

LAPORAN PENELITIAN FUNDAMENTAL UT



**ISOLASI MINYAK ATSIRI DAN BIOAKTIVITAS DARI BUNGA *Cananga odorata*,
Jasmimum sambac, DAN *Rosa hybrida***

Oleh :

Whika Febria Dewatisari, S. Si, M.Si

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS TERBUKA
MARET 2018**

HALAMAN PENGESAHAN
PENELITIAN FUNDAMENTAL

Judul Penelitian : **Isolasi Minyak Atsiri dan Bioaktivitas dari Bunga *Cananga odorata*,
Jasminum sambac, dan *Rosa hybrida***

Kode>Nama Rumpun Ilmu : 113 /Biologi dan Bioteknologi Umum

Ketua Peneliti:

a. Nama Lengkap : Whika Febria Dewatisari, S. Si., M. Si

b. NIDN : **0009028501**

c. Jabatan Fungsional : Lektor/IIIc

d. Program Studi : Biologi

e. Nomor HP : 08153782732

f. Alamat surel (e-mail) : whika@ecampus.ut.ac.id/ dewatisari@whika.web.id

Anggota Peneliti (1)

a. Nama Lengkap :

b. NIDN :

c. Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Anggota Peneliti (2)

a. Nama Lengkap :

b. NIDN :

c. Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Biaya Penelitian :
- diusulkan ke DIKTI Rp.
- dana internal PT Rp. Rp 40.000.000,-(Empat Puluh Juta Rupiah)
- dana institusi lain Rp.
- inkind sebutkan

Bandar Lampung, 6 Maret 2018

Mengetahui,
Kepala UPBJJ-UT Bandar Lampung

Ketua Peneliti,

(Dra. Sri Ismulyaty, M. Si)
NIP. 196305071989102001

(Whika Febria Dewatisari, S. Si., M. Si)
NIP: 198502092008122004

Menyetujui,
Ketua lembaga penelitian

(Prof. Dr. Karnedi, MA)
NIP. 196405081999031002

BAB I

PENDAHULUAN

1. Latar Belakang

Penyakit infeksi masih merupakan penyebab utama tingginya angka kematian di Indonesia. Salah satu penyebab penyakit infeksi adalah bakteri. Bakteri patogen dapat menimbulkan infeksi dan kelainan pada kulit contohnya seperti *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Pseudomonas sp* dan *Yersinia enterocolitica*. *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas sp.* merupakan bakteri patogen yang paling banyak menyerang manusia

Penyakit yang disebabkan oleh bakteri biasanya ditanggulangi dengan pemberian antibiotika. Tetapi, pada saat ini timbul masalah resistensi bakteri terhadap beberapa antibiotika yang telah umum digunakan. Adanya resistensi Antibiotik, menyebabkan penurunan kemampuan antibiotik tersebut dalam mengobati infeksi dan penyakit pada manusia, hewan dan tumbuhan. Lebih lanjut, hal ini menyebabkan terjadinya masalah seperti meningkatnya angka kesakitan dan menyebabkan kematian, meningkatnya biaya dan lama perawatan, meningkatnya efek samping dari penggunaan obat ganda dan dosis tinggi.

Laporan terakhir dari Badan Kesehatan Dunia (WHO) dalam Antimicrobial Resistance: Global Report on Surveillance juga menunjukkan bahwa Asia Tenggara memiliki angka tertinggi dalam kasus resistensi antibiotik di dunia, khususnya infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap Methicillin, sehingga mengakibatkan menurunnya fungsi antibiotik tersebut. Data ini didukung dengan data penelitian WHO dan KPRA/PPRA tahun 2013 di enam rumah sakit pendidikan di Indonesia diidentifikasi bakteri penghasil ESBL (*Extended-Spectrum Beta-Lactamase*) 40-50 persen resisten terhadap golongan *Cephalosporin* generasi 3 dan 4 Sifat resistensi dimiliki oleh *Escheria coli* terhadap antibiotik ampicillin, amoxycillin, streptomycin, dan doxycycline (Depkes, 2015 ; Krisnaningsih, 2005). Data ini didukung oleh penelitian di Kabupaten Bogor yang dilakukan oleh Susanto (2014) yang menyatakan bahwa *Escheria coli* mempunyai resistensi terhadap antibiotik seperti ampisilin, sefalotin,

gentamisin, streptomisin, enrofloksasin, nalidixid acid, eritromisin, kloramfenikol, trimethoprim-sulfametoksazol, dan tetrasiklin dengan menggunakan metode sumur difusi pada Muller-Hinton agar.

Menurut Refdanita (2004) tentang pola kepekaan kuman terhadap antibiotika di ruang rawat intensif rumah sakit Fatmawati Jakarta secara retrospektif menggunakan 205 sampel klinis, hasil pengujian kepekaan terhadap antibiotik golongan penisilin paling tinggi pada *E. coli* 87,5%, *Klebsiella* sp 76,5% terhadap amoksisilin-asam klavulanat dan 3 *Pseudomonas* sp 37,5% terhadap sulbenisilin. Tingkat resistensi yang paling tinggi ditunjukkan oleh penisilin G yaitu 100% pada *Klebsiella* sp, *Pseudomonas* sp 98,7% dan *E. coli* 94,5%. Terhadap ampisilin menunjukkan tingkat resistensi mencapai 100% pada *E. coli*, *Klebsiella* sp 98,2%, *Pseudomonas* sp 97,4%. Sedangkan terhadap amoksisilin diperoleh tingkat resisten tertinggi pada *Klebsiella* sp 100%, *Pseudomonas* sp 98,4% dan *E. coli* 86,2%.

Penisilin juga sangat efektif untuk infeksi *Staphylococcus* dan telah digunakan dalam pengobatan sejak tahun 1940-an, setelah itu tahun 1942 mulai ditemukan kasus resistensi *S. aureus* di rumah sakit. Prevalensi tersebut meningkat dengan ditemukannya *S. aureus* yang menghasilkan penisilinase. Resistensi *S. aureus* terhadap methicillin (golongan penisilin), kemudian disebut Methicillin Resistance *Staphylococcus aureus* (MRSA) terkait dengan plasmid yang membawa gen blaZ yang menyandi β -laktamase. Selain itu, resistensi *S. aureus* juga dipengaruhi oleh ekspresi Penicillin Binding Protein 2a (PBP- 2a) yang mengobluk golongan penisilin keluar sel. Kasus resistensi *S. aureus* terhadap golongan penisilin terjadi pada lebih dari 86% kasus. Kasus resistensi inilah yang menyebabkan kegagalan terapi menggunakan amoxicillin pada infeksi *S. aureus*. Oleh karena itu, penelitian untuk mengatasi permasalahan resistensi ini penting dilakukan (Setyawati, 2015)

Kenyataan ini mendorong para ilmuwan untuk menyelidiki agen anti-infeksi baru untuk menghasilkan obat-obat baru. Tumbuhan masih merupakan salah satu sumber yang diperlukan dalam dunia medis, banyak tumbuhan yang digunakan sebagai obat penyembuh dan mencegah penyakit. Tumbuhan juga dapat dimanfaatkan sebagai bahan dasar kosmetik alami yang telah menjadi kebutuhan untuk mengatasi berbagai gangguan kulit (Lambert *et al.*, 1997; Refdanita, 2002; Gurib-Fakim, 2006; Dusturia, 2016)

Minyak atsiri merupakan senyawa penting yang terdapat dalam tanaman yang dapat berfungsi sebagai antioksidan, antimikroba, dan antiinflamasi. Minyak atsiri dapat diperoleh dari akar, batang, daun, bunga suatu tanaman. Indonesia adalah salah satu negara penghasil minyak

atsiri terbesar di dunia dan minyak ini merupakan devisa negara. Industri minyak bunga termasuk salah satu agroindustri yang sudah sejak lama berkembang di negara Persia, Turki, dan Bulgaria (Guanther 1987). Prospek jenis agroindustri ini mempunyai beragam keuntungan kompetitif, termasuk di dalamnya perluasan lapangan kerja, peningkatan pendapatan petani dan peningkatan devisa negara. Di pasar internasional, dikenal 90 jenis minyak atsiri, tetapi hanya 8 jenis yang diekspor dari Indonesia. Dari 8 jenis minyak atsiri komoditas ekspor Indonesia, hanya minyak *C. odorata* yang termasuk komoditas minyak bunga. Tanaman bunga khas Indonesia yang banyak mengandung minyak atsiri antara lain adalah Bunga *C. odorata* (*Cananga odorata*), Bunga *J. sambac* (*Jasminum sambac*), dan Bunga *R. hybrida* (*Rosa hybrida*)

Bunga *C. odorata* (*Cananga sp*) merupakan tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan dasar pembuatan obat dan kosmetika alami Minyak *C. odorata* memiliki banyak khasiat yaitu untuk penyakit kulit, asma, anti nyamuk, antimikroba dan antioksidan (Sumarmi, 2008). Senyawa yang ditemukan dalam bunga *C. odorata* antara lain saponin, flavonoid, serta senyawa minyak atsiri yang mengandung senyawa polifenol, β -kariofilen, α -terpineol, β -linalool, farnesol, metil benzoat, germakren-D, dan benzil benzoat (Sacchetti dkk, 2006). Senyawa β -kariofilin inilah yang banyak digunakan untuk menguji kualitas minyak *C. odorata* (Ferdiansyah dkk, 2010). Minyak *C. odorata* dapat digunakan sebagai antibakteri karena mengandung gugus fungsi hidroksil (-OH) dan karbonil. Selain itu minyak *C. odorata* juga digunakan sebagai antioksidan karena mengandung benzil benzoat yang memiliki sifat sebagai anti radikal. Minyak atsiri *C. odorata* banyak digunakan dalam industri flavor, parfum, kosmetika, farmasi, sabun, aromaterapi dan spa . Minyak *C. odorata* merupakan salah satu jenis minyak atsiri yang memiliki aroma yang khas yaitu beraroma floral dan berwarna kuning muda hingga kuning tua. Pada umumnya minyak atsiri *C. odorata* diperoleh dengan cara mengisolasi bunga *C. odorata* melalui metode distilasi air, distilasi uap dan air dan distilasi uap. Minyak atsiri *C. odorata* hasil distilasi uap bunga *C. odorata* segar akan dihasilkan minyak dengan aroma yang kuat. Sehingga minyak *C. odorata* hasil distilasi uap banyak digunakan dalam industry parfum. Isolasi komponen minyak *C. odorata* dari bunga *C. odorata* dilakukan dengan metode distilasi uap dan

menghasilkan rendemen sebesar 1,5 – 2,5%. Ferdiansyah, dkk (2010) melaporkan bahwa isolasi minyak *C. odorata* menggunakan metode distilasi uap selama 8 jam, diperoleh rendemen sebesar 1,95% akan tetapi belum diketahui komponen kimia penyusun minyak atsiri *C. odorata* secara lengkap. Megawati dan Saputra (2012) melaporkan bahwa minyak atsiri *C. odorata* yang dihasilkan melalui distilasi uap dan air bunga *C. odorata* diperoleh rendemen minyak sebesar 0,936% sedangkan minyak atsiri *C. odorata* yang dihasilkan melalui metode distilasi air diperoleh rendemen sebesar 0,41% dan 1,8% untuk rendemen yang diperoleh melalui metode ekstraksi superkritis fluida (Rachmawati dkk , 2013). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Dusturia dkk. (2016) perasan bunga *C. odorata* (*Cananga odorata*) efektif terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

J. sambac (*Jasminum sambac*) merupakan salah satu tanaman komoditas bernilai tinggi untuk menghasilkan minyak atsiri. Minyak atsiri *J. sambac* dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku dalam berbagai industri, misalnya pada industri kosmetik, sabun, parfum, farmasi dan aroma terapi. Pengambilan minyak atsiri yang terkandung dalam bunga *J. sambac* tidak bisa dilakukan dengan cara penyulingan atau destilasi dengan suhu tinggi, hal ini disebabkan penyulingan dengan uap air atau air mendidih dapat merusak komponen minyak. Minyak atsiri *J. sambac* dapat diproduksi dengan menggunakan metode *maserasi*. Proses ini sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam karena dengan perendaman sampel tumbuhan akan mengalami pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut. Pemilihan pelarut untuk proses maserasi akan memberikan efektifitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam terhadap pelarut tersebut. Metode ini cocok digunakan untuk mengekstraksi minyak atsiri bunga *J. sambac* yang menghasilkan rendemen minyak rendah (Lenny, 2006; Sani dkk, 2012).

Bunga *R. hybrida* (*Rosa hibryda*) dikenal karena keindahan dan aromanya, serta bermanfaat dan memiliki banyak khasiat. Minyak maupun ekstraknya sudah sejak dulu digunakan dalam produk sabun mandi, parfum, lotion kulit dan obat-obatan Berdasarkan

penelitian Windi (2014), minyak atsiri *R. hybrida* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, dimana semakin besar konsentrasi minyak atsiri *R. hybrida* maka semakin besar pula daya hambatnya. Minyak esensial *R. hybrida* (*Rosa hybrida*) memiliki bau yang agak menyengat, aroma segar, memiliki warna kuning hingga merah. Minyak dari tanaman *R. hybrida* memiliki sifat antidepresan, antiseptik, adstringen, bakterisidal, diuretik, laksatif, dan sedatif. Minyak ini tidak mengiritasi kulit yang sensitif dan penguapannya dapat berfungsi sebagai relaksan. Manfaat minyak *R. hybrida* dalam industri cukup banyak seperti untuk kosmetik dan obat, oleh sebab itu jenis minyak ini mempunyai peluang besar sebagai komoditas andalan untuk menembus pasaran dunia.

Pada tahun-tahun terakhir ini minyak atsiri mendapat perhatian yang cukup besar dari pemerintah Indonesia, karena Indonesia merupakan negara tropis yang mempunyai beraneka ragam tumbuhan dimana penelitian terhadap bioaktivitas minyak atsiri dari tanaman bunga asli Indonesia belum banyak dilakukan. Industri minyak bunga termasuk salah satu agroindustri yang sudah sejak lama berkembang di negara Persia, Turki, dan Bulgaria. Prospek jenis agroindustri ini mempunyai beragam keuntungan kompetitif, termasuk di dalamnya perluasan lapangan kerja, peningkatan pendapatan petani dan peningkatan devisa negara. Oleh karena itu penelitian minyak bunga perlu dikaji dan dikembangkan di Indonesia karena setiap tumbuhan mempunyai hasil metabolit sekunder berbeda yang dapat digunakan sebagai bahan pokok dalam usaha penemuan dan pengembangan obat baru (Guanther 1987; Atun, 2010; Windi, 2014)

2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas maka rumusan masalah yang dapat diambil adalah

1. Bagaimana komponen minyak esensial dari bunga *C. odorata*, *J. sambac*, *R. hybrida*,
2. Bagaimana perbedaan komponen minyak esensial dari bunga *C. odorata*, *J. sambac*, *R. hybrida*,
3. Bagaimanakah aktivitas biologis (aktivitas antimikroba, aktivitas antinflamasi dan aktivitas antioksidan) minyak esensial dari bunga *C. odorata*, *J. sambac*, *R. hybrida*,

4. Bagaimana perbandingan aktivitas biologis (aktivitas antimikroba, aktivitas antiinflamasi dan aktivitas antioksidan) minyak esensial dari bunga *C. odorata*, *J. sambac*, *R. hybrida*

3. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk

1. Menganalisis komponen minyak esensial dari bunga *C. odorata*, *J. sambac*, *R. hybrida*
2. Membandingkan komponen minyak esensial dari bunga *C. odorata*, *J. sambac*, *R. hybrida*
3. Mengetahui aktivitas biologis (aktivitas antimikroba, aktivitas antiinflamasi dan aktivitas antioksidan) minyak esensial dari bunga *C. odorata*, *J. sambac*, *R. hybrida*
4. Membandingkan aktivitas biologis (aktivitas antimikroba, aktivitas antiinflamasi dan aktivitas antioksidan) minyak esensial dari bunga *C. odorata*, *J. sambac*, *R. hybrida*

4. Manfaat penelitian

Memberikan informasi kepada masyarakat umum tentang manfaat minyak atsiri yang mempunyai potensi sebagai antibakteri, antioksidan, dan antiinflamasi dari bunga *C. odorata*, *J. sambac*, *R. hybrida*.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

1. *Cananga Odorta*

Bunga *C. odorata* merupakan bunga yang berasal dari kawasan Asia Tenggara, dengan diameter batang sebesar 0,1-0,7 meter dan tinggi pohon dapat mencapai 10 meter. Bunga *C. odorata* termasuk bunga majemuk dalam karangan bunga yang berbentuk payung, pendek, dan menggantung. Terdiri dari 6 lembar daun mahkota bunga yang berbentuk lanset dan mempunyai aroma yang khas. zat kimia yang terkandung dalam bunga *C. odorata* adalah saponin, flavonoid serta komponen minyak atsiri yang mengandung senyawa polifenol (Sacchetti *et al.*, 2016)



Gambar1. Bunga *C. odorata* (*Cananga odorata*)

Tanaman *C. odorata* merupakan tanaman pohon atau perdu yang bunganya dapat dimanfaatkan untuk menghasilkan minyak atsiri. Beberapa jenis *C. odorata* yang terdapat di dunia antara lain *Cananga odorata*, *Cananga latifolia*, *Cananga scorthechini* King, dan *Cananga brandisanum* Safford. Tanaman *C. odorata* yang terdapat di Indonesia adalah jenis *Cananga odorata*. Ada dua forma *C. odorata*, yakni *Cananga odorata forma macrophylla*, yang dikenal sebagai *C. odorata* biasa. Serta *Cananga odorata forma genuina* atau *C. odorata* Filipina, yang juga disebut *ylang-ylang* (Luqman & Rahmayanti, 1994). *C. odorata* termasuk keluarga Anonaceae (*C. odorata*-*C. odorata*) dan dapat tumbuh baik di seluruh Indonesia dengan

ketinggian daerah di bawah 1.200 m dpl. Bunganya berbentuk bintang berwarna hijau pada waktu masih muda dan berwarna kuning setelah masak, berbau harum, berada tunggal atau berkelompok pada tangkai bunga. Bunga yang warnanya sudah mulai kuning atau kuning benar dapat didistilasi untuk menghasilkan minyak atsiri. Minyak atsiri bunga *C. odorata* merupakan komoditi ekspor dengan nama *ylang-ylang* untuk produksi dari Filipina dan Kepulauan Reunion, dan *Java Cananga Oil* untuk produk dari Indonesia yang mempunyai nilai ekonomi tinggi (Hatta, 1993). Minyak atsiri sekarang ini semakin menjadi perhatian karena sifatnya yang relatif aman, memiliki banyak manfaat, dan dapat diterima secara luas oleh masyarakat. Manfaat dan aktivitas alami minyak atsiri terkait dengan kandungan kimianya. Komponen kimia dari minyak atsiri menentukan nilai komersil sebagai bahan baku pada industri. Minyak *C. odorata* sebagai salah satu minyak atsiri yang dihasilkan Indonesia memiliki kandungan kimia yang kompleks dan memiliki aktivitas alami yang bervariasi. Minyak *ylang-ylang* maupun minyak *C. odorata* memiliki kandungan kimia yang sangat kompleks dan sebagian besar komponen kimia minyak *ylang-ylang* juga terdapat pada minyak *C. odorata*. Buccellato (1982) menyatakan bahwa komposisi kimia yang khas pada minyak *C. odorata* dan *ylang-ylang*, secara umum terdiri dari seskuiterpen hidrokarbon, alkohol, ester, eter, fenol, dan aldehida.

Minyak *C. odorata* seperti halnya minyak *ylang-ylang* dapat digunakan dalam industri farmasi untuk pembuatan obat-obatan, industri kosmetik, bahan pewangi, dan sebagai campuran pada bahan makanan (George *et al.*, 2008), namun Ketaren (1985) menyatakan bahwa minyak *C. odorata* memiliki bau tidak setajam minyak *ylang-ylang*. Facciola (1990) menjelaskan bahwa minyak *C. odorata* di Asia Tenggara digunakan sebagai bahan penambah aroma pada minyak kelapa, sebagai penyedap permen, minuman ringan, dan permen karet.

Saat ini mulai dikembangkan penelitian aktivitas antioksidan dari ekstrak tumbuh-tumbuhan dan minyak atsiri, karena mulai disorotnya penggunaan bahan alami sebagai antioksidan alami dan adanya fakta bahwa radikal bebas seperti oksigen reaktif bertanggung jawab terhadap berbagai penyakit. Antioksidan memiliki fungsi utama dalam menangkap

radikal bebas. Radikal bebas dapat menyebabkan oksidasi asam nukleat, protein, lipid, DNA, dan dapat menginisiasi penyakit degeneratif. Senyawa antioksidan yang memiliki sifat sebagai antiradikal dapat ditemukan pada minyak atsiri dan kemungkinan dapat ditemukan pada minyak *C. odorata* dimana minyak *C. odorata* mengandung senyawa-senyawa aktif yang mungkin dapat memerangkap radikal bebas seperti hidroksil, peroksil, dan alkil (Amalia *et al.*, 2013).

2. *Jasminum sambac*

Bunga *J. sambac* (*Jasminum sambac*) merupakan tanaman bunga hias berupa perdu berbatang pendek yang hidup menahun dan tumbuh di daerah tropis seperti di Indonesia. Bunga *J. sambac* (*Jasminum sambac*) terdapat hampir di setiap daerah di Indonesia terutama di Pulau Jawa (Kurniawan dkk, 2011). Bunga *J. sambac* merupakan salah satu bunga yang digunakan masyarakat secara luas, memiliki nilai ekonomi yang cukup tinggi, sangat bermanfaat dan banyak diperlukan sebagai bahan baku industri. Bunga *J. sambac* memiliki aroma wangi yang khas sehingga sering digunakan dalam pembuatan parfum atau industry kosmetik dan memiliki kandungan linalool, geraniol, eugenol yang sering dikenal dengan zat penolak serangga. Di Indonesia penggunaan minyak atsiri bunga *J. sambac* dalam jumlah besar digunakan sebagai bahan baku dalam berbagai industri, misalnya pada industry kosmetik, sabun, parfum, farmasi, dan aroma terapi (Sani, 2012).



Gambar 2. Bunga *J. sambac* (*Jasminum sambac*)

Pengambilan minyak atsiri dapat dilakukan dengan menggunakan lemak dingin seperti margarin kuning dan vaselin album. Margarin merupakan mentega buatan yang dibuat dari

minyak nabati atau minyak hewani yang mengandung lebih sedikit lemak daripada mentega. Vaseline album atau sering disebut dengan vaselin putih, *white petrolatum*, *white soft paraffin* merupakan campuran hidrokarbon setengah padat yang telah diputihkan, diperoleh dari minyak mineral. Proses ekstraksi minyak atsiri dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu dengan penyulingan, ekstraksi dengan pelarut menguap, ekstraksi dengan lemak dingin, dan ekstraksi dengan lemak panas (Manurung 2010). Metode *enflurage* merupakan salah satu metode yang tepat untuk mengisolasi minyak atsiri dari bungabunga seperti bunga *J. sambac* (*Jasminum sambac*). Proses *enflurage* berakhir minyak bunga. Keberhasilan proses *enflurage* tergantung pada kualitas lemak yang digunakan dan keterampilan dalam mempersiapkan lemak (Hetik dkk, 2013).apabila lemak telah jenuh dengan minyak bunga. Keberhasilan proses *enflurage* tergantung pada kualitas lemak yang digunakan dan keterampilan dalam mempersiapkan lemak (Hetik dkk, 2013).

3. *Rosa hybrida*

Bunga *R. hybrida* merupakan tanaman bunga hias dengan batang berduri, banyak ditanam di taman dan paling banyak dijual di toko bunga sebagai bunga potong ataupun bunga tabur. Bunga ini berharga karena keindahan dan aromanya, serta bermanfaat dan memiliki banyak khasiat. Minyak maupun ekstraknya sudah sejak dulu digunakan dalam produk sabun mandi, parfum, lotion kulit, dan obat-obatan.



Gambar 3. Bunga *R. hybrida* (*Rosa hybrida*)

Beberapa bahan kimia yang terkandung dalam bunga *R. hybrida* di antaranya *tannin*, *geraniol*, *nerol*, *citronellol*, *asam geranik*, *terpene*, *flavonoid*, *pektin polyphenol*, *vanillin*, *karotenoid*, *stearopten*, *farnesol*, *eugenol*, *feniletilakohol*, vitamin B, C, E, dan K. Dengan banyaknya kandungan yang terdapat dalam bunga *R. hybrida* merah, maka bunga *R. hybrida* merah tersebut dapat dijadikan sebagai bahan baku obat, antara lain sebagai pengobatan aromaterapi, anti kejang, pengatur haid, menyembuhkan infeksi, menyembuhkan sekresi empedu, dan menurunkan panas badan (daun dan kelopak bunga *R. hybrida*). Bunga *R. hybrida* merah bisa digunakan sebagai antiseptika, antispasmodic, antiviral, dan antibakteri

4. Minyak Atsiri

Minyak atsiri dikenal dengan nama minyak eteris atau minyak terbang (*Essential oil*, *volatile oil*) yang dihasilkan oleh tanaman. Minyak atsiri dapat diperoleh dari akar, batang, daun, bunga suatu tanaman. Indonesia adalah salah satu Negara penghasil minyak atsiri terbesar di dunia dan minyak ini merupakan devisa Negara. Oleh karena itu, pada tahun-tahun terakhir ini minyak atsiri mendapat perhatian yang cukup besar dari pemerintah Indonesia. Selain itu, minyak atsiri juga disebut *essential oil* (dari kata *essence*) karena minyak tersebut memberikan bau pada tanaman. Minyak atsiri itu berupa cairan jernih, tidak berwarna, tetapi selama penyimpanan akan mengental dan berwarna kekuningan atau kecoklatan. Hal tersebut terjadi karena adanya pengaruh oksidasi dan resinifikasi (Windi, 2014)

Ada beberapa golongan (suku) tanaman yang mengandung minyak atsiri, antara lain tanaman yang termasuk suku *Annonaceae* (misalnya, *C. odorata*), suku *Umbelliferae* (misalnya, ketumbar dan adas), suku *Compositae* (misalnya, chamomile), suku *Labiatae* (misalnya, lavender), suku *Lauraceae* (misalnya, manis jangan), suku *Myrtaceae* (misalnya, kayu putih), suku *Oleaceae* (misalnya, *J. sambac*), suku *Piperaceae* (misalnya, merica), suku *Graminae* (misalnya, serai), suku *Rosaceae* (misalnya, *R. hybrida*), suku *Rutaceae* (misalnya, jeruk), dan suku *Zigiberaceae* (misalnya, jahe). Minyak atsiri dihasilkan di dalam tubuh tanaman dan kemudian disimpan dalam berbagai organ. Penelitian menunjukkan bahwa minyak

atsiri dibuat dalam kelenjar minyak atsiri. Kelenjar minyak atsiri ada yang terdapat di dalam tanaman (kelenjar internal) dan di luar tanaman (kelenjar eksternal) (Windi, 2014)

Kelenjar internal terbentuk oleh masuknya minyak atsiri yang semula ada di luar sel, yang kemudian merusak sel-sel disekitarnya sehingga terbentuklah saluran semacam organ dengan minyak atsiri di dalamnya. Ada kemungkinan sel-sel di sekitarnya kemudian larut dan membentuk kelompok sel yang disebut kelenjar dan kemungkinan suatu deretan sel terlarut sehingga membentuk saluran yang di dalamnya berisi minyak atsiri. Pembentukan kelenjar yang demikian disebut sebagai pembentukan secara *schizolysigen*. Kelenjar-kelenjar seperti itu kemungkinan terdapat dalam semua bagian tanaman. Ada tanaman yang kelenjar minyak atsirinya hanya terdapat dalam daun, bunga, atau dalam batang. Ada pula tanaman yang mengandung minyak atsiri dalam beberapa bagian tanaman (Windi, 2014).

Kelenjar eksternal berupa sel epidermis atau modifikasi sel epidermis, misalnya rambut kelenjar. Produk dari kelenjar yaitu minyak atsiri biasanya tertimbun di antara lapisan sel terluar yaitu kultikula dan dinding sel antara suatu sel dengan sel yang lain. Kultikula berupa lapisan tipis yang akan pecah bila terkena gesekan, misalnya gesekan tangan. Bila kultikula pecah minyak atsiri akan keluar sehingga bau minyak atsiri akan menyebar (Windi, 2014).

Minyak atsiri tersusun bukan hanya dari suatu senyawa, tetapi berupa campuran dengan komposisi berlainan untuk tiap jenis tanaman. Meskipun kimiawi penyusun minyak atsiri berbeda satu sama lain, mereka mempunyai beberapa sifat fisik yang serupa. Mereka mempunyai bau yang khas, indeks bias yang tinggi, serta kebanyakan mempunyai aktivitas optik dan rotasi spesifik tertentu. Kelarutan minyak atsiri dengan air sangat kecil. Minyak atsiri larut dalam eter, alcohol, dan beberapa pelarut organik lainnya (Windi, 2014).

5. Analisis dan Ekstarksi Minyak Atsiri

Minyak atsiri dapat diperoleh dari berbagai bagian tanaman seperti bunga (*Plumeria sp.*, *Rosa sp.*), Daun (*citronella*, *eucalyptus*), buah (jeruk), biji (*kapulaga*), kayu (*rosewood*, *cendana*), akar dan rimpang. (*kunyit*, *jahe*). Minyak atsiri ini pada dasarnya diperoleh dengan

hidrodistilasi, penyulingan uap, dengan *cold-pressing* (ekspresi) dan *super critical fluid* (SFE). Proses penyinaran gelombang mikro (*microwave assisted process* / MAP-) juga telah dikembangkan oleh banyak peneliti sebagai teknik ekstraksi minyak esensial untuk mendapatkan hasil esensi yang baik dan untuk mengurangi waktu ekstraksi (Pare et al., 1989). Teknik ini juga telah diterapkan untuk ekstraksi saponin dari beberapa tanaman obat (Safir et al., 1998). Proses MAP menggunakan gelombang mikro untuk merangsang molekul air di jaringan tanaman yang menyebabkan sel tanaman pecah dan melepaskan minyak esensial yang terperangkap di jaringan ekstraselular tanaman. Namun, metode hidrodistilasi adalah yang paling banyak digunakan untuk mendapatkan minyak esensial dari tanaman aromatik.

Komposisi kimia minyak esensial berbeda-beda pada masing-masing spesies atau subspecies dan merupakan ciri khas spesies yang dimaksud. Identifikasi komponen individual dari campuran kompleks seperti terpen dalam minyak esensial memerlukan penggunaan beberapa teknik.

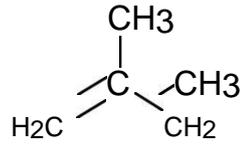
Analisis kimia minyak atsiri umumnya dilakukan dengan menggunakan kromatografi gas (GC) (analisis kualitatif) dan kromatografi gas - spektrometri massa (GC / MS) (analisis kuantitatif). Identifikasi komponen utama dilakukan dengan membandingkan waktu retensi GC dan data MS terhadap standar acuan, indeks penyimpanan Kovats (KI) dan perbandingan dengan literatur sebelumnya (Adams, 2001). Indeks retensi Kovat dapat diperoleh dengan menghitung indeks retensi linier linier suhu dari senyawa kimia dari kromatogram gas dan dengan interpolasi logaritmik antara alkana bracketing (Nor Azah, 2004). Seri homolog n-alkana (C7-C25) digunakan sebagai standar (Kovats, 1965).

6. Komposisi Kimia

Minyak atsiri terdiri dari senyawa seperti terpenoid, aldehid, ester, keton, fenol dan alkohol (Radulescu, et al., 2004). Bau dan rasa minyak esensial terutama ditentukan oleh konstituen teroksidasi, fakta bahwa kandungan oksigen tersebut memberi kelarutan dalam air dan kelarutan cukup dalam alkohol (Tisserand, et al., 1995).

a. Terpen

Terpen terdiri dari hidrogen dan atom karbon saja. Semua terpen didasarkan pada unit isoprena, blok bangunan penting dalam biokimia tanaman (Tisserand, et al., 1995).



Gambar 4. Isoprene

b. Monoterpene

Hidrokarbon hampir selalu terdapat dalam minyak esensial. Monoterpen mengandung sepuluh atom karbon yang disebut monoterpen, karena ini adalah unit dasar yang ditemukan di alam. Terpen ini juga dapat memiliki beberapa kelompok fungsional. Kelompok fungsional tersebut adalah (Leland, et al., 2006):

- Aldehid : setiap kelas senyawa yang dicirikan oleh adanya gugus karbonil (gugus C = O) di mana atom karbon terikat pada setidaknya satu atom hidrogen.
- Keton : Senyawa dimana atom karbon gugus karbonil terikat pada dua atom karbon lainnya
- Alkohol : setiap kelas senyawa yang dicirikan oleh adanya gugus hidroksil (gugus -OH) yang terikat pada atom karbon jenuh.
- Ester : adalah senyawa majemuk yang terkait secara struktural dengan asam karboksilat namun di dalamnya atom hidrogen dalam gugus karboksil (gugus COOH) digantikan oleh gugus hidrokarbon, menghasilkan struktur COCO dimana R adalah hidrokarbon.
- Fenol : Fenol membentuk kelas besar senyawa dimana gugus hidroksil (gugus -OH) terikat pada cincin aromatic

c. Sesquiterpenes

Sesquiterpen terdiri dari tiga unit isoprena dan karenanya memiliki 15 atom karbon. Contoh sesquiterpenes karakteristik minyak atsiri: hidrokarbon (β -bisabolene), alkohol (farnesol), keton (nootkaton), aldehid (sinensal) dan ester (cedryl acetate).

d. Phenylpropanoid

Fenilpropanoid (C6-C3) jauh lebih jarang terjadi daripada terpenoid. Sangat sering berupa alel ($H_2C = CH-CH_2-R$) dan fenilfenol dan kadang-kadang, aldehida karakteristik minyak Apiaceae tertentu (adas manis, adas, peterseli: anethole, anisaldehyde, apiole, methylchavicol) dan juga cengkeh, pala, tarragon, calamus dan kayu manis. Juga hadir dalam minyak esensial adalah senyawa C6-C1 seperti vanilli atau metil anthranilate (Norsita, 2003).

7. Bioaktivitas

Dewasa ini banyak dikembangkan produk alami sebagai sumber antimikroba, , antioksidan, antibiotik dan ramah lingkungan. Penelitian pemanfaatan minyak atsiri terus dilakukan. Pada umumnya efektivitas minyak atsiri adalah hasil gabungan efek dari senyawa aktif dan tidak aktifnya. Senyawa inaktif ini dapat mempengaruhi resorpsi, laju reaksi dan ketersediaan hayati senyawa aktif. Beberapa komponen aktif mungkin memiliki efek sinergis.

Untuk menambah kompleksitas minyak atsiri, terdapat bukti bahwa waktu panen mempengaruhi komposisi minyak dan akibatnya potensi aktivitas biologis mereka (Dekan dan Svoboda, 1988; Lis-Balchin, et al., 1992; Galambosi, dkk. , 1993; Marotti, dkk, 1994). Faktor lain seperti genotipe, kemotipe, asal geografis dan kondisi lingkungan dan agronomi, semuanya dapat mempengaruhi komposisi produk alami akhir (Svoboda, et al., 1992).

Aktivitas biologis minyak esensial berhubungan dengan komposisi kimianya. Hubungan antara komposisi dan bioaktivitas esensi dari tanaman aromatik dapat dilihat baik untuk komponen utamanya (senyawa alkohol, fenolik, terpenat atau keton) dan zat minor yang ada dalam minyak.

a. Aktivitas Antibakteri

Antibakteri adalah -senyawa kimia yang dalam kadar tertentu dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Antibakteri dapat berupa senyawa kimia sintetik atau produk alami.

Antibakteri sintetis dapat dihasilkan dengan membuat senyawa yang sifatnya mirip dengan aslinya kemudian dibuat dalam skala besar, sedangkan antibakteri alami didapatkan langsung dari organisme yang menghasilkan senyawa tersebut dengan melakukan suatu proses tertentu untuk mendapatkan senyawa antibakteri (Setyaningsih, 2004).

- *Staphylococcus aureus*

S. aureus merupakan bakteri Gram positif yang hidup sebagai saprofit di dalam saluran membran tubuh manusia, permukaan kulit, kelenjar keringat, dan saluran usus. (Pelczar dan Chan, 1988). Beberapa jenis *Staphylococcus* tumbuh dengan baik dalam kaldu biasa pada suhu 37°C. Pertumbuhan terbaik dan khas ialah pada suasana aerob, bakteri ini juga bersifat anaerob fakultatif dan dapat tumbuh dalam udara yang hanya mengandung hidrogen dan pH optimum untuk pertumbuhan adalah 7,4. Pada lempeng agar, koloni yang dihasilkan berbentuk bulat, cembung, buram, mengkilat, dan konsistensinya lunak. Koloni dari *S. aureus* berwarna kuning keemasan (Syahrurachman dkk, 1993). *S. aureus* merupakan bakteri gram positif berbentuk kokus dengan diameter 0,7-0,9 µm, membutuhkan nitrogen organik (asam amino) untuk tumbuh serta bersifat anaerobik fakultatif. *S. aureus* bersifat termofilik, dengan kisaran suhu pertumbuhan antara 5-50 0C. Bakteri ini dapat ditemukan pada kulit, kelenjar kulit dan selaput lendir (Fardiaz, 1993).

b. Aktivitas Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron (*electron donor*) atau reduktan. Senyawa ini memiliki berat molekul kecil, tetapi mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi, dengan cara mencegahnya terbentuknya radikal. Antioksidan juga merupakan senyawa yang dapat mencegah reaksi oksidasi, dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Akibatnya kerusakan sel dapat dihambat (Winarsi, 2007).

Radikal bebas adalah senyawa kimia yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya, sehingga dapat menyerang senyawa- senyawa lain seperti DNA, membran lipid, dan protein. Radikal ini akan merebut elektron dari molekul

lain yang ada disekitarnya untuk menstabilkan diri, sehingga spesies kimia ini sering dihubungkan dengan terjadinya kerusakan sel, kerusakan jaringan, dan proses penuaan (Halliwell dan Gutteridge, 1999).

Senyawa antioksidan alami tumbuhan umumnya adalah senyawa fenolik atau polifenolik yang dapat berupa golongan flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, *tokoferol* dan asam-asam organik polifungsional. Golongan flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan meliputi flavon, flavonol, isoflavon, kateksin, flavonol dan kalkon. Sementara turunan asam sinamat meliputi asam kafeat, asam ferulat, asam klorogenat, dan lain-lain (Pokorny dkk. 2001).

Fungsi utama antioksidan digunakan sebagai upaya untuk memperkecil terjadinya proses oksidasi dari lemak dan minyak, memperkecil terjadinya proses kerusakan dalam makanan, memperpanjang masa pemakaian dalam industri makanan, meningkatkan stabilitas lemak yang terkandung dalam makanan serta mencegah hilangnya kualitas sensori dan nutrisi.

Dalam Winarsi (2007), secara umum antioksidan dikelompokkan menjadi 2, yaitu antioksidan enzimatis dan non-enzimatis. Antioksidan enzimatis misalnya enzim *Super Oksidase Dismutase* (SOD), katalase, dan glutathion peroksidase. Antioksidan non-enzimatis masih dibagi dalam dua kelompok lagi yaitu antioksidan larut lemak seperti – tokoferol, karetonoid, flavonoid, quinon, dan bilirubin dan antioksidan larut air, seperti asam askorbat, asam urat, protein pengikat logam, dan protein pengikat heme. Antioksidan non-enzimatis dalam sayuran dan buah-buahan. Komponen yang bersifat antioksidan dalam sayuran dan buah-buahan meliputi vitamin C, E dan β - karoten, flavonoid, isoflavon, antosianin, katekin, isokatekin dan asam lipoat. Senyawa fitokimia ini membantu melindungi sel dari kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas.

Metode pengujian aktivitas antioksidan dikelompokkan menjadi 3 golongan. Golongan pertama adalah *Hydrogen Atom Transfer Methods* (HAT), misalnya *Oxygen Radical Absorbance Capacity Method* (ORAC) dan *Lipid Peroxidation Inhibition Capacity Assay*

(LPIC). Golongan kedua adalah *Electron Transfer Methods* (ET), misalnya *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP) dan *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil* (DPPH) *Free Radical Scavenging Assay*. Golongan ketiga adalah metode lain seperti *Total Oxidant Scavenging Capacity* (TOSC) dan *Chemiluminescence* (Badarinath *et al.*, 2010). Salah satu metode yang paling umum digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan adalah dengan menggunakan radikal bebas *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil* (DPPH). Pengukuran antioksidan dengan metode DPPH merupakan metode pengukuran antioksidan yang sederhana, cepat dan tidak membutuhkan banyak reagen seperti halnya metode lain. Hasil pengukuran dengan metode DPPH menunjukkan kemampuan antioksidan sampel secara umum, tidak berdasar jenis radikal yang dihambat (Juniarti *et al.*, 2009). Pada metode lain selain DPPH membutuhkan reagen kimia yang cukup banyak, waktu analisis yang lama, biaya yang mahal dan tidak selalu dapat diaplikasikan pada semua sampel (Badarinath *et al.*, 2010). Pada metode ini, larutan DPPH berperan sebagai radikal bebas yang akan bereaksi dengan senyawa antioksidan sehingga DPPH akan berubah menjadi *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazin* yang bersifat non-radikal. Peningkatan jumlah *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazin* akan ditandai dengan berubahnya warna ungu tua menjadi warna merah muda atau kuning pucat dan dapat diamati menggunakan spektrofotometer sehingga aktivitas peredaman radikal bebas oleh sampel dapat ditentukan (Molyneux, 2004). Pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode DPPH menggunakan prinsip spektrofotometri. Senyawa DPPH dalam metanol berwarna ungu tua terdeteksi pada panjang gelombang sinar tampak sekitar 515-517 nm. Parameter untuk menginterpretasikan hasil pengujian DPPH adalah dengan nilai IC₅₀ (*Inhibitor Concentration*). IC₅₀ merupakan konsentrasi larutan substrat atau sampel yang mampu mereduksi aktivitas DPPH sebesar 50%. Semakin kecil nilai IC₅₀ berarti semakin tinggi aktivitas antioksidan. Secara spesifik suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC₅₀ < 50 ppm), kuat (50 ppm < IC₅₀ < 100 ppm), sedang (100 ppm < IC₅₀ < 200 ppm), dan sangat lemah (IC₅₀ > 200 ppm).

c. Aktivitas Antiinflamasi

Anti-inflamasi mengacu pada sifat zat atau pengobatan untuk mengurangi peradangan. Ada beberapa tes untuk aktivitas antiinflamasi seperti faktor pengaktifan platelet, nitric oxide, hyaluronidase, lipoxigenase dan banyak tes lainnya. Dalam penelitian ini, dua tes diterapkan; uji hyaluronidase dan uji lipoksigenase.

Hyaluronidase adalah enzim hidrolisis mucopolysaccharide yang menurunkan asam hialuronat (HA), agen pelumas kental dalam cairan sinovial pada persendian dan yang juga ada pada kulit. Hyaluronidase meningkatkan penyebaran mediator inflamasi ke seluruh jaringan tubuh, sehingga berkontribusi pada patogenesis penyakit inflamasi seperti efek alergi, migrasi sel kanker, pembengkakan dan permeabilitas sistem vaskular (Ling et al., 2005).

Lipoxygenase adalah target biologis untuk banyak penyakit seperti asma, kanker dan banyak penyakit lainnya. Lipoxygenases diklasifikasikan sehubungan dengan spesifitas posisinya dari oksigenasi asam arakidonat; khususnya, tipe retikulosit tipe 15-LOX dan 5-LOX manusia ditandai dengan baik berkenaan dengan sifat struktural dan fungsionalnya (Celotti dan Laufer, 2001).

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

1. Waktu dan Tempat

Penelitian dilakukan selama 4 bulan dari bulan Mei hingga Agustus 2018. Tempat penelitian dilakukan di laboratorium FMIPA Universitas Lampung.

2. Alat dan Bahan

Alat :

Seperangkat alat distilasi uap dengan kapasitas 5 kg, seperangkat alat Kromatografi Gas-Spektrometer Massa (KG-SM) SHIMADZU-QP2010S dengan kolom Restek Rtx-5 MS, piknometer 2 mL, refraktometer Abbe, generator *PEF (Pulsed Electric Field)*, *rotary vacuum evaporator*, *refrigerator*, gelas beaker, erlenmeyer, plastik, karet, *aluminium foil* dan kain saring. Alat digunakan untuk analisis adalah refraktometer, piknometer, timbangan digital, gelas ukur, pipet dan perangkat peralatan GC-MS (*Gas Chromatography-Mass Spectrometry*), Cawan porselin, Penangas air, Timbangan digital, Vial, Pipet mikro, Pinset, Kertas pating, Nampan, kertas saring

Bahan :

Bunga *C. odorata (c. odorata)*, Bunga *J. sambac (J. sambac)*, Bunga *R. hybrida (R. hybrid)*, pelarut n- heksan 95 %, Mueller Hinton agar (MHA), Tryptic soy agar (TSA) and Potato Dextrose agar (PDA), Mueller Hinton Broth (MHB), Tryptic soy broth (TSB), Potato Dextrose Broth (PDB), Dimethyl sulfoxide (DMSO), cycloheximide, oxacillin, *Staphylococcus aureus (ATCC 25923)*, *Pseudomonas aeruginosa (ATCC 27833)* and *Escherichia coli (ATCC 35219)*, Borate buffer (0.2 M, pH 9.0), lipoxygenase (167 U/ml), linoleic acid (134 NM), hyaluronidase (1.00-1.67 U), sodium phosphate buffer pH 7.0, hyaluronic acid, apigenin, sodium chloride, BSA, DMSO, sodium phosphate, acetic acid, pH 3.75, vaselin album, margarin kuning, dan etanol 96%.

3. Metode

- Karakterisasi minyak atsiri *C. odorata*

Bunga *C. odorata* (*Cananga odorata*) segar ditimbang sebanyak 500 g kemudian ditempatkan dalam ketel distilasi dan ditutup rapat. Seperangkat alat distilasi dirangkai dengan penghasil uap bertekanan tinggi kemudian dilakukan distilasi uap selama 8 jam. Minyak atsiri *C. odorata* yang diperoleh dibebaskan dari sisa air dengan menggunakan magnesium sulfat monohidrat kemudian dialiri gas nitrogen (N₂) dan disimpan dalam botol *vial* tertutup dalam lemari pendingin.

Karakterisasi minyak atsiri *C. odorata* dilakukan berdasarkan sifat fisiknya yang meliputi warna, bau indeks bias dan berat jenis. Pengukuran indeks bias minyak atsiri *C. odorata* dilakukan dengan menggunakan refraktrometer Abbe dan pengukuran densitas minyak atsiri *C. odorata* menggunakan piknometer 2 mL kemudian dikonversikan dengan faktor pengoreksi yang disesuaikan dengan temperatur ruang saat pengukuran dilakukan.

- Karakterisasi minyak atsiri *J. sambac*

Minyak atsiri bunga *J. sambac* (*Jasminum sambac*) dilakukan dengan metode *enflurage*. Wadah dengan ukuran panjang 30 cm dan lebar 21 cm, diolesi dengan adsorben sebanyak 150 g setebal 0,50 cm pada masing-masing wadah. Kemudian bunga *J. sambac* ditimbang 200 g untuk seluruh proses *enflurage*. dimasukkan secara bertahap sebanyak 50 g ke dalam masing-masing adsorben margarin kuning dengan cara ditekan ke dalam adsorben agar minyak atsiri dapat terse rap dengan baik oleh adsorben. Hasil *enflurage* kemudian dikeluarkan dari wadah dengan mengeluarkan bunga *J. sambac* (*Jasminum sambac*) terlebih dahulu dengan menggunakan pinset, margarin kuning yang telah terpisah dari bunga *J. sambac* dikeluarkan dari wadah kemudian dipindahkan pada cawan porselin. Margarin kuning duapkan di atas penangas air kemudian ditambahkan dengan etanol 96% sebanyak 5 ml sambal diaduk-aduk hingga minyak atsiri terserap

dalam etanol 96%. Hasil penguapan kemudian didinginkan hingga terbentuk endapan yaitu bagian atas adalah lemak dan bagian bawah adalah minyak.

- **Karakterisasi minyak atsiri *R. hybrida***

Bunga *R. hybrida* dipisahkan dari kelopak, benang sari, dan mahkota bunga *R. hybrida*. Mahkota bunga *R. hybrida* yang telah dipisahkan kemudian ditimbang masing-masing seberat 250 gram. Setelah ditimbang selanjutnya dilakukan penerapan PEF sesuai dengan perlakuan frekuensi sebesar (1000 Hz dan 1500 Hz) dengan menggunakan waktu PEF 10 detik, voltase 1100 v, dan jarak Anoda Katoda 18 cm. Masing-masing mahkota bunga *R. hybrida* yang telah dilakukan penerapan PEF sesuai perlakuan, selanjutnya dilakukan proses ekstraksi menggunakan metode pelarut menguap dengan larutan n-Heksan teknis yang disimpan didalam *erlenmeyer* dan ditutup dengan aluminum foil agar terhindar dari cahaya. Kemudian digunakan perbandingan sebesar 1:2,5, selanjutnya dilakukan proses ekstraksi selama (2 jam, 4 jam, 6 jam) menggunakan suhu kamar. Setelah diekstraksi, mahkota bunga *R. hybrida* disaring dan diperas menggunakan kain saring kasar dilipat menjadi 2 untuk mendapatkan larutan minyak-heksan. Lalu dilakukan proses pemisahan filtrat menggunakan vacuum evaporator dengan merk ikrV10 digital dengan menggunakan kecepatan putaran 70 Rpm, tekanan 550 mmHg, suhu 35OC selama kurang lebih 30 menit, sehingga diperoleh concrete berupa cairan kental berwarna kuning bening. Konsentrasi yang diperoleh selanjutnya dilakukan analisa rendemen, warna, indeks bias dan GC-MS.

- **Penghitungan Rendemen**

Minyak yang dihasilkan dihitung berdasarkan berat kering bahan tanaman. Kira-kira 10 mg sampel kering ditimbang dan ditempatkan di labu dasar bundar. 50 ml toluena ditambahkan dan kemudian dipanaskan di atas piring panas selama 3 jam. Kandungan air sampel dapat ditentukan dengan menggunakan peralatan Dean dan Stark. Kandungan air dapat dihitung berdasarkan kadar air dengan menggunakan rumus di bawah ini. Semua pengukuran dilakukan dalam rangkap tiga dan nilai mean dihitung

- Penghitungan kadar air sampel

$$\frac{\text{Air yang dihasilkan (ml) (by means of Dean \& Stark app.)}}{\text{Sampel (g)}} \times 100 = \text{kadar air (\% air pada sampel)}$$

- Perhitungan persentase hasil rendemen berdasarkan berat kering bagian tanaman

$$100 \% - \text{Kadar air (\% air pada sampel)} = \% \text{ berat kering sampel}$$
$$\% \text{ berat kering sampel} \times \text{sampel (g) (of hydrodistillation)} = \text{berat basah sampel (g)}$$

$$\frac{\text{Minyak yang dihasilkan (g)}}{\text{Berat basah sampel (g)}} \times 100\% = \% \text{ rendemen}$$

- Kromatografi Gas Spektrometer Massa (KGSM)

Analisa komponen penyusun minyak *C. odorata* menggunakan kromatografi gas spectrometer massa (KG-SM) Analisa komponen penyusun minyak atsiri *C. odorata* hasil distilasi uap selama 8 jam dilakukan dengan menggunakan kromatografi gas spektrometer massa (KG-SM) QP2010S SHIMADZU. Sebanyak 0,05 μL minyak atsiri *C. odorata* diinjeksikan pada instrumen KG-SM menggunakan *syringe*. Kolom kromatografi yang digunakan merupakan kolom kapiler Restek Rtx-5 MS dengan panjang 30 m dan fasa diam berupa 5% difenil / 95% dimetil polisiloksan. Gas Helium digunakan sebagai fasa gerak dengan kecepatan alir gas 84,2 mL/menit (*Split ratio* 158,4). Temperatur pada kolom diatur pada 60-215 $^{\circ}\text{C}$ (10 $^{\circ}\text{C}$ /menit) sedangkan temperatur injektor diatur pada 225 $^{\circ}\text{C}$. Spektrometer massa menggunakan jenis pengionan EI dengan energi sebesar 70 eV. Hasil analisa komponen minyak atsiri *C. odorata* yaitu berupa kromatogram (TIC) yang terdiri dari puncak-puncak komponen dengan %area dan waktu retensi masing-masing, serta spektrum massa komponen yang dibandingkan dengan spektrum massa pada pustaka Wiley7.lib yang terdapat dalam instrument (Rachmawati, 2013)

- Penghitungan Indeks Kovats

$$\text{Kovats Index} = \frac{100 [\text{Log} (\text{T}_x - \text{T}_m) - \text{Log} (\text{T}_n - \text{T}_m)]}{[\text{Log} (\text{T}_{n+1} - \text{T}_m) - \text{Log} (\text{T}_n - \text{T}_m)]} + 100 (N)$$

Where:

- T_m = Waktu retensi fase gerak
 T_x = Waktu retensi sampel
 T_n = Hidrokarbon standar mengandung waktu retensi karbon
 N = Jumlah atom carbon

- Aktivitas Antibakteri

- Persiapan Inokulasi

Kultur standar *S. aureus*, *E. coli*, *Pseudomonas sp* dalam kaldu Mueller-Hinton yang telah diinkubasi selama 24 jam diencerkan 1000 kali lipat dengan kaldu yang sama. Pengenceran dicampur dengan 0,1 ml larutan senyawa terisolasi yang telah dilarutkan atau ditangguhkan dalam dimetil sulfoksida 10% berair (DMSO) dalam tabung kultur steril. Campuran diinkubasi untuk 24 jam pada suhu 37°C dan pertumbuhan masing-masing bakteri uji ditentukan oleh kekeruhan. Konsentrasi hambat minimum (MIC) setiap senyawa terhadap organisme tertentu dinyatakan sebagai konsentrasi paling rendah dari senyawa yang tidak menunjukkan kekeruhan. Ceftriaxone digunakan sebagai zat antibakteri standar.

- Penentuan Kadar Hambat Minimum (MIC)

Media disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 120 ° C selama 15 menit. Efektivitas antibakteri minyak esensial yang diuji diukur di media cair dengan menggunakan metode microdilution menggunakan piring mikrotiter (12 X 8 sumur) pada kisaran 19,5 - 2500 NI / ml. 10 NI larutan stok minyak esensial (50 mg / ml) dalam dimetil sulfoksida (DMSO) (tidak lebih dari 10% dari total volume dalam sumur A) dan 90 NI kaldu ditambahkan ke label dengan baik sebagai A. Hanya 50NI dari kaldu masing-masing ditambahkan untuk sumur yang diberi label B sampai H. Minyak dan kaldu dalam sumur A dicampur secara menyeluruh sebelum mentransfer 50 NI campuran yang dihasilkan ke sumur B. Prosedur yang sama diulang untuk campuran contoh dalam sumur B sampai H, sehingga membuat dilusi serial dari bahan uji. 50 NI inokulum (percobaan mikroba) ditambahkan dengan baik A ke sumur H. Pelat mikrotiter kemudian diinkubasi pada suhu 37 ° C selama 24 jam.

Sikloheksamida (50 mg / ml) digunakan sebagai antibiotik standar untuk perbandingan dengan aktivitas antijamur minyak esensial sedangkan oksakilin (50 mg / ml) digunakan sebagai standar pengujian antibakteri. DMSO berfungsi sebagai kontrol negatif. Kekeruhan

dianggap sebagai indikasi pertumbuhan, sehingga konsentrasi terendah yang tetap jelas setelah evaluasi makroskopis, dianggap sebagai konsentrasi hambat minimum (MIC). MIC dicatat sebagai konsentrasi rata-rata rangkap tiga. Aktivitasnya tergolong lemah ($MIC \geq 5000 \text{ Ng / ml}$), sedang ($MIC: 1000 - 4900 \text{ Ng / ml}$) dan kuat ($MIC \leq 1000 \text{ Ng / ml}$).

Aktivitas Antioksidan

Metode uji DPPH merupakan metode pengujian aktivitas antioksidan yang paling cocok bagi komponen antioksidan yang bersifat polar, karena kristal DPPH hanya dapat larut dan memberikan absorbansi maksimum pada pelarut etanol ataupun metanol seperti yang dikemukakan oleh Amrun dan Umiyah (2005). Secara umum berikut merupakan uji aktivitas antioksidan yang menggunakan metode DPPH. Uji aktivitas antioksidan ekstrak suatu sampel dilakukan dengan metode DPPH (Blois 1985 dalam Hanani *et al.*, 2005). Ekstrak kasar sampel dilarutkan dalam metanol hingga diperoleh konsentrasi yang bervariasi dinyatakan dalam ppm. Antioksidan sintetik BHT (butilhidroksitoluena) digunakan sebagai pembanding dan kontrol positif dilarutkan dalam pelarut metanol dengan konsentrasi tertentu. Larutan DPPH dibuat dengan melarutkan kristal DPPH dalam pelarut metanol dengan konsentrasi tertentu juga. Larutan ekstrak dan larutan antioksidan BHT masing-masing diambil beberapa ml dan direaksikan larutan DPPH dalam tabung reaksi yang berbeda. Reaksi berlangsung pada suhu tertentu selama beberapa menit kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV VIS pada panjang gelombang 515-517 nm. Absorbansi larutan blanko diukur untuk melakukan perhitungan persen inhibisi. Larutan blanko dibuat dengan mereaksikan pelarut metanol dengan larutan DPPH dalam tabung reaksi. Aktivitas antioksidan dinyatakan dalam persen inhibisi untuk mengetahui nilai IC_{50} .

Menurut Mifta Fauziah berdasarkan studi literatur untuk menentukan IC_{50} , diperlukan persamaan kurva standar dari % inhibisi sebagai sumbu y dan konsentrasi fraksi antioksidan sebagai sumbu x. IC_{50} dihitung dengan cara memasukkan nilai 50% ke dalam persamaan kurva standar sebagai sumbu y kemudian dihitung nilai x sebagai konsentrasi IC_{50} . Semakin kecil nilai IC_{50} menunjukkan semakin tinggi aktivitas antioksidannya (Molyneux 2004). Dalam hal ini diharapkan bahwa radikal bebas dapat ditangkap oleh senyawa antioksidan hanya dengan konsentrasi yang kecil.

Persen inhibisi dan IC_{50}

Persen inhibisi adalah perbandingan antara selisih dari absorbansi blanko dan absorbansi sampel dengan absorbansi blanko. Persen inhibisi digunakan untuk menentukan persentase hambatan dari suatu bahan yang dilakukan terhadap senyawa radikal bebas. Persen inhibisi dihitung dengan rumus berikut:

$$Pi = [(Ab-As)/Ab] \times 100\%$$

Keterangan:

Pi : Persen inhibisi

Ab : Absorbansi blanko

As : Absorbansi sampel

Pengukuran antioksidan dengan metode DPPH merupakan metode pengukuran antioksidan yang sederhana, cepat dan tidak membutuhkan banyak reagen seperti halnya metode lain. Hasil pengukuran dengan metode DPPH menunjukkan kemampuan antioksidan sampel secara umum, tidak berdasar jenis radikal yang dihambat (Juniarti *et al.*, 2009).

Kekuatan pereduksi minyak esensial yang disiapkan sesuai dengan metode yang dilakukan oleh Oyaizu (1986). Masing-masing ekstrak (5mg, 10mg, 15mg dan 20 mg) dilarutkan dalam 1,0 ml akuades yang ditambahkan 2,5 ml buffer fosfat 0,2 M (pH 6,6)

dan 2,5 ml larutan 1% (b / v) Kalium ferricyanide (Sigma grade). Campuran diinkubasi dalam rendaman air pada suhu 50°C selama 20 menit. Kemudian 2,5 ml larutan asam trikloroasetat 10% (b / v) ditambahkan dan campuran kemudian disentrifugasi pada 1000 rpm selama 10 menit. Aliran alir 2.5 ml dari lapisan atas dicampur dengan 2,5 ml air suling dan 0,5 ml larutan klorida besi 0,1% (b / v). Penyerapan campuran reaksi dibaca secara spektrofotometri pada 700 nm. Peningkatan absorbansi campuran reaksi menunjukkan daya reduksi yang lebih besar. Nilai rata-rata dari tiga sampel independen dihitung untuk setiap ekstrak.

Uji Antiinflamasi

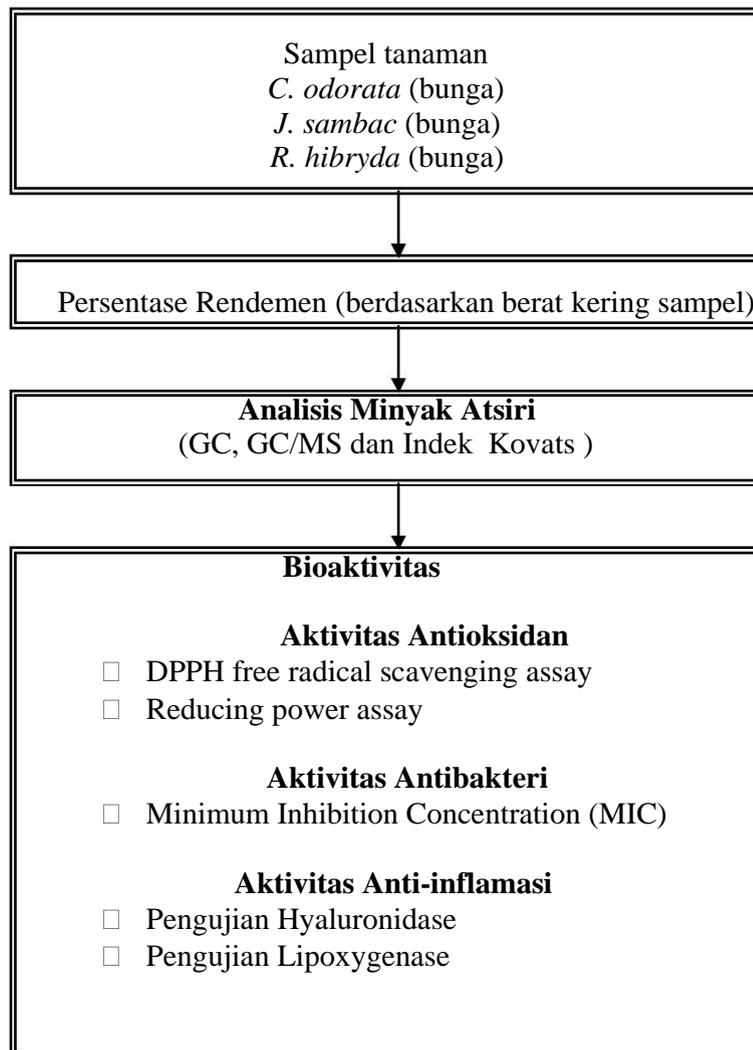
- Uji Lipoksigenase

Pengujian ini dilakukan sesuai prosedur yang dijelaskan oleh Sigma, dengan sedikit modifikasi (Ling et al., 2003). Aktivitas enzim diukur secara spektrofotometri menggunakan spektrofotometer, dalam buffer borat (0,2 M, pH 9,0) dengan peningkatan absorbansi pada 234 nm, 25 ° C, setelah penambahan lipoxygenase (konsentrasi akhir 167U / ml), dengan menggunakan asam linoleat (134 NM) sebagai substrat. Larutan enzim disimpan dalam es, dan kontrol (aktivitas enzim 100%) diukur sebelum sampel uji. Untuk pengujian, larutan enzim diinkubasi dengan sampel uji selama 5 menit pada 25 ° C, dilanjutkan dengan penambahan larutan substrat dan buffer borat ke volume akhir 1,5 ml. Aktivitas enzim dihitung sebagai laju perubahan absorbansi per satuan waktu. Aktivitas penghambatan enzim dinyatakan sebagai persentase rasio perbedaan aktivitas enzim antara sampel uji dan aktivitas kontrol vs enzim dalam percobaan kontrol. Sampel diuji pada konsentrasi maksimum 200 NM pada

volume akhir campuran uji. Aktivitas enzim pengurang konsentrasi sebesar 50% berkenaan dengan kontrol diperkirakan dari plot grafis dari studi yang bergantung pada konsentrasi dan didefinisikan sebagai IC₅₀ yang dinyatakan dalam NM.

- Uji Hyaluronidase

Uji ini dilakukan sesuai dengan protokol Sigma dengan sedikit modifikasi (Ling et al., 2003). Media uji yang terdiri dari 1,00-1,67 U hyaluronidase pada buffer natrium fosfat 100 NI 20mM pH 7,0 dengan natrium klorida 77mM dan BSA 0,01% diinkubasi dengan 5 NI senyawa uji (dalam DMSO) selama 10 menit pada suhu 37°C. Kemudian pengujian dimulai dengan menambahkan 100 NI hyaluronic acid (0,03% pada 300mM sodium phosphate, pH 5.35) ke dalam campuran inkubasi dan diinkubasi selama 45 menit. Asam hialuronat diendapkan dengan larutan albumin asam 1 ml yang terdiri dari 0,1% albumin serum sapi dalam natrium asetat 24mM dan asam asetat 79mm, pH 3,75. Setelah didiamkan pada suhu kamar selama 10 menit, absorbansi campuran reaksi diukur pada 600nm. Absorbansi dengan tidak adanya enzim digunakan sebagai nilai referensi untuk penghambatan maksimum. Aktivitas enzim diperiksa dengan eksperimen kontrol yang dijalankan bersamaan, dimana enzim diinkubasi dengan 5NI DMSO. Dalam hal ini, rasio persentase absorbansi dengan adanya enzim vs bahwa dengan tidak adanya enzim berada pada kisaran 15-20%. Kinerja pengujian diverifikasi menggunakan apigenin sebagai referensi di bawah kondisi percobaan yang sama persis. Senyawa diuji pada konsentrasi maksimum 50 x 10² NM di campuran reaksi akhir. Hasilnya dinyatakan sebagai rata-rata persentase hambatan dari tiga eksperimen terpisah yang diulang tiga kali.



Gambar 5. Alur Kerja

Analisis Data

Data hasil pengujian aktivitas senyawa terisolasi terhadap diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* diuraikan secara deskriptif

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Kimia dari Minyak Atsiri dari *Cananga odorata*, *Jasmimum sambac*, DAN *Rosa hybrida*

Minyak esensial yang diperoleh dikenai kromatografi gas (GC) dan kromatografi gas-spektrometri massa (GC / MS) analisis untuk identifikasi rinci mereka komponen dalam campuran kompleks. Identifikasi senyawa juga dibantu oleh perbandingan data spektrum massa GC / MS mereka dengan mereka dari database spektrum massa NIST. Indeks Kovats masing-masing komponen yang diidentifikasi juga dihitung berdasarkan waktu retensi mereka untuk mengkonfirmasi identifikasi.

Tabel 1. Hasil analisis Minyak atsiri dari ekstraksi *Cananga odorata*, *Jasminum sambac*, dan *Rosa hybrida*

Nama Spesies	Bagian	Minyak atsiri	Keterangan
<i>Cananga odorata</i>	bunga	0.092 %	Berwarna kuning keemasan
<i>Jasminum sambac</i>	bunga	0.157 %	Berwarna kekuningan
<i>Rosa hybrida</i>	bunga	0.023 %	Berwarna kuning

a. *Cananga odorata*

Isolasi minyak atsiri menghasilkan minyak *C. odorata* yang berwarna kuning muda dengan rendemen rata-rata sebesar 0,092 % . Kromatogram hasil analisis GC-MS pada minyak atsiri bunga *C. odorata* menunjukkan terdapat 6 senyawa. Senyawa utama minyak atsiri bunga *C. odorata* adalah β -linalool (10,19%), β -kariofilen (8,03%), farnesol (5,73%), germakren-D (5,21%), α -bergamoten (6,34%), dan benzil benzoat (5,55%),

b. *Jasminum sambac*

Ekstraksi minyak atsiri bunga *J. sambac* dilakukan dengan metode enfleurasi dengan menggunakan lemak sebagai adsorben. Keuntungan dari metode enfleurasi yaitu sangat baik digunakan dalam ekstraksi bunga *J. sambac*, karena metode ini dapat menyerap minyak lebih besar dari metode lainnya (Yulanda, 2008). Warna adsorben

pada saat bunga dikeluarkan adalah berwarna kuning. Adsorben dimasukkan dalam cawan porselin dan dilarutkan dengan etanol 96% sebanyak 5 ml. Pelarut yang digunakan adalah etanol 96% karena semakin tinggi suatu konsentrasi pelarut maka semakin baik minyak atsiri yang diserap (Prabawati, 2002). Adsorben yang dilarutkan dengan etanol dipanaskan diatas penangas air selama 15 menit pada suhu 30-400°C, dengan tujuan untuk mencairkan adsorbennya, agar minyak atsiri yang terserap di dalam adsorben dapat terlarut semua oleh etanol. Minyak atsiri dalam etanol dipisahkan dari adsorben dengan cara didinginkan sampai adsorben kembali membeku. Minyak atsiri tidak ikut membeku sehingga dapat dipisahkan dari adsorbennya.

Minyak atsiri bunga *J. sambac* yang diperoleh pada penelitian ini belum 100% murni minyak atsiri karena minyak yang diperoleh masih mengandung minyak dari lemak, pelarut etanol, dan air sehingga perlu dilakukan penyulingan lebih lanjut untuk menghasilkan minyak atsiri yang murni yaitu dengan evaporasi. Uji kelarutan dalam alkohol 96%, dilakukan dengan melarutkan 1 ml minyak atsiri bunga *J. sambac* dengan 1 ml alkohol. Hasil yang diperoleh minyak atsiri dari hasil enflurage dengan vaselin album dan margarin terlarut sempurna dalam alkohol. Hal ini sesuai dengan teori Gunawan dan Mulyani (2004) yang menyatakan bahwa minyak atsiri sangat mudah larut dalam pelarut organik seperti eter, methanol, etanol dan lain-lain. Berdasarkan uji kelarutan dalam alkohol minyak yang diperoleh adalah minyak atsiri. Isolasi minyak atsiri menghasilkan minyak *J. sambac* yang berwarna kuning muda dengan rendemen rata-rata sebesar 0,157 %.

c. *Rosa hybrida*

Hasil enflurasi bunga *R. hybrida* memberikan rendemen absolut sebesar 0,056–0,154%, dengan indeks bias antara 1,36–1,43 dan komponen utama penyusun

absolut *R. hybrida* fenil etil alkohol (10,56-20,33%), sitronelol (3,7-5,03%), dan geraniol (2,76-4,77%).

Menurut Guanter (1987) dan Moates dan Reynolds (1991) komponen penyusun utama yang memberi aroma spesifik pada absolut *R. hybrida* adalah fenil etil alkohol, sitronelol, dan geraniol. Hasil penelitian Lawrence (1997) dan Boelens dan Boelens (1997) melaporkan bahwa kandungan minyak *R. hybrida* Turki dan minyak *R. hybrida* Cina masing-masing 1,08-1,99% dan 0,1-0,2% (fenil etil alkohol), 35,83-43,55% dan 49,2-57,1% (sitronelol), serta 10,18-13,45% dan 7,1-13,7% (geraniol). Bila dibandingkan dengan hasil penelitian tersebut tampak bahwa senyawa fenil etil alkohol absolut *R. hybrida* tabur merah lebih tinggi, tetapi sebaliknya kandungan senyawa sitronelol dan geraniolnya lebih rendah.

Rendemen absolut *R. hybrida* cenderung meningkat dengan bertambahnya selang waktu penggantian bunga. Semakin lama waktu penggantian menyebabkan jumlah minyak atsiri yang diserap akan semakin banyak. Selang waktu penggantian bunga selama 24 jam menghasilkan rendemen sebesar 0,023%. Dalam selang waktu tersebut, atsiri yang dikandung bunga *R. hybrida* akan dikeluarkan dan diserap lebih banyak oleh absorben. Di samping itu, dengan lebih seringnya dilakukan proses defleurasi, akan menyebabkan banyak lemak absorben yang terbuang melekat bersama bunga yang diganti.

2. Bioaktivitas

a. Aktivitas Antibakteri

a) *Cananga odorata*

Berdasarkan penelitian didapatkan hasil yang berbeda antara efektivitas bunga *C. odorata* terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* secara in vitro.

Hasil inkubasi selama 24 jam menunjukkan adanya zona hambat pada medium biakan yang diuji dengan perasan bunga *C. odorata*, hal ini membuktikan perasan bunga *C. odorata* efektif terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, sedang medium biakan yang diuji dengan hasil rebusan terbentuk zona hambat. Hal ini menunjukkan bunga *C. odorata* efektif terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aures*.

Tabel 2. Hasil penapisan awal antibakteri dari ekstrak bunga *C.odorata* terhadap bakteri *S. aureus* pada konsentrasi 10%

Bakteri Uji	Ekstrak	Diameter Zona Hambat (mm)	DayaAntibakteri
<i>S. aureus</i>	E.K	3,4	Lemah
	E.EA	8,3	Sedang
	E.E	3,3	Lemah

Keterangan: E.K = Ekstrak Kloroform, E.EA = Ekstrak Etil Asetat , E.E = Ekstrak Etanol

b) *Jamimum sambac*

Tabel 3. Hasil penapisan awal antibakteri dari ekstrak bunga *J. sambac* terhadap bakteri *S. aureus* pada konsentrasi 10%

Bakteri Uji	Ekstrak	Diameter Zona Hambat (mm)	Daya Antibakteri
<i>S. aureus</i>	E.K	3,1	Lemah
	E.EA	7,2	Sedang
	E.E	2,7	Lemah

Keterangan: E.K = Ekstrak Kloroform, E.EA = Ekstrak Etil Asetat , E.E = Ekstrak Etanol

Bakteri Uji Ekstrak Uji Rata-rata Diameter Zona Hambat (mm) Kekuatan Antibakteri (Davis dan Stouth, 1971) *S. aureus* E.K 3,1 Lemah E.EA 7,2 Sedang E.E 2,7 Lemah Ekstrak yang dapat membentuk zona hambat terbesar pada kedua kultur bakteri uji adalah ekstrak etil asetat. Hal ini diduga karena ekstrak etil asetat memiliki tingkat kepolaran yang optimum. Menurut Kanazawa dan Ikeda (1998) suatu senyawa yang memiliki tingkat kepolaran optimum mempunyai aktivitas antibakteri maksimum karena interaksi senyawa antibakteri dengan bakteri memerlukan keseimbangan (HLB: *hidrophylic lipophylic balance*). Adapun hasil uji pelarut sebagai kontrol negatif dengan menggunakan pelarut kloroform, etil asetat dan etanol terhadap *S. aureus* tidak menunjukkan adanya zona hambat yang terbentuk.

c) *Rosa hybrida*

Tabel 4. Hasil penapisan awal antibakteri dari ekstrak bunga *R. hybrida* terhadap bakteri *S. aureus* pada konsentrasi 10%

Bakteri Uji	Ekstrak	Diameter Zona Hambat (mm)	Daya Antibakteri
<i>S. aureus</i>	E.K	6,1	Sedang
	E.EA	1,2	Lemah
	E.E	3,3	Lemah

Keterangan: E.K = Ekstrak Kloroform, E.EA = Ekstrak Etil Asetat , E.E = Ekstrak Etanol

Bakteri Uji Ekstrak Uji Rata-rata Diameter Zona Hambat (mm) Kekuatan Antibakteri (Davis dan Stouth, 1971) *S. aureus* E.K 6,1 Lemah E.EA 1,2 Sedang E.E 3,3 Lemah Ekstrak yang dapat membentuk zona hambat terbesar pada kedua kultur bakteri uji adalah ekstrak etil asetat

b. Aktivitas Antioksidan

Cananga odorata

Aktivitas antioksidan minyak *C. odorata* diuji menggunakan metode Siramon dan Ohtani (2007) dengan sedikit modifikasi dengan menggunakan DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging assay*). Pengujian dilakukan pada beberapa konsentrasi minyak *C. odorata* yaitu 1 mg/ml, 2,5 mg/ml, 5 mg/ml, dan 7,5 mg/ml. Sebanyak 1 ml sampel dilarutkan dalam 10 ml larutan DPPH 0,25 mM (dalam etanol). Larutan dimasukkan ke dalam penangas air pada suhu 30° C selama 30 menit kemudian diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer U-2810 (Hitachi *High-Technologies* Co. Ltd, Tokyo, Jepang) pada panjang gelombang 515 nm. Sebagai kontrol digunakan 1 ml etanol yang ditambahkan larutan DPPH sesuai cara yang telah disebutkan di atas. Untuk kontrol positif digunakan BHA (*butylated hydroxyanisole*) sebagai pembanding dan diuji dengan cara yang sama dengan pengujian sampel. Persentase antioksidan dihitung dengan persamaan berikut:

$$\% \text{ Antioksidan} = [(Ac - As) / Ac] \times 100$$

Ac : absorbansi kontrol As : absorbansi sampel

Kemudian dihitung nilai konsentrasinya untuk penghambatan oksidasi (antioksidan) sebesar 50% atau IC₅₀ (*Inhibitory Concentration 50%*).

Tabel 5. Karakteristik fisik minyak *C. odorata*

Hasil Distilasi Pengukusan SNI 06-3949-1005		
Warna	Kuning muda	Kuning muda- Kuning tua
Bau	Segar khas <i>C. odorata</i>	Segar khas <i>C. odorata</i>
Bobot Jenis	0,903 (20° C)	0,904-0,920 (20° C)
Indek Bias	1,493 (20° C)	1,493-1,503 (20° C)

Minyak *C. odorata* yang dihasilkan diuji aktivitas antioksidannya dengan menggunakan metode DPPH. DPPH merupakan radikal bebas yang stabil dengan delokalisasi elektron yang berlebih. Delokalisasi ini meningkatkan warna violet/ungu dalam etanol. Ketika DPPH dengan senyawa lain yang mendonorkan atom hidrogennya, maka akan terbentuk DPPH nonradikal yang ditandai dengan hilangnya warna violet, berubah menjadi pucat dari pikril yang masih ada. Komponen kimia dari minyak *C. odorata* menunjukkan adanya aktivitas antioksidan tersebut dengan terbentuknya DPPH nonradikal yang menyebabkan warna violet pada pengujian berubah menjadi kuning (warna ungu semakin berkurang/menjadi pucat memerah/kekuningan). Kontrol positif (BHA) yang digunakan, menunjukkan perubahan warna yang lebih cerah. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan dari kontrol positif lebih tinggi daripada minyak *C. odorata*. Data pengujian minyak *C. odorata* sebagai antioksidan dan kontrol positif BHA dapat dilihat pada Tabel 6. Tabel 6 menunjukkan bahwa minyak *C. odorata* mempunyai aktivitas antioksidan walaupun nilainya berada di bawah BHA. Nilai aktivitas antioksidan menunjukkan kecenderungan semakin tinggi dengan semakin bertambahnya konsentrasi minyak *C. odorata* yang digunakan. Minyak *C. odorata* pada penelitian ini memiliki nilai antioksidan dengan IC_{50} sebesar 2,29 mg/ml dan nilai IC_{50} BHA sebesar 0,03 mg/ml. BHA merupakan antioksidan komersil dan memang diketahui memiliki antioksidan yang kuat. Beberapa penelitian sebelumnya juga menunjukkan bahwa umumnya minyak atsiri memiliki antioksidan yang lebih rendah dibandingkan dengan antioksidan komersil (Juliani dan Simon, 2002; Siramon dan Ohtani, 2007; Eyob *et al.*, 2008; Pujiarti *et al.*, 2012). Aktivitas antioksidan yang lebih rendah ini kemungkinan disebabkan oleh adanya sesquiterpen hidrokarbon seperti *caryophyllene* dan sesquiterpen teroksigenasi seperti *linalool* pada minyak *C. odorata*, dimana senyawa seperti *linalool* berpotensi sebagai pro-oksidan. Meskipun demikian,

hasil penelitian ini menunjukkan bahwa minyak *C. odorata* memiliki potensi sebagai antioksidan yang lembut. Hal ini disebabkan adanya senyawa utama lain yang terkandung dalam minyak *C. odorata* yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan seperti *benzil benzoate*. Penelitian sebelumnya memperkuat dugaan ini dimana diketahui bahwa *benzil benzoate* dapat memerangkap radikal bebas hidroksil, peroksil, dan alkil, sehingga berpotensi sebagai antioksidan (Schmidt *et al.*, 2006; Amalia *et al.*, 2013). Minyak *C. odorata* dengan kandungan antioksidan yang lembut ini dapat digunakan untuk berbagai kegunaan seperti pada campuran bahan kosmetik, obat oles, makanan, minuman, dan lain-lain.

Tabel 6. Antioksidan dan IC₅₀ minyak *C. odorata* dengan metode DPPH

Sampel	Konsentrasi (mg/ml)	Antioksidan (%)	IC₅₀ (mg/ml)
Minyak <i>C. odorata</i>	1	25,28 ± 0,03	2,29
	2,5	58,22 ± 0,06	
	5	72,21 ± 0,72	
	7,5	75,87 ± 2,53	
	0,02	43,47 ± 0,41	
BHA (<i>butylated hydroxyanisole</i>)	0,05	71,41 ± 0,14	0,03
	0,08	82,09 ± 0,23	

Jasminum sambac

Uji Antioksidan dari sampel tanaman dianalisis dengan metode DPPH dan aktivitas pembilasan DPPH dalam sampel tanaman ditentukan dalam persentase dan dibandingkan dengan senyawa standar. Ekstrak etanol dan metanol dari *Jasminum sambac* ditentukan untuk aktivitas antioksidan dengan uji DPPH dan ditemukan bahwa ekstrak metanol menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih baik bila dibandingkan dengan ekstrak etanol. persentase DPPH meningkat dengan peningkatan konsentrasi sampel. *Jasminum sambac* memiliki aktivitas antioksidan rendah ditemukan di bawah 50% bahkan setelah 1000 μ l sampel *Jasminum sambac* varietas kultivar dengan pelarut yang berbeda yaitu etanol dan methanol dianalisis untuk properti antioksidan dengan uji DPPH, di mana aktivitas dari DPPH ditentukan. Kedua pelarut menunjukkan jenis aktivitas antioksidan yang berbeda. sampel ekstraksi metanol yang diekstraksi menunjukkan aktivitas pembilasan DPPH yang lebih baik ketika dibandingkan dengan sampel ekstrak pelarut etanol. Sampel ekstrak metanol menunjukkan 50% aktivitas pemulungan dengan volume 700 μ l sampel sedangkan, sampel ekstrak etanol tidak menunjukkan 50%. Pengurangan DPPH bahkan dengan 1000 μ l sampel.

Rosa hybrida

Aktivitas pembilasan radikal dari ekstrak metanol *Rosa hybrida*. ditentukan dari kemampuan pendinginan radikal DPPH. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak tumbuhan berkorelasi dengan fenolat total daripada dengan senyawa fenolik individu, sehingga kandungan fenol total diselidiki dalam penelitian ini. Penting untuk menyatakan bahwa fenol berbeda mengembangkan aktivitas yang berbeda, tergantung pada struktur kimianya (asam fenolik, flavonol,

antosianidin, stilbens) dan kapasitas untuk mencari radikal bebas dari kelas-kelas senyawa ini berbeda. Sifat antioksidan dari satu senyawa dalam kelompok dapat berbeda, itu sebabnya kadar senyawa fenolik yang sama tidak selalu sesuai dengan tanggapan antioksidan yang sama.

Metode uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan DPPH didasarkan pada pengukuran penurunan serapan DPPH pada panjang gelombang maksimalnya yang sebanding dengan konsentrasi penghambat radikal bebas yang ditambahkan kepada larutan DPPH. Aktivitas ini dinyatakan dalam nilai konsentrasi efektif (*Effective Concentration*), EC50 atau IC50. Blois (1958) dalam (Molyneux, 2004) menyebutkan bahwa ekstrak tanaman yang memiliki nilai IC50 kurang dari 200 µg/ml berdasarkan pengujian metode DPPH tergolong beraktivitas kuat sebagai antioksidan.

Hasil uji aktivitas secara kuantitatif menunjukkan bahwa ekstrak n-heksana memiliki nilai IC50 170,31 µg/ml, ekstrak etil asetat memiliki nilai IC50 103,42 µg/ml, dan ekstrak etanol memiliki nilai IC50 45,26 µg/ml. Berdasarkan metode Blois ini ketiga ekstrak dinyatakan memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dengan ekstrak etanol sebagai ekstrak teraktif. Sebagai pembanding, digunakan kuersetin yang memiliki nilai IC50 1,14 µg/ml. Nilai IC50 ekstrak yang diperoleh jauh lebih besar dari nilai IC50 kuersetin disebabkan kuersetin sudah dalam bentuk senyawa murni, sedangkan ekstrak mengandung berbagai senyawa yang beraktivitas tidak sinergis atau seragam sebagai antioksidan.

BAB V

KESIMPULAN

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini adalah :

1. Hasil rendemen minyak atsiri dari ekstrak bunga *C. odorata*, *J. sambac*, dan *Rosa hybrida* berturut-turut adalah 0,092%, 0,157%, 0,023 %
2. Dari uji bioaktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*, minyak atsiri dari ekstrak bunga *C. odorata*, *J. sambac* dengan pelarut etil asetat memiliki zona hambat terbaik, yaitu berturut-turut sebesar 8,3 mm dan 7,2 mm. Untuk Minyak atsiri bunga *Rosa hybrida* memiliki zona hambat terbaik dengan pelarut kloroform yaitu sebesar 6,2 mm
3. Ekstrak minyak atsiri bunga dari *C. odorata* dan *Rosa hybrida* memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC50 berturut-turut adalah 2,29 mg/ml dan 1,14 mg/ml, sedangkan ekstrak bunga *J. sambac* tidak memiliki aktivitas antioksidan.
4. Ekstrak minyak atsiri bunga *C. odorata*, *J. sambac*, dan *Rosa hybrida* memiliki aktivitas antibakteri, sedangkan antioksidan dimiliki oleh ekstrak minyak atsiri *C. odorata* dan *Rosa hybrida*

BAB VI DAFTAR PUSTAKA

- Adams, R.P. (2001). Identification of essential oil components by gas chromatography / quadrupole mass spectroscopy. Carol Stream, IL: Allured Publishing Corporation.
- Amalia RU, Rurini R, & Unggul PJ. 2013. Pengaruh konsentrasi minyak *C. odorata* (*Cananga odorata*) terhadap aktivitasnya sebagai antiradikal bebas. *J. Kimia Student* **1(2)**, 264-268
- Atun, S., 2010. "Pemanfaatan Bahan Bumi Indonesia Menuju Riset Yang Berkualitas Internasional". *Seminar Nasional Kimia 2010*, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam UNY, Yogyakarta.
- Boelens, MH dan Boelens. 1997. Differences in Chemical and Sensory Properties of Orange Flower and Rose Oils Obtained from Hydrodistillation and from Supercritical CO₂ Extraction. *Parfume and Flavorist*. 2:31-60.
- Buccellato F. 1982. Ylang survey. *J. Perfum Flavor* **7**, 9-12.
- Celotti, F. and Laufer, S. 2001. Anti-inflammatory drugs: new multitarget compounds to face an old problem. The dual inhibition concept. *Pharmalogical Research*. Vol. 43 (5): 429-436.
- Dusturia, Nida ., Hikamah, Siti Roudlotul., Sudiarti, Diah. 2016. "Efektivitas Antibakteri Bunga *C. odorata* (*Cananga odorata*) dengan Metode Konvensional Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*". *Jurnal Bioshell* 5: 324 – 332 326 .
- Dzen, S.M, dkk, 2003, **Bakteriologi Medik**, Bayu Media Publishing, Malang
- Entjang, Indan, 2003, Mikrobiologi dan Parasitologi Untuk Akademi Keperawatan dan sekolah tenaga kesehatan yang sederajat, PT.Citra Aditya Bakti, Bandung
- Facciola S. 1990. *Canaga odorata – Ylang–Ylang*. Cornucopia: A Source Book of Edible Plants. Kampong Publications, Vista, CA. 12.
- Fardiaz, S., 1993, Analisa Mikrobiologi Pangan, Raja Grafindo Perkasa, Jakarta.
- Ferdiansyah, A.P.P., Zulfikar., Mahfud, 2010, *Analisis Pengaruh Arah Aliran Steam dan Massa Bunga C. odorata untuk Mendapatkan Minyak C. odorata yang Memiliki Kualitas dan Rendemen Optimum dengan Menggunakan Metode Distilasi Uap*

(*Steam Distillation*), Fakultas Teknologi Industri, Institut Teknologi Sepuluh November

- Guanther, E. 1987. *The essential oils*. Van Nostrand Reinhold Company. New York. 5:3-56.
- Gurib-Fakim A (2006). Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Mol Aspects Med* 27: 1 – 93
- Halliwell, B and Gutteridge, J.M.C. 1999. *Free Radicals in Biology and Medicine*, Third Edition, Oxford University Press, New York.
- Hatta S. 1993. *Budidaya C. odorata*. Kanisius Press. 11-12.
- Hetik, Moch. Dawam M, 2013. *Pengaruh Jenis Adsorben Terhadap Kualitas Minyak Atsiri Pada Dua Kultivar Bunga Sedap Malam (Poli anthes tuberosa)*. Malang.
- Jawetz, E., Melnick, J., dan Adelberg, E., 2005, *Mikrobiologi Kedokteran*, 362, Salemba Medika, Jakarta.
- Juniarti, D. Osmeli dan Yuhernita. 2009. *Kandungan Senyawa Kimia, Uji Toksisitas (Brine Shrimp Lethality Test) dan Antioksidan (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) dari Ekstrak Daun Saga (Abrus precatorius l.)*. *Makara Sains*, 13 (1) : 50-54
- Ketaren S. 1985. *Pengantar Teknologi Minyak Atsiri*. Balai Pustaka. Jakarta
- Krisnaningsih FMM, Widya A, Wibowo MH. 2005. Uji sensitivitas isolat E. coli patogen pada ayam terhadap beberapa jenis antibiotik. *J Sain Vet* 1(1): 13-18
- Kovats, E. (1965). Gas chromatographic characterisation of organic substances in the retention index system. *Advance in Chromatography*. 1: 229-247.
- Kurniawan K, 2011. *Pengaruh Campuran Lemak Sapi dan Margarin serta Jenis Pelarut dalam Proses Ekstraksi Minyak J. sambac Menggunakan Sistem Enflurage*. Malang.
- Lambert M, et al. 1997. Genetic analysis of regulatory mutants affecting synthesis of extracellular proteinases in the yeast *Yarrowia lipolytica*: identification of a RIM101/pacC homolog. *Mol Cell Biol* 17(7):3966-76
- Leland, J. C., Ara K., Peter B. K., Sara L. W., James A. D. and Harry L. B. 2006. *Natural products from plants*. Taylor and Francis Group. Florida, USA.
- Lenny, S. 2006. *Senyawa Flavonoida, Fenilpropanoida dan Alkaloida*. [Karya Ilmiah]. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sumatera Utara, Medan
- Ling, S.K., Tanaka, T. And Kouno, I. 2005. Lipoxygenase and hyaluronidase inhibitory activities of constituents from *Phyllagathis rotundifolia* and *Carallia brachiata*. *Malaysian Journal of Science*. 24: 247-252.

- Luqman L & Rahmayanti Y. 1994. *Produksi dan Perdagangan Minyak Atsiri*. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Megawati and S. W. D Saputra. 2012,. “A Combination of Water-Steam Distillation and Solvent Extraction of *Cananga odorata* Essential Oil”. *Journal of Engineering*, 2, pp: 05-12.
- Molyneux, P. 2004. *The Use Of Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazil (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity*. *Sonklanakar J. Sci. Technol.*, 26, 212-213.
- Pare, J.R., Sigouin, M. and Lapointe, J. (1989). Microwave assisted natural product extraction. *Brevet App.*
- Pokorny, J., Yanishlieva, N., & Gordon, M. 2001. *Antioxidants in Food, Practical Applications*. Inggris: Cambridge Woodhead publishing limited
- Rachmawati, Ranny Cahya., Retnowati, Rurini., Juswono, Unggul P. 2013. “Isolasi Minyak Atsiri *C. odorata* (*Cana Nga Odorata*) Menggunakan Metode Distilasi Uap Termodifikasi Dan Karakterisasinya Berdasarkan Sifat Fisik Dan KG-SM”. *Kimia.Student Journal Universitas Brawijaya Malang*, Vol. 1, No. 2, pp. 276-282.
- Refdanita, Maksum R, Nurgani, Endang. 2004. Pola kepekaan kuman terhadap antibiotika di ruang rawat intensif rumah sakit fatmawati jakarta tahun 2001 – 2002. *Makara kesehatan*, Vol. 8, No. 2, Desember : 41-48. Jakarta
- Sani, N.S., R. Racchmawati, dan Mahfud. 2012. **Pengambilan Minyak Atsiri dari *J. sambac* dengan Metode Enfluerasi dan Ekstraksi Pelarut Menguap**. *Jurnal Teknik Pomits* 1(1): 1-4.
- Sacchetti, G., Silvia, M., Mariavittoria, M., Scaglianti, M., Manfredini, S., Matteo, R. and Renato, B. 2006. *Comparative Evaluation of 11 Essential Oils of Different Origin as Functional Antioxidants, Antiradicals and Antimicrobials in Foods* . Dipartimento delle Risorse Naturali e Culturali, Lab. Biologia farmaceutica, Italy.
- Setyawati, Agustina. 2015. “Peningkatan Resistensi Kultur Bakteri *Staphylococcus aureus* terhadap Amoxicillin Menggunakan Metode Adaptif Gradual”. *Jurnal Farmasi Indonesia* 7(3). Universitas Sanata Dharma.
- Sumarni. 2008. *Pengaruh Volume Air dan Berat Bahan pada Penyulingan Minyak Atsiri*. Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknologi Industri Institut Sains dan Teknologi AKPRIND, Yogyakarta.
- Susanto, Eko. 2014.” *Escherichia coli* yang Resisten Terhadap Antibiotik yang Diisolasi dari Ayam Broiler dan Ayam Lokal di Kabupaten Bogor”.*Thesis*. Institut Pertanian Bogor

- Svoboda, K.P. and Deans, S.G. 1992. A study of the variability of rosemary and sage and their volatile oils on the British market: their anti-oxidative properties. *Flavour and Fragrance Journal*. 7: 81-87.
- Windi 2014. "Daya Hambat Minyak Atsiri *R. hybrida*(*Rosa damascena* Mill) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureu*”s. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin Makassar
- Syahrurachman, A., dkk.,2003. **Buku ajar Mikrobiologi Kedokteran**, Bina Rupa Aksara, Jakarta
- Winarsi, Hery. 2007. *Antioksidan Alami & Radikal Bebas Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan*. Kanisius. Yogyakarta
- Pujiarti, Rini., Widowati, Titis Budi., Kasmudjo, & Sunarta, Sigit. 2015. 'Kualitas, Komposisi Kimia, dan Aktivitas Antioksidan Minyak *C. odorata* (*Cananga odorata*)”'. *Jurnal Ilmu Kehutanan* 9(1)
- Regina, Aniceta., Aliya, Rahma. 2017.”Analisa Kualitatif Minyak Atsiri Hasil Ekstraksi Bunga *J. sambac* (*Jaminum sambac*) Dengan Metode *Enflurage* Menggunakan Vaseline Album Dan Margarin Kuning” *Jurnal Permata Indonesia Politeknik Kesehatan Permata Indonesia Yogyakarta* 8(10): 67-78p