari padatan itu melibatkan kontak antara padatan dengan cairan. Pada rangkaian metode ini, bahan padat disimpan pada rongga secara bertahap akan mengalami kontak terhadap fase cair melewati uap yang terkondensasi.

### **2.6.6 *Microwave – Assisted Extraction (MAE)***

Pada proses ekstrasi dengan microwave, sampel dimasukkan kedalam sebuah labu yang terbuat dari gelas, tujuannya adalah agar radiasi microwave dapat menembus pada sampel. Pelarut atau bahan yang digunakan kemudian akan menyerap radiasi tersebut sampai mencapai kelenjar glandular bahan tanaman di dalam dinding sel. Pada proses tersebut menimbulkan panas, karena panas tersebut minya atsiri akan keluar karena dinding sel pada sampel pecah (Meidinah S, 2021).

### **2.6.7 *Microwave – Assisted Hydrodistillation***

Metode *Microwave assisted hydrodistillation* (MAHD) metode ini digunakan untuk mengekstraksi minyak atsiri karena lebih hemat energi, aman, cepat, ramah lingkungan serta biaya yang digunakan lebih rendah dibandingkan dengan proses ekstraksi dengan metode lain seperti metode HD. Pada tahapan ekstraksi minyak atsiri dengan menggunakan metode MAHD memanfaatkan gelombang mikro yang dihasilkan oleh *microwave oven*. Molekul-molekul pada bahan yang bersifat dipol, jika sebuah molekul lalu terkena radiasi gelombang mikro maka dipol mencoba untuk mensejajarkan dengan gelombang mikro. Jika gelombang ini terus dipancarkan secara cepat maka dipol akan terus menerus mengikuti gerak gelombang tersebut. Pergantian molekul tersebut akan menyebabkan gesekan dan menimbulkan panas. Adanya pengaruh paparan oleh iradiasi gelombang mikro ini yang akan menyebabkan rusaknya dinding sel dari tanaman yang akan diekstraksi sehingga minyak atsiri dalam sampel akan keluar.

## **2.7 Analisis Komponen Minyak Atsiri dengan *Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)*.**

Analisis minyak atsiri daun kunyit dilakukan dengan menggunakan *Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)*. Dari hasil analisis sampel dapat menunjukkan perbedaan antara kualitatif dengan kuantitatif dari komponen minyak atsiri. *Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)* adalah metode pemisahan senyawa organik yang menggabungkan dua

metode analisis senyawa yaitu *Gas Chromatography*- (GC) ini berfungsi sebagai alat pemisah berbagai komponen campuran dalam suatu sampel, sedangkan Mass Spectrometry (MS) berfungsi dalam mendeteksi masing-masing molekul komponen yang telah dipisahkan pada sistem kromatografi gas (Jayanudin,2011).

### **2.7.1 Gas Pembawa**

Pada Pemilihan gas pembawa sampai ke taraf tertentu, itu bergantung pada detektor yang dipakai: ionisasi nyala, hantar hambang, tangkap elektron atau khas terhadap unsur. Hidrogen, helium, karbon dioksida serta argon merupakan gas yang paling sering digunakan sebagai gas pembawa karena gas-gas tersebut bersifat tidak reaktif serta dapat dibeli dalam keadaan murni dan kering dalam sebuah kemasan tangki yang bervolume besar juga memiliki tekanan yang tinggi. Hal yang sangat menentukan adalah harus menggunakan gas yang paling murni (Simangunsong, 2018).

### **2.7.2 Sistem Injeksi**

Lubang injeksi didesain untuk memasukkan sampel secara cepat dan efisien. Pada dasarnya, terdapat 4 injektor pada kromatografi gas, yaitu:

1. Injeksi langsung (*direct sinjection*), dimana sampel akan dimasukkan dengan cara diinjeksikan dan diuapkan kedalam injektor yang panas selanjutnya sampel masuk kedalam kolom.
2. Injeksi tanpa pemecahan (*splitless injection*), hampir semua sampel akan diuapkan dalam injektor yang panas lalu dibawa ke dalam kolom karena katup pemecah ditutup.
3. Injeksi langsung ke kolom (*on coloum injection*), pada injeksi langsung ke kolom prosenya adalah ujung semprit dimasukkan langsung ke dalam kolom. Teknik injeksi langsung ke dalam kolom digunakan pada senyawa-senyawa yang mudah menguap., karena jika penyuntikannya melalui lubang suntik, dikhawatirkan terjadi peruraian senyawa tersebut karena suhu yang tinggi.
4. Injeksi Penguapan (*vaporization injector*), pada injeksi dengan teknik penguapan itu menggunakan suhu yang tinggi bertujuan untuk menguapkan sampel-sampel cair dengan cepat.

### **2.7.3 Kolom**

Pada kolom ini akan terjadi pemisahan karena didalam kolom terdapat fase diam. Oleh sebab itu kolom ini merupakan tempat sentral pada kromatografi gas (Simangunsong, 2018).

### **2.7.4 Fase Diam**

Berdasarkan kepolarannya fase diam ini dibedakan menjadi nonpolar, semi polar serta polar. Berdasarkan minyak atsiri yang bersifat nonpolar hingga sedikit polar , sehingga untuk kebutuhan analisis sebaiknya digunakan kolom fase yang bersifat nonpolar (Simangunsong,2018).

### **2.7.5 Suhu**

Salah satu faktor utama dari analisis Kromatografi Gas dan Spektrofotometri Massa adalah suhu. Dalam menentukan hasil analisis Kromatografi Gas dan Spektrofotometri Massa pada umumnya adalah pengaturan suhu serta kolom (Simangunsong,2018).

### **2.7.6 Analisis Spektroskopi massa**

Spektrometer massa merupakan alat yang berfungsi dalam mendeteksi masing-masing molekul komponen yang sebelumnya telah dipisahkan pada sistem kromatografi gas yang terdiri dari sistem analisis dan sistem ionisasi serta sistem molekul. Prinsip spektroskopi massa adalah sampel organik dalam keadaan gas ditembak oleh energi elektron yang tinggi (energi potensial ionisasi rata-rata 185-300 kkal/mol), oleh karena itu menyebabkan elektron dari molekul sampel organik akan lepas, dan akan menghasilkan ion organik. Ion molekul organik tidak akan stabil dan juga akan langsung terpecah menjadi fragmen-fragmen kecil, radikal bebas ataupun ion lain, atau akan mengalami penataan ulang terlebih dahulu sebelum pecah. Pemecahan ion molekul itu bergantung pada kerangka karbon dan gugus fungsi molekul organik tersebut. Terjadinya pemecahan ion molekul akan berlangsung dalam jangka waktu ( $10^{-10}$ – $10^{-6}$ ) detik (Suhartati, 2017). Spektrum massa ini merupakan grafik antara limpahan relatif lawan perbandingan massa atau muatan (m/z). Dengan kelimpahan ataupun intensitas, hasil setiap fragmen ini akan muncul sebagai garis sesuai dengan massanya serta tinggi garis itu menunjukan kelimpahannya.

## **2.8 Penentuan Senyawa Antibakteri**

### **2.8.1 Metode Bioautografi**

Metode bioautografi adalah suatu metode skrining mikrobiologi untuk mendeteksi adanya suatu aktivitas antimikroba yang paling umum digunakan. Prosedur utama yang dilakukan

untuk analisis sampel adalah skrining tujuannya adalah untuk mengetahui ada atau tidak adanya analit yang dihasilkan. Metode skrining dapat memberikan sensitivitas yang lebih tinggi dari pada metode lainnya. Metode bioautografi sendiri memiliki kelebihan diantaranya adalah mudah, sederhana, efektif dalam segi waktu serta tidak memerlukan peralatan yang canggih (Andidh , 2015).

Metode bioautografi ini dibedakan menjadi tiga yaitu, bioautografi kontak, bioautografi langsung, serta bioautografi imersi atau bioautografi agar overlay.

a. Bioautografi kontak

Prinsip dari metode bioautografi kontak yaitu, mikroba uji diinokulasikan pada media agar tunggu beberapa menit atau beberapa jam hingga proses difusi terjadi setelah itu plat kromatografi diletakkan diatas permukaan agar. Plat kromatogram ini diambil dan inkubasi media agar. Serta daerah hambatan ditunjukkan dengan adanya spot antimikroba yang menempel pada permukaan media agar.

b. Bioautografi langsung

Metode bioautografi langsung merupakan metode yang sering digunakan dari metode bioautografi yang lainnya. Prinsip metode ini adalah plat KLT dicelupkan pada suspensi mikroorganisme setelah itu diinkubasi. Untuk mendeteksi aktivitas biasanya dilakukan visualisasi dari zona dengan menggunakan reagen dehydrogenase, biasanya menggunakan garam tetrazolium. Dehydrogenase mikroorganisme mengubah garam tetrazolium menjadi berwarna, sehingga terlihat spot berwarna krem sampai putih dengan latar belakang ungu pada permukaan plat KLT ini menunjukkan keberadaan agen antibakteri.

c. Bioautografi imersi

Plat kromatogram pada metode bioautografi imersi dicelupkan pada media agar, mikroorganisme ditambahkan pada media agar yang telah memadat lalu diinkubasi. Metode bioautografi imersi ini adalah metode gabungan dari bioautografi kontak dan langsung. Karena senyawa antimikroba ditransfer dari kromatogram ke media agar, seperti dalam metode kontak, namun lapisan agar tetap pada permukaan kromatogram selama inkubasi dan visualisasi seperti pada bioautografi langsung

## 2.9 Pengukuran Daya Antibakteri

Ada dua metode yang dapat digunakan dalam pengukuran daya antibakteri, yaitu (Lisnawati dkk., 2020) :

a. Difusi

Metode difusi digunakan untuk mengetahui sifat dari bakteri uji terhadap suatu agen antibakteri apakah bersifat peka, resisten, ataupun intermediet. Agen antibakteri yang diuji akan berdifusi kedalam media agar. Pembacaan hasil pengukuran daya antibakteri dalam metode difusi itu dikenal dengan 2 macam zona yaitu :

1. Zona radikal, zona radikal merupakan suatu daerah disekitar disk atau sumuran yang tidak ditemukan pertumbuhan bakteri sama sekali (jernih). Daya antibakteri diukur dengan mengukur diameter dari zona ini
2. Zona non radikal, zona non radikal merupakan suatu daerah disekitar disk atau dimana terlihat pertumbuhan bakteri yang kurang subur dibandingkan dengan daerah di luar pengaruh agen antibakteri. Hal ini menunjukan bahwa pertumbuhan bakteri tersebut hanya dihambat tetapi tidak dimatikan oleh agen antibakteri (Lisnawati dkk.,2020)

Adapun beberapa macam metode difusi diantaranya :

1. Metode difusi cakram

Metode difusi cakram ini disahkan oleh *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) metode ini digunakan untuk pengujian aktivitas antimikroba dari suatu bakteri dan ragi. Pada metode ini media yang sudah memadat dan telah berisi kultur bakteri kemudian dimasukkan cakram kerta. Agen bakteri akan masuk atau berdifusi masuk kedalam media agar dan dapat menggagalkan atau menghambat pertumbuhan dari bakteri (Agustina, 2017).

2. Metode difusi sumuran

Metode difusi sumuran ini secara umum digunakan untuk mengevaluasi aktivitas antibakteri dari ekstrak tumbuhan. Agen antibakteri akan masuk berdifusi dalam media agar dan menghambat pertumbuhan strain bakteri yang diuji (Agustina,2017).

3. Metode *agar plug diffusion*

Untuk membedakan mikroorganisme dapat digunakan metode *agar plug diffusion*. Metode ini serupa dengan metode difusi cakram kertas. Zat berdifusi pada media agar, kemudian aktivitas antibakteri dari molekul bakteri yang disekresi akan terdeteksi dengan adanya zona hambat pada sekitar *agar plug* (Agustina, 2017).

b. Dilusi Cair atau Dilusi Padat

Metode dilusi merupakan metode digunakan untuk menghitung konsentrasi minimum suatu agen antibiotik yang dibutuhkan dalam menghambat atau mematikan suatu mikroba atau bakteri. Agen antibiotik yang akan diuji diencerkan terlebih dahulu dalam berbagai konsentrasi, kemudian diukur konsentrasi terendah yang dapat menghambat atau membunuh pertumbuhan mikroorganisme. Pada dilusi cair, agen antibiotik uji dicampur dengan suspensi bakteri pada media cair, sedangkan pada dilusi padat agen antibakteri dicampur dengan media agar, lalu ditanam bakteri.

Metode dilusi berdasarkan perbenihan cair itu dapat dibagi menjadi dua :

1. Mikrodilusi

Prinsip penggeraan dari metode mikrodilusi adalah berdasarkan kekeruhan. Sebanyak 0,05 mL sampai 0,1 mL merupakan volume yang digunakan pada metode mikrodilusi, berbagai macam pengenceran disediakan pada antibakteri dengan satuan  $\mu\text{g/mL}$ . Metode mikrodilusi ini lebih menguntungkan dibandingkan dengan metode makrodilusi dikarenakan metode mikrodilusi bahan yang digunakan lebih murah (Soleha, 2015).

2. Makrodilusi

Prinsip penggeraan metode makrodilusi sama seperti metode mikrodilusi yaitu berdasarkan kekeruhan. Volume yang digunakan pada makrodilusi adalah lebih dari 1 mL (Soleha, 2015).