

**DAYA HAMBAT MINYAK ATSIRI KULIT BUAH JERUK NIPIS (*Citrus
aurantifolia* S) MERK "X" TERHADAP *Pityrosporium ovale* SECARA IN
VITRO**

Karya Tulis Ilmiah

Karya Tulis Ilmiah Diajukan untuk Melengkapi Tugas-tugas dan
Memenuhi Syarat-syarat Mencapai Jenjang Pendidikan
Diploma III Analis Kesehatan

Oleh :

TIASMARA HIDAYAT

20115127



**PROGRAM STUDI DIII ANALIS KESEHATAN
STIKes BAKTI TUNAS HUSADA
TASIKMALAYA
2018**

HALAMAN PERSETUJUAN

Karya tulis ini telah disetujui untuk diujikan pada sidang Karya Tulis Pendidikan Tinggi Diploma III Analisis Kesehatan STIKes Bakti Tunas Husada Tasikmalaya.

Tasikmalaya, 11 Juli 2018

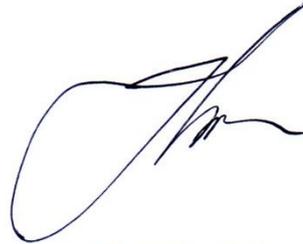
Disetujui,

Pembimbing Utama



Dewi Peti Virgianti, M.Si

Pembimbing Teknis



Khusnul, M.Si

HALAMAN PERSETUJUAN

Karya tulis ini telah diujikan pada Sidang Karya Tulis Pendidikan Tinggi
Diploma III Analis Kesehatan, STIKes Bakti Tunas Husada Tasikmalaya.

Tasikmalaya, 2 Agustus 2018

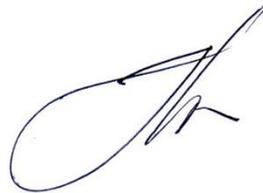
Disetujui,

Pembimbing Utama

Pembimbing Teknis



Dewi Peti Virgianti, M.Si



Khusnul, M.Si

Diketahui,

Ketua Program Studi DIII Analis Kesehatan
STIKes Bakti Tunas Husada Tasikmalaya



Hj. Meti Kusmiati, M.Si

HALAMAN PENGESAHAN

Karya tulis ini telah diujikan pada Sidang Karya Tulis Pendidikan Tinggi Diploma III Analis Kesehatan, STIKes Bakti Tunas Husada Tasikmalaya pada Tanggal 23 Juli 2018 dan telah diperbaiki sesuai dengan masukan tim penguji.

Tasikmalaya, 2 Agustus 2018

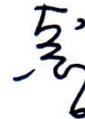
Tim Penguji

Penguji I



dr. Dewi Kania Yulianti, Sp. PK

Penguji II



Tanendri Arrizqiyani, M.Si

Penguji III



Dewi Peti Virgianti, M.Si

HALAMAN PENGESAHAN

Karya tulis ini telah diujikan pada Sidang Karya Tulis Pendidikan Tinggi Diploma III Analis Kesehatan, STIKes Bakti Tunas Husada Tasikmalaya pada Tanggal 23 Juli 2018 dan telah diperbaiki sesuai dengan masukan tim penguji.

Tasikmalaya, 2 Agustus 2018

Disetujui,
Pembimbing Utama
Karya Tulis Ilmiah



Dewi Peti Virgianti, M.Si

Diketahui,

Ketua STIKes
Bakti Tunas Husada Tasikmalaya

Ketua Program Studi
DIII Analis Kesehatan

Hj. Enok Nurliawati, S.Kp., M.Kep



Hj. Meti Kusmiati, M.Si

ABSTRAK

Buah jeruk nipis umumnya digunakan sebagai bahan campuran alami untuk mengobati penyakit batuk, ketombe, dan lain sebagainya. Pemanfaatan kandungan kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia S*) berupa minyak atsiri diketahui dapat berfungsi sebagai antifungi. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui daya hambat minyak atsiri kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia S*) merk “X” terhadap pertumbuhan *Pityrosporum ovale* secara *in vitro*.

Penelitian ini bersifat eksperimental, subjek penelitian menggunakan minyak atsiri jeruk nipis (*Citrus aurantifolia S*) merk “X” dan objek penelitian menggunakan isolat murni *Pityrosporum ovale* pada media SDA dengan kepadatan 0,5 Mc Farland. Penelitian ini menggunakan 12 kelompok perlakuan yakni kontrol negatif minyak VCO, kontrol positif Ketokonazol 2%, minyak atsiri konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 100% yang diujikan dengan metode Kirby-Bauer.

Dari hasil penelitian, dapat diketahui bahwa pada semua konsentrasi minyak atsiri dapat menghambat pertumbuhan jamur yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona jernih. Diameter zona hambat terbesar ditunjukkan pada konsentrasi 100% yaitu sebesar 41 mm.

Berdasarkan hasil penelitian, minyak atsiri kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia S*) merk “X” mampu menghambat pertumbuhan *Pityrosporum ovale* secara *in vitro*.

Kata Kunci : *Citrus aurantifolia S*, *Pityrosporum ovale*, daya hambat, minyak atsiri.

KATA PENGANTAR

Puji serta syukur penulis panjatkan atas kehadiran Allah SWT yang telah memberikan petunjuk, rahmat dan hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan karya tulis ilmiah yang berjudul ***“Daya Hambat Minyak Atsiri Kulit Buah Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia* S) Merk “X” Terhadap *Pityrosporum ovale* Secara In Vitro*”**. Tujuan penulis menulis karya tulis ini yaitu untuk memenuhi salah satu bukti tertulis telah dilaksanakannya penelitian sebagai tugas akhir Semester VI Program Studi DIII Analis Kesehatan STIKes Bakti Tunas Husada Tasikmalaya.

Karya tulis ini terdiri dari beberapa bab diantaranya ; Bab 1 Pendahuluan, Bab 2 Tinjauan Pustaka, Bab 3 Metodologi Penelitian, Bab 4 Hasil Penelitian dan Pembahasan, dan Bab 5 Kesimpulan dan Saran. Disiplin ilmu yang mempelajari tentang jamur disebut mikologi. Mikosis merupakan penyakit yang disebabkan oleh jamur baik superfisial maupun sistemik. Ketombe merupakan keadaan abnormal pada kulit kepala yang ditandai dengan mengelupasnya kulit mati berwarna putih seperti sisik yang menimbulkan rasa gatal. Pemilihan judul karya tulis ilmiah ini dimaksudkan untuk mengetahui daya hambat minyak atsiri kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* S) sebagai herbal antifungi secara *in vitro* terhadap jamur penyebab ketombe pada manusia yakni *Pityrosporum ovale*.

Penulisan karya tulis ini melibatkan banyak pihak yang telah membantu, mendukung, mengarahkan, dan memberi masukan kepada penulis, baik secara material, moril, maupun spiritual. Oleh karena itu, dengan selesainya penulisan karya tulis ini penulis mengucapkan terimakasih kepada ;

1. Hj. Enok Nurliawati, S.Kp., M.Kep, selaku Ketua STIKes Bakti Tunas Husada Tasikmalaya.
2. Hj. Meti Kusmiati, M.Si, selaku Ketua Program Studi DIII Teknologi Laboratorium Medis STIKes Bakti Tunas Husada Tasikmalaya.
3. Dewi Peti Virgianti, M.Si, selaku Pembimbing Utama dalam penyusunan karya tulis ini.
4. Khusnul, M.Si, selaku Pembimbing Teknis dalam penyusunan karya tulis ini.
5. Orang tua, saudara serta teman-teman penulis yang telah membantu menyelesaikan karya tulis ini.

Penulis menyadari bahwa penulisan karya tulis ini masih jauh dari kata sempurna, sehingga penulis mengharapkan kritik dan saran dari pembaca untuk perbaikan penulisan karya tulis selanjutnya.

Tasikmalaya, 11 Juli 2018

Penulis

DAFTAR ISI

| | |
|---|-------------|
| ABSTRAK | ii |
| KATA PENGANTAR..... | iii |
| DAFTAR ISI..... | v |
| DAFTAR GAMBAR..... | viii |
| DAFTAR TABEL | ix |
| BAB 1 PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1 Latar Belakang | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah | 5 |
| 1.3 Pembatasan Masalah | 5 |
| 1.4 Tujuan Penelitian..... | 5 |
| 1.5 Manfaat Penelitian..... | 6 |
| 1.6 Waktu dan Tempat Penelitian | 6 |
| BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA..... | 7 |
| 2.1 Jeruk Nipis..... | 7 |
| 2.1.1 Tanaman Jeruk Nipis..... | 7 |
| 2.1.2 Klasifikasi..... | 7 |
| 2.1.3 Morfologi | 8 |
| 2.1.4 Kandungan Kimia Buah Jeruk Nipis..... | 8 |
| 2.1.5 Manfaat Jeruk Nipis | 9 |
| 2.2 Minyak Atsiri | 9 |
| 2.2.1 Metode Pemisahan Minyak Atsiri..... | 10 |

| | | |
|--------------|--|-----------|
| 2.2.2 | Komponen Senyawa dan Potensi Antifungi Minyak Atsiri | |
| | Kulit Buah Jeruk Nipis..... | 11 |
| 2.3 | <i>Seborrhoeic Dermatitis</i> / Ketombe..... | 13 |
| 2.3.1 | Definisi | 13 |
| 2.3.2 | Faktor Penyebab Ketombe | 14 |
| 2.3.3 | Patogenesis | 15 |
| 2.4 | Jamur | 15 |
| 2.5 | <i>Pityrosporum ovale</i> | 16 |
| 2.5.1 | Taksonomi | 16 |
| 2.5.2 | Morfologi | 16 |
| 2.6 | Antifungi | 17 |
| 2.6.1 | Uji Daya Hambat Antifungi | 19 |
| 2.7 | Anggapan Dasar | 20 |
| BAB 3 | METODOLOGI PENELITIAN | 22 |
| 3.1 | Metode Penelitian..... | 22 |
| 3.2 | Alat..... | 23 |
| 3.3 | Bahan | 23 |
| 3.4 | Prosedur | 24 |
| 3.4.1 | Pembuatan Variasi Konsentrasi Minyak Atsiri Kulit | |
| | Buah Jeruk Nipis | 24 |
| 3.4.2 | Pembuatan Suspensi Jamur <i>Pityrosporum ovale</i> | 25 |
| 3.4.3 | Uji Daya Hambat Antifungi..... | 26 |
| BAB 4 | HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN | 27 |

| | |
|---|-----------|
| BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN | 36 |
| 5.1 Kesimpulan | 36 |
| 5.2 Saran..... | 36 |

DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN

DAFTAR GAMBAR

| | |
|---------------------|----|
| 1. Gambar 2.1 | 8 |
| 2. Gambar 2.1 | 13 |
| 3. Gambar 2.3 | 17 |
| 4. Gambar 4.1 | 28 |
| 5. Gambar 4.2 | 28 |
| 6. Gambar 4.3 | 32 |

DAFTAR TABEL

| | |
|-------------------|----|
| 1. Tabel 3.1..... | 23 |
| 2. Tabel 3.2..... | 23 |
| 3. Tabel 3.3..... | 24 |
| 4. Tabel 4.1..... | 30 |

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Infeksi jamur kulit banyak ditemukan di Indonesia yang merupakan negara tropis beriklim panas dan lembab serta perilaku masyarakat yang kurang sehat dan bersih mendorong terjadinya fenomena tersebut. Mikosis adalah penyakit yang disebabkan oleh jamur. Penyakit jamur atau mikosis yang mempunyai insidensi cukup tinggi ialah mikosis superfisialis. Penyakit yang termasuk mikosis superfisialis adalah dermatofitosis dan nondermatofitosis, yang terdiri atas berbagai penyakit diantaranya *Seborrhoeic dermatitis*, yang lebih dikenal sebagai ketombe (Cahyono, 2008).

Ketombe merupakan salah satu penyakit yang disebabkan oleh jamur *Malassezia sp* dan ditandai dengan terjadinya pengelupasan serpihan kulit mati secara berlebihan yang berwarna putih pada kepala penderita ketombe. Berdasarkan data dari International Date Base, US Sensus Bureau tahun 2004 prevalensi populasi masyarakat Indonesia yang mengalami penyakit dermatitis seboroik atau ketombe adalah 43.833.262 dari 238.452.952 jiwa dan menempati urutan ke empat setelah Cina, India, dan US. Ketombe merupakan bentuk ringan dari dermatitis seboroik yang dijumpai sekitar 15-20% dari angka populasi yang sering dijumpai pada pria maupun wanita (Sinaga, 2012). Meskipun ketombe bukan merupakan penyakit yang serius di lingkungan masyarakat, tetapi sekarang ini ketombe merupakan salah satu masalah yang

menonjol di lingkungan masyarakat umum. Ketombe dapat menurunkan rasa percaya diri seseorang karena dapat mengganggu penampilan pada rambut manusia dan menyebabkan rasa gatal di kepala yang menimbulkan ketidaknyamanan serta potensial terjadi infeksi pada kulit kepala apabila dermatitis seboroik tersebut sering digaruk sehingga menimbulkan luka yang cukup serius (Jones, 2010).

Ketombe dapat disebabkan oleh pertumbuhan secara berlebihan dari jamur *Pityrosporum ovale* yang merupakan *strain* dari jamur *Malassezia furfur* pada kulit kepala (Gemmer *et al.*, 2002). Penderita berketombe pada umumnya mencari pengobatan sendiri terutama dengan membeli shampo antiketombe, namun kenyataannya obat-obat antiketombe hanya mampu mengontrol ketombe tetapi tidak dapat menyembuhkannya. Selain itu, pengobatan menggunakan zat sintetik antiketombe seringkali menyebabkan iritasi pada kulit kepala bagi orang yang kurang cocok dengannya dan dapat menimbulkan kerusakan pada struktur rambut apabila terlalu sering digunakan dalam jangka waktu yang lama (Sinaga, 2012).

Indonesia merupakan negara yang subur dan kaya akan rempah-rempah yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku makanan maupun obat-obatan. Kekayaan alam tersebut dapat dikembangkan dengan pengelolaan penggunaan bahan alamiah secara berkesinambungan (Murtie, 2013). Pada zaman dahulu telah dikenal banyak obat-obatan yang dibuat dari bahan alam seperti kunyit, jahe, bawang putih, lidah buaya, jeruk nipis, lengkuas, dan lain-lain untuk produksi jamu ataupun obat herbal lainnya. Kemajuan ilmu pengetahuan dan

teknologi yang semakin modern ternyata tidak dapat mengesampingkan penggunaan obat-obatan tradisional yang sudah dikenal sejak zaman nenek moyang dahulu. Hal tersebut terjadi karena obat-obatan tradisional terbukti tidak mempunyai efek samping yang membahayakan seperti yang ditimbulkan oleh obat sintetis meskipun dalam dalam dosis yang tepat (Thomas, 1989).

Penelitian yang telah dilakukan oleh Lee JH dan Lee JS (2010) mengenai bahan alam yang berpotensi sebagai anti-*Malassezia* secara *in vitro* beberapa diantaranya adalah minyak essensial yang terdapat pada bawang putih (*Allium sativum L*), jahe (*Zingiber officinale R*), cengkeh (*Eugenia caryophyllata T*), dan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia S*).

Pemanfaatan buah jeruk nipis secara umum yaitu digunakan sebagai bahan alami untuk mengobati batuk dan penyakit kulit. Banyaknya pemanfaatan buah jeruk nipis yang semakin meningkat baik dari segi industri kosmetik maupun farmasi sekarang ini menimbulkan banyaknya bagian yang tersisa dari buah jeruk nipis itu sendiri yang jarang dimanfaatkan oleh masyarakat dan sering menjadi limbah organik tak bernilai. Bagian tersebut adalah kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia S*) (Latief, 2012). Kulit buah jeruk nipis tersebut dapat dimanfaatkan jika dilakukan pengolahan lebih lanjut sesuai keperluannya. Salah satu tindakan untuk mengurangi jumlah limbah kulit buah jeruk nipis yang tidak dimanfaatkan yaitu dengan pengolahan lebih lanjut dengan pengambilan dan pemanfaatan senyawa-senyawa yang ada didalam kulit buah jeruk nipis baik dengan metode destilasi, pengepresan, ataupun ekstraksi guna penelitian yang berhubungan dengan senyawa tersebut.

Kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* L.) mengandung bioflavonoid, minyak atsiri (sitrin, limonen, felandren, terpineol), dan asam sitrat (Gendrowati, 2015). Kandungan minyak atsiri jenis limonen didalamnya yang telah diteliti oleh Lee JH dan Lee JS (2010) terbukti bersifat sebagai zat antifungi.

Jenis uji daya hambat antifungi yang banyak dilakukan beberapa diantaranya adalah metode dilusi yakni dilusi cair dan dilusi padat, dan metode difusi yakni difusi cakram dan difusi sumuran (Pratiwi, 2008). Berdasarkan penelitian Lee JH dan Lee JS (2010) minyak atsiri buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* L.) dengan konsentrasi 0,2% efektif dalam menghambat pertumbuhan jamur *Malassezia furfur* pada metode difusi cakram secara *in vitro* dengan zona hambat yang sebanding dengan obat antifungi itraconazole 0,2% dengan diameter sebesar 2,6 cm.

Berdasarkan latar belakang tersebut maka dilakukan penelitian untuk menguji daya hambat senyawa antifungi pada minyak atsiri kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* L.) merk "X" dengan berbagai variasi konsentrasi terhadap pertumbuhan jamur *Pityrosporum ovale* dengan menggunakan metode difusi cakram secara *in vitro*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas dapat dirumuskan permasalahan yaitu ;

- 1.) “Apakah minyak atsiri kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* S) merk “X” mampu menghambat pertumbuhan *Pityrosporum ovale* secara *in vitro* ?”.
- 2.) “Berapakah diameter daya hambat yang terbentuk pada setiap konsentrasi minyak atsiri kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* S) merk “X” dalam menghambat pertumbuhan *Pityrosporum ovale* secara *in vitro* ?”.

1.3 Pembatasan Masalah

Berdasarkan rumusan masalah di atas peneliti membatasi masalah yang akan diteliti diantaranya mengetahui daya hambat berupa zona bening yang terbentuk dari minyak atsiri kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* S) merk “X” pada konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, kontrol positif Ketokonazole 2%, dan kontrol negatif minyak kelapa VCO terhadap pertumbuhan jamur *Pityrosporum ovale* secara *in vitro*.

1.4 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk sebagai berikut ;

- 1.) Mengetahui kemampuan minyak atsiri kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* S) merk “X” dalam menghambat *Pityrosporum ovale* secara *in vitro*.

- 2.) Mengetahui diameter daya hambat yang terbentuk pada setiap konsentrasi minyak atsiri kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* S) merk “X” dalam menghambat *Pityrosporum ovale* secara *in vitro*.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat yang ingin diperoleh dari penelitian ini antara lain ;

- 1.) Memberikan informasi ilmiah tentang senyawa minyak atsiri kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* S) merk “X” dan komponen didalamnya yang berpotensi sebagai antifungi alami.
- 2.) Memberikan informasi ilmiah mengenai kemampuan daya hambat minyak atsiri kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* S) merk “X” dalam menghambat pertumbuhan *Pityrosporum ovale* secara *in vitro*.

1.6 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April s/d Juni 2018 di Laboratorium Parasitologi STIKes Bakti Tunas Husada Tasikmalaya.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Jeruk Nipis

2.1.1 Tanaman Jeruk Nipis

Tanaman jeruk nipis berasal dari kepulauan Hindia Timur, di Indonesia tanaman ini dapat ditemukan pada ketinggian 1-1.000 m dpl. Jeruk nipis yang tumbuh di Indonesia berasal dari Birma Utara, Cina Selatan, India Utara, tepatnya di Himalaya (Dalimartha, 2000).

2.1.2 Klasifikasi

Klasifikasi tanaman jeruk nipis adalah sebagai berikut (Sarwono, 2001) ;

Kingdom : Plantae

Division : Spermatophyta

Subdivision : Angiospermae

Class : Dicotyledonae

Ordo : Rurales

Family : Rutaceae

Genus : Citrus

Species : *Citrus aurantifolia* Swingle

Sinonym : *Citrus aurantium Latifolia*, *Citrus medica* Linn,
Citrus limonellus Miq, *Citrus javanica* Blume (Dalimartha, 2000)

2.1.3 Morfologi

Jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) termasuk salah satu jenis citrus (jeruk). Jeruk nipis termasuk jenis tumbuhan perdu yang banyak memiliki dahan dan ranting. Tanaman ini memiliki cabang yang lebat tetapi tidak beraturan dengan tinggi 1,5–3,5 m dan berbatang bulat, berduri pendek, kaku, dan tajam. Mempunyai daun tunggal dengan tangkai daun bersayap sempit. Helaian daun berbentuk jorong sampai bundar lonjong, pangkal bulat, ujung tumpul, tepi beringgit, permukaan atas berwarna hijau tua mengilap, permukaan daun bagian bawah berwarna hijau muda, panjang 2,5–9 cm, dan lebar 2–5 cm. Buahnya buah buni, berbentuk bulat sampai lonjong, diameter 2,5-5 cm, berkulit tipis tanpa benjolan, berwarna hijau yang akan menjadi kuning jika matang, rasanya asam, dan bijinya banyak, kecil, licin, bulat telur seperti pada Gambar 2.1 (Dalimartha, 2000, dan Thomas, 1989).



Gambar 2.1
Kulit Buah Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia* S)
Sumber : Indra, 2016

2.1.4 Kandungan Kimia Buah Jeruk Nipis

Jeruk nipis mengandung minyak terbang limonene dan linalool serta memiliki berbagai kandungan senyawa kimia yang bermanfaat

seperti: asam sitrat, asam amino (triptofan dan lisin), minyak atsiri (sital, limonen, lemon kamfer, geranilasetat, linalilasetat, felandren, kadinen, aktaldehid, nonildehid), glikosida, lemak, damar, asam sitrun, kalsium, fosfor, besi, belerang vitamin B1 dan C. Selain itu jeruk nipis juga mengandung saponin dan flavonoid, yaitu hisperidin, naringin, tangeretin, eriocotrin dan eriocitrocid. Buah masak mengandung synephrine dan N-methyltyramine (Dalimartha, 2000).

2.1.5 Manfaat Buah Jeruk Nipis

Di Indonesia jeruk nipis sering dimanfaatkan untuk mengatasi berbagai macam penyakit seperti batuk, sembelit, wasir, haid tak teratur, difteri, jerawat, vertigo, rambut rontok, ketombe, flu, demam, amandel, mimisan, dan panu atau penyakit kulit lainnya (Latief, 2012).

2.2 Minyak Atsiri

Minyak atsiri merupakan minyak mudah menguap yang dihasilkan akar, daun, buah, batang maupun bunga dari berbagai macam tumbuh-tumbuhan. Pada umumnya minyak atsiri dapat diperoleh dengan cara penyulingan, karena prosesnya tidak rumit dan tidak mahal. Cara proses penyulingan ini dimana uap air dialirkan kedalam tumpukan bahan tumbuh-tumbuhan sehingga minyak atsiri tersuling bersama-sama dengan uap air. Setelah pengembunan minyak atsiri akan membentuk lapisan yang terpisah dengan air selanjutnya minyak dihasilkan kemudian dikumpulkan. Minyak atsiri

dapat larut dalam lemak yang terdapat pada kulit, dapat terserap ke dalam aliran darah, tidak merusak lingkungan dan dapat mengalami biodegradasi dan merupakan bagian dari keseimbangan ekosistem selama ribuan tahun (Andria A, 2000).

2.2.1 Metode Pemisahan Minyak Atsiri

a. Metode Penyulingan (Destilasi)

Penyulingan dapat dilakukan dengan cara penyulingan air, penyulingan dengan air dan uap serta penyulingan dengan uap. Destilasi juga dipengaruhi oleh besarnya tekanan uap, bobot molekul dari tiap-tiap komponen yang berada dalam minyak atsiri serta kecepatan pengeluaran minyak atsiri dari simplisia (Lutony dan Rahmayati, 2002).

b. Metode Pengepresan atau Pemerasan

Metode pemerasan atau pengepresan dilakukan terutama untuk minyak-minyak atsiri yang tidak stabil dan tidak tahan pemanasan seperti minyak jeruk (*Citrus*) dan minyak atsiri yang bau dan warnanya berubah akibat pelarut penyari. Metode ini juga hanya cocok untuk minyak atsiri yang rendemennya relatif besar (Gunawan, 2004).

c. Ekstraksi dengan Pelarut Mudah Menguap

Simplisia diestraksi dengan pelarut yang sesuai, seperti heksan, benzen, toluene dan sebagainya dalam suatu ekstraktor. Produk yang dihasilkan berupa masa setengah padat, seperti malam.

Kemudian masa diekstraksi ulang dengan etanol dan didinginkan hingga menghasilkan 2 fraksi, yaitu fraksi pelarut ditambah malam dan minyak atsiri dalam alkohol. Larutan minyak atsiri dalam alkohol yang disuling, pada suhu dan tekanan rendah akan menghasilkan minyak atsiri yang murni (Lutony dan Rahmayati, 2002).

d. Penyarian dengan Lemak Padat

Dilakukan tanpa pemanasan atau pemanasan pada suhu rendah (maserasi) dan hanya menggunakan lemak. Proses ini ditujukan untuk minyak atsiri yang tidak tahan panas atau *enflurage* (Lutony dan Rahmayati, 2002).

2.2.2 Komponen Senyawa dan Potensi Antifungi Minyak Atsiri Kulit

Buah Jeruk Nipis

Menurut Andria A (2000) kulit buah segar dari jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* S) mengandung sekitar 1,25% minyak atsiri dengan komposisi sebagai berikut ; α -Pinena (0,60), β -Pinena (0,72), β -Mirsena (2,70), Limonena (85,25), Osimena (0,68), β -Linalool (0,97), Sitronelal (0,11), Cis-Verbenol (0,08), 1-Sikloheksil-2-buten-1-ol (0,11), 2-Pinen-4-ol (0,22), Linalil propanoat (0,21), Dekanal (0,25), Sitronelol (0,25), Sitral B (3,66), Linalool asetat (0,14), Sitral C (3,80), α -Bergamotena (0,14), dan α -Farnesena (0,10).

Menurut Dongmo *et al.* (2009) berbagai aktivitas yang dimiliki oleh tanaman jeruk nipis diduga berasal dari kandungan jeruk nipis yang berupa minyak atsiri. Minyak atsiri merupakan komponen terbanyak yang terdapat dalam jeruk nipis. Berdasarkan analisis dengan GCMS minyak atsiri terbanyak yang terkandung dalam *Citrus aurantifolia* adalah monoterpen, dan monoterpen terbanyak adalah limonen. Senyawa-senyawa tersebut diduga memiliki aktivitas antifungi. Jeruk nipis dapat digunakan sebagai antifungal alternatif untuk menggantikan fungisida kimia sehingga mengurangi efek berbahaya pada manusia dan lingkungan.

Limonene merupakan golongan monoterpen, yang terbentuk dari dua unit senyawa isoprene. Wujud limonene pada suhu ruang berupa cairan bening sampai kuning muda. Limonene yang ada di alam, ada dua macam yaitu l-limonene dan d-limonene. Kedua isomer tersebut masing-masing memiliki aroma yang berbeda, llimonene beraroma seperti terpentine, sedangkan d-limonene beraroma jeruk (penyebutan limonene pada TA ini merujuk pada d-limonene). Limonene adalah terpen yang relatif stabil dan dapat disuling tanpa dekomposisi, meskipun pada suhu yang tinggi itu terurai membentuk isoprene dan mudah teroksidasi di udara lembab untuk menghasilkan carveol dan carvone (Andria A, 2000).

2.3 *Seborrhoeic Dermatitis* / Ketombe

2.3.1 Definisi

Seborrhoeic dermatitis merupakan keadaan abnormal terjadinya pengelupasan kulit mati pada kepala yang ditandai dengan ciri adanya serpihan kulit seperti sisik berwarna putih dan dapat menimbulkan terjadinya inflamasi pada kulit kepala yang banyak mengandung kelenjar sebaceous seperti pada Gambar 2.2. *Seborrhoeic dermatitis* dapat disebabkan oleh jamur *Malassezia sp* lebih tepatnya ialah *Pityrosporum ovale*. Ketombe adalah *seborrhoeic dermatitis* yang tidak diikuti proses inflamasi yang besar. Ketombe biasa dikenal melalui berbagai istilah medis seperti *Pityriasis capitis*, *Seborrhea sicca*, *Pityriasis sicca*, *Sicca capitis*, atau dermatitis seboroik ringan pada bagian kepala. Ketombe merupakan suatu kelainan yang ditandai oleh adanya skuama yang berlebihan pada kulit kepala yang menunjukkan proses deskuamasi fisiologi yang lebih aktif tanpa disertai tanda-tanda inflamasi (Robbins, 2012).



Gambar 2.2
Kulit Kepala dengan Dermatitis Seboroik
Sumber : Lavana, 2017

2.3.2 Faktor Penyebab Ketombe

a. Hiperproliferasi Sel Epidermis

Ketombe dapat dilihat sebagai gangguan hiperproliferasi dari sel epidermis kulit kepala yang menyebabkan peningkatan produksi sel tanduk yang mengalami deskuamasi (Plowing, 2003).

b. Genetik

Dikatakan bahwa faktor genetik memiliki peran penting dalam patogenesis ketombe, karena bila *Pityrosporum ovale* terdapat sendirian tanpa faktor predisposisi genetik tidak mungkin menginduksi ketombe (Wijaya, 2001).

c. Produksi Sebum

Produksi sebum oleh kelenjar sebacea merupakan faktor penting bagi pertumbuhan *Pityrosporum ovale* yang bersifat lipofilik atau lipid-dependent. Sekresi sebum akan mulai menurun meskipun ukuran kelenjar sebacea bertambah (Ong, 2009).

d. Iritasi Mekanis dan Kimia

Faktor fisik seperti pH, tanspor CO₂ dan kandungan air mempengaruhi kejadian ketombe dimana suhu dan kelembaban rendah akan memperburuk ketombe, tetapi peningkatan suhu dan kelembaban pun meningkatkan risiko terjadinya ketombe (Bramono, 2002).

e. Stres

Stress emosional dapat meningkatkan kadar asam lemak bebas yang merupakan salah satu dari sernyawa yang akan membentuk sebum (Wijaya, 2001).

f. Nutrisi

Defisiensi Biotin, abnormalitas metabolisme asam lemak bebas juga diduga sebagai mekanisme penyebab ketombe. Selain itu defisiensi riboflavin atau piridoksin juga dikaitkan dengan ketombe (Plowing, 2003).

2.3.3 Patogenesis

Dalam lesi penyakit dermatitis seboroik dapat ditemukan adanya limfosit, makrofag, monosit, dan sel-sel Langerhans dengan beberapa granulosit serta terjadi peningkatan sel NK1 dan CD16 yang menunjukkan adanya reaksi iritasi *nonimmunogenic* (Ashbee, 2002).

2.4 Jamur

Jamur adalah organisme eukariotik yang berbeda dari tanaman karena tidak memiliki klorofil. Terdapat jamur makroskopis (*mushroom*) atau mikroskopis (kapang dan ragi). Hanya beberapa spesies jamur yang menyebabkan penyakit pada manusia. Jamur bersifat *non motil* dan mereka dapat tumbuh sebagai sel tunggal (ragi) atau struktur berfilamen (miselia) yang sebagian diantaranya membentuk cabang (Elliot, 2013).

2.5 *Pityrosporum ovale*

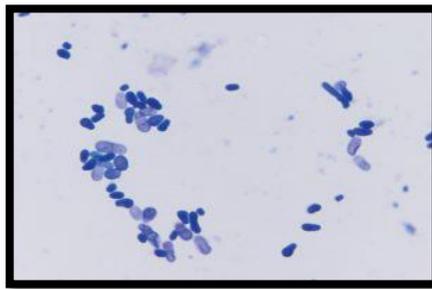
2.5.1 Taksonomi (Hasanah, 2012) ;

| | |
|----------|---|
| Kingdom | : Fungi |
| Division | : Basidiomycota |
| Class | : Exobasidiomycetes |
| Ordo | : Malasseziales |
| Family | : Malasseziaceae |
| Genus | : <i>Pityrosporum</i> |
| Species | : <i>Pityrosporum ovale</i> |
| Synonym | : <i>Malassezia ovalis</i> , <i>Malassezia sp</i> |

2.5.2 Morfologi

Pityrosporum ovale merupakan yeast atau jamur bersel tunggal dengan berbentuk oval – bulat atau seperti botol seperti pada Gambar 2.3, gram positif, berukuran 1-2 x 2-4 μ , berdinding ganda dan memperbanyak diri dengan blastospora, serta merupakan flora normal kulit kepala. Secara *in vitro* dalam berbagai media beberapa spesies dapat ditemukan dalam bentuk miselium. Namun kebanyakan didapatkan dalam bentuk yeast atau ragi. Sel induk dan sel anakan dipisahkan oleh septum, dan sel anak memisahkan diri dengan cara fusi, sehingga dapat meninggalkan bekas *collarlette* dimana sel anakan berturut-turut akan muncul (Norawati, 2002). Komponen utama dari dinding sel *Pityrosporum ovale* adalah gula (70%), protein (10%), dan

lipid (15-20%) dengan sejumlah kecil nitrogen dan sulfur didalamnya. Memiliki dua lapisan dinding dengan lekukan pada lapisan bagian dalam dan adanya lamellar disekitar dinding sel lapisan luar. Lapisan lamellar merupakan sejenis pseudomembran. Sitoplasma membran melekat pada permukaan dalam dinding sel. Jumlah dan bentuk mitokondria dalam sel masing-masing dapat bervariasi, berbeda antara bentuk sel bulat dan oval. Vakuola berisi lipid dan ukuran yang bervariasi sesuai dengan umur sel. Inti memiliki membran yang jelas dan dikelilingi oleh nukleoplasma homogeny granular (Ashbee, 2002).



Gambar 2.3

Pityrosporum ovale Secara Mikroskopis

Sumber : Koch, 2017

2.6 Antifungi

Antifungi atau antimikroba adalah suatu bahan yang dapat mengganggu pertumbuhan dan metabolisme mikroorganisme. Pemakaian bahan antimikroba merupakan suatu usaha untuk mengendalikan bakteri maupun jamur, yaitu segala kegiatan yang dapat menghambat, membasmi, atau menyingkirkan mikroorganisme. Tujuan utama pengendalian mikroorganisme untuk mencegah penyebaran penyakit dan infeksi, membasmi mikroorganisme pada inang yang terinfeksi, dan mencegah pembusukan dan

perusakan oleh mikroorganisme. Ada beberapa hal yang harus dipenuhi oleh suatu bahan antimikroba, seperti mampu mematikan mikroorganisme, mudah larut dan bersifat stabil, tidak bersifat racun bagi manusia dan hewan, tidak bergabung dengan bahan organik, efektif pada suhu kamar dan suhu tubuh, tidak menimbulkan karat dan warna, berkemampuan menghilangkan bau yang kurang sedap, murah dan mudah didapat (Pelczar & Chan, 1988).

Menurut Gubbins (2009) mekanisme kerja antifungi adalah sebagai berikut ;

a. Sterol Membran Plasma : Ergosterol dan Sintesis Ergosterol

Ergosterol adalah komponen penting yang menjaga integritas membran sel jamur dengan cara mengatur fluiditas dan keseimbangan dinding membran sel jamur. Kerja obat antijamur secara langsung (golongan polien) adalah menghambat sintesis ergosterol dimana obat ini mengikat secara langsung ergosterol dan channel ion di membran sel jamur, hal ini menyebabkan gangguan permeabilitas berupa kebocoran ion kalium dan menyebabkan kematian sel.

b. Sintesis Asam Nukleat

Kerja obat antijamur yang mengganggu sintesis asam nukleat adalah dengan cara mendeterminasi secara dini rantai RNA dan menginterupsi sintesis DNA.

c. Unsur Utama Dinding Sel Jamur : Glukans

Dinding sel jamur memiliki keunikan karena tersusun atas mannoproteins, kitin, dan α dan β glukans yang menyelenggarakan berbagai fungsi,

diantaranya menjaga rigiditas dan bentuk sel, metabolisme, pertukaran ion pada membran sel. Sebagai unsur penyangga adalah β -glukan. Obat antijamur seperti golongan ekinokandin menghambat pembentukan β 1,3 glukan tetapi tidak secara kompetitif. Sehingga apabila β -glukan tidak terbentuk, integritas struktural dan morfologi sel jamur akan mengalami lisis.

2.6.1 Uji Daya Hambat Antifungi

Cara pertama yaitu metode dilusi. Terdapat dua metode dilusi untuk menentukan daya hambat antimikroba yaitu dilusi cair dan dilusi padat. Pada metode dilusi cair digunakan medium cair untuk mengukur MIC (*minimum inhibitory concentration*) atau KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Bunuh Minimum). Cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji. Sedangkan pada metode dilusi padat menggunakan media padat (solid) yang mempunyai keuntungan yaitu satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji (Pratiwi, 2008).

Cara kedua yaitu metode difusi cakram (Uji Kirby-Bauer). Prinsip dari metode difusi cakram adalah menempatkan kertas cakram yang sudah mengandung bahan antimikroba tertentu pada medium lempeng padat yang telah dicampur dengan jamur yang akan diuji. Medium ini

kemudian diinkubasi pada suhu 25-30°C selama 3-7 hari, selanjutnya diamati adanya zona jernih di sekitar kertas cakram. Daerah jernih yang tampak di sekeliling kertas cakram menunjukkan tidak adanya pertumbuhan mikroba. Jamur yang sensitif terhadap bahan antimikroba akan ditandai dengan adanya daerah hambatan disekitar cakram, sedangkan jamur yang resisten terlihat tetap tumbuh pada tepi kertas cakram (Tortora *et al.*, 2001). Metode difusi agar yang lainnya adalah cara sumuran, prinsip dari cara ini tidaklah berbeda jauh dengan cara cakram yaitu dengan membuat sumur atau lubang pada media SDA agar berdiameter 3-5 mm yang sudah disebarkan mikroba sebelumnya kemudian sumur diisi oleh zat antimikroba sebanyak 0,02-0,05 mL lalu diinkubasi pada suhu 25-30°C selama 3-7 hari, selanjutnya diamati adanya zona jernih di sekitar sumur yang menandakan suatu mikroba bersifat resisten atau sensitif terhadap antimikroba yang diujikan (Pratiwi, 2008).

2.7 Anggapan Dasar

Pityrosporum ovale adalah jamur *anthropophilic* yang termasuk dalam flora norma kulit secara fisiologis. Jamur ini bisa tumbuh dalam fase ragi dan juga fase miselium. Organisme ini memiliki lapisan lipid yang kompleks untuk pertumbuhan, yang juga menandakan kemunculannya pada kulit. Hal ini juga mengarah pada kebutuhan media yang dilengkapi secara khusus

untuk kultivasi *in vitro*. *Pityrosporum ovale* adalah agen penyebab *Pityriasis capitis* atau ketombe (Gandahusada, 1998).

Menurut Lenny (2006) minyak atsiri tanaman terdiri dari senyawa monoterpen dan sesquiterpen dengan hidrokarbon. Senyawa sesquiterpenoid mempunyai bioaktivitas yang cukup besar, diantaranya adalah sebagai antimikroba, antibiotik, dan toksik serta regulator pertumbuhan tanaman.

Kulit jeruk nipis memiliki banyak kandungan senyawa bioaktif dan beberapa kandungan senyawa tersebut salah satunya bersifat antifungi, contohnya limonen, terpen, tanin, sesquiterpen, aldehida, ester dan sterol (Switaning *et al.*, 2010). Senyawa dengan golongan terpenoid yaitu limonen berpengaruh terhadap regulasi pertumbuhan fungi patogen yang berpotensi sebagai zat toksik dalam proses reproduksi pada fungal (Utariningsih *et al.*, 2010).

Adanya kandungan senyawa kimia yang sama antara minyak atsiri kulit buah jeruk nipis dan hasil penelitian sebelumnya, seperti limonene, sesquiterpen, terpenoid, polifenol (tanin) dan lain sebagainya yang bersifat dapat menghambat pertumbuhan jamur, maka diduga hal yang sama dapat terjadi aktivitas antijamur pada minyak atsiri kulit buah jeruk nipis *Citrus aurantifolia* S merk "X" terhadap pertumbuhan jamur *Pityrosporum ovale* secara *in vitro*.

BAB 3

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini bersifat eksperimental, karena sampel dibuat dengan konsentrasi yang bervariasi. Sampel atau subjek penelitian yang digunakan dalam penelitian ini berupa minyak atsiri kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* L.) merk "X". Minyak atsiri dibuat konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 100% dengan menggunakan pelarut VCO. Setiap variasi konsentrasi diujikan pada objek penelitian atau *Pityrosporum ovale* secara duplo dengan minyak VCO (*Virgin Coconut Oil*) sebagai kontrol negatif dan Ketokonazol 2% sebagai kontrol positif (Endang, 2015).

Proses identifikasi penelitian ini meliputi penanaman jamur isolat murni pada media SDA dengan metode cawan sebar, cakram kosong direndam pada setiap variasi konsentrasi minyak atsiri kulit buah jeruk nipis, cakram yang telah direndam minyak atsiri diletakkan pada masing-masing media SDA yang telah ditanam jamur, media diinkubasi selama 3-7 hari pada suhu (25-30)°C dan dihitung besar zona hambat yang terbentuk berupa zona jernih disekeliling cakram dalam media (Tortora *et al.*, 2001).

3.2 Alat

Tabel 3.1
Alat-alat yang digunakan dalam Penelitian

| No. | Nama Alat | Spesifikasi | Jumlah |
|-----|--------------------------|----------------------------------|---------|
| 1. | <i>Autoclave</i> | Suhu 121°C | 1 Unit |
| 2. | Batang Pengaduk | Panjang 20 cm | 1 Buah |
| 3. | Botol Semprot | Volume 250 mL | 1 Buah |
| 4. | Cawan Petri | Diameter 15 cm | 20 Buah |
| 5. | <i>Dry Sterillisator</i> | Suhu 170°C | 1 Unit |
| 6. | Erlenmeyer | Volume 250 mL | 3 Buah |
| 7. | Gelas Ukur | Volume 250 mL | 1 Buah |
| 8. | Hot Plate | Suhu 40°C | 1 Unit |
| 9. | Inkubator | Suhu (25-37)°C | 1 Unit |
| 10. | Kaca Arloji | Diameter 7 cm | 1 Buah |
| 11. | Labu Ukur | Volume 5 mL dan 10 mL | 1 Buah |
| 12. | <i>Laminar Air Flow</i> | - | 1 Unit |
| 13. | Mikropipet | Volume 10-100 µL dan 100-1000 µL | 1 Buah |
| 14. | Neraca Analitik | 4 Desimal | 1 Unit |
| 15. | Ose | Bulat | 1 Buah |
| 16. | Pinset | - | 1 Buah |
| 17. | Pipet Volum | 10 mL | 1 Buah |
| 18. | Tabung Reaksi | Besar | 5 Buah |

3.3 Bahan

Tabel 3.2
Bahan-bahan yang digunakan dalam Penelitian

| No. | Nama Bahan | Konsentrasi | Jumlah |
|-----|----------------------------------|-------------|-----------|
| 1. | Alkohol | 96% | 100 mL |
| 2. | Aquadest | - | 500 mL |
| 3. | BaCl ₂ | 1% | 2 mL |
| 4. | Chloramphenicol | Serbuk | 0,13 Gram |
| 5. | Cakram Kosong | - | 30 Buah |
| 6. | H ₂ SO ₄ | 1% | 10 mL |
| 7. | Isolat <i>Pityrosporum ovale</i> | Murni | 1 Tabung |
| 8. | Kain Kasa | - | 1 Gulung |
| 9. | Ketokonazole | 2% | 10 mL |
| 10. | NaCl | 0,85% | 20 mL |
| 11. | SDA | Serbuk | 33 Gram |

3.4 Prosedur

3.4.1 Pembuatan Variasi Konsentrasi Minyak Atsiri Kulit Buah Jeruk

Nipis

Menurut Ham M, 2008 ;

$$V_1 \cdot P_1 = V_2 \cdot P_2$$

$$V_1 = \frac{V_2 \cdot P_2}{P_1}$$

Keterangan :
 V1 = Volume yang akan diencerkan (mL)
 P1 = Persen yang akan diencerkan (%)
 V2 = Volume pengenceran (mL)
 P2 = Persen pengenceran (%)

Contoh = Konsetrasi 10%

$$V_1 = \frac{1 \times 10}{100}$$

$$= 0,1 \text{ mL} = 100 \mu\text{L}$$

Tabel 3.3
 Penentuan Konsentrasi Minyak Atsiri

| No. | Konsentrasi | Stok 100% (μL) | VCO (μL) | Volume Total (μL) |
|-----|----------------|----------------|----------|-------------------|
| 1. | 10% | 100 | 900 | 1000 |
| 2. | 20% | 200 | 800 | 1000 |
| 3. | 30% | 300 | 700 | 1000 |
| 4. | 40% | 400 | 600 | 1000 |
| 5. | 50% | 500 | 500 | 1000 |
| 6. | 60% | 600 | 400 | 1000 |
| 7. | 70% | 700 | 300 | 1000 |
| 8. | 80% | 800 | 200 | 1000 |
| 9. | 90% | 900 | 100 | 1000 |
| 10. | 100% | 1000 | - | 1000 |
| 11. | Ketokonazol 2% | - | - | 200 |
| 12. | VCO 100% | - | 200 | 200 |

3.4.2 Pembuatan Suspensi Jamur *Pityrosporium ovale* (Bonang *et al.*, 1982)

a. Standar 0,5 Mc Farland

- 1) H₂SO₄ 1% sebanyak 9,95 mL dimasukkan kedalam tabung reaksi steril lalu ditambahkan BaCl₂ 1% sebanyak 0,05 mL.
- 2) Larutan tersebut dihomogenkan secara merata lalu diukur kekeruhannya dengan menggunakan turbidimeter untuk mengetahui nilai NTU (*Nephelometric Turbidity Unit*).
- 3) Kekeruhan larutan ini digunakan sebagai standar kekeruhan untuk suspensi jamur.

b. Pembuatan Suspensi Jamur *Pityrosporium ovale*

- 1) NaCl 0,85% sebanyak 10 mL dimasukkan kedalam tabung reaksi steril.
- 2) NaCl 0,85% tersebut ditambahkan beberapa ose isolat murni jamur *Pityrosporium ovale* hingga didapatkan kekeruhan yang sama dengan standar 0,5 Mc Farland.
- 3) NaCl 0,85% tersebut dibandingkan kekeruhannya secara visual dan diukur kekeruhannya menggunakan turbidimeter hingga nilai NTU (*Nephelometric Turbidity Unit*) suspensi jamur sama dengan nilai NTU standar 0,5 Mc Farland.

3.4.3 Uji Daya Hambat Antifungi (Lay dan Bibiana, 1994)

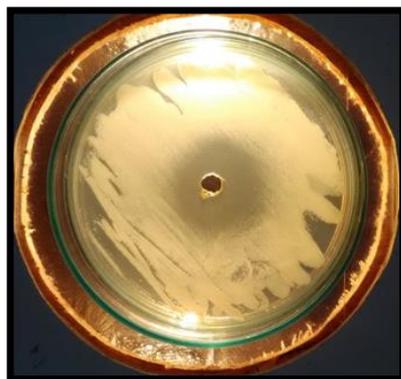
- 1) Kertas cakram kosong direndam dalam minyak atsiri kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* S) merk "X" pada berbagai variasi konsentrasi selama 1 jam.
- 2) Strain jamur *Pityrosporium ovale* ditanam dengan menggunakan swab steril pada media SDA yang telah padat sampai seluruh permukaan media rata.
- 3) Cakram yang sudah direndam dalam minyak atsiri kemudian diletakkan pada media SDA yang sudah ditanami jamur.
- 4) Media SDA diinkubasi selama 3-7 hari pada suhu 25°C.
- 5) Selain pengerjaan sampel, dilakukan pula pembuatan kontrol positif (Ketokonazol 2%) dan kontrol negatif (VCO).
- 6) Setelah 3-7 hari diinkubasi, media yang sudah ditumbuhi jamur dilakukan pengukuran zona hambat yang terbentuk dengan menggunakan jangka sorong.

BAB 4

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Minyak atsiri adalah campuran senyawa kompleks yang terbentuk secara alami pada tumbuhan dan umumnya terdiri dari senyawa utama monoterpen dan sesquiterpen yang dianggap sebagai agen antimikroba alami alternatif. Minyak atsiri dari beberapa tanaman telah terbukti menunjukkan sifat antijamur (Kalemba dan Kunicka, 2003). Salah satu senyawa aktif pada minyak atsiri kulit buah jeruk nipis yang berpotensi sebagai antijamur yakni limonen (Lee JH dan Lee JS, 2010).

Pada tahap uji pendahuluan, dilakukan pengujian subjek penelitian yakni minyak atsiri kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* S) merk "X" konsentrasi 100% terhadap pertumbuhan jamur *Pityrosporum ovale* secara *in vitro* pada media SDA. Hal tersebut bertujuan untuk memastikan bahwa subjek penelitian bersifat sebagai antifungi sesuai dengan penelitian sebelumnya, untuk menguji metode yang akan digunakan dan untuk menentukan variasi konsentrasi yang akan digunakan dalam penelitian kali ini. Hasil dari uji pendahuluan terbukti bahwa minyak atsiri kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* S) merk "X" pada konsentrasi 100% dengan metode difusi sumuran mampu menghambat pertumbuhan jamur *Pityrosporum ovale* secara *in vitro* pada media SDA dengan zona hambat 30 mm seperti pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1
Hasil Uji Pendahuluan

Sebelum dilakukan penelitian, objek penelitian jamur *Pityrosporum ovale* terlebih dahulu diremajakan dan dilakukan pemeriksaan morfologi mikroskopis jamur. Hal tersebut bertujuan untuk lebih meyakinkan kemurnian dari jamur uji yang akan digunakan penelitian. Berikut adalah hasil uji morfologi mikroskopis jamur *Pityrosporum ovale* yang sesuai dengan pernyataan Norawati (2002) dengan ciri yeast atau jamur bersel tunggal dengan bentuk oval–bulat atau seperti botol seperti pada Gambar 4.2, gram positif, dan berukuran sekitar $1-2 \times 2-4 \mu$;



Gambar 4.2
Mikroskopis Jamur *Pityrosporum ovale* yang digunakan sebagai Objek Penelitian

Pada tahap penelitian, minyak atsiri kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* S) merk “X” dengan variasi konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%,

50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 100% diujikan pada jamur *Pityrosporum ovale* secara *in vitro* dengan jumlah pengulangan sebanyak dua kali (duplo) pada media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA). Selain itu pula dilakukan pengujian kontrol positif (Ketokonazol 2%) dan kontrol negatif (VCO) dengan metode uji daya hambat yakni metode difusi cakram.

Pada penelitian ini, media yang digunakan adalah SDA (*Sabouraud Dextrose Agar*). Media ini merupakan media selektif untuk jamur karena dapat menghambat pertumbuhan bakteri dimana didalamnya dapat ditambahkan zat antibakteri yakni *Chloramphenicol*. Selain itu, media ini sangat mendukung untuk pertumbuhan jamur dermatofit karena kandungan media didalamnya yang berupa *Mycological peptone* dapat menyediakan nitrogen dan sumber vitamin yang diperlukan untuk pertumbuhan mikroorganisme tersebut (Gina, 2012).

Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini yakni minyak kelapa VCO. Setelah diujikan pada objek penelitian sebagai kontrol negatif, hasilnya pun cukup baik yakni tidak menimbulkan zona hambat terhadap objek penelitian. Penggunaan pelarut berjenis minyak ini diketahui cukup efektif terutama untuk zat terlarut yang bersifat sama seperti minyak atsiri. Sehingga tingkat kelarutannya pun sangat tinggi dan zat minyak atsiri didalamnya yang bersifat sebagai antifungi pun dapat larut dengan baik dan homogen.

Berdasarkan hasil penelitian yang didapatkan seperti pada Tabel 4.1, minyak atsiri kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* S) merk "X" yang telah diteliti terbukti mampu menghambat pertumbuhan jamur *Pityrosporum*

ovale secara *in vitro* pada media SDA setelah diinkubasi pada suhu 25°C selama 3 hari. Hal tersebut ditandai dengan terbentuknya zona hambat berupa zona jernih di sekeliling cakram yang telah direndam pada subjek penelitian yakni minyak atsiri jeruk nipis. Zona hambat terbentuk mulai dari variasi konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 100% dengan rata-rata diameter zona hambat yang terbentuk tiap konsentrasinya yaitu 22 mm, 24 mm, 25 mm, 28 mm, 29 mm, 32 mm, 34 mm, 38 mm, 40 mm, dan 41 mm. Adapun hasil perlakuan kelompok kontrol positif dari Ketokonazol 2% yaitu terbentuk zona hambat dengan diameter sebesar 46 mm, dan kontrol negatif dari minyak VCO yang tidak menimbulkan zona hambat. Data hasil penelitian dapat dilihat pada tabel 4.1 sebagai berikut ;

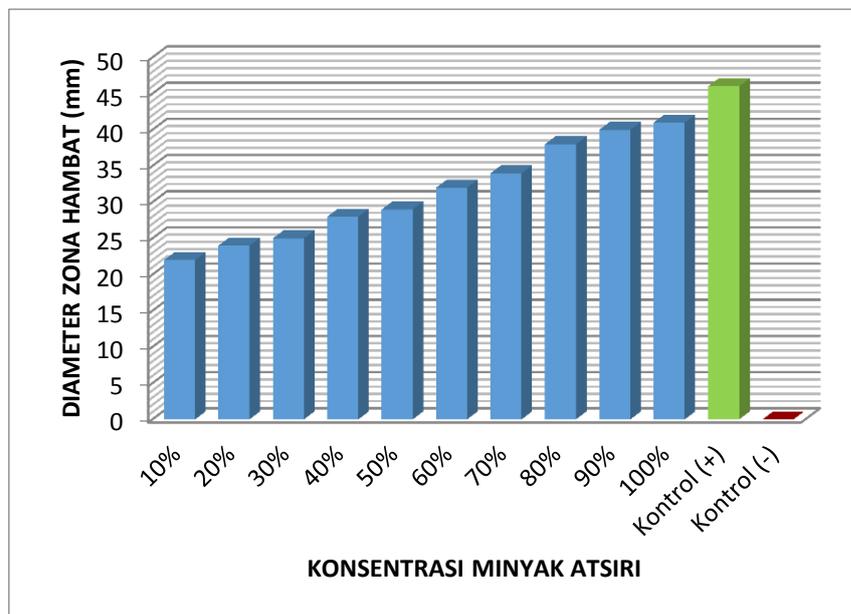
Tabel 4.1
Data Hasil Penelitian Uji Daya Hambat Minyak Atsiri Kulit Buah Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia* S) Merk “X” Terhadap *Pityrosporum ovale* Secara *In Vitro*

| NO. | KONSENTRASI | DIAMETER ZONA HAMBAT (mm) | | |
|-----|----------------------------|---------------------------|----|-----------|
| | | 1 | 2 | RATA-RATA |
| 1. | 10% | 22 | 22 | 22 |
| 2. | 20% | 24 | 24 | 24 |
| 3. | 30% | 26 | 24 | 25 |
| 4. | 40% | 28 | 28 | 28 |
| 5. | 50% | 28 | 30 | 29 |
| 6. | 60% | 32 | 32 | 32 |
| 7. | 70% | 34 | 34 | 34 |
| 8. | 80% | 36 | 40 | 38 |
| 9. | 90% | 40 | 40 | 40 |
| 10. | 100% | 40 | 42 | 41 |
| 11. | Kontrol (+) Ketokonazol 2% | 46 | | 46 |
| 12. | Kontrol (-) Minyak VCO | 0 | | 0 |

Keterangan : Diameter cakram 6 mm.

Minyak atsiri kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* S) pada penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Lee JH dan Lee JS (2010) terbukti dapat menghambat pertumbuhan *Malassezia furfur* pada konsentrasi 0,2% dengan zona hambat sebesar 26 mm. Sedangkan dari hasil penelitian yang didapat pada kali ini, minyak atsiri kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* S) merk “X” mampu menghambat pertumbuhan *Pityrosporum ovale* dengan diameter zona hambat yang mendekati 26 mm didapatkan pada konsentrasi 30% (25 mm) dan 40% (28 mm). Kedua hasil penelitian tersebut sangat berbeda keefektifannya, hal tersebut dapat disebabkan karena perbedaan jenis produk minyak atsiri yang digunakan ataupun perbedaan kemampuan sensitifitas dari objek penelitian karena jamur yang digunakan berbeda spesies. Sehingga hasil yang didapatkan pun jauh berbeda, dimana minyak atsiri kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* S) lebih efektif terhadap jamur *Malassezia furfur* dibandingkan terhadap jamur *Pityrosporum ovale*.

Berdasarkan data pada tabel 4.1 dapat dibuat grafik yang menggambarkan rata-rata diameter zona hambat pada masing-masing perlakuan yang disajikan pada gambar 4.3 sebagai berikut ;



Gambar 4.3

Diagram Rata-Rata Diameter Zona Hambat (mm) Masing-Masing Kelompok Perlakuan pada Hasil Penelitian

Pada Gambar 4.3 dapat diketahui bahwa semakin besar konsentrasi minyak atsiri kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* L.) maka semakin besar zona hambat yang terbentuk. Hal tersebut dapat disebabkan karena semakin besar konsentrasi yang digunakan maka semakin banyak pula zat terlarut (antifungi) didalamnya, sehingga reaksi antifungi yang diberikan oleh zat terlarut itu sendiri semakin besar dan zona hambat yang terbentukpun semakin besar. Begitu pula sebaliknya, jika semakin kecil konsentrasi yang digunakan maka akan semakin sedikit zat terlarut (antifungi) didalamnya, sehingga zona hambat yang terbentuk lebih kecil dari konsentrasi yang lebih besar sebelumnya.

Zat terlarut berupa senyawa bioaktif dalam minyak atsiri yang bersifat sebagai antifungi diantaranya yakni senyawa golongan terpenoid monoterpen

berupa limonen, γ -terpinen, β -pinen, sesquiterpen hidrokarbon, dan polifenol (tanin). Berdasarkan hasil GCMS produk yang tercantum pada deskripsi produk (Lampiran 2) yang digunakan sebagai subjek penelitian ini mengandung 55 jenis senyawa yang terdiri dari tiga jenis senyawa utama yakni limonen (63,58%), γ -terpinen (10,39%) dan β -pinen (12,48%).

Limonen merupakan senyawa golongan monoterpen yang dapat menghambat pertumbuhan jamur melalui zat toksik yang dikandungnya yang dapat mengganggu proses reproduksi sel jamur (Utariningsih *et al.*, 2010). Selain itu, senyawa γ -terpinen dan β -pinen juga berpengaruh terhadap pertumbuhan jamur dengan sifat *cytotoxic* yang dimilikinya (Lee JH dan Lee JS, 2010). Terpenoid yang bersifat fungistatik dapat menghambat kerja enzim tertentu yang mengakibatkan terganggunya metabolisme sel fungi, sehingga proses pemanjangan hifa fungi menjadi terhambat dan fragmentasi hifa pun menjadi terganggu dan menyebabkan sel fungi tidak dapat berkembang biak dalam waktu tertentu (Putri, 2013).

Senyawa bisiklik sesquiterpen dialdehida diketahui memiliki kemampuan mengubah fungsi membran dari protein integral sebagai senyawa aktif permukaan nonionik (surfaktan) dan membentuk derivatif pirol dengan kelompok amina primer fosfatidil etanol amin dan fosfatidilserin di lapisan luar membran plasma yang mengganggu kerja membran plasma, masuk ke dalam sitoplasma dan bereaksi dengan L-sistein yang terdapat didalam sitoplasma seperti pada glutation, protein dan alkohol dehidrogenase (Fujita, 2005).

Tanin merupakan senyawa kimia yang tergolong dalam senyawa polifenol. Senyawa fenolik dalam tanin dapat berinteraksi dengan protein membran sel yang menyebabkan presipitasi dan terdenaturasinya protein membran sel. Senyawa fenol mempunyai kemampuan membentuk kompleks dengan protein dan polisakarida. Kecenderungan ini diperkirakan bahwa senyawa fenol tersebut mampu menghambat kerja berbagai enzim yang berperan dalam reaksi enzimatik jamur (Manitto, 1992). Kerusakan pada membran sel menyebabkan perubahan permeabilitas pada membran, sehingga mengakibatkan lisisnya membran sel jamur (Parwata dan Dewi, 2008).

Keterbatasan dari penelitian ini adalah ketokonazol murni. Penelitian ini tidak menggunakan ketokonazol bubuk murni dan diganti dengan ketokonazol tablet dikarenakan tidak tersedianya ketokonazol bubuk. Ketokonazol tablet yang digunakan yakni ketokonazol 200 mg yang dibuat menjadi larutan ketokonazol 2% menggunakan pelarut aquadest steril. Dosis ketokonazol 2% biasa digunakan sebagai obat eksternal untuk menghambat perkembangan ketombe yang disebabkan oleh *Pityrosporum ovale*. Penggunaan kontrol positif dengan dosis tersebut selain bertujuan untuk melihat sensitifitas jamur yakni sebagai pembanding besarnya zona hambat yang terbentuk dari minyak atsiri kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia S*) merk "X" yang digunakan sebagai subjek penelitian dengan besarnya zona hambat yang terbentuk oleh obat sintetis dengan dosis yang umum digunakan. Hasil yang didapatkan yakni diameter zona hambat kontrol positif Ketokonazol 2% (46 mm) lebih

besar dari diameter zona hambat minyak atsiri jeruk nipis konsentrasi 100% (41 mm).

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan minyak atsiri kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* L) merk "X" terbukti mampu menghambat pertumbuhan jamur *Pityrosporum ovale* secara *in vitro*, oleh karena itu diharapkan dapat dilakukan pengembangan penelitian lebih lanjut mengenai uji toksisitas secara *in vivo* sehingga minyak atsiri kulit buah jeruk nipis tersebut dapat digunakan sebagai obat herbal alternatif untuk mencegah perkembangan ketombe dan resiko infeksi *Seborrhoic dermatitis* yang diakibatkan oleh jamur *Pityrosporum ovale*.

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa minyak atsiri kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* S) merk “X” mampu menghambat pertumbuhan jamur *Pityrosporum ovale* secara *in vitro* dengan diameter zona hambat yang terbentuk mulai dari variasi konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, dan 100% yakni rata-rata diameter zona jernih adalah 22 mm, 24 mm, 25 mm, 28 mm, 29 mm, 32 mm, 34 mm, 38 mm, 40 mm, dan 41 mm.

5.2 Saran

Pada penelitian selanjutnya diharapkan untuk melakukan penelitian dengan menggunakan variasi konsentrasi yang lebih kecil dari 10% untuk mengetahui konsentrasi daya hambat minimal minyak atsiri kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* S) merk “X” terhadap jamur *Pityrosporum ovale* secara *in vitro*. Selain itu dapat pula dilakukan penelitian mengenai daya hambat minyak atsiri kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* S) terhadap objek penelitian atau spesies jamur dermatofit yang berbeda untuk mengetahui kemampuan minyak atsiri kulit jeruk nipis tersebut dalam menghambat pertumbuhan jamur selain *Pityrosporum ovale*.

DAFTAR PUSTAKA

- Andria A. 2000. Minyak Atsiri Tumbuhan Tropika Indonesia. ITB, Bandung.
- Ashbee H *et al.* 2002. Immunology of Disease Associated with *Malassezia* Species. *Clinical Microbiology Review*. 15: 21-57.
- Bonang, Gerand dan Enggar SK. 1982. Mikrobiologi Kedokteran Laboratorium dan Klinik. Gramedia, Jakarta.
- Bramono K. 2002. Pitiriasis Sika / Etiopatogenesis. In: Wasitaatmadja SM, Menaldi SL, Widaty S (eds) Kesehatan Dan Keindahan Rambut. Kelompok Studi Dermatologi Kosmetik Indonesia, Jakarta.
- Cahyono NS. 2008. Aktivitas Antifungi Ekstrak Etanol Biji Jarak, Daun Urang-Aring dan Kombinasinya Terhadap *Malassezia sp* Serta Efek Iritasinya. [Sripsi]. Institut Teknologi Bandung, Bandung. [Indonesia].
- Dalimartha S. 2000. Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 2. Trubus Agriwidya, Jakarta.
- Dongmo *et al.* 2009. Essential Oil of Citrus aurantifolia from Cameroon and Their Antifungal Activity Against *Phaeoramularia angolensis*. *African Journal of Agricultural Research*. 4: 354-358.
- Elliot T *et al.* 2013. Mikrobiologi Kedokteran dan Infeksi. EGC, Jakarta.
- Endang H. 2015. Analisis Fitokimia. EGC, Jakarta.
- Fujita K dan Kubo I. 2005. Naturally Occurring Antifungal Agents Against *Zygosaccharomyces bailii* and Their Synergism. *J Agric Food Chem*. 53: 5187-91.
- Gandahusada *et al.* 1998. Parasitologi Kedokteran Edisi Ketiga. FKUI, Jakarta.
- Gemmer *et al.* 2002. Noninvasive Method for Molecular Detection and Differentiation of *Malassezia* Yeast Species on Human Skin and Application of the Method to Dandruff Microbiology. *Journal of Clinical Microbiology*. 40: 3350-3357.
- Gendrowati F. 2015. TOGA Tanaman Obat Keluarga. Padi, Jakarta.
- Gina S. 2012. Sabouraud Dextrose Agar. www.scribd.com. Downloaded June 25th 2018.
- Gubbins PO, Anaissie EJ. 2009. Antifungal Therapy. In: Anaissie EJ, McGinn MR, Pfaller (eds) *Clinical Mycology*. Elsevier, China.
- Gunawan D dan Mulyani S. 2004. Ilmu Obat Alam (Farmakognosi) Jilid I. Penebar Swadaya, Jakarta.

- Ham M. 2008. Membuat Reagen Kimia di Laboratorium. PT Bumi Aksara, Jakarta.
- Hasanah KU. 2012. Uji Daya Antifungi Propolis Terhadap *Candida albicans* dan *Pityrosporum ovale*. [Skripsi]. Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta. [Indonesia].
- Indra PA. 2016. Kulit Jeruk Nipis Sanggup Isi Ulang Baterai. www.tirto.id. Downloaded February 11st 2018.
- Jones JB. 2010. Seborrheic Dermatitis. In: Burns T *et al.* (eds) Rook's Dermatology 8th ed. Wiley-Blackwell, New York.
- Kalemba D dan Kunicka A. 2003. Antibacterial and Antifungal Properties of Essential Oils. *Curr Med Chem*. 10: 813–829.
- Koch S. 2017. Dermatology Details The Challenge of Chronic Otitis in Dogs From Diagnosis to Treatment. www.todaysveterinarypractice.navc.com. Downloaded February 3rd 2018.
- Latief A. 2012. Obat Tradisional. EGC, Jakarta.
- Lavana A. 2017. Cara Menghilangkan Ketombe Dan Rambut Rontok Dengan Lidah Buaya. www.khasiatmanfaatdaun.com. Downloaded January 29th 2018.
- Lay dan Bibiana W. 1994. Analisis Mikrobiologi di Laboratorium. Raja Grafindo Persada, Jakarta.
- Lee JH dan Lee JS. 2010. Chemical Composition and Antifungal Activity of Plant Essential Oils against *Malassezia furfur*. *Kor J Microbiol Biotechnol*. 38: 315–21.
- Lenny S. 2006. Senyawa Terpenoida dan Steroida. [KTI]. Universitas Sumatera Utara, Sumatera. [Indonseia]
- Lutony TL dan Rahmayati Y. 2002. Produksi dan Perdagangan Minyak Asiri. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Madani A. 2000. Infeksi Jamur Kulit. In: Harahap Marwali (eds) Ilmu Penyakit Kulit. Hipokrates, Jakarta.
- Manitto P. 1992. Biosintesis Produk Alami. IKIP Press, Semarang.
- Murtie A. 2013. Kupas Tunas Pengobatan Tradisional. Trans Idea, Yogyakarta.
- Norawati L. 2002. Gambaran Klinis Ketombe dan Penyakit yang Menyerupai. In: Wasitaatmadja SM, Menaldi SLS, Jacob TNA, Widaty S (eds) Kesehatan dan Keindahan Rambut. Kelompok Studi Dermatologi Kosmetik Indonesia, Jakarta.
- Ong CY *et al.* 2009. Systematic Analysis of In Vitro Photo Cytotoxic Activity in Extracts from Terrestrial Plants in Peninsula Malaysia for Photodynamic Therapy. *J Photochem Photobiol B*. 96: 216-222.

- Parwata dan Dewi. 2008. Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri dari Rimpang Lengkuas (*Alpinia galaga L.*). Jurnal Kimia. 2: 100 – 104.
- Pelczar MJ dan Chan ESC. 1988. Dasar-dasar Mikrobiologi Jilid 1. UI Press, Jakarta.
- Plowing G dan Jansen T. 2003. Seborrhea Dermatitis. In: Freed beg IM (eds) Dermatology In General Medicine. McGraw-Hill Book, New York.
- Pratiwi ST. 2008. Mikrobiologi Farmasi. Erlangga, Jakarta.
- Putri AU. 2013. Uji Potensi Antifungi Ekstrak Berbagai Jenis Lamun terhadap Fungi *Candida albicans*. [Skripsi]. Universitas Hasanuddin, Makassar. [Indonesia].
- Ratu S. 2010. Medium Analisis Mikroorganisme (Isolasi dan Kultur). Trans Info Media, Jakarta.
- Robbins CR. 2012. Chemical and Physical Behavior of Human Hair. Springer Heidelberg Dordrecht, New York.
- Sarwono B. 2001. Khasiat dan Manfaat Jeruk Nipis. Agromedia Pustaka, Jakarta.
- Silva MRR *et al.* 2005. Antifungal Activity of *Ocimum gratissimum* Towards Dermatophytes. Mycoses. 48: 172–175.
- Sinaga SR. 2012. Uji Banding Efektivitas Perasan Jeruk Purut (*Citrus hystrix DC*) dengan *Zinc Phyrithione* 1% Terhadap Pertumbuhan *Pityrosporum ovale* pada Penderita Berketombe. [KTI]. Universitas Diponegoro, Semarang. [Indonesia].
- Soemarno. 1987. Penuntun Praktikum Bacteriologi. CV Karyono, Yogyakarta.
- Switaning E, Nurul F, dan Moch. Afiq Dwi A. 2010. Ekstraksi Minyak Atsiri dari Limbah Kulit Jeruk Manis di Desa Gadingkulo Kecamatan Dau Kabupaten Malang Sebagai Campuran Minyak Goreng untuk Penambahan Aroma Jeruk. [KTI]. Universitas Negeri Malang, Malang. [Indonesia].
- Thomas ANS. 1989. Tanaman Obat Tradisional. Kanisius, Yogyakarta.
- Tortora GJ, Berdell RF dan Chirstine LC. 2001. Microbiology An Introduction. Pearson Benjamin Cummings, San Francisco.
- Utariningsih, Dwi dan Purwanti D. 2010. Pemanfaatan Daun Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) sebagai Larvasida untuk Pemberantasan Nyamuk *Aedes aegypti*. [Disertasi]. Universitas Muhammadiyah Malang, Malang. [Indonesia].
- Wijaya L. 2001. Pengaruh Jumlah *Pityrosporum Ovale* dan Kadar Sebum Terhadap Kejadian Ketombe. [Tesis]. Universitas Diponegoro, Semarang. [Indonesia].

Lampiran 1

1.) Sterilisasi (Soemarno, 1987)

1. Alat dibungkus dengan aluminium foil hingga tertutup rapat.
2. Alat dimasukkan kedalam *dry sterilisator*.
3. *Dry sterilisator* dinyalakan dan dibiarkan hingga proses sterilisasi selesai selama 30 menit.
4. Bahan dibungkus dengan kertas payung hingga tertutup rapat.
5. Bahan dimasukkan kedalam *autoclave*.
6. *Autoclave* dinyalakan hingga mencapai suhu 121°C selama 15 menit.

2.) Pembuatan Media SDA (Saboraud Dextrose Agar) (Ratu, 2010)

1. SDA ditimbang sebanyak 16,25 gr menggunakan neraca analitik.
2. SDA dilarutkan dengan aquadest dalam labu ukur 250 mL.
3. Larutan SDA ditambahkan aquadest hingga mencapai batas garis labu ukur lalu dihomogenkan.
4. Larutan SDA dipindahkan kedalam erlenmyer 250 mL lalu dipanaskan dengan *hot plate* hingga SDA larut secara merata.
5. Larutan SDA disterilkan menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit.
6. Setelah disterilkan, larutan SDA ditambahkan 0,13 gr *chloramphenicol* lalu dihomogenkan.

7. Jika sudah cukup hangat, larutan SDA dituangkan secara aseptis kedalam cawan petri steril secukupnya lalu dibiarkan hingga membeku.

Lampiran 2

Hasil GCMS Minyak Atsiri Kulit Buah Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia* S) Merk "X"

| Peak | Ret.Time | Area | Area% | Name |
|------|----------|----------|---------|----------------------------------|
| 1 | 7.802 | 463534 | 0.5154 | Alpha-Thujene |
| 2 | 8.049 | 1897260 | 2.1097 | Alpha-pinene |
| 3 | 8.586 | 45958 | 0.0511 | Camphene |
| 4 | 9.765 | 11226619 | 12.4839 | Beta-Pinene |
| 5 | 10.298 | 1259420 | 1.4005 | Myrcene |
| 6 | 10.819 | 30873 | 0.0343 | Alpha-phellandrene |
| 7 | 11.341 | 129997 | 0.1446 | Alpha-terpinene |
| 8 | 12.239 | 57179596 | 63.5831 | Limonene |
| 9 | 12.369 | 27254 | 0.0303 | Trans-beta-ocimene |
| 10 | 12.772 | 61635 | 0.0685 | Trans-beta-ocimene |
| 11 | 13.345 | 9346515 | 10.3932 | Gamma-Terpinene |
| 12 | 13.654 | 17963 | 0.0200 | 4-Thujanol |
| 13 | 14.506 | 407597 | 0.4532 | Alpha-terpinolene |
| 14 | 15.097 | 164589 | 0.1830 | Linalool |
| 15 | 16.032 | 14160 | 0.0157 | Artemiseole |
| 16 | 16.553 | 26836 | 0.0298 | Cis-Limonene oxide |
| 17 | 16.764 | 43812 | 0.0487 | Trans-Limonene oxide |
| 18 | 17.135 | 24901 | 0.0277 | Epoxyterpinolene |
| 19 | 17.470 | 16640 | 0.0185 | 2-Allyl-1,1-dimethylcyclopropane |
| 20 | 18.110 | 27273 | 0.0303 | 3,5-Octadien-2-one |
| 21 | 18.571 | 123493 | 0.1373 | Terpinen-4-ol |
| 22 | 19.232 | 233335 | 0.2595 | Alpha-terpineol |
| 23 | 19.439 | 8087 | 0.0090 | 7-Dodcen-9-yn-1-ol |
| 24 | 19.825 | 34725 | 0.0386 | Decanal |
| 25 | 20.973 | 71051 | 0.0790 | Geraniol |
| 26 | 21.143 | 21680 | 0.0241 | 2,3-Epoxygeranial |
| 27 | 21.522 | 811577 | 0.9025 | Neral |
| 28 | 22.185 | 16641 | 0.0185 | Linalyl anthranilate |
| 29 | 22.893 | 1474148 | 1.6392 | Citral a |
| 30 | 24.342 | 8948 | 0.0100 | 3-Hexen-2-one, 5-methyl |
| 31 | 26.006 | 28998 | 0.0322 | Limonene-1,2-diol |
| 32 | 26.908 | 758985 | 0.8440 | Neryl acetate |
| 33 | 27.710 | 163151 | 0.1814 | Lavandulyl acetate |
| 34 | 27.959 | 47511 | 0.0528 | Beta-Elemene |
| 35 | 28.668 | 21670 | 0.0241 | Decanal |
| 36 | 28.929 | 53732 | 0.0597 | Alpha-Bergamotene |
| 37 | 29.098 | 384221 | 0.4272 | Beta-caryophyllene |
| 38 | 29.792 | 927157 | 1.0310 | trans-alpha-Bergamotene |
| 39 | 30.505 | 28470 | 0.0317 | Alpha-humulene |
| 40 | 30.637 | 62355 | 0.0693 | (E)-beta-Famesene |
| 41 | 30.781 | 17743 | 0.0197 | Beta-Santalene |
| 42 | 31.778 | 40626 | 0.0452 | Alpha-costol |
| 43 | 32.216 | 29967 | 0.0333 | Pentadecane |
| 44 | 32.524 | 72239 | 0.0803 | Bisabolene (Z)-alpha |
| 45 | 32.786 | 1495066 | 1.6625 | Beta-Bisabolene |

| Peak | Ret.Time | Area | Area% | Name |
|-------|----------|----------|----------|--|
| 46 | 34.088 | 38026 | 0.0423 | Bisabolene (E)-alpha |
| 47 | 34.669 | 63950 | 0.0711 | Gamma-elemene |
| 48 | 35.687 | 61516 | 0.0684 | Caryophyllene oxide |
| 49 | 36.849 | 28935 | 0.0322 | Isogeranial |
| 50 | 37.490 | 47204 | 0.0525 | Spathulenol |
| 51 | 38.469 | 48949 | 0.0544 | 8-Decen-2-one, 9-methyl-5-methylene- |
| 52 | 38.975 | 48696 | 0.0541 | 1,2,4-Trimethyl-3-nitrobicyclo[3.3.1]nonan |
| 53 | 39.532 | 60907 | 0.0677 | Alpha-Bisabolol |
| 54 | 41.126 | 130516 | 0.1451 | Hernianin |
| 55 | 43.966 | 52222 | 0.0581 | Octadecanal |
| Total | | 89928929 | 100.0000 | |

Deskripsi Produk :

Nama Ilmiah : *Citrus aurantifolia* S / *Citrus latifolia*

Asal Minyak : Kulit Jeruk Nipis

Ekstraksi : Cold Press

Aroma : Kuat dan wangi jeruk nipis

Kekuatan Bau : Tinggi

Penguapan : Top Note

Negara Asal : Meksiko

Manfaat : Efek antianemia, antibakteri, antimikroba, antiseptik, dll.

Lampiran 3

Dokumentasi Hasil Penelitian



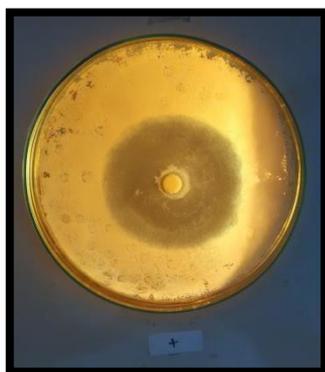
Minyak VCO sebagai Pelarut Minyak
Atsiri



Minyak Atsiri sebagai Subjek
Penelitian



12 Kelompok Perlakuan Penelitian yang terdiri dari 10 Variasi Konsentrasi, 1
Kontrol Positif, dan 1 Kontrol Negatif



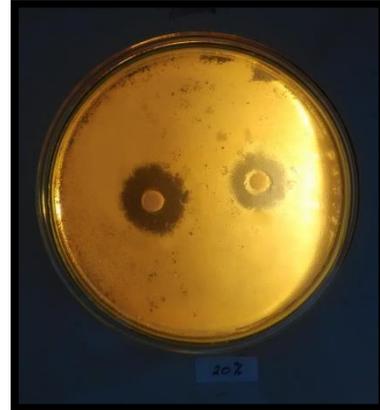
Zona Hambat Kontrol Positif
Ketokonazol 2%



Zona Hambat Kontrol Negatif Minyak
VCO



Zona Hambat Konsentrasi 10%



Zona Hambat Konsentrasi 20%



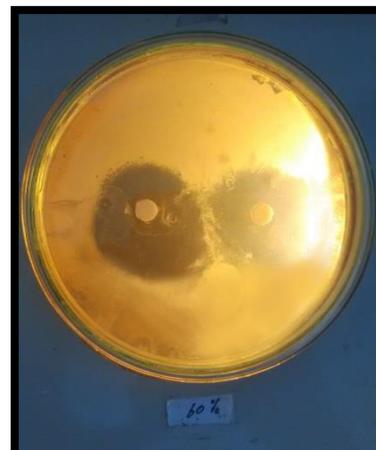
Zona Hambat Konsentrasi 30%



Zona Hambat Konsentrasi 40%



Zona Hambat Konsentrasi 50%



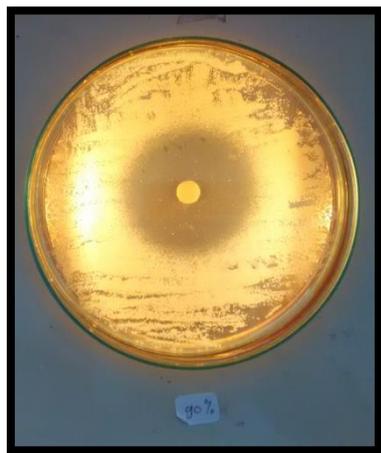
Zona Hambat Konsentrasi 60%



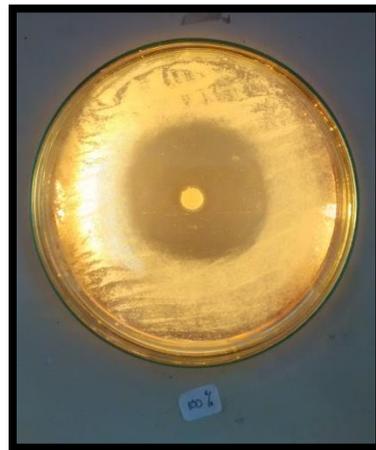
Zona Hambat Konsentrasi 70%



Zona Hambat Konsentrasi 80%



Zona Hambat Konsentrasi 90%



Zona Hambat Konsentrasi 100%

DAFTAR RIWAYAT HIDUP

Nama : Tiasmara Hidayat
Tempat Tanggal Lahir : Bandung 21 Maret 1997
Alamat Rumah : Kelurahan Bojongkantong RT 03/ RW 01 Dusun
Langkaplancar Kecamatan Langensari Kota Banjar
Agama : Islam

Riwayat Pendidikan :

1. Lulus SDN 4 Bojongkantong - Tahun 2009
2. Lulus SMPN 4 Banjar - Tahun 2012
3. Lulus SMAN 2 Banjar - Tahun 2015
4. Tercatat sebagai mahasiswa STIKes BTH Tasikmalaya Program Studi DIII
Analisis Kesehatan, tahun 2015-2018

Tasikmalaya, 11 Juli 2018

