

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI PADA SEDIAAN
HERBAL OIL EKSTRAK KUNYIT (*Curcuma longa* L.) DALAM MINYAK
ZAITUN MURNI (*Extra Virgin Olive Oil*) TERHADAP BAKTERI
*Staphylococcus aureus***

SKRIPSI

**Oleh:
YUNI TRIA LESTARI
NIM. 17630059**



**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2022**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI PADA SEDIAAN
HERBAL OIL EKSTRAK KUNYIT (*Curcuma longa* L.) DALAM MINYAK
ZAITUN MURNI (*Extra Virgin Olive Oil*) TERHADAP BAKTERI
*Staphylococcus aureus***

SKRIPSI

**Oleh:
YUNI TRIA LESTARI
NIM. 17630059**

**Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2022**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI PADA SEDIAAN
HERBAL OIL EKSTRAK KUNYIT (*Curcuma longa* L.) DALAM MINYAK
ZAITUN MURNI (*Extra Virgin Olive Oil*) TERHADAP BAKTERI
*Staphylococcus aureus***

SKRIPSI

Oleh:
YUNI TRIA LESTARI
NIM. 17630059

Telah Diperiksa dan Disetujui
Untuk Diuji Tanggal: 6 Juni 2022

Pembimbing I



Rif'atul Mahmudah, M.Si
NIDT. 19830125 20160801 2 068

Pembimbing II



Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.I
NIDT. 19890113 20180201 1 244

Mengetahui,
Ketua Program Studi



Rachmayati Ningsih, M.Si
NIP. 1981081 1 200801 2 010

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI PADA SEDIAAN
HERBAL OIL EKSTRAK KUNYIT (*Curcuma longa* L.) DALAM MINYAK
ZAITUN MURNI (*Extra Virgin Olive Oil*) TERHADAP BAKTERI
*Staphylococcus aureus***

SKRIPSI

Oleh:
YUNI TRIA LESTARI
NIM. 17630059

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi dan
Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan untuk
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 6 Juni 2022

Ketua Penguji	: Suci Amalia, M.Sc NIP. 19821104200901 2 007	 (.....)
Anggota Penguji I	: Dr. Anik Maunatin, M.P NIDT. 1976010520180201 2 248	 (.....)
Anggota Penguji II	: Rif'atul Mahmudah, M.Si NIDT. 19830125 20160801 2 068	 (.....)
Anggota Penguji III	: Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.I NIDT. 1989011320180201 1 244	 (.....)

Mengesahkan,
Ketua Program Studi



Rachmawati Ningsih, M.Si
NIP. 19810811 200801 2 010

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Yuni Tria Lestari
NIM : 17630059
Jurusan : Kimia
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Uji Aktivitas Antibakteri Pada Sediaan *Herbal Oil* Ekstrak Kunyit (*Curcuma longa* L.) Dalam Minyak Zaitun Murni (*Extra Virgin Olive Oil*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila ini kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 6 Juni 2022

Yang membuat pernyataan,



Yuni Tria Lestari

PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirobbil'alamin, atas limpahan rahmat dan nikmat dari Allah SWT, penulis mempersembahkan karya ini kepada:

Orang tua yang begitu saya cintai dan hargai, Bapak Suyono dan Ibu Amini. Terimakasih tak terhingga atas doa, dukungan, nasihat dan kesabaran di setiap waktu sehingga dapat mengantarkan anak bungsunya menjadi sarjana.

Ibu Rif'atul Mahmudah, M.Si selaku dosen pembimbing dan Bapak A. Ghanaim Fasya, M.Si selaku dosen wali yang dengan sabar dan tiada henti memberikan arahan, motivasi dan ilmunya selama masa pendidikan. Ibu Suci Amalia, M.Sc dan Ibu Dr. Anik Maunatin, M.P selaku penguji utama, terimakasih atas kritik dan sarannya. Semoga Allah SWT membalas segala kebaikan Ibu dan Bapak.

Kakak tersayang, Dio Pratiwi yang selalu memberikan doa, nasihat dan dukungan penuh untuk bisa meraih impian serta pengalaman hidup yang telah dibagikan sebagai seorang mahasiswi.

Sahabat tercinta yaitu diri saya sendiri yang dengan sabar, kuat dan ikhlas dalam menghadapi berbagai situasi saat menjalani kehidupan sebagai seorang mahasiswi. Teman seperjuangan Berliana sebagai partner yang selalu berbagi suka dan duka serta penguat satu sama lain pada saat melalui masa sulit selama proses penelitian.

Terimakasih atas pengalaman hidup berarti yang dapat saya lalui hingga bisa berada pada salah satu pencapaian terbesar dalam hidup ini.

Motto

Jangan ada kata “tapi” untuk merasakan keajaiban Allah SWT karena terkadang keajaiban datang saat kita menginginkan tanpa terlalu mengharapkan

~Yuni Tria Lestari~

“If you want to live a happy life, tie to a goal, not to people or object”

~Albert Einstein~

لَيْسَ الْعِلْمُ مَا حُفِظَ ، إِنَّمَا الْعِلْمُ مَا نَفَع

~Ilmu bukanlah apa yang dihafal, akan tetapi yang bermanfaat~

KATA PENGANTAR

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Syukur alhamdulillah penulis hanturkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan Rahmat dan Hidayah-Nya, sehingga proposal penelitian berjudul **“Uji Aktivitas Antibakteri Pada Sediaan Herbal Oil Ekstrak Kunyit (*Curcuma longa L.*) Dalam Minyak Zaitun Murni (*Extra Virgin Olive Oil*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*”** dapat diselesaikan. Selanjutnya penulis hanturkan ucapan terima kasih seiring doa dan harapan jazakumullah ahsanal jaza' kepada semua pihak yang telah membantu terselesaikannya skripsi ini. Ucapan terima kasih ini penulis sampaikan kepada:

1. Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan nikmat-Nya kepada penulis sehingga skripsi ini dapat terlaksanakan dengan baik.
2. Ayah, ibu, dan kakak yang telah memberi semangat dan doa selama ini.
3. Prof Dr. M. Zainuddin, M.A. selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Dr. Sri Hartini, M.Si. selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
5. Rachmawati Ningsih, M.Si. selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
6. Rif'atul Mahmudah, M.Si. selaku Dosen Pembimbing I, Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.I selaku Dosen Pembimbing II skripsi penelitian dan A. Ghanaim Fasya, M.Si selaku dosen wali yang telah memberikan arahan dan pengalaman berharga.

7. Seluruh Dosen Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberikan segenap ilmu, perhatian, dan pengalaman kepada penulis.
8. Semua pihak atas sikap solidaritas dan kerjasama yang telah diberikan selama penyusunan dan penyelesaian skripsi ini.
9. *Thanks to me for the strength, patience and surrender during the writing of this thesis until you get to the current situation.*

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih terdapat kekurangan dan penulis berharap semoga naskah penelitian ini bisa memberikan manfaat kepada para pembaca khususnya bagi penulis secara pribadi. *Aamiin...*

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Malang, 6 Juni 2022

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
Motto	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
ABSTRAK	xiv
ABSTRACT	xv
مستخلص البحث	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan	5
1.4 Batasan Masalah	6
1.5 Manfaat Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Tanaman Kunyit (<i>Curcuma longa</i> L.)	7
2.1.1 Morfologi dan Klasifikasi Tanaman Kunyit	7
2.1.2 Kandungan Senyawa Kimia Pada Kunyit	8
2.2 Tumbuhan Zaitun (<i>Olea ouropea</i> L.)	10
2.2.1 Morfologi dan Klasifikasi Tumbuhan Zaitun	10
2.2.2 Kandungan Senyawa Kimia Pada Minyak Zaitun	11
2.3 Maserasi Metode Panas	13
2.4 Uji Aktivitas Antibakteri	13
2.4.1 Bakteri Uji (<i>S.aureus</i>)	13
2.4.2 Aktivitas dan Mekanisme Kerja Antibakteri	15
2.4.3 Metode Uji Aktivitas Antibakteri	15
2.4.3.1 Difusi Cakram	15
2.4.3.2 Dilusi Cair	17
2.5 Uji Fitokimia Senyawa Aktif	17
2.5.1 Uji Triterpenoid	18
2.5.2 Uji Flavonoid	18
2.5.3 Uji Tanin	19
BAB III METODE PENELITIAN	21
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	21
3.2 Alat dan Bahan	21

3.2.1	Alat	21
3.2.2	Bahan	22
3.3	Tahapan Penelitian	22
3.4	Pelaksanaan Penelitian	22
3.4.1	Ekstraksi Kunyit Dalam Pelarut Minyak Zaitun Dengan Variasi Konsentrasi dan Suhu Pemanasan.....	23
3.4.2	Uji Fitokimia Senyawa Aktif	23
3.4.2.1	Uji Triterpenoid	23
3.4.2.2	Uji Flavonoid	23
3.4.2.3	Uji Tanin	24
3.4.3	Uji Aktivitas Antibakteri	24
3.4.3.1	Pembuatan Media	24
3.4.3.2	Sterilisasi Alat dan Media	24
3.4.3.3	Peremajaan Bakteri <i>S.aureus</i>	25
3.4.3.4	Pembuatan Inokulum Bakteri <i>S.aureus</i>	25
3.4.3.5	Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap Bakteri <i>S.aureus</i>	25
3.4.3.6	Pengukuran Zona Hambat	26
3.4.3.7	Perhitungan Jumlah Sel Bakteri <i>S.aureus</i>	27
BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN	28
4.1	Ekstraksi Kunyit Dalam Pelarut Minyak Zaitun Dengan Variasi Konsentrasi dan Suhu Pemanasan	28
4.2	Uji Fitokimia Senyawa Aktif	28
4.2.1	Uji Triterpenoid	29
4.2.2	Uji Flavonoid	30
4.2.3	Uji Tanin	31
4.3	Uji Aktivitas Antibakteri	31
4.3.1	Pembuatan Media dan Sterilisasi Alat.....	31
4.3.2	Peremajaan Bakteri <i>S.aureus</i>	32
4.3.3	Pembuatan Inokulum Bakteri <i>S.aureus</i>	32
4.3.4	Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap Bakteri <i>S.aureus</i>	33
4.3.5	Perhitungan Jumlah Sel Bakteri <i>S.aureus</i>	33
BAB V	PENUTUP	36
5.1	Kesimpulan	36
5.2	Saran	36
	DAFTAR PUSTAKA	37
	LAMPIRAN	46

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Morfologi tanaman kunyit (<i>Curcuma longa</i> L.)	7
Gambar 2.2	Struktur kimia kurkumin	9
Gambar 2.3	Struktur kimia minyak atsiri pada kunyit	9
Gambar 2.4	Tumbuhan zaitun (<i>Olea europaea</i> L.)	10
Gambar 2.5	Struktur kimia hydroxytyrosol, tyrosol dan oleuropein	12
Gambar 2.6	Bakteri <i>S.aureus</i>	14
Gambar 2.7	Struktur triterpenoid	18
Gambar 2.9	Struktur flavonoid	19
Gambar 2.8	Struktur tanin	20
Gambar 4.1	Dugaan reaksi triterpenoid	29
Gambar 4.2	Dugaan reaksi flavonoid	30

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kategori kekuatan antibakteri	16
---	----

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan penelitian	52
Lampiran 2. Diagram alir	53
Lampiran 3. Perhitungan	61
Lampiran 4. Dokumentasi	62

ABSTRAK

Lestari, Yuni Tria. 2022. **Uji Aktivitas Antibakteri Pada Sediaan Herbal Oil Ekstrak Kunyit (*Curcuma longa* L.) Dalam Minyak Zaitun Murni (*Extra Virgin Olive Oil*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus***. Skripsi. Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Rif'atul Mahmudah, M.Si; Pembimbing II: Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.I

Kata Kunci: *Curcuma longa* L., Minyak Zaitun, Antibakteri, Difusi Cakram, *Staphylococcus aureus*

Kunyit (*Curcuma longa* L.) dan minyak zaitun (*Olea europea* L.) banyak dimanfaatkan sebagai pengobatan herbal oleh sebagian besar masyarakat karena mengandung senyawa metabolit sekunder yang berfungsi sebagai antibakteri. Ekstrak *herbal oil* dengan pelarut minyak zaitun bersifat aman dan memiliki kemampuan untuk mengekstrak kandungan senyawa bioaktif dalam bahan herbal. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder dalam ekstrak *herbal oil* menggunakan uji fitokimia dan untuk mengetahui pengaruh variasi konsentrasi ekstrak *herbal oil* terhadap aktivitas antibakteri.

Kunyit (*Curcuma longa* L.) dikombinasikan dengan minyak zaitun murni (*Extra virgin olive oil*) melalui metode ekstraksi maserasi panas atau *hot maceration*. Ekstrak kunyit dalam minyak zaitun murni diformulasikan menjadi lima seri konsentrasi kunyit yaitu 10%, 20%, 30%, dan 40% dalam 100 mL larutan (b/v) dan dipanaskan dengan variasi suhu oven sebesar 30°C, 40°C, 50°C, dan 60°C. Uji fitokimia senyawa metabolit sekunder triterpenoid, flavonoid dan tanin dilakukan dengan menambahkan reagen. Uji aktivitas antibakteri dilakukan pada suhu ekstraksi terbaik menggunakan metode difusi cakram dengan amoksilin sebagai kontrol positif dan *dimetil sulfoksida* (DMSO) sebagai kontrol negatif. Hasil uji antibakteri ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening disekitar kertas cakram.

Uji fitokimia pada ekstrak *herbal oil* menunjukkan adanya kandungan senyawa metabolit sekunder triterpenoid dan flavonoid yang dapat diamati dari perubahan warna ekstrak menjadi lebih pekat pada suhu pemanasan 60°C. Ekstrak *herbal oil* pada konsentrasi 40% memiliki aktivitas antibakteri lebih tinggi terhadap *S.aureus* sebesar 3,9 mm, sedangkan pada konsentrasi 10%, 20% dan 30% menghasilkan rata-rata diameter zona hambat secara berurutan sebesar 1,7 mm, 3,3 mm, dan 3,6 mm. Uji *Total Plate Count* (TPC) pada ekstrak *herbal oil* menghasilkan jumlah mikroba hidup pada masing-masing konsentrasi secara berurutan sebesar $5,2 \times 10^8$ CFU/mL, $4,8 \times 10^8$ CFU/mL, $3,7 \times 10^8$ CFU/mL dan $3,4 \times 10^8$ CFU/mL.

ABSTRACT

Lestari, Yuni Tria. 2022. **Antibacterial Activity Test Herbal Oil Turmeric Extract (*Curcuma longa* L.) in Olive Oil (*Extra Virgin Olive Oil*) against *Staphylococcus aureus* Bacteria**. Thesis. Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Maulana Malik Ibrahim State Islamic University of Malang. Supervisor I: Rif'atul Mahmudah, M.Si; Supervisor II: Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.I.

Keyword: *Curcuma longa* L., Olive Oil, Antibacterial, Disc Diffusion, *Staphylococcus aureus*

Turmeric (*Curcuma longa* L.) and olive oil (*Olea europea* L.) are widely used as herbal remedies by most people because they contain secondary metabolites that function as antibacterial. Extracts of herbal oil with olive oil as solvent are safe and have the ability to extract the content of bioactive compounds in herbal ingredients. The purpose of this study was to determine the content of secondary metabolites in herbal oil extracts using phytochemical tests and to determine the effect of variations in the concentration of herbal oil extracts on antibacterial activity.

Turmeric (*Curcuma longa* L.) combined with pure olive oil (Extra Virgin Olive Oil) through the hot maceration extraction method. Turmeric extract in virgin olive oil was formulated into five turmeric concentration series, namely 10%, 20%, 30%, and 40% in 100 mL of solution (w/v) and heated with temperature variations of 30°C, 40°C, 50°C, and 60°C. Phytochemical tests on secondary metabolites of triterpenoids, flavonoids and tannins were carried out by adding reagents. Antibacterial activity was tested in the best extraction temperature using the disc diffusion method with amoxicillin as a positive control and dimethyl sulfoxide (DMSO) as a negative control. The results of the antibacterial test were indicated by the formation of a clear zone around the paper disc.

Phytochemical tests on herbal oil extracts showed the presence of triterpenoid and flavonoid secondary metabolite compounds which could be observed from the change in color of the extract to become more concentrated at a heating temperature of 60°C. Herbal oil extract at a concentration of 40% had the highest activity against *S.aureus* at 3,9 mm. While at concentration of 10%, 20% dan 30% the average diameter of the inhibition zone was 1,7 mm, 3,3 mm dan 3,6 mm. Total plate count (TPC) test of herbal oil extract resulted in live bacteria count of $5,2 \times 10^8$ CFU/mL, $4,8 \times 10^8$ CFU/mL, $3,7 \times 10^8$ CFU/mL and $3,4 \times 10^8$ CFU/mL at each concentration sequentially.

مستخلص البحث

ليستاري، يوني تريا. 2022. اختبار النشاط مضاد الجراثيم في تحضير الزيت العشبي لمستخلص الكركم (*Curcuma longa*) (L.) في زيت زيتون نقي (*Extra Virgin Olive Oil*) على الجراثيم *Staphylococcus aureus*. البحث الجامعي. قسم الكيمياء. كلية العلوم والتكنولوجيا. جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرفة لأول: رفة المحمودة الماجستير. المشرف الثاني: أوكي باغس فراستيو الماجستير.

الكلمة الإشارية: *Curcuma longa* L، زيت زيتون، مضاد للجراثيم، إنتشار القرص، *Staphylococcus aureus* إن الكركم (*Curcuma longa* L.) وزيت الزيتون (*Olea europea* L.) كثير استخدامهما الإنسان في علاجات عشبية لاحتوائهما على مركبات المستقبلات الثانوية تعمل كمضادات للجراثيم. تعتبر مستخلصات زيت الأعشاب مع مذيب الزيتون آمنة ولديها القدرة على استخلاص محتوى المركبات النشطة بيولوجيا في المكونات العشبية. والأهداف من هذا البحث هو تحديد محتوى المستقبلات الثانوية في مستخلصات الزيوت العشبية باستخدام الاختبارات الكيميائية النباتية وتحديد تأثير الاختلافات في تركيز مستخلصات الزيت العشبية في الأنشطة المضادة للجراثيم.

اختلط الكركم (*Curcuma longa* L.) مع زيت الزيتون النقي عن طريق الاستخلاص بالنقع الساخنة. يقسم مستخلص الكركم في زيت الزيتون النقي إلى خمس نوع من تراكيزات الكركم وهي 10٪، 20٪، 30٪، و 40٪ في 100 ملي لتر المذيب (b/v) ثم تسخينه مع اختلافات في درجة حرارة الفرن تبلغ إلى 30، 40، 50، و 60 درجة مئوية. أجريت اختبارات كيميائية نباتية للمستقبلات الثانوية triterpenoid و flavonoid و tanin عن طريق إضافة الكواشف. أجرى اختبار النشاط المضاد للجراثيم عند أفضل درجة حرارة للاستخراج باستخدام طريقة الانتشار القرصي وأموكسيسيلين كعنصر تحكم إيجابي و *dimetil sulfoksida* (DMSO) كعنصر تحكم سلبي. تدل نتائج الاختبار المضاد للجراثيم بتكوين منطقة واضحة حول القرص الورقي.

كان الاختبارات الكيميائية النباتية على مستخلصات الزيوت العشبية يدل أن وجود مركبات الأيض الثانوية تريتينويد وفلافونويد التي يمكن ملاحظتها من تغيير لون المستخلص ليصبح أكثر تركيزا عند درجة حرارة تسخين 60 درجة مئوية. كان مستخلص الزيت العشبي بتركيز 40٪ نشاط مضاد للجراثيم أعلى لـ *S.aureus* بمقدار 3.9 ملي مترا بينما بتركيزات 10٪ و 20٪ و 30٪ يحصل متوسط قطر مناطق التثبيط 1.7 و 3،3 و 3،6 ملي مترا على التوالي. وحصل اختبار إجمالي عدد الصفائح (TPC) على مستخلصات الزيوت العشبية عدد الميكروبات الحية عند كل تركيز $5,2 \times 10^8$ CFU/mL، $4,8 \times 10^8$ CFU/mL، $3,7 \times 10^8$ CFU/mL dan $3,4 \times 10^8$ CFU/mL على التوالي.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Etnomedisin adalah ilmu yang mempelajari tentang penggunaan bahan alam sebagai obat tradisional berfungsi untuk menyembuhkan berbagai jenis penyakit (Mutiah, 2015). Kelebihan etnomedisin yaitu mempunyai tingkat keamanan lebih tinggi dibandingkan bahan kimia (Oktariani, 2018). Pemanfaatan tanaman herbal yang dikombinasikan dengan *essential oil* dapat menghasilkan produk alami berupa *herbal oil*. *Herbal oil* adalah jenis minyak yang berasal dari tanaman herbal dan dapat digunakan sebagai pengobatan tradisional seperti obat alergi pada wajah dan terapi jerawat (Mikaili, dkk., 2012). Salah satu tanaman etnomedisin yang berpotensi untuk menyembuhkan jerawat adalah kunyit.

Kunyit merupakan tanaman herbal yang memiliki aktivitas antibakteri untuk mengurangi peradangan kulit dan menyembuhkan jerawat (Vaughn, dkk., 2016). Jerawat adalah penyakit kulit disertai peradangan kronis yang ditandai munculnya bisul beradang disertai nanah akibat infeksi bakteri *Staphylococcus aureus* (Sabardi, 2005). Kandungan kunyit yang berpotensi sebagai antibakteri yaitu kurkumin sebesar 94% dan minyak atsiri sebesar 5-6% (Shan, 2018). Mekanisme kunyit sebagai antibakteri yaitu dengan merusak dinding sel bakteri sehingga pertumbuhan bakteri menjadi terhambat (Yulianti, 2016).

Jenis tanaman etnomedisin lainnya yang memiliki aktivitas antibakteri adalah minyak zaitun. Minyak zaitun merupakan minyak hasil perasan buah zaitun yang bermanfaat untuk memudarkan bekas luka pada kulit dan sebagai

campuran masker wajah untuk mengobati jerawat (Fajriyah, dkk., 2015). Kandungan minyak zaitun yang berpotensi sebagai antibakteri adalah senyawa oleuropein, flavonoid dan minyak atsiri (Pereira, dkk., 2007). Mekanisme minyak zaitun dalam menghambat bakteri yaitu dengan merusak membran dinding sel dan menginaktif sistem enzim bakteri sehingga menyebabkan bakteri mati (Ariyani, 2020).

Allah SWT telah menjelaskan dalam Al-Qur'an tentang minyak zaitun yang kaya akan manfaat dalam surat An-An'am ayat 99:

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا مَخْرُجًا مِنْهُ حَبًّا
مُتْرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِنْ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَابِهٍ
انظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ ۗ إِنَّ فِي ذَٰلِكُمْ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ (٩٩)

Artinya: “Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak dan dari mayang korma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (Kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. Perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pulalah) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman” (Q.S. An-An'am:99).

Ayat dalam surat An-An'am ayat 99 sebagai simbol semangat dalam mengembangkan ilmu botanik seperti kunyit dan zaitun agar manusia dapat berfikir tentang manfaatnya bagi kesehatan karena mengandung beragam komposisi seperti zat gula, minyak, protein, karbohidrat dan zat tepung terbentuk atas bantuan cahaya matahari sebagai sumber kehidupan.

Ekstraksi *herbal oil* seperti pada kombinasi rosemary dan *extra virgin olive oil* dapat dilakukan menggunakan metode *hot maceration* pada suhu

pemanasan sebesar 40-60°C mampu meningkatkan laju ekstraksi senyawa aktif ke dalam pelarut (Ayadi, dkk., 2009). Kelebihan *hot maceration* yaitu cocok digunakan untuk sampel bahan alam yang tahan panas hingga suhu 140°C (Rahmawati, 2012). Suhu dan waktu optimum ekstraksi bahan alam dalam pelarut minyak yaitu pada suhu sebesar 60°C selama 30-150 menit (Kamaruddin, dkk., 2018). Prinsip ekstraksi maserasi didasarkan pada peristiwa osmosis yaitu molekul dari kunyit sebagai larutan berkonsentrasi rendah mengalami perpindahan menuju minyak zaitun sebagai larutan berkonsentrasi tinggi menyebabkan senyawa aktif terlarut dalam pelarut (Dicky, dkk., 2015). Kandungan senyawa aktif dalam sampel bahan alam dapat dideteksi secara kualitatif menggunakan uji fitokimia (Cobra, dkk., 2019).

Identifikasi senyawa aktif menggunakan uji fitokimia dapat menunjukkan keberadaan senyawa seperti triterpenoid, flavonoid dan tanin didasarkan pada sifat ekstrak yang dihasilkan (Ningsih, dkk., 2020). Ekstrak *herbal oil* dari kombinasi ekstrak minyak daun neem dan sereh positif menunjukkan senyawa triterpenoid dan flavonoid yang memiliki sifat kepolaran hampir sama (Babatunde, dkk., 2019). Triterpenoid termasuk dalam golongan senyawa terpenoid yang bersifat non polar dan mampu larut dalam lemak (Saidi, dkk., 2018). Flavonoid bersifat semi polar mampu larut dalam pelarut polar hingga non polar, sedangkan tanin bersifat polar sehingga lebih larut dalam pelarut polar (Dewi, dkk., 2018). Senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak bahan alam dapat berperan sebagai zat antibakteri yang dapat diuji menggunakan metode difusi cakram (Deval, dkk., 2001).

Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan menggunakan metode difusi cakram (Sumer, dkk., 2013). Kelebihan metode difusi cakram yaitu memiliki kepekaan terhadap zat bakteri lebih tinggi dibandingkan metode uji lainnya (Pujirahayu, dkk., 2015). Prinsip analisis metode difusi cakram yaitu mengukur zona bening sebagai salah satu respon adanya kemampuan senyawa antibakteri dalam menghambat bakteri (Hermawan, dkk., 2007). Jumlah mikroba yang tumbuh dalam suatu produk dapat dihitung salah satunya menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC) bertujuan untuk menetapkan angka mikroorganisme hidup (Hafsan, 2014). Prinsip metode TPC yaitu menumbuhkan sel bakteri yang masih hidup pada media agar sehingga bakteri dapat tumbuh dan membentuk koloni yang dapat dilihat secara visual (Yunita, dkk., 2015).

Penelitian Pangemanan, dkk. (2016) ekstrak kunyit pada konsentrasi 40% terhadap bakteri *S.aureus* menghasilkan zona hambat sebesar 15 mm. Penelitian Ariyani (2020) minyak zaitun sebagai gel antiacne pada konsentrasi 7,5% mampu menghambat bakteri *S.aureus* dan menghasilkan zona hambat sebesar 1,90 cm. Penelitian Pujirahayu, dkk. (2015) kombinasi ekstrak bahan alam memiliki aktivitas terhadap bakteri *S.aureus*.

Berdasarkan uraian yang telah dijelaskan menunjukkan bahwa kombinasi tanaman obat dan minyak herbal mampu menghasilkan ekstrak *herbal oil* dengan kemampuan hambat bakteri lebih tinggi karena penggabungan dua bahan herbal akan meningkatkan senyawa aktif yang terkestrak dalam pelarut. Penelitian tentang uji aktivitas antibakteri pada kombinasi kunyit dan minyak zaitun belum pernah dilakukan sehingga peneliti berinisiatif untuk melakukan ekstraksi kedua bahan herbal tersebut berdasarkan pada studi empiris yang telah dilakukan.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana hasil uji fitokimia terhadap ekstrak kunyit (*Curcuma longa* L.) dalam minyak zaitun murni (*Extra virgin olive oil*) pada variasi konsentrasi dan suhu pemanasan?
2. Bagaimana pengaruh variasi konsentrasi ekstrak kunyit (*Curcuma longa* L.) dalam minyak zaitun murni (*Extra virgin olive oil*) terhadap aktivitas antibakteri *S.aureus* dengan metode difusi cakram?

1.3 Tujuan

1. Untuk mengetahui hasil uji fitokimia terhadap ekstrak kunyit (*Curcuma longa* L.) dalam minyak zaitun murni (*Extra virgin olive oil*) pada variasi konsentrasi dan suhu pemanasan.
2. Untuk mengetahui pengaruh variasi konsentrasi ekstrak kunyit (*Curcuma longa* L.) dalam minyak zaitun murni (*Extra virgin olive oil*) terhadap aktivitas antibakteri *S.aureus* dengan metode difusi cakram.

1.4 Batasan Masalah

1. Sampel yang digunakan adalah simplisia kunyit segar berasal dari Materia Medica, Batu, Jawa Timur.
2. Pelarut yang digunakan adalah minyak zaitun *cold pressed* jenis *extra virgin olive oil* merk Borges.
3. Metode ekstraksi yang digunakan adalah *hot maceration*.

4. Uji fitokimia senyawa metabolit sekunder triterpenoid, flavonoid dan tanin.
5. Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram

1.5 Manfaat Penelitian

Mendapatkan informasi tentang hasil uji fitokimia senyawa metabolit sekunder pada variasi konsentrasi dan suhu pemanasan serta efektivitas antibakteri pada konsentrasi terbaik sediaan *herbal oil* ekstrak kunyit (*Curcuma longa* L.) dalam minyak zaitun murni (*Extra virgin olive oil*) terhadap bakteri *S.aureus*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Kunyit (*Curcuma longa* L.)

2.1.1 Morfologi dan Klasifikasi Tanaman Kunyit

Kunyit merupakan jenis tanaman tropis yang termasuk dalam kelompok jahe-jahean, mempunyai warna khas yaitu kuning cerah dengan bunga berwarna hijau kekuningan, daun tunggal dengan ujung dan pangkal runcing tepi rata berbentuk lonjong serta mampu hidup pada curah hujan sebesar 1000-4000 mm/tahun dengan suhu optimum antara 19-30°C (Cahyaning, 2012). Kunyit menghasilkan umbi utama berupa rimpang berwarna kuning tua berbentuk panjang mencapai 20 cm dengan ketebalan 1,5-4 cm berwarna kuning sampai jingga kemerahan (Asnia, dkk., 2019).

Berikut morfologi dan klasifikasi tanaman kunyit dapat dilihat pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Morfologi tanaman kunyit (*Curcuma longa* L.) (Kumar, 2013)

Berikut klasifikasi tumbuhan kunyit (*Curcuma longa* L.) (Hapsoh, 2008):

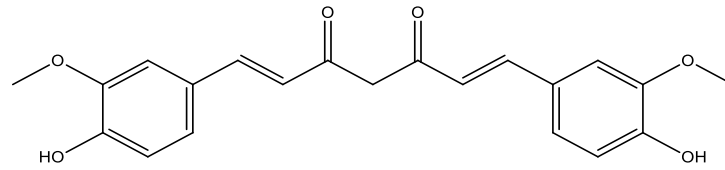
Kingdom	: Plantae
Sub Kingdom	: Viridiplantae
Divisio	: Tracheophyta
Sub-divisio	: Spermaphytina

Kelas	: Monocotyledoneae
Bangsa	: Zingiberiles
Suku	: Zingiberaceae
Marga	: Curcuma
Jenis	: Curcuma Longa L.

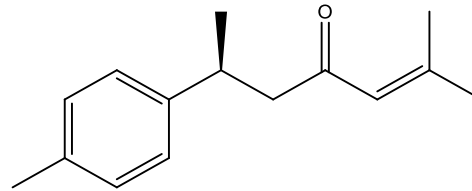
Kunyit (*Curcuma longa* L.) dapat dimanfaatkan pada berbagai bidang kesehatan yaitu untuk terapi terhadap jerawat (Dewi, dkk., 2019), menyembuhkan infeksi kulit yang disebabkan oleh bakteri patogen (Dosoky, 2018) dan beberapa jenis penyakit berbahaya seperti kanker kulit (Rathore, dkk., 2020), kelainan kulit wajah (Vollono, dkk., 2019) dan kerusakan kulit akibat radiasi ultraviolet B kronis (Panahi, dkk., 2018).

2.1.2 Kandungan Senyawa Kimia Pada Kunyit

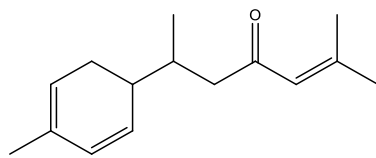
Kunyit mengandung nutrisi yang cukup tinggi seperti karbohidrat (69,9%), vitamin C (45-55%), serat (21gr) (Dewi, dkk., 2019), lemak (5,1%), protein (6,3%), mineral (3,5%) (Abdurrahman, 2019) dan minyak lemak (4,4-12,7%) (Simanjuntak, 2012). Kandungan senyawa aktif pada kunyit adalah senyawa kurkumin sebesar 94% dan minyak atsiri (Yulianti, dkk., 2016). Komponen minyak atsiri pada rimpang kunyit merupakan senyawa golongan terpenoid yang terdiri dari aril-turmeron (20,20%), α -turmeron (1,84%) dan β -turmeron (2,58%), seskuiterpen (curcumene, turmeron, curlone, β -elemene) dan senyawa triterpenoid yang diketahui memiliki aktivitas biologis sebesar 21,22% dan berpotensi sebagai antibakteri (Khameneh, dkk., 2019). Kandungan senyawa aktif dalam kunyit yaitu kurkumin yang ditunjukkan pada Gambar 2.2 dan struktur minyak atsiri dalam kunyit ditunjukkan pada Gambar 2.3.



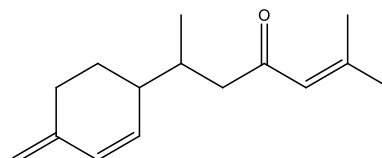
Gambar 2.2 Struktur kimia kurkumin (Urosevic, dkk., 2022)



Ar-Turmeron



α -Turmeron



β -Turmeron

Gambar 2.3 Struktur kimia minyak atsiri pada kunyit (Ibanez, 2021)

Kurkumin sebagai zat aktif polifenol mampu menghambat aktivitas bakteri gram positif dan gram negatif karena terdapat gugus fenolik dan gugus diketon pada strukturnya (Zheng, dkk., 2020). Minyak atsiri juga mampu menghambat bakteri patogen yang bersifat parasit pada tubuh. Kandungan kurkumin dan minyak atsiri pada rimpang kunyit berperan sebagai antibakteri dan antiinflamasi sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan menyembuhkan peradangan akibat infeksi bakteri (Dosoky, 2018).

Penelitian yang dilakukan Cahyani, dkk. (2020) menunjukkan bahwa ekstrak rimpang kunyit dapat menghambat bakteri *Propionibacterium acnes* penyebab jerawat pada wajah akibat terjadi peningkatan sebum (zat berminyak). Kunyit juga mampu menghambat bakteri *Staphylococcus epidermidis* yang berhubungan dengan infeksi kulit disertai dengan timbulnya gejala seperti demam,

sakit kepala, dan kelelahan (Abdullatif, dkk., 2016). Senyawa aktif dalam kunyit juga berpotensi besar untuk menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* yang menyebabkan timbulnya gejala kemerahan pada kulit wajah disertai dengan pembentukan abses dan nanah (Muadifah, dkk., 2019).

2.2 Tumbuhan Zaitun (*Olea ouropea* L.)

2.2.1 Morfologi dan Klasifikasi Tumbuhan Zaitun

Tumbuhan zaitun (*Olea Europea* L.) adalah jenis tanaman berkayu yang memiliki masa pertumbuhan daun, batang, akar dalam jangka waktu lama dan mampu menghasilkan biji atau buah zaitun. Buah zaitun yang matang berwarna ungu kehitaman kerap diekstrak untuk diambil minyaknya yang dikenal sebagai minyak zaitun (Astawan, dkk., 2015). Minyak zaitun memiliki warna kuning kehijauan terang, sedikit berbau dan berasa (Hariana, 2008). Tumbuhan zaitun memiliki pohon dengan tinggi mencapai 3-15 meter dan daun tunggal berbentuk elips, bunga berwarna putih berukuran kecil dengan panjang 6-10 mm (Susilo, 2012).

Berikut morfologi dan klasifikasi dari tumbuhan zaitun ditunjukkan pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Tumbuhan zaitun (*Olea europaea* L.) (Raman, 2017)

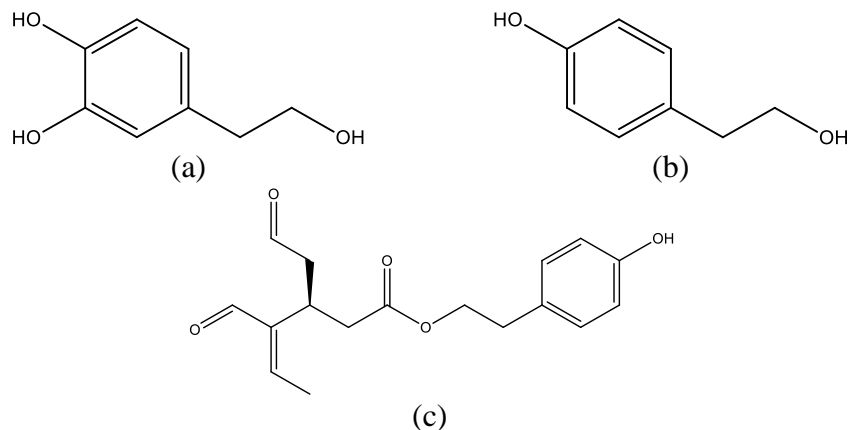
Berikut klasifikasi tumbuhan zaitun (*Olea europaea* L.) (Sahin, 2017):

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Lamiales
Family	: Oleaceae
Genus	: Olea
Species	: E. oleaster E. sativa
Binominal name	: Olea europaea

2.2.2 Kandungan Senyawa Kimia Pada Minyak Zaitun

Senyawa kimia dalam *extra virgin olive oil* (EVOO) yaitu trigliserida (97-99%), asam lemak tak jenuh ganda (7,0-15,5%) seperti asam linoleate, asam lemak tak jenuh tunggal (65,2-80,8%) terutama asam oleat sekitar 98-99% dari total berat EVOO dan sisanya berupa komponen minor seperti mineral (besi, magnesium, dan kalsium), karbohidrat (200-8260 mg/kg) dan nutrisi. EVOO juga mengandung senyawa bioaktif seperti flavonoid utama yaitu luteolin (Garcia, dkk., 2002), minyak atsiri golongan sesquiterpene yaitu eremophilene sebagai senyawa aktif turunan fenol (Kono, dkk., 2013), senyawa fenolik (213-450 mg/kg) meliputi hydroxytyrosol dan tyrosol (10,2-208 mg/kg) sebagai senyawa hasil hidrolisis oleuropein (turunan secoiridoid) (Jimenez, dkk., 2020).

Aktivitas antibakteri pada EVOO disebabkan oleh adanya kandungan senyawa polifenolik berupa flavonoid, oleuropein dan minyak atsiri yang memiliki efek farmakologis terhadap aktivitas mikroba (Sahin, 2017). Umumnya senyawa fenolik dalam minyak zaitun murni jenis EVOO dapat dimanfaatkan sebagai obat peradangan atau anti-inflamasi (Rus, dkk., 2020). Berikut struktur senyawa kimia dalam minyak zaitun dapat dilihat pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5 Struktur kimia (a) hydroxytyrosol, (b) tyrosol, (c) oleuropein (Cicerale, 2012)

EVOO mengandung minyak atsiri sebagai senyawa aktif turunan fenol dan flavonoid memiliki gugus hidroksil (-OH) dan karbonil yang dapat mempermudah proses pengikatan situs aktif enzim dan mengubah metabolisme enzim yang berpengaruh pada aktivitas antibakteri. Semakin banyak jumlah gugus OH yang terikat pada cincin fenolik maka semakin tinggi kemampuan suatu senyawa dalam menghambat pertumbuhan bakteri (Macwan, dkk., 2016).

Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa senyawa fenolik pada EVOO mempunyai aktivitas antiinflamasi dan antimikroba sebagai penyakit kronis berbahaya (Cicerale, dkk., 2009). Penelitian Rahmasari (2020) senyawa fenolik yang tinggi pada minyak zaitun dapat menghindarkan kulit dari infeksi bakteri sehingga sangat cocok digunakan sebagai campuran masker untuk menghilangkan jerawat. Penelitian Nazzaro, dkk. (2019) kandungan senyawa polifenol dalam EVOO berperan besar dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen seperti *S.aureus* yang menyebabkan dermatitis atau infeksi kulit. Penelitian Priani, dkk (2018) senyawa flavonoid dalam minyak zaitun dapat mengobati penyakit kulit seperti jerawat yang disebabkan oleh *Propionibacterium acnes*.

2.3 Maserasi Metode Panas

Ekstraksi maserasi adalah suatu metode ekstraksi yang bertujuan untuk menarik senyawa bioaktif seperti antibakteri pada bahan alam dengan memanfaatkan prinsip “*like dissolve like*” dimana pelarut akan cenderung melarutkan senyawa aktif dengan sifat kepolaran yang sama (Suryani, dkk., 2016). Salah satu metode ekstraksi modifikasi adalah *hot maceration* atau sering disebut dengan maserasi digesti yang melibatkan proses pemanasan pada suhu rendah sebesar 40-50°C selama 1-2 jam tergantung pada karakteristik tumbuhan yang digunakan (Rahmawati, 2012; Handa, dkk., 2008). Suhu pemanasan pada metode *hot maceration* dapat meningkatkan kelarutan ekstrak dalam pelarut, dan meningkat kelarutan senyawa aktif pada tanaman sehingga dapat memberikan hasil ekstrak dengan rendemen yang lebih tinggi (Agustini, 2012).

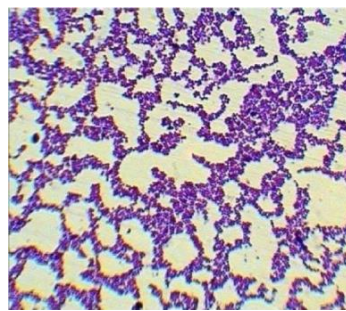
Herbal oil merupakan salah satu jenis pengobatan tradisional untuk mengobati berbagai kondisi penyakit. Bahan herbal dapat diperoleh melalui berbagai jenis proses ekstraksi seperti *hot oil maceration* dengan pelarut alami yang berasal dari minyak untuk mendapatkan ekstrak minyak atsiri (*essential oil*). Penggunaan minyak herbal sebagai pelarut perlu diperhatikan karena kandungan asam lemak tak jenuh dalam minyak nabati dapat mempercepat proses oksidasi dan mempersulit proses penyimpanan (Hamedi, dkk., 2013).

2.4 Uji Aktivitas Antibakteri

2.4.1 Bakteri Uji (*S.aureus*)

Staphylococcus aureus merupakan bakteri gram positif yang dapat hidup berkoloni dalam rantai pendek pada suhu 6,5-46 °C di mukosa dan kulit dalam waktu 24 jam dengan diameter mencapai 4 mm dan memiliki ukuran sekitar 0,5 –

1,0 μm (Sato, dkk., 2019; Gupta, dkk., 2015). Bakteri *S.aureus* memiliki satu dinding sel dan tidak membentuk spora, membentuk pigmen yang menyebabkan koloni berwarna kuning keemasan, sedangkan dalam media nutrisi agar bakteri *S.aureus* akan membentuk pigmen yang menyebabkan pertumbuhan koloni berwarna putih susu (Fatmariza, dkk., 2017). Gambar bakteri *S.aureus* ditunjukkan pada Gambar 2.6.



Gambar 2.6 Bakteri *S.aureus* (Suma, dkk., 2016)

Menurut Ferianto (2012), Klasifikasi *S.aureus* sebagai berikut:

Divisi	: Protophyta
Kelas	: Schizomycetes
Ordo	: Eubacteriales
Famili	: Micrococceae
Genus	: Staphylococcus
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>

Bakteri *S.aureus* merupakan bakteri patogen yang mudah tumbuh pada permukaan kulit wajah dan menyebabkan penyakit klinis karena mempunyai struktur peptidoglikan tidak kompleks sehingga senyawa antibakteri lebih mudah untuk merusak dinding sel bakteri. Salah satu contoh penyakit klinis akibat infeksi bakteri *S.aureus* yaitu munculnya luka yang ditandai dengan peradangan pada permukaan kulit (Nurfadilah, 2013), munculnya nanah dan pembentukan abses akibat ekskresi bakteri yang sangat cepat (Kobayashi, dkk., 2015). Menurut

Locke, dkk. (2012) bakteri *S.aureus* menyebabkan beberapa penyakit kulit seperti impetigo, paronikia, abses, dan selulitis.

2.4.2 Aktivitas dan Mekanisme Kerja Antibakteri

Antibakteri adalah zat yang dapat mengganggu pertumbuhan bahkan mematikan mikroorganisme lain seperti organisme mikroskopik termasuk bakteri, virus dan jamur dengan cara mengganggu metabolisme mikroba. Senyawa aktif memiliki aktivitas yang tinggi sebagai antibakteri apabila pada konsentrasi rendah memiliki daya hambat yang besar. Kekuatan daya hambat bakteri dikategorikan menjadi 4 yaitu sangat kuat, kuat, sedang dan lemah (Susanto, 2012).

Mekanisme kerja antibakteri yaitu senyawa akan berinteraksi dengan dinding sel bakteri dan menyebabkan lisis dinding sel yang dapat mempengaruhi bentuk dan struktur sel sehingga mengakibatkan bakteri mengalami kematian (Radji, 2011; Supara, dkk., 2016). Senyawa antibakteri juga dapat merusak membran sel bakteri yang berperan dalam mengatur transport nutrisi, berlangsungnya respirasi dan aktivitas biosintesis sehingga menyebabkan keluarnya protein, asam nukleat dan nukleotida dari dalam sel bakteri (Radji, 2011).

2.4.3 Metode Uji Aktivitas Antibakteri

2.4.3.1 Difusi Cakram

Uji aktivitas antibakteri pada penelitian ini menggunakan difusi cakram sebagai metode umum yang dilakukan pada medium padat seperti kertas cakram berdiameter sekitar 6 mm (*paper disk*). Prinsip metode difusi cakram yaitu

senyawa aktif sampel akan terserap ke dalam kertas saring akibat adanya proses perendaman dan akan berdifusi ke dalam media padat sehingga dapat menghasilkan respon antibakteri yang muncul disekitaran kertas cakram (Balouiri, dkk., 2016). Kategori kekuatan antibakteri, dapat dilihat pada Tabel 2.1 sebagai berikut:

Tabel 2.1 Kategori kekuatan antibakteri (Susanto, 2012)

Kekuatan Daya Hambat	Diameter
Sangat Kuat	≥ 20 mm
Kuat	10-20 mm
Sedang	5-10 mm
Lemah	0-5 mm

Kontrol positif dan kontrol negatif yang digunakan pada penelitian ini adalah amoksilin dan dimetil sulfoksida (DMSO). Amoksilin merupakan antibiotik golongan penisilin yang berguna untuk mengobati infeksi akibat bakteri (Amelia, 2017). Penelitian Gustiani (2020) amoksilin mampu menghambat bakteri *S.aureus* lebih besar dibandingkan *Escherichia coli* menghasilkan zona hambat sebesar 24 mm. DMSO merupakan pelarut yang tidak memiliki sifat antibakteri (Prasetya, dkk., 2019).

Penelitian Ulfah (2020) ekstrak kunyit pada konsentrasi 40% mampu menghambat *S.aureus* dan menghasilkan zona hambat sebesar 10 mm. Penelitian Muadifah, dkk. (2019) uji aktivitas antibakteri gel ekstrak rimpang kunyit pada konsentrasi kunyit 45% menggunakan metode difusi cakram menghasilkan zona hambat sebesar 11 mm. Hasil penelitian yang telah dijelaskan menunjukkan bahwa metode difusi cakram untuk uji aktivitas antibakteri menghasilkan kepekaan lebih tinggi (Susanto, 2012).

2.4.3.2 Dilusi Cair

Dilusi cair merupakan metode yang digunakan untuk mengukur kadar hambat minimum dengan membuat faktor pengenceran bertingkat pada ekstrak dalam media cair berisi bakteri uji kemudian dilakukan inkubasi selama 18-24 jam (Hafsan, 2014). Perhitungan jumlah bakteri pada larutan sampel dapat dilakukan menggunakan *Total Plate Count* (TPC) dengan cara menghitung koloni bakteri yang tumbuh pada rentang 30-300 dan dapat diamati secara visual tanpa menggunakan mikroskop (Barus, dkk., 2017; Seosetyaningsih, 2020). Hasil perhitungan koloni bakteri memiliki satuan *Colony Forming Unit* (CFU) merupakan jumlah koloni bakteri yang tumbuh tiap gram sampel yang dihitung dari jumlah cawan, faktor pengenceran dan volume yang digunakan (Jongenburger, dkk., 2010).

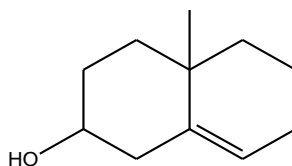
2.5 Uji Fitokimia Senyawa Aktif

Uji fitokimia merupakan tahap pengujian untuk mengidentifikasi senyawa aktif yang belum tampak melalui pemeriksaan menggunakan pereaksi warna yang berfungsi untuk memisahkan senyawa aktif dari bahan alam yang memiliki kandungan fitokimia tertentu dengan bahan alam yang tidak memiliki kandungan fitokimia (Ningsih, dkk., 2010). Golongan senyawa aktif dalam tanaman akan tampak dari hasil uji fitokimia dengan mengamati perubahan warna secara visual (Roxb, 2012). Senyawa metabolit sekunder dalam tanaman merupakan senyawa organik yang disintesis oleh tumbuhan sebagai senyawa dengan kemampuan bioaktivitas tinggi seperti antimikroba, antiinflamasi dan antikanker (Gunawan, dkk., 2016).

2.5.1 Uji Triterpenoid

Uji triterpenoid dilakukan menggunakan reagen Liebermann-Burchard yang terdiri dari asam asetat anhidrat dan asam sulfat (H_2SO_4) dengan perbandingan 3:1. Prinsip reaksi uji triterpenoid adalah kondensasi atau pelepasan H_2O dan penggabungan dengan karbokation (Siadi, 2012). Menurut Fasya, dkk. (2018) hasil positif senyawa triterpenoid ditandai dengan terbentuknya cincin berwarna kecoklatan pada perbatasan dua pelarut. Penelitian Ningsih, dkk. (2020) ekstrak rimpang kunyit positif mengandung triterpenoid dengan terbentuknya warna merah ungu.

Struktur dasar senyawa triterpenoid dapat dilihat pada Gambar 2.7.



Gambar 2.7 Struktur triterpenoid (Siadi, 2012)

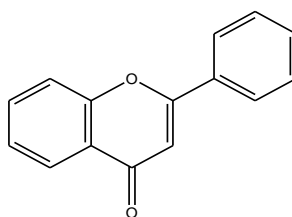
Triterpenoid merupakan senyawa aktif golongan terpenoid yang bersifat non polar sehingga mampu larut dalam pelarut non polar dan jenis senyawa yang dapat larut dalam lipid atau lemak (Ramadani, 2016). Kerangka dasar senyawa triterpenoid berbentuk siklik dan memiliki gugus alkohol (Widiyanti, 2006). Menurut Balafif, dkk. (2013) gugus hidroksil (OH) menyebabkan triterpenoid mampu larut dalam pelarut non polar sampai polar.

2.5.2 Uji Flavonoid

Uji flavonoid dilakukan menggunakan metode wilstater yaitu dengan menambahkan pereaksi berupa serbuk Mg dan larutan HCl pekat. Hasil positif

senyawa flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah atau jingga (Septyaningsih, 2010). Penelitian Cobra, dkk. (2019) ekstrak rimpang kunyit Serbuk logam magnesium dan larutan HCl pekat digunakan secara luas untuk mengidentifikasi senyawa fenol termasuk flavonoid.

Struktur dasar senyawa flavonoid dapat dilihat pada Gambar 2.8.



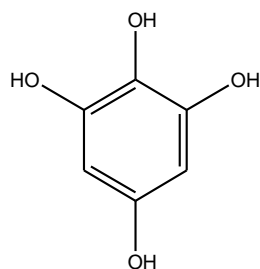
Gambar 2.8 Struktur flavon (Mohammed, dkk., 2010)

Menurut Kar, dkk. (2006) senyawa flavonoid merupakan senyawa yang bersifat non polar. Umumnya, kerangka dasar flavonoid adalah senyawa polar karena memiliki gugus hidroksil (-OH) yang mampu mengikat satu atau lebih gula sehingga menyebabkan mudah larut dalam pelarut polar atau semi polar, namun beberapa flavonoid bebas jenis flavonol, isoflavon, flavon, flavanone, auron, kalkon, dan antosianin merupakan senyawa yang bersifat kurang polar (Monache, 1996).

2.5.3 Uji Tanin

Uji tanin dilakukan menggunakan pereaksi FeCl_3 1% sebagai senyawa FeCl_3 digunakan secara luas untuk mengidentifikasi senyawa fenol termasuk tanin (Cobra, dkk., 2019). Hasil positif tanin ditandai dengan warna hijau kehitaman pada larutan. Perubahan warna pada larutan sampel disebabkan karena adanya reaksi antara ion Fe^{3+} yang mengikat dua gugus hidroksil aromatis pada senyawa

tanin dan mengakibatkan terbentuknya ikatan kovalen koordinasi antara ion dengan atom non logam (Sangi, dkk., 2008). Struktur dasar senyawa tanin dapat dilihat pada Gambar 2.9.



Gambar 2.9 Struktur tanin (Cobra, dkk., 2019)

Tanin merupakan senyawa makromolekul dari golongan polifenol yang bersifat polar sehingga mampu larut dalam pelarut polar. Umumnya, kerangka dasar senyawa tanin tersusun atas cincin benzena (C6) yang berikatan dengan gugus hidroksil (-OH). Keberadaan gugus OH pada struktur tanin menyebabkan senyawa ini bersifat polar dan mampu larut dalam pelarut polar (Fegel dan Wegener, 1995).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini berjudul “Uji Aktivitas Antibakteri Pada Sediaan *Herbal Oil* Ekstrak Kunyit (*Cucuma Longa* L.) dalam Minyak Zaitun Murni (*Extra Virgin Olive Oil*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*”. Penelitian dilaksanakan pada bulan Agustus 2021 s/d Maret 2022 di Laboratorium Analitik Kimia dan Laboratorium Biokomia Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang diperlukan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat gelas (erlenmeyer ukuran 250 ml, gelas beaker 50 ml, tabung reaksi, rak tabung reaksi, batang pengaduk, corong gelas, gelas ukur, pipet tetes, labu takar 100 ml), *hot plate*, inkubator, jangka sorong, jarum ose, *laminar air flow*, mikropipet 20-200 μ l, tip mikropipet ukuran 100-1000 μ l, tip biru, tip kuning, autoklaf, oven, lemari pendingin, pembakar spirtus, spatula, neraca analitik, *vortex mixer*, botol semprot, cawan petri, pinset, kertas cakram (*paper disk*) no.42 diameter 9 cm, Whatmann no.1, pisau, *magnetic stirrer*, *mortar* dan alu, botol vial, aluminium foil, *plastic wrap*, kapas dan kasa.

3.2.2 Bahan

Bahan yang diperlukan dalam penelitian ini adalah rimpang kunyit yang berasal dari kota Batu, Jawa Timur dan minyak zaitun jenis *extra virgin olive oil* merk Borges, akuades, asam asetat glasial (anhidrat), H₂SO₄ pekat, HCl 2M, serbuk magnesium, FeCl₃ 1%, alkohol 70%, antibiotik amoksilin, *dimetil sulfoksida* (DMSO) dan NaCl. Medium pertumbuhan bakteri yang diperlukan adalah *nutrient agar* dan *nutrient broth*. Bakteri uji yang digunakan adalah *S.aureus*.

3.3 Tahapan Penelitian

Tahapan-tahapan dalam penelitian ini adalah:

1. Ekstraksi sampel
2. Uji fitokimia senyawa aktif
3. Uji aktivitas antibakteri

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Ekstraksi Kunyit Dalam Pelarut Minyak Zaitun Dengan Variasi Konsentrasi dan Suhu Pemanasan

Rimpang kunyit yang telah dicincang kasar ditambahkan *extra virgin olive oil* dengan variasi konsentrasi kunyit sebesar 10%, 20%, 30% dan 40% (gr/ml) hingga didapatkan volume larutan 100 mL. Tahap selanjutnya yaitu sampel dipanaskan selama 2 jam pada suhu pemanasan oven 30°C, 40°C, 50°C, dan 60°C (Handayani, dkk., 2008; Nevado, dkk., 2012) dan diaduk menggunakan batang pengaduk selama 10 menit sekali. Ekstrak kental campuran kunyit dan minyak zaitun disaring menggunakan Whatmann no 1 (Ansari, dkk., 2012). Filtrat hasil

penyaringan atau *herbal oil* dimasukkan ke dalam botol vial yang steril dan disimpan pada suhu 4°C sebelum dilakukan uji selanjutnya (Kantawong, dkk., 2017; Karacebay, dkk., 2016).

Ekstrak tunggal dibuat dengan cara ditimbang sebanyak 25 mg kunyit ke dalam botol vial steril dan dilarutkan dalam 100 mL larutan DMSO steril (Bhawana, dkk., 2011). Tahap selanjutnya yaitu ekstrak tunggal kunyit didiamkan selama 2 jam pada suhu ruang (Pundir, 2010). Ekstrak tunggal minyak zaitun dibuat dengan cara menambahkan sebanyak 0,1 ml minyak zaitun ke dalam botol vial steril (Ariyani, 2020).

3.4.2 Uji Fitokimia Senyawa Aktif

Uji fitokimia dilakukan pada tiap variasi konsentrasi ekstrak *herbal oil* dan suhu pemanasan yang bertujuan untuk memisahkan senyawa metabolit sekunder secara keseluruhan dalam sampel. Uji senyawa metabolit sekunder meliputi:

3.4.2.1 Uji Triterpenoid

Ekstrak tunggal kunyit, minyak zaitun dan ekstrak *herbal oil* masing-masing diambil sebanyak 1 ml lalu ditambahkan 3 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes H₂SO₄ pekat. Hasil positif senyawa triterpenoid ditandai dengan terbentuknya cincin kecoklatan atau ungu pada perbatasan dua pelarut.

3.4.2.2 Uji Flavonoid

Ekstrak tunggal kunyit, minyak zaitun dan ekstrak *herbal oil* masing-masing diambil sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan HCl pekat sebanyak 2 tetes dan di kocok kuat. Tahap selanjutnya

yaitu ditambahkan 1 gr serbuk magnesium (Mg) lalu di kocok kuat dan dibiarkan memisah. Hasil positif flavonoid bila terdapat buih dengan intensitas yang banyak dan larutan akan mengalami perubahan warna menjadi jingga.

3.4.2.3 Uji Tanin

Ekstrak tunggal kunyit, minyak zaitun dan ekstrak *herbal oil* masing-masing diambil sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan FeCl_3 1% sebanyak 2-3 tetes. Hasil positif tanin bila mengalami perubahan warna menjadi hijau kehitaman.

3.4.3 Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri terhadap *S.aureus* dilakukan dengan metode difusi cakram dengan tahapan kerja meliputi:

3.4.3.1 Pembuatan Media

Media *Nutrient Agar* (NA) dan media *Nutrient Broth* (NB) masing-masing ditimbang sebanyak 2 gram dan 0,8 gram lalu dimasukkan ke dalam dua erlenmeyer berbeda. Tahap selanjutnya yaitu media ditambahkan 100 mL akuades dan dipanaskan diatas *hot plate* dengan bantuan *stirrer* hingga mendidih. Erlenmenyer yang berisi media ditutup dan disterilisasi ke dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi (Alfianur, 2017).

3.4.3.2 Sterilisasi Alat dan Media

Alat dan media untuk uji aktivitas antibakteri seperti cawan petri, pinset, tabung reaksi, tip biru dan tip kuning dicuci lalu dikeringkan dalam oven.

Sterilisasi larutan media NA dan NB, tip biru dan kuning, dan cawan petri. Tahap selanjutnya semua alat gelas, media NA dan NB disterilisasi ke dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi (Hafsan, 2014).

3.4.3.3 Peremajaan Bakteri *S.aureus*

Peremajaan bakteri dilakukan dengan mengambil biakan murni bakteri *S.aureus* sebanyak 2-3 koloni menggunakan jarum ose steril. Jarum ose yang mengandung bakteri digoreskan secara aseptis pada media NA miring dalam tabung reaksi steril. Bakteri hasil peremajaan diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C dalam inkubator (Ulfah, 2020).

3.4.3.4 Pembuatan Inokulum Bakteri *S.aureus*

Peremajaan bakteri *S.aureus* diambil 1 ose kemudian dibiakkan dalam 10 ml media NB dalam botol vial steril. Inokulum bakteri diinkubasi selama 18 jam pada suhu 37°C dalam inkubator. Kekeruhan suspensi bakteri *S.aureus* diseragamkan melalui pengukuran OD (*Optical Density*) sebesar 0,5 yang setara dengan kepadatan sel bakteri 10⁸ CFU/ml pada panjang gelombang 600 nm (Rahmawati, 2014).

3.4.3.5 Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap Bakteri *S.aureus*

Uji aktivitas antibakteri dilakukan pada ekstrak tunggal (kunyit dan minyak zaitun) dan ekstrak *herbal oil* dengan variasi konsentrasi dan suhu pemanasan oven. Kontrol positif dan kontrol negatif yang digunakan pada penelitian ini adalah amoksilin 1% (Sitorus, 2018) dan DMSO 5% (Muadifah,

dkk., 2019). Media NA dipanaskan hingga mencair dan didinginkan sampai suhu 40-50°C (Hafsan, 2014). Inokulum bakteri *S.aureus* dipipet sebanyak 0,1 mL (100 µl) dimasukkan ke dalam cawan petri steril (Nguanpuag, dkk., 2011). Tahap selanjutnya yaitu media NA cair dituang sebanyak 8 mL ke dalam cawan petri lalu dihomogenkan dan didiamkan hingga memadat. Ekstrak tunggal (kunyit dan minyak zaitun) dan ekstrak *herbal oil* pada masing-masing konsentrasi dipipet masing-masing sebanyak 0,1 mL (100 µl) ke dalam kertas cakram berdiameter 6 mm diatas cawan petri selama 30 menit (Kantawong, dkk., 2017). Amoksilin 1% dan DMSO 5% masing-masing dipipet sebanyak 0,1 mL (100 µl) (Sitorus, 2018). Kertas cakram hasil perendaman ditempelkan ke permukaan media NA padat dengan bantuan pinset steril. Tahap selanjutnya cawan petri diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Uji aktivitas antibakteri ekstrak *herbal oil* pada masing-masing konsentrasi dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan.

3.4.3.6 Pengukuran Zona Hambat

Zona hambat yang terbentuk disekitar kertas cakram diukur menggunakan jangka sorong atau dapat dihitung dengan rumus pada persamaan 3.1 sebagai berikut:

$$Lz = Lav - Ld \dots\dots\dots \text{(pers. 3.1)}$$

Dimana:

Lz = Diameter zona hambat (mm)

Lav = Diameter zona hambat dengan kertas saring (mm)

Ld = Diameter diameter kertas saring (mm)

3.4.3.7 Perhitungan Jumlah Sel Bakteri *S.aureus*

Tahap awal perhitungan jumlah sel bakteri yaitu pembuatan inokulum bakteri dengan mengambil sebanyak 1 mL ekstrak *herbal oil* konsentrasi 10%, 20%, 30% dan 40% ke dalam masing-masing tabung reaksi yang berisi 9 mL media NB lalu ditambahkan 0,5 mL inokulum bakteri *S.aureus* dengan kekeruhan 0,5. Kontrol yang digunakan dalam uji ini adalah media cair NB sebanyak 10 mL dan kontrol bakteri yang dibuat dari campuran media NB sebanyak 9 mL dan bakteri uji sebanyak 1 mL dalam tabung reaksi. Tahap selanjutnya adalah inkubasi sampel dan kontrol selama 24 jam pada suhu 37°C (Kantawong, dkk., 2017). Sampel yang telah diinkubasi dilakukan pengenceran secara bertingkat mulai dari 10^{-1} hingga 10^{-10} .

Tahap pengenceran sampel dilakukan dengan disiapkan tabung reaksi steril sebanyak 10 buah dan diisi dengan NaCl 0,85% steril sebanyak 9 mL. Kontrol bakteri dan larutan ekstrak konsentrasi 10%, 20%, 30% dan 40% masing-masing dipipet sebanyak 1 mL ke dalam tabung reaksi pertama dan dihitung sebagai tingkat pengenceran pertama (10^{-1}). Tahap tersebut dilakukan secara berulang hingga tingkat pengenceran 10^{-10} . Tiap penambahan larutan ekstrak dilakukan homogenasi. Larutan sampel hasil pengenceran masing-masing diambil sebanyak 0,1 mL lalu dimasukkan ke dalam cawan petri steril secara aseptis. Cawan petri diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C (Arifan, dkk., 2018). Pertumbuhan koloni bakteri diamati dan dihitung secara manual.

Jumlah mikroba hidup = Σ koloni per cawan x faktor pengenceran (CFU/mL)

Jumlah mikroba hidup = a,b x Fp (pers. 3.3)

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Ekstraksi Kunyit Dalam Pelarut Minyak Zaitun dengan Variasi Konsentrasi dan Suhu Pemanasan

Ekstraksi kunyit dan minyak zaitun pada suhu pemanasan oven sebesar 30°C, 40°C, 50°C dan 60°C bertujuan untuk mengekstrak senyawa aktif yang terdapat dalam sampel berdasarkan sifat kepolarannya. Pengadukan sampel selama 2 jam bertujuan untuk meningkatkan kontak antar sampel dan pelarut, untuk menghindari terbentuknya gumpalan di permukaan bawah sehingga proses difusi dapat terjadi secara optimal dan hasil ekstraksi yang diperoleh maksimal (Gyawali, dkk., 2015).

Perubahan warna ekstrak *herbal oil* menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak *herbal oil* maka semakin pekat warna ekstrak yang dihasilkan. Warna ekstrak pada konsentrasi 10% dan 20% cenderung kuning muda, sedangkan pada konsentrasi 30% dan 40% warna ekstrak semakin pekat menjadi kuning tua.

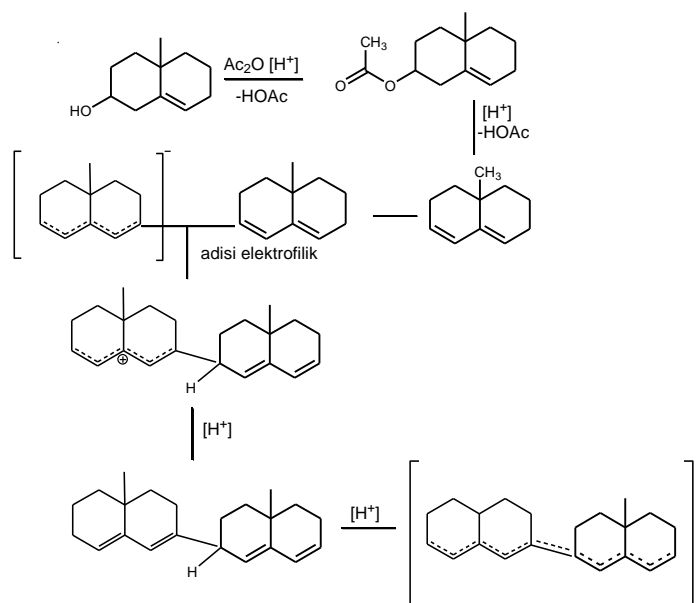
4.2 Uji Fitokimia Senyawa Aktif

Uji fitokimia bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak *herbal oil* yang berpotensi sebagai agen antibakteri meliputi golongan senyawa triterpenoid, flavonoid dan tanin. Hasil positif uji senyawa aktif dapat diamati secara visual melalui perubahan warna yang dihasilkan setelah penambahan reagen pada ekstrak *herbal oil*. Ekstrak *herbal oil*

diduga mengandung senyawa triterpenoid dan flavonoid, sedangkan uji fitokimia pada senyawa tanin memberikan hasil negatif yang disebabkan oleh perbedaan sifat kepolaran dari pelarut (Fikayuniar, dkk., 2019).

4.2.1 Uji Triterpenoid

Uji triterpenoid ekstrak *herbal oil* memberikan hasil positif yang ditunjukkan dengan adanya perubahan warna menjadi hijau yang disertai dengan terbentuknya cincin kecoklatan. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak dan suhu pemanasan maka semakin pekat warna ekstrak dan semakin jelas cincin yang terbentuk. Penambahan reagen bertujuan untuk memberikan reaksi terbentuknya cincin kecoklatan yang disebabkan oleh kemampuan triterpenoid membentuk warna oleh adanya penambahan H_2SO_4 dalam pelarut asam asetat (Robinson, 1995). Dugaan reaksi senyawa triterpenoid dengan reagen Liebermann-Burchard dapat dilihat pada Gambar 4.1.

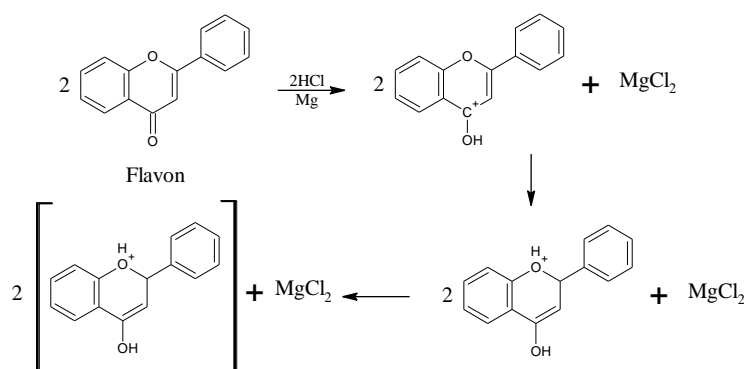


Gambar 4.1 Dugaan reaksi triterpenoid dengan reagen Liebermann-Burchard (Siadi, 2012)

Mekanisme reaksi yang menyebabkan perubahan warna ekstrak dapat dilihat pada Gambar 4.1 yang menunjukkan bahwa adanya pelepasan H₂O dan penggabungan dengan karbokation. Penambahan asam asetat anhidrida menghasilkan pembentukan gugus asetil dan gugus asetil akan lepas sehingga terbentuk ikatan rangkap. Pelepasan gugus hidrogen dengan elektronnya akan mengakibatkan terjadinya resonansi yang diperlihatkan dengan terbentuknya cincin warna kecoklatan (Siadi, 2012).

4.2.2 Uji Flavonoid

Uji flavonoid ekstrak *herbal oil* memberikan hasil positif yang ditunjukkan dengan adanya perubahan warna menjadi jingga. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak *herbal oil* dan suhu pemanasan maka semakin pekat warna yang dihasilkan. Uji flavonoid dilakukan dengan penambahan HCl dan serbuk magnesium (Mg) bertujuan untuk untuk menghidrolisis flavonoid pada bagian O-glikosilnya menjadi aglikonnya. Dugaan reaksi senyawa flavonoid dengan serbuk Mg dan HCl dapat dilihat pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2 Dugaan reaksi senyawa flavonoid dengan serbuk Mg dan HCl (Mariana, dkk., 2013)

Mekanisme reaksi yang menyebabkan perubahan warna ekstrak dapat dilihat pada Gambar 4.2 yang menunjukkan bahwa adanya hidrolisis flavonoid menjadi aglikonnya yaitu dengan menghidrolisis O-glikosil. O-glikosil akan tergantikan oleh H^+ dari asam karena sifatnya yang elektrofilik. Reduksi dengan serbuk Mg dan asam klorida pekat dapat membentuk garam flavilium yang berwarna merah, kuning atau jingga pada uji flavonoid (Afriani dkk, 2019).

4.2.3 Uji Tanin

Uji tanin pada ekstrak tunggal dan ekstrak *herbal oil* memberikan hasil negatif yang ditunjukkan dengan tidak adanya perubahan warna. Konsentrasi dan suhu pemanasan yang semakin tinggi tidak memberikan pengaruh terhadap perubahan secara visual pada sampel sehingga dapat diasumsikan bahwa ekstrak *herbal oil* tidak mengandung senyawa tanin.

4.3 Uji Aktivitas Antibakteri

4.3.1 Pembuatan Media dan Sterilisasi Alat

Media *Nutrient Agar* (NA) berfungsi sebagai media umum berbentuk agar yang tidak dapat terdegradasi oleh mikroorganisme dan dapat menjaga sel bakteri tidak berpindah tempat. Media *Nutrient Broth* (NB) berfungsi sebagai media cair untuk pertumbuhan bakteri yang dapat membuat bakteri menyebar dan tercampur dengan seluruh nutrisi yang terkandung dalam media. Sterilisasi alat dan bahan menggunakan sterilisasi basah di dalam autoklaf dengan metode pemanasan melibatkan uap air bertekanan 15 psi pada suhu 121°C selama 10-20 menit berfungsi untuk menghilangkan kontaminasi alat dari berbagai mikroorganisme.

4.3.2 Peremajaan Bakteri *S.aureus*

Peremajaan bakteri bertujuan untuk mengembangbiakkan kembali sel-sel bakteri ke dalam media NA baru. Media NA mampu mencukupi kebutuhan nutrisi bakteri umum seperti *S.aureus* karena mengandung nutrisi tinggi yang terdiri dari ekstrak daging, ekstrak ragi atau tumbuh-tumbuhan, protein sederhana yang sangat dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri (Sakinah, dkk., 2019). Bakteri *S.aureus* dapat tumbuh pada suhu 37°C selama 18-24 jam sebagai kondisi optimum bakteri berada pada fase logaritmik (Pragita, dkk., 2020).

4.3.3 Pembuatan Inokulum Bakteri *S.aureus*

Inokulum bakteri berfungsi sebagai larutan biakan aktif yang siap digunakan untuk uji aktivitas antibakteri. Bakteri *S.aureus* dapat tumbuh pada suhu 37°C selama 18-24 jam sebagai kondisi optimum bakteri berada pada fase logaritmik yaitu bakteri akan aktif melakukan pembelahan secara konstan sehingga menyebabkan pertumbuhan bakteri dapat terjadi secara maksimal dan jumlah sel meningkat 2 kali lipat (Elias, dkk., 2014).

Pengukuran *Optical Density* (OD) menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 600 nm bertujuan untuk mengukur tingkat kekeruhan bakteri dengan melihat massa sel melalui nilai absorbansi yang dihasilkan (MCBirney, dkk., 2016). Panjang gelombang 600-625 nm dapat digunakan untuk melihat tingkat kekeruhan larutan yang berwarna kuning sampai coklat (Febriyansari, 2008).

4.3.4 Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap Bakteri *S.aureus*

Uji aktivitas antibakteri pada ekstrak *herbal oil* dilakukan menggunakan difusi cakram bertujuan untuk menganalisis kemampuan senyawa aktif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus* yang ditandai dengan terbentuknya zona bening disekitar kertas cakram. Semakin besar zona bening yang terbentuk dapat diasumsikan bahwa zat antibakteri bekerja secara efektif.

Ekstrak *herbal oil* memiliki aktivitas dalam menghambat bakteri *S.aureus* yang lebih rendah dibandingkan dengan ekstrak tunggalnya. Rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan oleh ekstrak *herbal oil* pada masing-masing konsentrasi secara berurutan yaitu sebesar 1,7 mm, 3,3 mm, 3,6 mm dan 3,9 mm. DMSO berfungsi sebagai kontrol negatif dan amoksilin dipilih sebagai kontrol positif yang dapat digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan negatif (Khairani, dkk., 2017).

Aktivitas antibakteri yang menurun pada ekstrak kombinasi dimungkinkan karena presentase senyawa aktif dalam ekstrak *herbal oil* rendah akibat proses ekstraksi yang kurang maksimal. Ekstraksi yang melibatkan penggunaan minyak esensial dari tanaman lebih cocok dilakukan menggunakan destilasi uap atau menggunakan metode soxhletasi melibatkan pemekatan menggunakan rotary evaporator (Kulandasamy, dkk., 2020).

4.3.5 Perhitungan Jumlah Sel Bakteri *S.aureus*

Perhitungan jumlah bakteri menggunakan TPC (*Total Plate Count*) yang melibatkan tingkat pengenceran bertujuan untuk mendapatkan biakan yang tidak

terlalu padat sehingga sel atau koloni bakteri yang tumbuh dapat dihitung dan tidak mengganggu pengamatan. Semakin tinggi tingkat pengenceran maka semakin sedikit jumlah bakteri yang terdapat pada sampel (Ariyanti, dkk., 2016). Penambahan konsentrasi ekstrak kunyit menunjukkan adanya penurunan jumlah bakteri yang tidak terlalu signifikan. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak kunyit maka semakin besar jumlah penurunan bakteri hidup secara berurutan sebesar $5,2 \times 10^8$, $4,8 \times 10^8$, $3,7 \times 10^8$ dan $3,4 \times 10^8$.

Kemampuan tanaman *herbal* sebagai antibakteri merupakan salah satu bentuk kekuasaan Allah yang telah dijelaskan dalam Al-Qur'an sebagaimana tumbuh-tumbuhan diciptakan untuk kebaikan manusia tidak terkecuali kunyit dan minyak zaitun. Allah SWT telah memberikan perintah kepada manusia untuk mengambil makanan yang berpengaruh baik bagi tubuh. Sebagaimana firman-Nya dalam surat Al-Baqarah ayat 172:

يَا أَيُّهَا الَّذِينَ آمَنُوا كُلُوا مِن طَيِّبَاتِ مَا رَزَقْنَاكُمْ وَاشْكُرُوا لِلَّهِ إِن كُنتُمْ إِيَّاهُ تَعْبُدُونَ (١٧٢)

Artinya: “*Hai orang-orang yang beriman, makanlah di antara rezeki yang baik-baik yang Kami berikan kepadamu dan bersyukurlah kepada Allah, jika benar-benar kepada-Nya kamu menyembah*”.

Quraish shihab (2002) menjelaskan bahwa tidak semua makanan yang halal adalah thayyib. Thayyib bisa diartikan sebagai makanan proporsional atau makanan yang mengandung gizi cukup seperti kalori, protein, dan lemak. Umumnya setiap orang mempunyai kadar kethayyiban masing-masing sehingga penekanan pada yang baik bisa disesuaikan dengan kondisi kesehatan seseorang.

Allah telah menciptakan dengan sebaik-baiknya bentuk yang berpasang-pasangan sebagaimana firman-Nya dalam surat az-Zariyat ayat 49:

وَمِنْ كُلِّ شَيْءٍ خَلَقْنَا زَوْجَيْنِ لَعَلَّكُمْ تَذَكَّرُونَ (٤٩)

Artinya: “*dan segala sesuatu Kami ciptakan berpasang-pasangan supaya kamu mengingat kebesaran Allah*”

Zauj dimaknai sebagai tumbuhan atau juga sebagai pasangan. Berdasarkan ayat yang telah disebutkan menunjukkan bahwasannya Allah menciptakan segala sesuatu didunia ini secara berpasang-pasangan dengan beragam bentuk yang terdiri atas dua jenis yaitu apabila ada laki-laki maka ada perempuan, apabila ada penyakit maka ada obatnya. Kata “*Zauj*” pada penelitian ini dimaknai sebagai tumbuhan yaitu kunyit dan minyak zaitun sebagai jenis tumbuhan *herbal* dengan banyak manfaat, contohnya adalah zat antibakteri yang dapat menyembuhkan infeksi bakteri di permukaan kulit. Segala sesuatu yang diciptakan Allah SWT memiliki banyak manfaat dan manfaat itu hanya diketahui oleh orang-orang yang berakal. Sebagaimana firman Allah dalam surat Al-Imran ayat 190:

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاجْتِذَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَبْصَارِ (١٩٠)

Artinya: “*Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan pergantian malam dan siang terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi orang yang berakal*”

fenomena alam di dunia ini merupakan bukti nyata kepada umat muslim, “*الأبْصَارِ*” “*beriman*” yaitu orang berakal atau memiliki kecerdasan (ulul albab) yang mengetahui keesaan dan kekuasaan Allah SWT. Ulul albab merupakan orang yang selalu berdzikir dalam kondisi apapun, baik sehat dan sakit, duduk dan berbaring. Ulul albab dalam konteks akademik adalah mahasiswa yang selalu memaksimalkan potensi akal nya dan selalu berpikir bahwa penciptaan alam semesta tidaklah sia-sia untuk kehidupan seluruh manusia yang ada di dunia ini.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Ekstrak *herbal oil* mengandung senyawa metabolit sekunder triterpenoid dan flavonoid disemua variasi konsentrasi yang ditunjukkan pada perubahan warna larutan menjadi lebih pekat.
2. Ekstrak *herbal oil* memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S.aureus* dengan rata-rata diameter zona hambat yang diperoleh pada konsentrasi 40% sebesar 3,9 mm dan rata-rata jumlah bakteri hidup sebesar $3,4 \times 10^8$ CFU/mL.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan uji kuantitatif dengan mengitung rendemen untuk mengetahui presentase sampel secara pasti.
2. Perlu dilakukan pemisahan senyawa aktif pada ekstrak tunggal sebelum dikombinasi menggunakan metode destilasi uap atau soxhletasi dengan penambahan pelarut organik.
3. Perlu dilakukan kombinasi pada ekstrak hasil pemisahan dan minyak zaitun menggunakan metode ekstraksi maserasi panas.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullatif, E. S. N., & Pastiyanto, M. E. 2016. Daya Hambat Ekstrak Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica* Val.) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermis* secara in vitro. *Skripsi*. Semarang: Universitas Muhammadiyah Semarang.
- Afriani, N., Idiawati, N., & Alimuddin, A. H. 2016. Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Akar Mentawa (*Artocarpus anisophyllus*) Terhadap Larva *Artemia salina*. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 5(1): 58–64.
- Agustini, N. W. S., & Kusmiati. 2012. Identifikasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Aktif secara Maserasi dan Digesti Dalam Berbagai Pelarut dari Mikroalga *Dunaliella salina*. *Pusat Penelitian Bioteknologi*, 544-551.
- Alfianur. 2017. Identifikasi Komponen Penyusun Minyak Atsiri Kulit jeruk Manis (*Citrus sinensis* L.) Asal Solorejo dan Uji Aktivitas Antibakteri Menggunakan Metode Kertas Cakram. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Ansari, M., Larijani, K., & Tehrani, M. S. 2012. Antibacterial Activity of *Lippa citriodora* Herb Essence Against MRSA *Staphylococcus aureus*. *African Journal of Microbiology Research*, 6(1): 16–19.
- Arifan, F., Winarni, S., Wahyuningsih, W., Pudjihastuti, I., & Broto, R. W. 2019. Total Plate Count (TPC) Analysis of Processed Ginger on Tlogowungu Village, 167: 377–379.
- Ariyani, L. W., & Wulandari. 2020. Formulasi Sediaan Nanogel Minyak Zaitun sebagai Antiacne. *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta*, 92–100.
- Ariyanti, V. N., Supriharyono, & Widyorini, N. 2016. Hubungan Kerapatan Lamun dengan Kelimpahan Bakteri Heterotrof di Perairan Pantai Kartini Kabupaten Jepara. *Diponegoro Journal of Maquares*. 5(4): 142–149.
- Asnia, M., Ambarwati, N. S. S., & Siregar, J. S. 2019. Pemanfaatan Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica* Val.) sebagai Perawatan kecantikan Kulit. 697-703.
- Astawan, M., Tutik, W., Nurayla, A. N. 2015. Fakta dan Manfaat Minyak Zaitun. Jakarta: Penerbit Buku Kompas, 87-99.
- Ayadi, M. A., Grati-Kamoun, N., & Attia, H. 2009. Physico-chemical Change and Heat Stability of Extra Virgin Olive Oils Flavoured by Selected Tunisian Aromatic Plants. *Food and Chemical Toxicology*, 47(10): 2613–2619.

- Babatunde, D. E., Otusemade, G. O., Ojemuwi, M. E., Agboola, O., & Oyeniya, E. 2019. Antimicrobial Activity and Phytochemical Screening of Neem Leaves and Lemon Grass Essential Oil Extracts. *International Journal of Mechanical Engineering and Technology (IJMET)*, 10(3): 882-889.
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibsouda, S. K. 2016. Methods for in vitro Evaluating Antimicrobial Activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2): 71–79.
- Barus, J. G., Santosa, P. E., & Septinova, D. 2013. Pengaruh Lama Perendaman Dengan Menggunakan Larutan Daun Salam (*Syzygium Polyanthum*) Sebagai Pengawet Terhadap *Total Plate Count* dan *Salmonella* Daging Broiler. *Journal of Chemical Information and Modeling*. 53(9): 1689–1699.
- Bhawana, Basniwal, R. K., Buttar, H. S., Jain, V. K., & Jain, N. 2011. Curcumin nanoparticles: Preparation, characterization, and antimicrobial study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(5): 2056–2061.
- Cahyani, A., Anggraini, D. I., Soleha, T. U., & Tjiptaningrum, A. 2020. Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica Val.*) Terhadap Pertumbuhan *Propionibacterium Acnes* in vitro Antibacterial Effectiveness Test of Turmeric Rhizome Extract (*Curcuma domestica Val.*) on the Growth of *Propionibacterium acnes* in vitro, 11(3): 414–421.
- Cicerale, S., Conlan, X.A., Sinclair, A.J., & Keast, R.S.J. 2009. Chemistry and Health of Olive Oil Phenolics. *Critical Reviews in Food Science Nutrition*, 49(3): 218–236.
- Cicerale, S., Lucas, L. J., & Keast, R. S. J. 2012. Activities in Extra Virgin Olive Oil. *Current Opinion in Biotechnology*, 23(2): 129–135.
- Cobra, L. S., Amini, H. W., & Putri, A. E. 2019. Skirining Fitokimia Ekstrak Sokhletasi Rimpang Kunyit (*Curcuma longa L.*) dengan Pelarut Etanol 96 %, 1(1): 12–17.
- Dewi, S. R., Argo, B. D., & Ulya, N. 2018. Kandungan Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak *Pleurotus ostreatus*. *Rona Teknik Pertanian*, 11(1): 1–10.
- Dicky, A. 2015. Efek Ekstrak Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza Roxb*) Terhadap Methicin Register *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Majority*, 4(8).
- Dosoky, N. S., & Setzer, W. N. 2018. Chemical Composition and Biological Activities of Essential Oils of *Curcuma* Species. *Nutrients*, 2-42.
- Elias, M., Wiezorek, G., Rosenne, S., & Tawfik, D. S. 2014. The Universality of Enzymatic Rate Temperature Dependency. *Trends in Biochemical Sciences*, 39(1): 1-7.

- Fajriyah, N., Andriani, A., & Fatmawati, F. 2015. Efektivitas Minyak Zaitun Untuk Pencegahan Kerusakan Kulit Pada Pasien Kusta. *Jurnal Ilmiah Kesehatan*, 7(1): 97-138.
- Fatmariza, M., Inayati, N., & Rohmi. 2017. Tingkat Kepadatan Media Nutrient Agar Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Analisis Medika Bio Sains*, 4(2): 69–73.
- Febriyansari, A. N. 2008. Penerapan Model Gompertz Pada Pertumbuhan Bakteri *L. acidophilus* dan *B. Longum* di Media Adonan Es Krim (Ice Cream Mix atau ICM) Jenis Standar. *Skripsi*. Malang: Universitas Brawijaya.
- Fegel, D. & Wegener, G. 1995. Kayu, Kimia, Ultrastruktur, Reaksi. Edisi 1. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada Press.
- Fikayuniar L., Gunarti, N. S., & Apriliani, M. 2019. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Rimpang Kunyit (*Curcuma longa*) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Pharma Xplore: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 4(1): 278–287.
- Garcia, A., Brenes, M., Romero, C., & Garcia, P. 2002. Study of Phenolic Compounds in Virgin Olive Oils of the Picual Variety. *European Food Research and Technology*, 215(5): 407-412.
- Gunawan, Chikmawati, T., Sobir, & Sulistijorini. 2016. Review: Fitokimia Genus *Baccaurea* spp. *Bioeksperimen: Jurnal Penelitian Biologi*, 2(2): 97-110.
- Gupta, A., Mahajan, S., & Sharma, R. 2015. Evaluation of Antimicrobial Activity of *Curcuma Longa* Rhizome Extract Against *Staphylococcus aureus*. *Biotechnology Reports*, 6: 51–55.
- Gyawali, R., Hayek, S. A., & Ibrahim, S. A. 2015. Plant Extracts as Antimicrobials in Food Products: Mechanisms of Action, Extraction Methods, and Applications. In *Handbook of Natural Antimicrobials for Food Safety and Quality*, 50-68.
- Hafsan. 2014. Mikrobiologi Analitik Cetakan I. Makassar: Alauddin University Press.
- Handa, S. S., Khanuja, S. P. S., Longo, G., & Rakesh, D. D. 2008. Extraction Technologies for Medical and Aromatic Plants. *International Centre for Science and High Technology*.
- Handayani, Akdes D., Sutrisno, Nani I., & Suryadi I. 2008. Extraction of Astaxanthin from Giant Tiger (*Panaeus Monodon*) Shrimp Waste Using Palm Oil: Studies of Extraction Kinetics and Thermodynamic. *Bioresource Technology*, (10): 4414-4419.

- Hamed, A., Zarshenas, M. M., & Sohrabpour, M. 2013. Herbal Medicinal Oils in Traditional Persian Medicine. *Pharmaceutical Biology*, 51(9): 1208-1218.
- Hariana, A. 2008. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Haspoh, R. 2008. Modul Agronomi: Budidaya Tanaman Obat-obatan. Fakultas Pertanian. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Hermawan, A. 2007. Pengaruh Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli* Dengan Metode Difusi Disk. *Artikel Ilmiah*, Fakultas Kedokteran Hewan. Surabaya: Universitas Airlangga Surabaya.
- Ibáñez, María, D., & María A. B. 2021. *Curcuma Longa* L. Rhizome Essential Oil from Extraction to Its Agri-Food Applications. A Review. *Plants*, 10(1): 1-31.
- Jimenez L., C., Carpena, M., Lourenço, L. C., Gallardo, G. M. M., Lorenzo, J., Barba, F. J., Prieto, M. A., & Simal-Gandara, J. 2020. Bioactive Compounds and Quality of Extra Virgin Olive Oil. *Foods*, 9(8).
- Jongenburger, I., Reij, M. W., Boer, E. P. J., Gorris, L. G. M., & Zwietering, M. H. 2010. Factors Influencing the Accuracy of the Plating Method Used to Enumerate Low Numbers of Viable Micro-Organisms in Food. *International Journal of Food Microbiology*, 143(2): 32–40.
- Kamaruddin, M. J., Hamid, S. R. A., Othman, S. I. A., Alam, M. N. H. Z., Zaini, M. A. A., & Zakaria, Z. Y. 2018. The effects of conventional and microwave heating techniques on extraction yield of orthosiphon stamineus leaves. *Chemical Engineering Transactions*, 63: 601–606.
- Kantawong, F., Singhatong, S., Srilamay, A., Boonyuen, K., & Mooti, N. 2017. Properties of Macerated Herbal Oil. *Tabriz University of Medical Sciences*, 7(1): 13–23.
- Kar, P., Laight, D., Shaw, K. M., & Cummings, M. H. 2006. Flavonoid-rich Grapeseed Extracts: A New Approach in High Cardiovascular Risk Patients. *International Journal of Clinical Practice*, 60(11): 1484–1492.
- Karacabey, Erkan, Gulcan, O., Latife, D., & Saliha, O. S. 2016. Rosemary Aromatization of Extra Virgin Olive Oil and Process Optimization Including Antioxidant Potential and Yield. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 4(8): 628-635.
- Khairani, K., Busman, B., & Edrizal, E. 2019. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Jamur Tiram Purih (*Pleurotus Ostreatus*) Terhadap Bakteri Streptococcus

- Mutans Penyebab Karies Gigi. *B-Dent, Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Baiturrahmah*, 4(2): 110–116.
- Kobayashi, S. D., Malachowa, N., & Deleo, F. R. 2015. Pathogenesis of *Staphylococcus aureus* Abscesses. *American Journal of Pathology*, 185(6): 1518–1527.
- Konoz, E., Abbasi, A., Parastar, H., Moazeni, R. S., & Jalali, H. M. 2015. Analysis of Olive Fruit Essential Oil: Application of Gas Chromatography-Mass Spectrometry Combined with Chemometrics. *International Journal of Food Properties*, 18(2): 316–331.
- Kumar, N., & Sakhya, S. K. 2013. Ethnopharmacological Properties of *Curcuma longa*: A Review. *Int J Pharm Sci Res*, 4(1): 103-102.
- Locke, T., Keat, S., Walker, A., & Mackinnon, R., 2012. Microbial and Infection Diseases on the Move diterjemahkan oleh Akbarini Rizqi 99-111. Jakarta: Indeks.
- Macwan, S., Aparnathi, K. D., & Prajapati, J. 2016. Essential Oils of Herbs and Spices: Their Antimicrobial Activity and Application in Preservation of Food Essential Oils of Herbs and Spices: Their Antimicrobial Activity and Application in Preservation of Food. *Journal Microbiology Application Science*. 885-901.
- Mariana, L., Andayani, Y., & Gunawan, R. 2013. Analisis Senyawa Flavonoid Hasil Fraksinasi Ekstrak Diklorometana Daun Keluwih (*Artocarpus camansi*). 6(2): 50–55.
- Mikaili, P., Shayegh, J., & Sarahroodi, S. 2012. Pharmacological Properties of Herbal Oil Extracts Used in Iranian Traditional Pharmacological Properties of Herbal Oil Extracts Used in Iranian Traditional, 6 (1): 153-158.
- Mohammed, R. S., Souda, S. S., Taie, H. A. A., Moharam, M. E., & Shaker, K. H. 2015. Antioxidant, Antimicrobial Activities Of Flavonoids Glycoside from *Leucaena leucocephala* Leaves. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 5(6), 138–147.
- Monache, D, G., Botta, B., Vinciguerra, V., Mello, J, F. 1996. Antimicrobial isoflavonones from *Desmodium canum*. *J. Phytochemistry*, 41: 537-544.
- Muadifah, A., Eka, P. A., & Latifah, N. 2019. Aktivitas Gel Ekstrak Rimpang Kunyit (*Curcuma Domestica Val*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus*. *Jurnal SainHealth*, 3(1): 45–54.
- Mutiah, R. 2015. *Evidence Based* Kurkumin dari Tanaman Kunyit (*Curcuma longa L.*) sebagai Terapi Kanker Pada Pengobatan Modern. *Jurnal Farma Sains*, 1(1): 28-41.

- Nazzaro, F., Fratianni, F., Cozzolino, R., Martignetti, A., Malorni, L., Feo, V. C., A. G., & Acierno, A. 2019. Antibacterial Activity of Three Extra Virgin Olive Oils of the Campania Region, Southern Italy, Related to Their Polyphenol Content and Composition., 1–10.
- Nevado, Juan, J. B., Virginia, R. R., & Carolina, S. C. C. 2012. Monitoring the Enrichment of Virgin Olive Oil with Natural Antioxidants by Using a New Capillary Electrophoresis Method. *Food Chemistry*, pg: 497–504.
- Nguanpuag, K., Kanlayanarat, S., Srilaong, V., Tanprasert, K., & Techavuthiporn, C. 2011. Ginger (*Zingiber officinale*) Oil as an Antimicrobial Agent for Minimally Processed produce: A Case Study in Shredded Green Papaya. *International Journal of Agriculture and Biology*, 13(6): 895–901.
- Ningsih, A. W., Hanifa, I., & Hisbiyah, A. 2020. Pengaruh Perbedaan Metode Ekstraksi Rimpang Kunyit (*Curcuma domestica*) Terhadap Rendemen dan Skrining Fitokimia, 2(2): 96–104.
- Nurfadilah. 2013. Uji Bioaktivitas Antibakteri Ekstrak dan Fraksi Lamun dari Kepulauan Spermonde Kota Makassar. *Skripsi*. Makassar: Universitas Hasanudin.
- Oktariani, S. P. 2018. Eksplorasi Pengetahuan Lokal Etnomedisin dan Tumbuhan Obat di Desa Tanjung Jati, Sumur Jaya, Negeri Ratu Tenumbang dan Tulung Bamban Pada Kecamatan Pesisir Selatan Kabupaten Pesisir Barat. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Raden Intan Lampung.
- Pangemanan, A. F., & Budiarmo, F. 2016. Uji Daya Hambat Ekstrak Rimpang Kunyit (*Curcuma longa*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas sp.* *Jurnal E-Biomedik*, 4(1).
- Pereira, A. P., Ferreira, I. C. F. R., Marcelino, F., Valentão, P., Andrade, P. B., Seabra, R., Estevinho, L., Bento, A., & Pereira, J. A. 2007. Phenolic Compounds and Antimicrobial Activity of Olive (*Olea europaea* L. Cv. *Cobrançosa*) leaves. *Molecules*, 12(5): 1153–1162.
- Pragita, A. S., Shafa, D. P., Nursifah, D., & Rumidatul, A. 2020. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Kulit dan Kayu Sakit Ranting Sengon Terhadap Bakteri dan Jamur. *Jurnal Analisis Kesehatan*. 9: 41–48.
- Prasetya, N. B. A., Ngadiwiyana, Ismiyanto, & Sarjono, P. R. 2019. Synthesis and Study of Antibacterial Activity of Polyeugenol. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, (1) 509.
- Pundir, R. K., & Jain, P. 2010. Comparative Studies on the Antimicrobial Activity of Black Pepper (*Piper nigrum*) and Turmeric (*Curcuma longa*) Extract. 492-501.

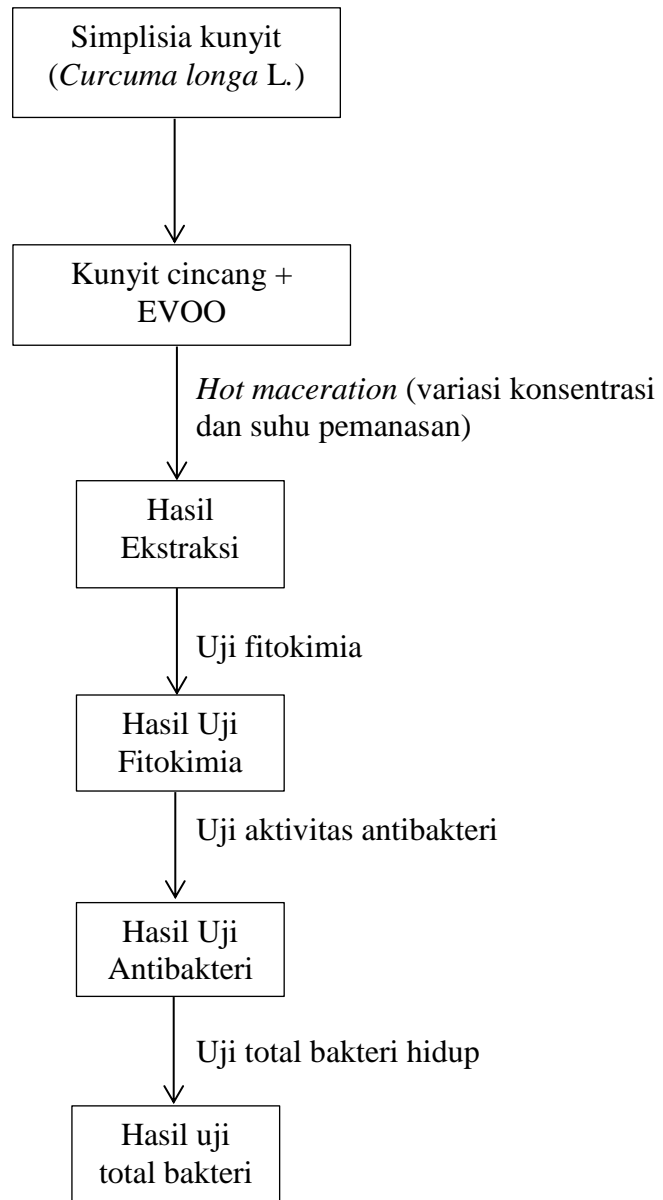
- Radji, M. 2011. *Buku Ajar Mikrobiologi: Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. Jakarta: EGC. Pp: 10-12, 179-199.
- Rahmasari, N. E., & Puspitorini, A. 2020. Pemanfaatan Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi L.*) dan Minyak Zaitun untuk Masker Perawatan Kulit Wajah. *Journal of Beauty and Cosmetology*, 2(1): 57–68.
- Rahmawati, A. H. 2012. Analisis Oleoresin Pada Ekstrak Jahe Merah (*Zingiber officinale Roxb*) dengan Menggunakan Pelarut Aseton. *Skripsi*. Gorontalo: Universitas Negeri Gorontalo.
- Rahmawati, N., Sudjarwo, E., & Widodo, E. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Herbal Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Ilmu-ilmu Peternakan (Indonesian Journal of Animal Science)*, 24(3): 24–31.
- Ramadani. 2016. Senyawa Kimia Bahan Alam Terpenoid. *Jurnal Ilmu Pendidikan*, 1(1): 1-8.
- Raman, T., & Shukla, S. 2017. *Olea europaea L.*: A Multipurpose Tree and Solutions to Meet Demand. *Asian Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2(2): 37-49.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*. Penerjemah: Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB Press.
- Roxb, Z. 2012. Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Rimpang Bangle. *Jurnal Farmasi Udayana*.
- Rus, A., Molina, F., Ramirez, M. J. M., Ferrandiz, M. E. A., Carmona, R., & Moral, M. L. D. 2020. Effects of Olive Oil Consumption on Cardiovascular Risk Factors in Patients with Fibromyalgia. *Nutrients*. 1–13.
- Sahin, S., & Bilgin, M. 2017. Olive tree (*Olea europaea L.*) Leaf as A Waste by-Product of Table Olive and Olive Oil Industry: A Review. *Journal Science Food Agric*.
- Saidi, N., Ginting, B., Murniana, & Mustanir. 2018. Analisis Metabolit Sekunder. *Syiah Kaula University Press*, 18–19.
- Sangi, M., Runtuwene, M. R. J., Simbala, H. E. I., & Makang, V. M. A. 2008. Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat di Kabupaten Minahasa Utara, 1(1): 47–53.
- Sato, A., Yamaguchi, T., Hamada, M., Ono, D., Sonoda, S., Oshiro, T., Nagashima, M., Kato, K., Okazumi, S., Katoh, R., Ishii, Y., & Tateda, K. 2019. Morphological and Biological Characteristics of *Staphylococcus aureus* Biofilm Formed in the Presence of Plasma. *Microbial Drug Resistance*, 25(5): 668–676.

- Septyaningsih, D. 2010. Isolasi dan Identifikasi Komponen Ekstrak Biji Buah Merah (*Pandanus cooideus lanik*). Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Shan, Y. C., & Iskandar, Y. 2018. Studi Kandungan Kimia Dan Aktivitas Farmakologi Tanaman Kunyit (*Curcuma longa L.*). *Pharmacia*, 16(2): 547–555.
- Shihab, M. Q. 2002. Tafsir Al-Misbah: Pesan Kesan dan Keserasian al-Qur'an. Jakarta: Lentera Hati.
- Siadi, K. 2012. Ekstrak Bungkil Biji Jarak (*Jratopha curcas*) Sebagai Biopestisida yang Efektif dengan Penambahan Larutan NaCl. *Jurnal MIPA*. 35(1): 78-83.
- Sitorus, P. 2018. Uji Efek Kombinasi Amoksisilin dengan Ekstrak Etanol Daun Sirih (*Piper Betle L.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Escherichia Coli dan *Staphylococcus aureus*. *Talenta Conference Series: Tropical Medicine (TM)*, 1(1): 313–19.
- Soesetyaningsih, E., & Azizah, A. 2020. Akurasi Perhitungan Bakteri Pada Daging Sapi Menggunakan Metode Hitung Cawan. *Berkala Sainstek*, 8(3): 75.
- Suma, P., Swetha, C. S., Sudhantiramani, & Goud, S., S. 2016. A Study on the Antibiotic Resistance Patterns of *Staphylococcus aureus* Isolated From Market Milk in and Around Tirupati, Andra Pradesh, 7(4): 10429-10435.
- Supara, T. U., Waworuntu, O., & Juliantri. 2016. Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Pacar Air (*Impatiens balsamina L.*) Terhadap Pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 5(4): 10-17.
- Suryani, N. C., Permana, D. G. M., & Jambe, A. A. G. N. 2016. Pengaruh Pelarut Terhadap Kandungan Total Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Matoa (*Pometia pinnata*), 9-10.
- Susanto, D. S., & Ruga, R. 2012. Studi Kandungan Bahan Aktif Tumbuhan Meranti Merah (*Shorea ieprosula Miq*) sebagai Sumber Senyawa Antibakteri. *Mulawarman Scientifie*, 11(2): 181-190.
- Susilo, T. Y. 2012. Manfaat Minyak Zaitun (*Olive Oil*) Terhadap Kadar LDL (*Low Density Lipoprotein*) dalam Darah Tikus Wistar Jantan (Penelitian Eksperimental Laboratoris). *Skripsi*. Jember: Universitas Jember.
- Ulfah, M. 2020. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Aseton Rimpang Kunyit (*Curcuma Domestica*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* dan *Escherichia Coli*. *Jurnal Farmaku (Farmasi Muhammadiyah Kuningan)*, 5 (1): 25–31.

- Urošević, M., Nikolić, L., Gajić, I., Nikolić, V., Dinić, A., & Miljković, V. 2022. Curcumin: Biological Activities and Modern Pharmaceutical Forms. *Antibiotics*, 11(2).
- Vaughn, A. R., Branum, A., & Sivamani, R. K. 2016. Effects of Turmeric (*Curcuma longa*) on Skin Health: A Systematic Review of the Clinical Evidence. *Phytotherapy Research*, 1243–1264.
- Widiyati, E. 2006. Penentuan Adanya Senyawa Triterpenoid dan Uji Aktivitas Biologis Pada Beberapa Spesies Tanaman Obat Tradisional Masyarakat Pedesaan Bengkulu. *Jurnal Gradien*, 2(1): 116–122.
- Yulianti, Y. 2016. Uji Efektivitas Ekstrak Kunyit sebagai Antibakteri Dalam Pertumbuhan *Bacillus sp* dan *Shigella dysenteriae* secara in vitro. *Jurnal Profesi Medika*, 10(1):26-32.
- Yunita, M., Hendrawan, Y., & Yulianingsih, R. 2015. Quantitative Analysis of Food Microbiology in Flight (Aerofood ACS) Garuda Indonesia Based on the TPC (Total Plate Count) with the Pour Plate Method. *Jurnal Keteknik Pertanian Tropis Dan Biosistem*, 3(3): 237–248.
- Zheng, D., Huang, C., Huang, H., Zhao., Y., Khan, M. R. U., Zhao, H. & Huang, L. 2020. Antibacterial Mechanism of Curcumin: A Review.

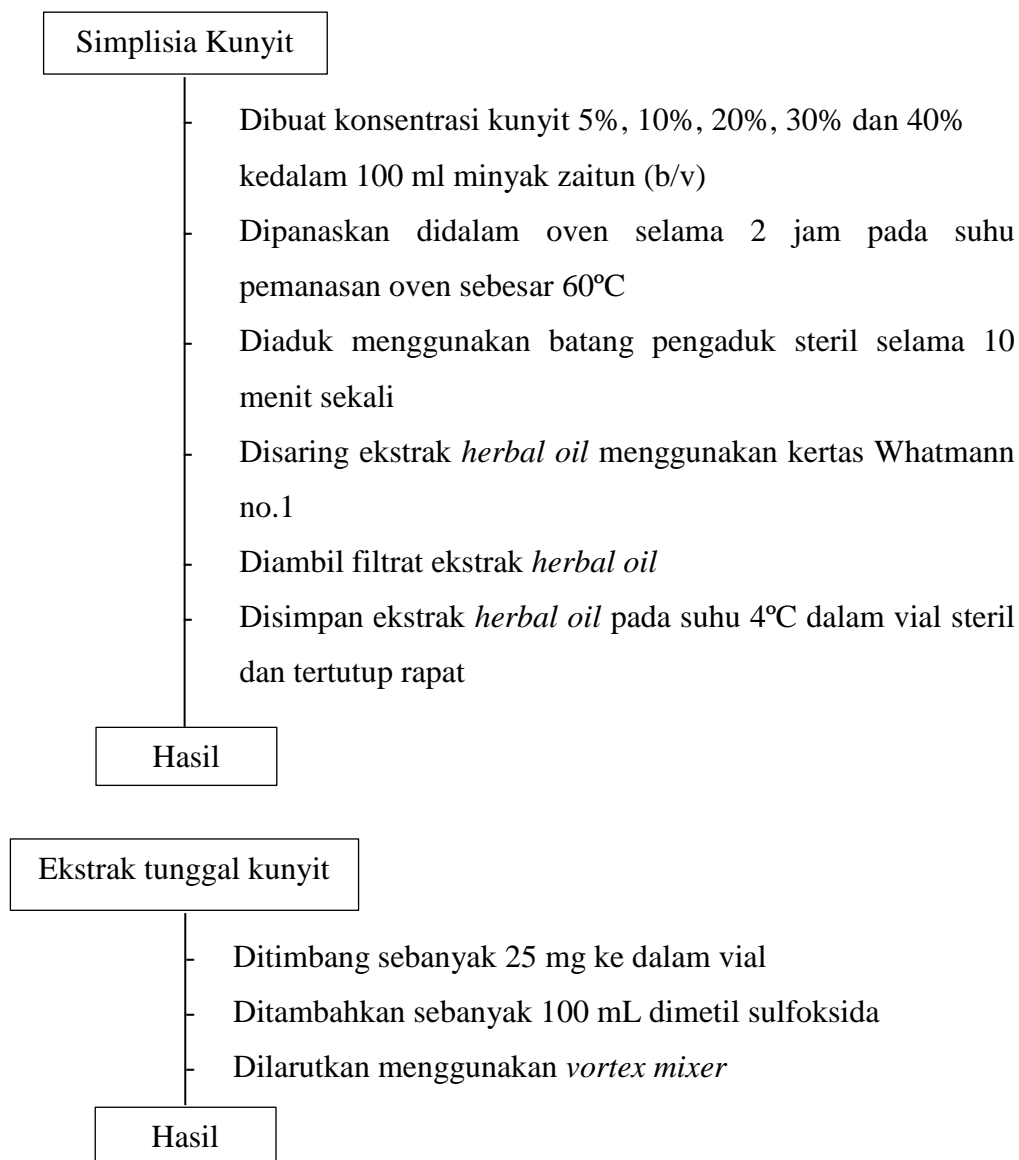
LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian



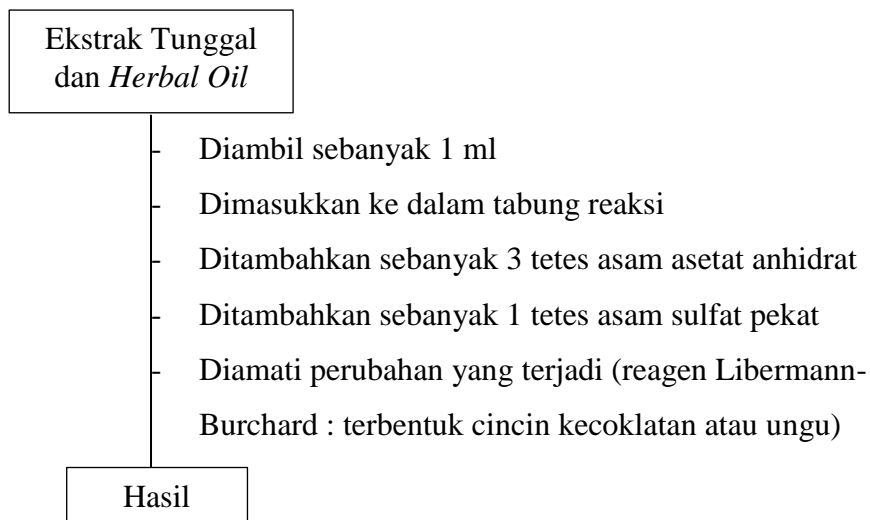
Lampiran 2. Diagram Alir

L.2.1 Ekstraksi Kunyit Dalam Pelarut Minyak Zaitun Dengan Variasi Konsentrasi dan Suhu Pemanasan

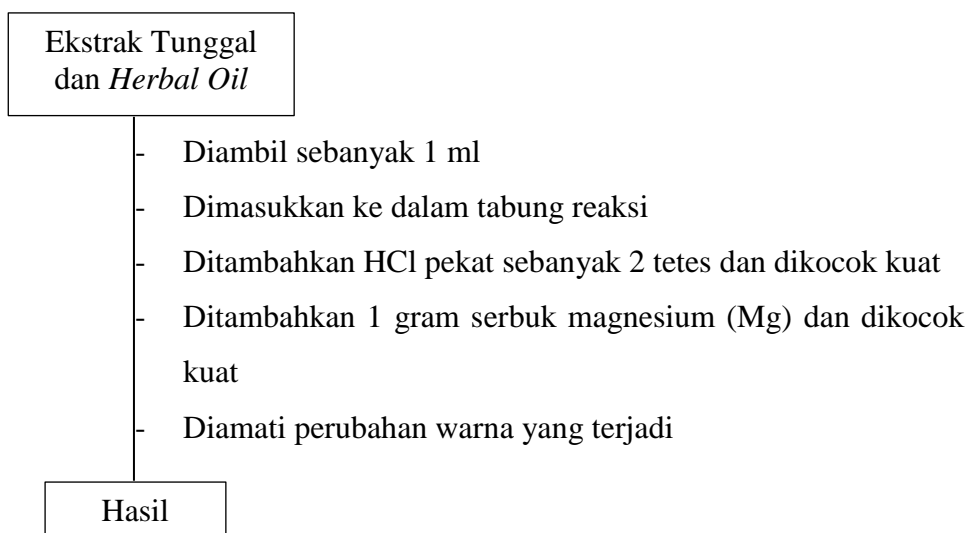


L.2.2 Uji Fitokimia Senyawa Aktif

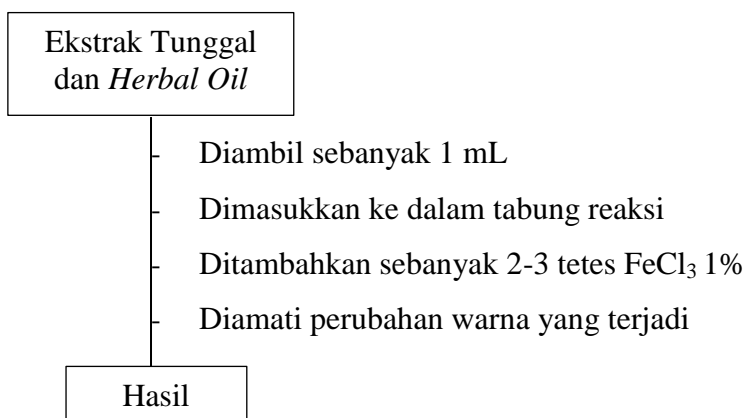
L.2.2.1 Uji Triterpenoid



L.2.2.2 Uji Flavonoid



L.2.2.3 Uji Tanin



L.2.3 Uji Aktivitas Antibakteri

L.2.3.1 Pembuatan Media

Media Nutrient Agar

- Ditimbang sebanyak 2 gram
- Dilarutkan dalam 100 ml aquades
- Ditutup erlenmeyer menggunakan kapas yang terbungkus kain kasa
- Dilapisi menggunakan plastik wrap
- Dipanaskan diatas *hot plate* pada suhu 300°C
- Diaduk menggunakan pengaduk magnet (*stirrer*)
- Disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit
- Didinginkan pada suhu ruang hingga media hangat sebelum digunakan untuk media uji aktivitas bakteri

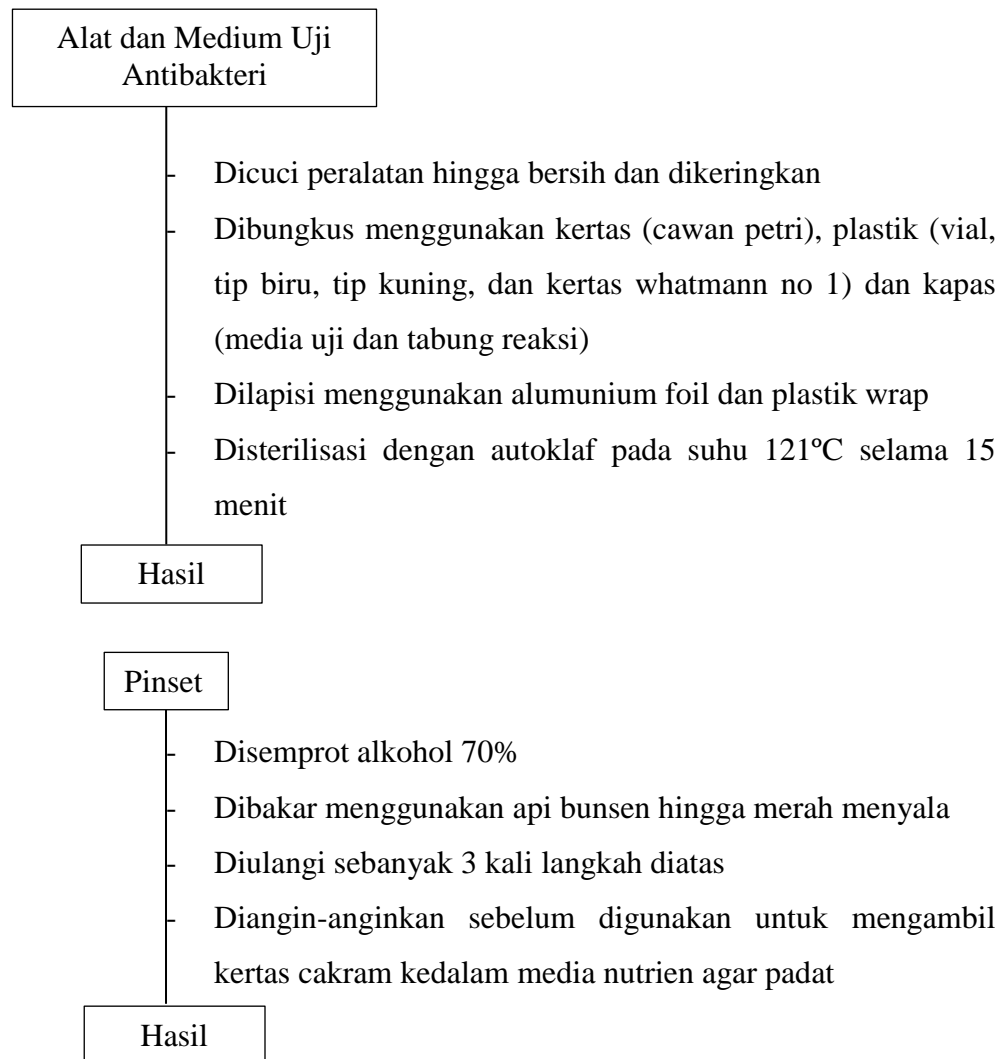
Hasil

Media Nutrient Broth

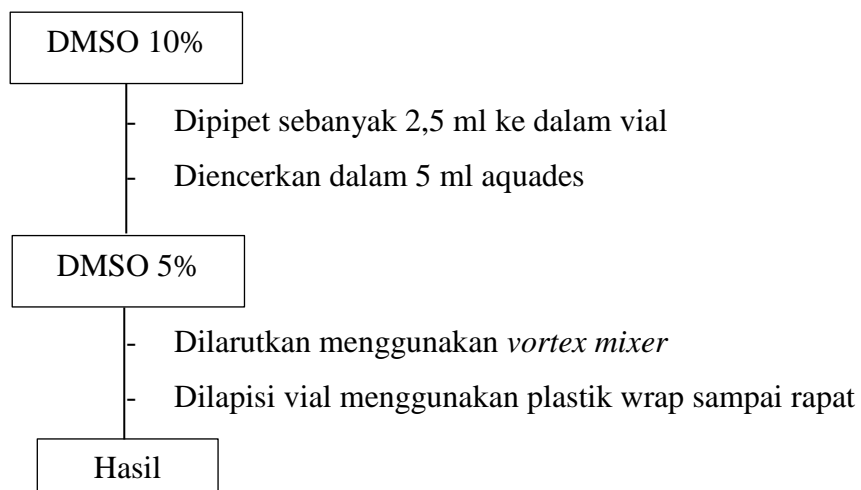
- Ditimbang sebanyak 0,8 gram
- Dilarutkan dalam 100 ml aquades
- Ditutup erlenmeyer menggunakan kapas yang terbungkus kain kasa
- Dilapisi menggunakan plastik wrap
- Dilarutkan diatas *hot plate* pada suhu 300°C
- Diaduk menggunakan pengaduk magnet (*stirrer*)
- Disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit
- Didinginkan pada suhu ruang hingga media hangat sebelum digunakan untuk media uji aktivitas bakteri

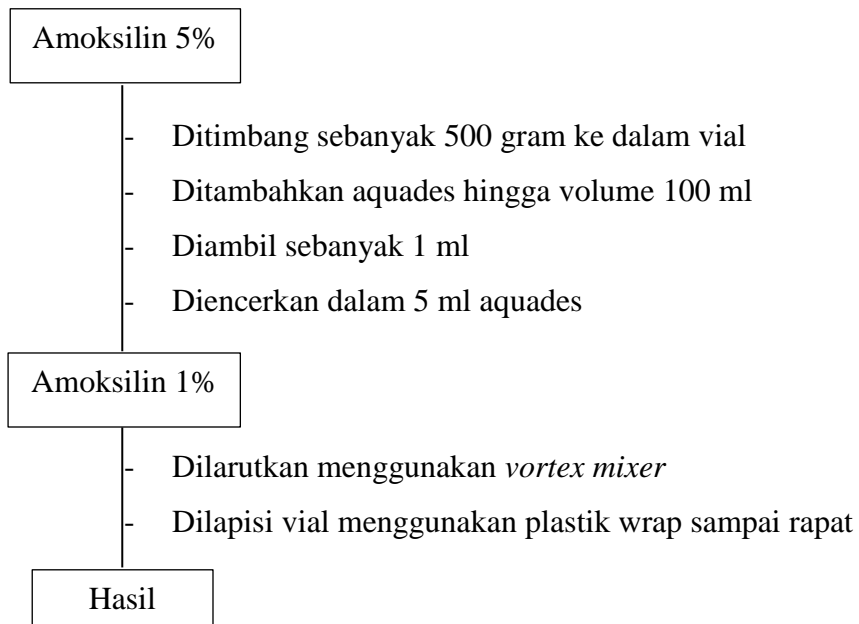
Hasil

L.2.3.2 Sterilisasi Alat dan Media

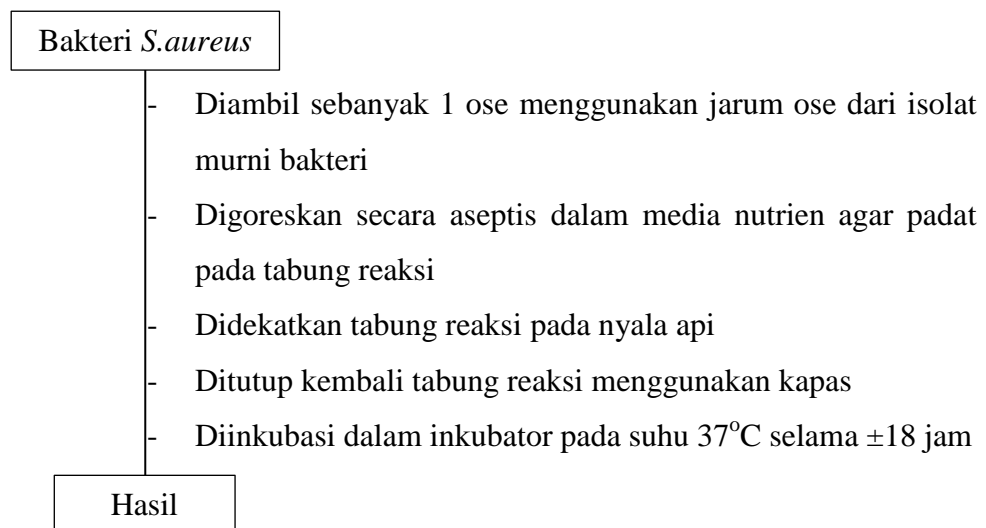


L.2.3.3 Pembuatan Kontrol Positif dan Negatif

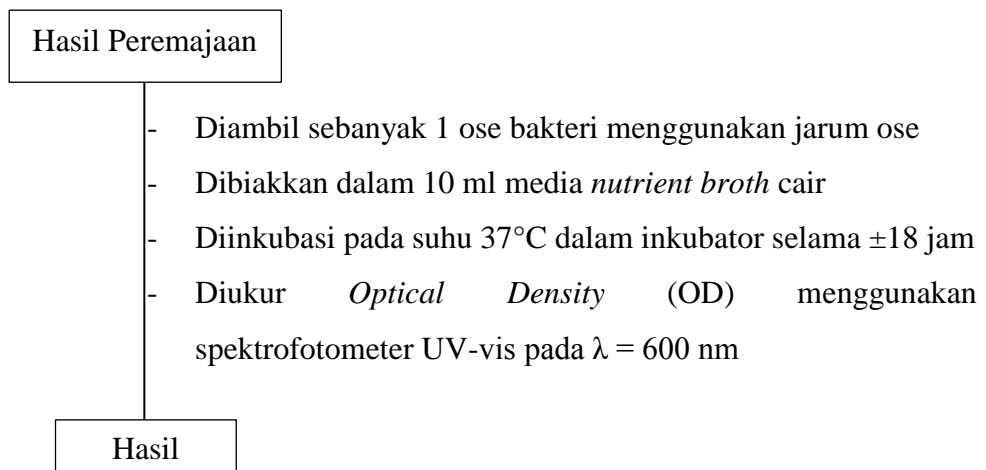




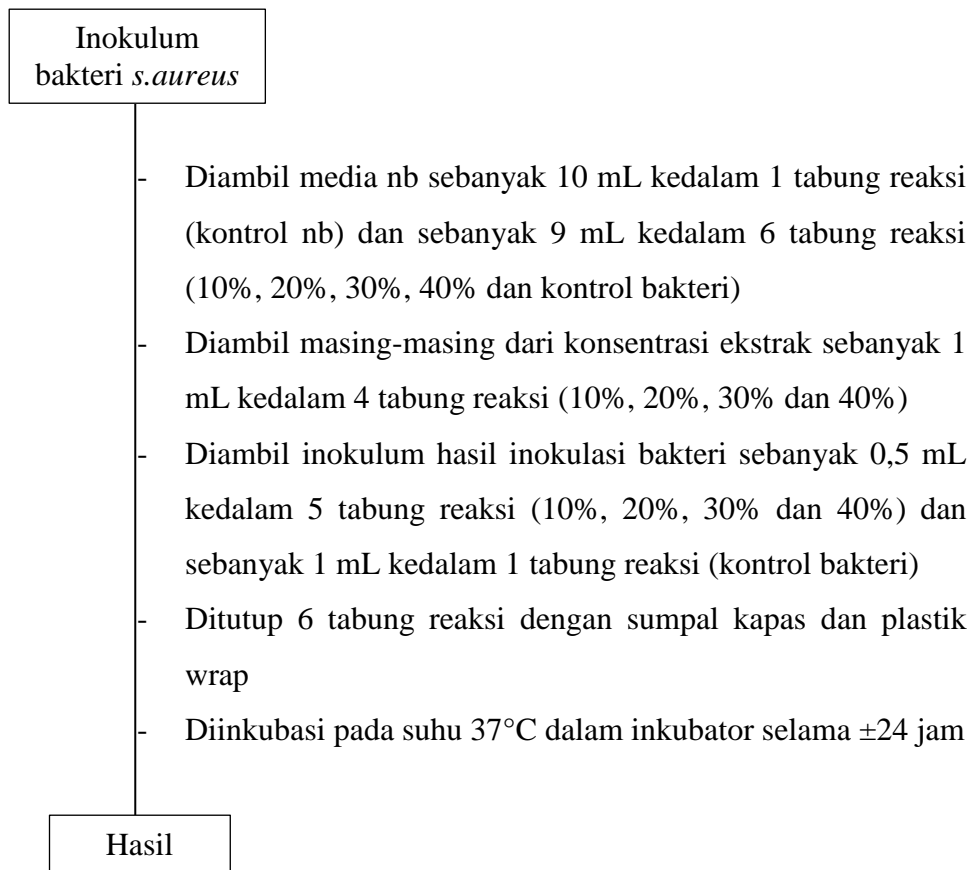
L.2.3.4 Peremajaan Bakteri *S.aureus*

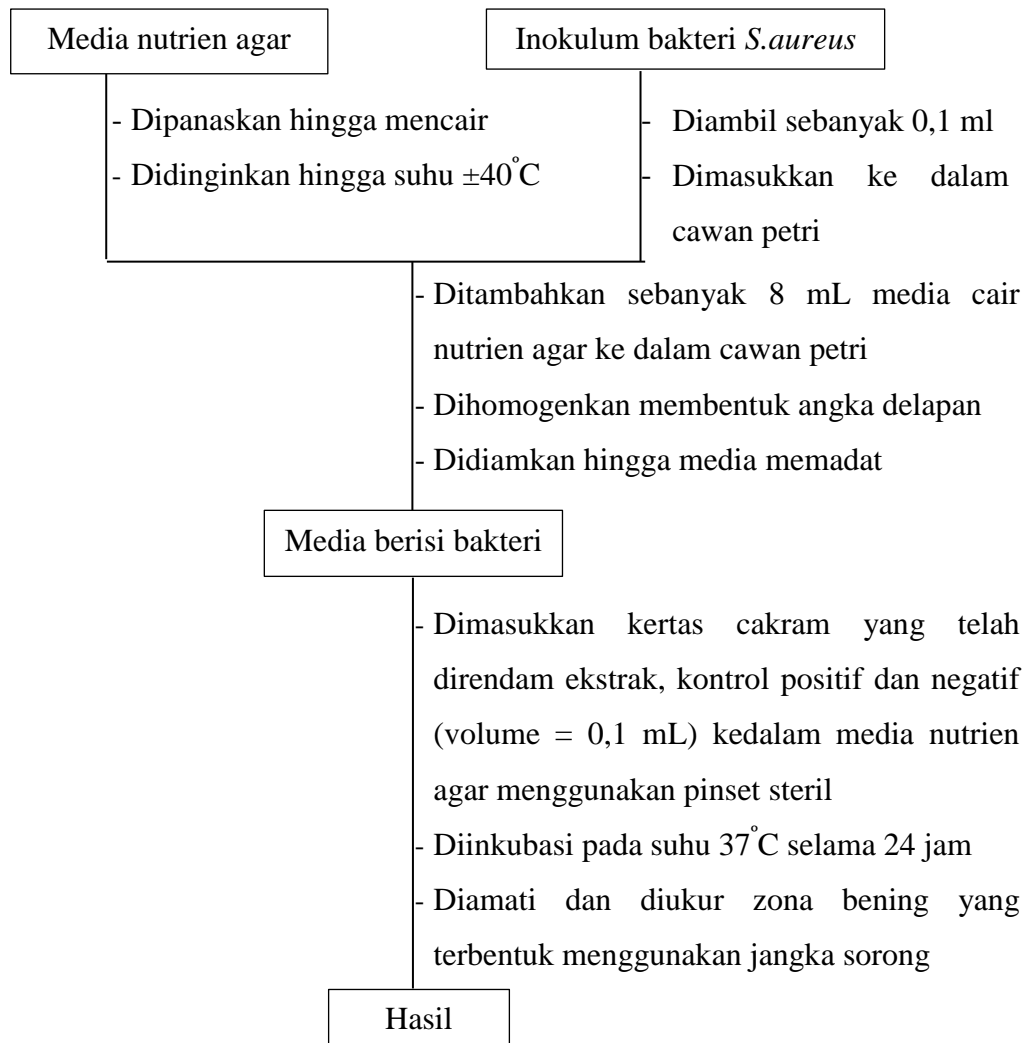


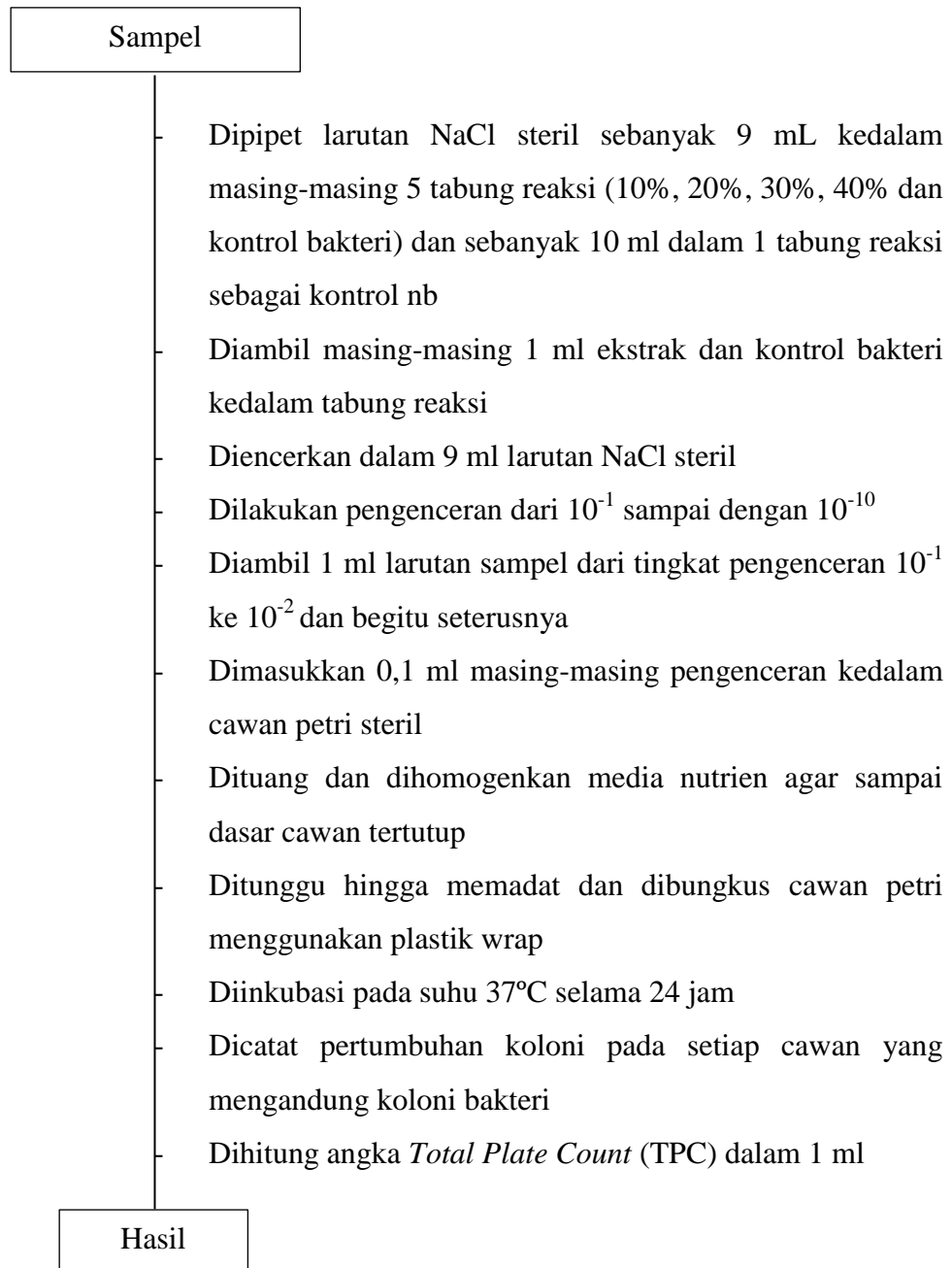
L.2.3.5 Pembuatan Inokulum Bakteri *S.aureus*



L.2.3.6 Pembuatan Inkulum (Uji TPC)



L.2.3.7 Uji Aktivitas Antibakteri

L.2.3.7 Uji Total Bakteri *Staphylococcus aureus*

Lampiran 3. Perhitungan

L.3.1 Pembuatan Larutan FeCl₃ 1%

$$\% \text{ konsentrasi} = \frac{\text{massa zat terlarut}}{\text{massa zat terlarut} + \text{massa pelarut}} \times 100\%$$

$$\text{Massa zat terlarut} + \text{massa pelarut} = \frac{\text{massa zat terlarut}}{\% \text{ konsentrasi}} \times 100\%$$

$$1 \text{ gram} + \text{massa pelarut} = \frac{1 \text{ gram}}{1\%} \times 100\%$$

$$\text{Massa pelarut} = 100 \text{ gram} - 1 \text{ gram} = 99 \text{ gram}$$

$$\text{Volume pelarut} = \frac{\text{massa pelarut}}{\text{BJ pelarut}} = \frac{99 \text{ gram}}{1 \text{ gram/mL}} = 99 \text{ mL}$$

Serbuk FeCl₃ .6H₂O ditimbang sebanyak 1 gram, dilarutkan dengan akuades hingga 100 mL dalam *beaker glass* dan diaduk hingga tercampur.

L.3.2 Pembuatan Reagen Liebermann-Burchard

Asam sulfat (H₂SO₄) pekat = 1 tetes

Asam asetat anhidrat = 3 tetes

Asam sulfat pekat dipipet sebanyak 1 tetes dan dimasukkan ke dalam *beaker glass* ukuran 25 ml. Tahap selanjutnya yaitu dipipet larutan asam asetat anhidrat sebanyak 3 tetes dan dimasukkan ke dalam *beaker glass* yang telah berisi asam asetat pekat. Kedua campuran larutan tersebut dipindahkan ke dalam tabung reaksi yang berisi ekstrak sampel lalu sedikit digoyangkan. Amati perubahan yang terjadi. Tahapan diatas dilakukan dalam lemari asam.

L.3.3 Pembuatan Larutan Kontrol Positif dan Negatif

- **Kontrol Positif**

Konsentrasi amoksilin sebesar = 1 %

Berat amoksilin = 1 gram

Volume pelarut (akuades) = 100 ml

Langkah pembuatannya adalah digerus dua kapsul antibiotik amoksilin dengan berat total 500 gram menggunakan mortar dan alu sampai halus. Tahap selanjutnya diambil sebanyak 1 gram antibiotik ke dalam *beaker glass* dan ditambahkan akuades lalu diaduk hingga larut. Kemudian dimasukkan larutan ke dalam labu ukur 100 ml, ditandabatkan dan dihomogenkan.

- **Kontrol Negatif**

Pengenceran DMSO konsentrasi 10% menjadi 5%

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$\text{Konsentrasi 5\%} \rightarrow 10\% \times V_1 = 5\% \times 1 \text{ ml}$$

$$V_1 = \frac{5\%}{10\%} \times 1 \text{ ml}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ ml}$$

Volume akuades = volume total – volume hasil pengenceran

$$\text{Volume akuades} = 1 \text{ ml} - 0,5 \text{ ml} = 0,5 \text{ ml.}$$

Langkah pembuatannya adalah diencerkan larutan induk (DMSO 10%) menjadi 5% dengan cara dipipet sebanyak 0,5 ml larutan induk ke dalam *beaker glass*. Tahap selanjutnya larutan hasil pengenceran ditambahkan akuades sebanyak 0,5 ml ke dalam *beaker glass* sehingga didapatkan volume 1 ml..

Lampiran 4. Dokumentasi

L.4.1. Bahan



Serbuk kunyit



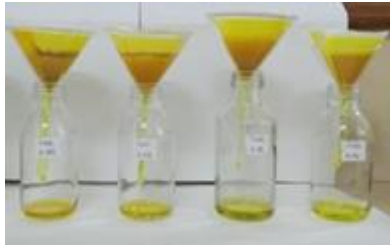
Simplisia rimpang kunyit



Proses mencincang simplisia kunyit



Minyak zaitun evoo



Proses penyaringan ekstrak



Ekstrak *herbal oil*



Amoksilin 1% dan DMSO 5%



Sterilisasi alat dan media



Proses inkubasi bakteri



Proses inkubasi bakteri hasil peremajaan