

**KARAKTERISTIK DAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI MINYAK ATSIRI RIMPANG JERINGAU
(*Acoruscalamus L.*) TERHADAP *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli*
PADA SABUN TRANSPARAN**

**CHARACTERISTIC AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF JERINGAU (*Acoruscalamus L.*) RHIZOME ESSENTIAL OIL AGAINST *Staphylococcus aureus* AND *Escherichia coli* IN
TRANSPARENT SOAP**

Dewi Fortuna Ayu^{*}, Bambang Sisto Nadi, dan Akhyar Ali

Jurusan Teknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Riau, Kampus Bina Widya
Km. 12.5, Jl. Soebrantas, Simpang Baru, Panam, Pekanbaru 28293
E-mail: Fortuna_ayu2004@yahoo.com

Makalah: Diterima 13 Maret 2018; Diperbaiki 19 Agustus 2018; Disetujui 25 Agustus 2018

ABSTRACT

Jeringau (Acoruscalamus L.) rhizomes essential oil has an antibacterial activity so that it can be used as additives in transparent soap. The purpose of this research was to study the effect of jeringau rhizome essential oil as an antibacterial of Staphylococcus aureus and Escherichia coli on quality of transparent soap. Jeringau rhizome was extracted by steam and water distillation method to obtain the essential oil, then the essential oil was added to the formula of transparent soap according to the treatments. The treatments were addition of jeringau rhizome essential oils, such as S0 (0 mL) as control; S1 (0.05 mL); S2 (0.10 mL); S3 (0.15 mL); and S4 (0.20 mL) in 100 mL of transparent soap formula. Data were statistically analyzed using analysis of variance and Duncan's New Multiple Range Test at 5%. Research result showed that addition of jeringau essential oils significantly affected antibacterial activity against S. aureus and E. coli, water content, total fatty acid, free fatty acid, and degree of acidity (pH). The highest quality of transparent soap in this research was S4 (0.20 mL addition of jeringau rhizome essential oils). The transparent soap from this treatment had antibacterial activity which showed 11.67 and 15.46 mm on inhibitory zone against S. aureus and E. coli, 12.37% water content, 34.42% total fatty acid, 1.76% free fatty acid, 9.93 degree of acidity, and 0.05 value of irritation test (almost invisible).

Keywords: Essential oil, jeringau (Acoruscalamus L.), transparent soap, antibacterial

ABSTRAK

Minyak atsiri rimpang jeringau (*Acoruscalamus L.*) memiliki aktivitas antibakteri sehingga dapat digunakan sebagai bahan tambahan dalam sabun transparan. Tujuan penelitian ini adalah mempelajari pengaruh minyak atsiri rimpang jeringau sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* terhadap mutu sabun transparan. Rimpang jeringau diekstrak dengan metode distilasi uap dan air untuk memperoleh minyak atsiri, kemudian minyak atsiri ditambahkan pada pembuatan sabun transparan sesuai perlakuan. Perlakuan dalam penelitian ini yaitu penambahan minyak atsiri rimpang jeringau S0 (0 mL) sebagai kontrol; S1 (0,05 mL); S2 (0,10 mL); S3 (0,15 mL); dan S4 (0,20 mL) ke dalam 100 mL formulasi sabun transparan. Data dianalisis secara statistik menggunakan analisis sidik ragam dan Duncan's New Multiple Range Test pada taraf 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan minyak atsiri rimpang jeringau berpengaruh nyata terhadap aktivitas antibakteri melawan *S. aureus* dan *E. coli*, kadar air, jumlah asam lemak, asam lemak bebas, dan derajat keasaman (pH). Sabun transparan dengan mutu tertinggi pada penelitian ini adalah S4 (penambahan minyak atsiri rimpang jeringau 0,20 mL). Sabun transparan dari perlakuan ini mempunyai aktivitas antibakteri yang diperlihatkan dengan zona hambat melawan *S. Aureus* sebesar 15,46 mm dan *E. Colis* sebesar 11,67 mm, kadar air 12,37%, jumlah asam lemak 34,42%, asam lemak bebas 1,76%, derajat keasaman 9,93, dan nilai uji iritasi 0,05 (hampir tidak tampak).

Kata kunci: jeringau (*Acoruscalamus L.*), minyak atsiri, sabun transparan, antibakteri

PENDAHULUAN

Minyak atsiri merupakan campuran kompleks bahan alami dari metabolit sekunder yang bersifat volatil, diisolasi dari tanaman melalui distilasi uap atau air, dan menggunakan tekanan (Kalemba dan Kunicka, 2003; Calo *et al.*, 2015). Minyak ini dapat diekstraksi dari berbagai bagian tanaman seperti daun, buah, bunga, biji, batang, kulit

kayu, dan rimpang. Banyak tanaman di Indonesia yang merupakan sumber penghasil minyak atsiri diantaranya sereh, cengkeh, kenanga, cendana, dan jeringau.

Jeringau (*Acoruscalamus L.*) merupakan tanaman liar yang tumbuh di daerah rawa, sawah, ataupun ditanam sebagai tanaman hias pekarangan dan memiliki aroma yang kuat pada daun dan rimpangnya (Yanti *et al.*, 2014). Selama ini

masyarakat hanya menggunakan rimpang jeringau sebagai bahan obat tradisional, misalnya dibuat dengan cara ditumbuk bersama rimpang bangle untuk tapal bayi (dioleskan di perut) dan digunakan sebagai pilis (dioleskan pada dahi) bagi ibu-ibu setelah melahirkan. Menurut Sihite (2009), ekstraksi rimpang jeringau dengan metode distilasi uap dan air selama 6 jam menghasilkan rendemen minyak atsiri jeringau sebesar 0,23%.

Kandungan senyawa yang terdapat pada minyak atsiri jeringau adalah β -asarone, α -asarone, dan *shyobunone* (Kumar *et al.*, 2016; Efendi dan Widjanarko, 2014). Penelitian Kasture *et al.* (2015) menunjukkan bahwa isolasi minyak atsiri rimpang jeringau dari berbagai varietas jeringau di India mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Staphylococcus aureus*, dan *Escherichia coli* dengan konsentrasi daya hambat minimum sebesar 0,05%. Yanti *et al.* (2014) menambahkan bahwa pengujian ekstrak etanol dan air minyak atsiri dari rimpang jeringau menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Menurut Rita *et al.* (2017), nilai konsentrasi hambat minimum minyak atsiri rimpang jeringau terhadap *E. coli* dan *S. aureus* masing-masing sebesar 4 dan 0,4% dengan zona hambat berturut-turut 6,67 dan 8,83 mm.

Bakteri *S. aureus* merupakan bakteri Gram positif yang bersifat patogen pada manusia penyebab berbagai infeksi kulit dan jaringan lunak, mulai dari yang jinak seperti impetigo dan selulit sederhana hingga berbahaya yang memerlukan penanganan segera. Umumnya bakteri patogen *S. aureus* diisolasi dari situs terinfeksi bedah, abses kulit, dan selulitis yang bernanah (Tong *et al.*, 2015), sedangkan *E. coli* terutama *Enterohemorrhagic E. Coli* O157: H7 merupakan bakteri Gram negatif yang bersifat patogen bawaan makanan karena menghasilkan racun Shiga dan menyebabkan kolitis hemoragik dan sindrom uremik sisa hemolitik yang berbahaya pada manusia (Lim *et al.*, 2013). Baik bakteri *S. aureus* maupun *E. coli* dapat mengkontaminasi melalui kontak pada kulit dan tangan sehingga masuk ke dalam tubuh manusia. Minyak atsiri rimpang jeringau yang telah terbukti memiliki aktivitas antibakteri melawan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* (Kasture *et al.*, 2015; Yanti *et al.*, 2014; Rita *et al.*, 2017) berpotensi untuk ditambahkan dalam suatu sediaan berhubungan langsung dengan kulit sehingga dapat mencegah terjadinya infeksi. Salah satu sediaan yang sering digunakan adalah sabun padat.

Sabun padat transparan adalah sabun mandi berbentuk batangan dengan tampilan transparan serta menghasilkan busa lebih lembut dikulit, dan penampakannya lebih berkilau jika dibandingkan dengan jenis sabun lainnya (Hambali *et al.*, 2004). Dalam rangka meningkatkan daya guna rimpang jeringau sebagai salah satu sumber alam Indonesia yang belum termanfaatkan sekaligus sebagai upaya

penyediaan senyawa antibakteri alami yang aman bagi tubuh, maka minyak atsiri dari rimpang jeringau dapat ditambahkan dalam sediaan sabun mandi transparan. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh penambahan minyak atsiri rimpang jeringau (*Acorus calamus* L.) sebagai antibakteri melawan *S. aureus* dan *E. coli* terhadap mutu sabun transparan.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan pada penelitian ini berupa rimpang jeringau yang diperoleh dari daerah Pangean, Kabupaten Kuantan Singingi, Provinsi Riau. Bahan lain yang digunakan adalah minyak goreng curah, asam stearat, gliserin, etanol 96%, sukrosa, dietanolamida (DEA), NaCl, bakteri uji *S. Aureus* ATCC-25329 dan *E. coli* 0157 yang diisolasi di Laboratorium Teknologi Hasil Ternak Fakultas Peternakan Universitas Andalas Padang, *nutrient agar*, *nutrient broth*, indikator *phenolphthalein*, indikator metil jingga, NaOH 30%, NaOH 0,1 N, H₂SO₄ 20%, kertas lakmus, heksana, HCl 0,1 N, KOH 0,1 N, kertas cakram ukuran 6 mm, dan *aluminium foil*.

Alat yang digunakan pada penelitian ini berupa seperangkat alat distilasi, sentrifus, *hot plate stirrer*, *magnetic stirrer*, cetakan sabun, timbangan analitik, autoklaf, cawan porselen, desikator, oven, corong pisah, *laminar air flow*, inkubator, erlenmeyer, pH meter, jangka sorong, pipet volume, *pump* pipet, jarum ose, lampu bunsen, penangas air, peralatan titrasi, dan spatula.

Metode Penelitian

Penelitian dilaksanakan dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri dari lima perlakuan, yaitu S0 (tanpa penambahan minyak atsiri), S1 (penambahan minyak atsiri rimpang jeringau 0,05 mL), S2 (penambahan minyak atsiri rimpang jeringau 0,1 mL), S3 (penambahan minyak atsiri rimpang jeringau 0,15 mL), dan S4 (penambahan minyak atsiri rimpang jeringau 0,20 mL) dalam 100 mL formulasi sabun transparan. Perlakuan diulang sebanyak 4 kali. Formulasi sabun padat transparan mengacu pada penelitian Hambali *et al.* (2004) dengan modifikasi penambahan minyak atsiri rimpang jeringau seperti diperlihatkan Tabel 1.

Penyulingan Minyak Atsiri Jeringau

Penyulingan minyak atsiri rimpang jeringau mengacu pada Sihite (2009). Sebanyak 750 g rimpang jeringau yang sudah dicuci, dipotong kecil-kecil (dirajang) dengan ketebalan 2-4 mm. Hasil rajangan kemudian dikering anginkan. Rimpang yang sudah kering dimasukkan dalam ketel penyulingan yang telah diisi air, lalu disuling dengan menggunakan penyulingan uap dan air sampai uap air dan minyak atsiri keluar.

Proses penyulingan dilakukan selama 6 jam pada suhu 100°C. Campuran minyak atsiri dan air kemudian ditampung pada bak penampung cairan. Hasil penyulingan dipisahkan dari air menggunakan sentrifus. Minyak atsiri kemudian disimpan didalam botol tertutup rapat pada suhu 5°C dan terlindung dari cahaya matahari.

Tabel 1. Formulasi sabun padat transparan

Bahan	Perlakuan				
	S0	S1	S2	S3	S4
Minyak atsiri (mL)	0	0,05	0,10	0,15	0,20
Minyak goreng curah(mL)	20	20	20	20	20
Asam stearat (g)	7	7	7	7	7
NaOH 30% (mL)	20,3	20,3	20,3	20,3	20,3
Gliserin (mL)	13	13	13	13	13
Etanol (mL)	15	15	15	15	15
Larutan sukrosa (mL)	17	17	17	17	17
NaCl (g)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
DEA (mL)	3	3	3	3	3
Air (mL)	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5

Pembuatan Sabun Transparan

Bahan-bahan dasar untuk 100 mL formulasi sabun transparan ditimbang sesuai perlakuan. Sebanyak 7 g asam stearat dilebur dalam 20 mL minyak goreng curah pada suhu 70-80°C. Setelah itu larutan NaOH 30% sebanyak 20,3 mL ditambahkan dan diaduk selama 5 menit hingga terbentuk stok sabun. Setelah terbentuk stok sabun, sebanyak 13 mL gliserin, 15 mL etanol, 17 mL sukrosa, 3 mL DEA, dan 0,2 g NaCl ditambahkan dan diaduk selama 10 menit pada suhu 50-60°C hingga campuran menjadi homogen. Setelah itu minyak atsiri jeringau (0 mL; 0,05 mL; 0,1 mL; 0,15 mL; 0,20 mL) dan 4,5 mL air ditambahkan, kemudian diaduk pada suhu 40°C hingga homogen, lalu dituang dalam cetakan dan didiamkan kurang lebih 24 jam pada suhu kamar.

Pembuatan Media Nutrient Broth untuk Perbanyakan Bakteri

Prosedur pembuatan media untuk perbanyakan bakteri mengacu pada Bridson (2006). Media yang digunakan adalah *nutrient broth* yang dibuat dengan menimbang 0,2 g *nutrient broth* dan dilarutkan akuades hingga mencapai volume 50 mL di dalam erlenmeyer. Larutan didistribusikan dalam tabung reaksi masing-masing sebanyak 5 mL, lalu ditutup dengan kapas dan dilapisi dengan *aluminium foil*. Kemudian media disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Media ini digunakan untuk perbanyakan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

Pembuatan Media Nutrient Agar untuk Pengujian Antibakteri

Prosedur pembuatan media *nutrient agar* untuk pengujian antibakteri mengacu pada Bridson

(2006). Media *nutrient agar* ditimbang sebanyak 10 g, dimasukkan dalam erlenmeyer kemudian dilarutkan akuades hingga mencapai volume 500 mL dan diaduk. Larutan media ditutup dengan plastik dan *aluminium foil* serta diaduk menggunakan *magnetic stirrer* hingga tercampur rata. Setelah itu, larutan media disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C. Larutan media diturunkan suhunya hingga sekitar 50-60°C. Larutan media steril kemudian dituang ke dalam cawan petri masing-masing sebanyak 15 mL. Penuangan media dilakukan dalam *laminar air flow*. Cawan petri yang berisi mediakemudian ditutup dan dibiarkan sampai membeku.

Perbanyakan Bakteri

Isolat *S. aureus* ATCC-25329 dan *E. coli* 0,157 masing-masing diinokulasikan sebanyak satu ose dalam tabung reaksi berisi media *nutrient broth* 5 mL. Kemudian isolat dan media (inokulum) diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dalam inkubator hingga diperoleh kultur aktif yang berubah warna menjadi keruh. Kultur aktif lalu disimpan pada suhu 37°C dan siap digunakan.

Analisis Karakteristik Sabun Transparan

Pengamatan yang dilakukan terhadap sampel sabun transparan meliputi aktivitas antibakteri, kadar air, jumlah asam lemak, asam lemak bebas/alkali bebas, pH, dan uji iritasi. Uji aktivitas antibakteri bertujuan untuk mengetahui konsentrasi minyak atsiri yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli* dan *S. aureus*. Pengujian ini dilakukan dengan metode difusi menggunakan kertas cakram. Kertas cakram (diameter 6 mm) direndam dalam larutan uji pada konsentrasi 20% (4 g sabun disuspensikan dalam 20 mL air) kemudian diletakkan di atas permukaan media *nutrient agar* yang sebelumnya telah disebar 0,1 mL kultur mikroorganisme uji. Sampel kemudian diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37°C. Diameter daerah hambat yang terdapat di sekitar kertas cakram diukur menggunakan jangka sorong.

Pengukuran kadar air sabun transparan dilakukan dengan cara sampel ditimbang sebanyak 2 g dan dimasukkan ke dalam cawan porselin yang telah diketahui beratnya. Sampel dipanaskan dalam oven selama 3 jam pada suhu 105°C. Kemudian sampel didinginkan dalam desikator selama 30 menit, lalu ditimbang. Perlakuan ini diulang sampai tercapai berat konstan (selisih penimbangan berturut-turut kurang dari 0,2 mg). Kadar air pada sabun transparan dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{W1-W2}{W1} \times 100\% \dots\dots\dots (1)$$

Keterangan :

- W = Berat sampel (g)
- W1 = Berat sampel+cawan petri kosong (g)
- W2 = Berat sampel setelah pengeringan (g)

Penentuan jumlah asam lemak pada sabun transparan mengacu pada Qisti (2009). Sabun transparan ditimbang sebanyak 10 g, kemudian dimasukkan ke dalam gelas piala 250 mL dan ditambahkan 50 mL akuades. Setelah itu 3 tetes indikator metil jingga ditambahkan ke dalam larutan sabun tersebut dan ditambahkan H₂SO₄ 20% berlebih hingga semua asam lemak terbebas dari natrium yang ditunjukkan oleh adanya perubahan warna larutan menjadi merah. Selanjutnya larutan tersebut dimasukkan ke dalam corong pemisah dan dikocok kurang lebih 15 menit. Setelah didiamkan dan terbentuk 2 lapisan, maka lapisan bawah yang berupa air segera dikeluarkan, kemudian diekstrak dengan 25 mL heksana sebanyak 3 kali.

Langkah berikutnya pelarut dibilas akuades sampai tidak bersifat asam, diketahui menggunakan kertas pH. Kemudian pelarut dengan asam lemak dipisahkan dengan cara penyulingan. Asam lemak yang diperoleh kemudian dimasukkan ke dalam cawan porselin yang sebelumnya sudah ditimbang untuk mengetahui berat cawan kosongnya. Selanjutnya cawan porselin yang berisi asam lemak tersebut dioven pada suhu 105°C selama 1 jam sampai terbebas dari pelarut heksana. Kemudian cawan porselin ditimbang dan dicatat hasil yang diperoleh. Jumlah asam lemak pada sabun transparan dihitung menggunakan rumus berikut:

$$\text{Jumlah asam lemak (\%)} = \frac{(W_2 - W_1)}{W} \times 100\% \dots\dots\dots (2)$$

Keterangan:

- W = Berat sampel (g)
 W₁ = Berat cawan porselin kosong (g)
 W₂ = Berat cawan porselin + asam lemak (g)

Penentuan asam lemak bebas dilakukan dengan cara sabun transparan ditimbang sebanyak 2,5 g dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 mL. Kemudian alkohol 96% ditambahkan sebanyak 50 mL (yang telah dinetralkan dengan NaOH 0,1 N) dan ditambahkan 2 mL indikator phenolphthalein. Selanjutnya larutan dititrasi dengan NaOH 0,1 N tetes demi tetes melalui buret sampai timbul warna merah muda yang tahan selama 30 detik. Kadar asam lemak bebas pada sabun transparan dapat dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Asam lemak bebas (\%)} = \frac{V \times N \times BM}{M \times 1000} \times 100\% \dots\dots\dots (3)$$

Keterangan:

- V = Volume titrasi NaOH (mL)
 N = Normalitas NaOH (0,1 N)
 BM = Berat molekul minyak kelapa sawit (263 g/mol)
 M = Berat sabun transparan (g)

Penentuan alkali bebas dilakukan dengan cara sabun transparan ditimbang sebanyak 10 g,

kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 mL. Setelah itu alkohol 96% netral ditambahkan sebanyak 25 mL dan dikocok hingga tercampur, kemudian 3 tetes indikator phenolphthalein ditambahkan. Langkah terakhir yaitu dititrasi dengan larutan HCl 0,1 N hingga warna merah jambu hilang dan dicatat volume HCl yang dipakai. Jumlah alkali bebas pada sabun transparan dapat dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Alkali bebas (\%)} = \frac{V \times N \times BM}{M \times 1000} \times 100\% \dots\dots\dots (3)$$

Keterangan:

- V = Volume titrasi HCl (mL)
 N = Normalitas HCl (0,1 N)
 BM = Berat molekul NaOH (40 g/mol)
 M = Berat sabun transparan (g)

pH sabun transparan diukur menggunakan pH meter. Alat terlebih dahulu dikalibrasi menggunakan larutan buffer pH 4 dan 9. Pengukuran pH dilakukan dengan mengencerkan 1 g sabun transparan dengan 10 mL akuades di dalam suatu wadah, kemudian elektroda dicelupkan ke dalam larutan tersebut dan dibiarkan bergerak sampai angka konstan. Angka yang ditunjukkan pH meter merupakan pH sabun transparan.

Uji iritasi sabun transparan mengacu pada Trifena (2012). Sabun transparan sebanyak 0,1 g dicampur dengan 5 mL air, kemudian dioleskan pada lengan bagian bawah yang telah diberi tanda dengan diameter 3 cm dan dibiarkan selama 1 jam. Gejala yang terjadi dapat berupa eritema maupun edema. Eritema adalah suatu penyakit yang ditandai oleh adanya bercak-bercak kemerahan, sedangkan edema adalah akumulasi abnormal cairan di dalam ruang interstitial (celah di antara sel) atau jaringan tubuh yang menimbulkan pembengkakan.

Analisis Data

Data yang diperoleh berupa pengukuran aktivitas antibakteri, kadar air, jumlah asam lemak, asam lemak bebas/alkali bebas, derajat keasaman (pH), dan uji iritasi dianalisis secara statistik dengan menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA). Apabila dari hasil uji didapatkan $F_{hitung} \geq F_{tabel}$ maka akan dilakukan uji lanjut dengan *Duncan's New Multiple Range Test* (DNMRT) pada taraf 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

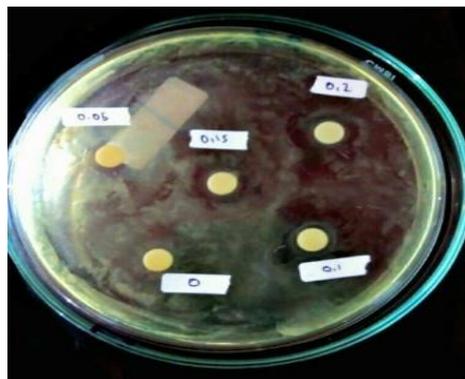
Karakteristik Sabun Transparan

Penyulingan minyak atsiri dari rimpang jeringau yang dilakukan dengan menggunakan metode distilasi uap dan air menghasilkan rendemen minyak atsiri sebesar 0,3%, sedikit lebih tinggi dibandingkan hasil penelitian Sihite (2009) sebesar 0,23%, dengan karakteristik berwarna kuning, bobot jenis 1,0710 g/mL, dan bilangan asam 3,59. Bobot jenis minyak atsiri jeringau ini sudah memenuhi

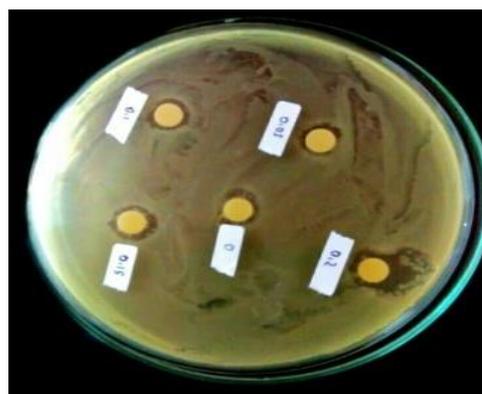
standar mutu minyak jeringau tipe India EAO No. 101 dengan karakteristik warna kuning-coklat muda, bobot jenis 1,06-1,08 g/mL, dan bilangan asam maks 4 (Yuliani dan Sahutu, 2012). Jika dibandingkan dengan minyak atsiri jenis lain, bobot jenis minyak jeringau lebih tinggi dibandingkan bobot jenis minyak kayu putih yaitu sebesar 0,900-0,930 (SNI, 2014), namun telah memenuhi bilangan asam untuk standar mutu minyak nilam yaitu maksimal 5,0 (SNI, 2006). Minyak atsiri rimpang jeringau ini kemudian ditambahkan dalam formulasi sabun transparan sesuai perlakuan. Hasil pengujian aktivitas antibakteri dan mutu sabun transparan pada beberapa konsentrasi minyak atsiri jeringau diperlihatkan pada Tabel 2.

Uji Aktivitas Antibakteri

Hasil pengujian menunjukkan rata-rata diameter zona hambat minyak atsiri rimpang jeringau pada sabun transparan yang diukur menggunakan kertas cakram berdiameter 6 mm terhadap bakteri *S. aureus* berkisar antara 9,54-15,46 mm dan bakteri *E. coli* berkisar antara 8,61-11,67 mm (Tabel 2). Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Rita *et al.* (2017), yang mengatakan bahwa minyak atsiri rimpang jeringau memiliki daya hambat yang kuat terhadap *S. aureus* (11-14 mm) dan daya hambat sedang sampai kuat untuk *E. coli* (6-12 mm). Zona hambat pada bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dapat dilihat pada Gambar 1 dan 2. Kemampuan hambat terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* disebabkan adanya senyawa antibakteri pada minyak atsiri jeringau. Menurut Efendi dan Widjanarko (2014), senyawa aktif pada minyak atsiri jeringau yang paling banyak yaitu β -asarone.



Gambar 1. Zona hambat minyak atsiri jeringau dalam sabun padat transparan terhadap *S. Aureus*



Gambar 2. Zona hambat minyak atsiri jeringau dalam sabun padat transparan terhadap *E. coli*

Tabel 2. Aktivitas antibakteri dan mutu sabun transparan dengan penambahan beberapa konsentrasi minyak atsiri jeringau

Parameter uji	SNI	Perlakuan*				
		S0	S1	S2	S3	S4
Diameter zona hambat (mm)						
• <i>S. aureus</i>	-	0,00 ^a	9,54 ^b	11,77 ^c	12,32 ^c	15,46 ^d
• <i>E. coli</i>	-	0,00 ^a	8,61 ^b	8,67 ^b	9,17 ^b	11,67 ^c
Kadar air (%)	Maks. 15 ^{**}	13,51 ^d	13,04 ^c	12,83 ^{bc}	12,56 ^{ab}	12,37 ^a
Jumlah asam lemak (%)	>70 ^{***}	31,23 ^a	32,13 ^{ab}	32,81 ^b	33,53 ^{bc}	34,42 ^c
Asam lemak bebas (%)	Maks. 2,5 ^{**}	1,01 ^a	1,28 ^b	1,43 ^{bc}	1,58 ^{cd}	1,76 ^d
Alkali bebas (%)	Maks. 0,1 ^{**}	-	-	-	-	-
pH	8-11 ^{***}	10,23 ^c	10,21 ^c	10,18 ^c	10,10 ^b	9,93 ^a
Uji Iritasi						
• Eritema	-	0,55 ^b	0,20 ^a	0,05 ^a	0,05 ^a	0,05 ^a
• Edema	-	-	-	-	-	-

Ket : Angka-angka yang diikuti oleh huruf kecil yang sama tidak berbeda nyata menurut uji DNMRT pada taraf 5%.

*Penambahan minyak atsiri rimpang jeringan dalam 100 mL formulasi sabun transparan S0 (0 mL); S1 (0,05 mL); S2 0,10 mL); S3 (0,15 mL); S4 (0.2 mL)

** SNI (2016)

*** SNI (1994)

**** SNI (1996)

Penelitian Kasture *et al.* (2015) menunjukkan bahwa senyawa β -asarone memiliki aktivitas antibakteri melawan bakteri *S. aureus*, dan *E. coli* pada konsentrasi 0,05%. Hasil penelitian Ali *et al.* (2013) memperlihatkan bahwa minyak atsiri jahe mampu melawan bakteri *S. aureus*, dan *E. Coli* pada konsentrasi 25%, sedangkan hasil penelitian Febriyenti *et al.* (2014) memperlihatkan bahwa minyak atsiri ylang-ylang mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji pada konsentrasi 3,1%. Hal ini membuktikan bahwa minyak atsiri rimpang jeringau lebih kuat melawan bakteri *S. aureus*, dan *E. Coli* dibandingkan minyak atsiri jahe maupun ylang-ylang.

Senyawa antibakteri dari minyak atsiri jeringau lebih sensitif dalam menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif (*S. aureus*), dibandingkan dengan Gram negatif (*E. coli*). Hal ini karena bakteri Gram negatif memiliki struktur dinding sel yang kompleks, kadar lipid yang tinggi, dan peptidoglikan tunggal, sedangkan bakteri Gram positif mempunyai struktur dinding sel yang lebih sederhana dan peptidoglikan tebal. Menurut Brooks *et al.* (2001), bakteri Gram negatif hanya memiliki satu lapisan peptidoglikan. Meskipun lapisan peptidoglikan pada bakteri Gram negatif lebih sedikit dibandingkan dengan bakteri Gram positif, namun dinding selnya tersusun lebih kompleks yaitu terdiri dari membran luar, lipoprotein, dan lipopolisakarida. Hal serupa diungkapkan oleh Cherrat *et al.* (2014) bahwa minyak atsiri dari *Laurus nobilis* dan *Myrtus communis* memperlihatkan aktivitas antibakteri yang lebih tinggi terhadap bakteri Gram positif daripada Gram negatif. Bakteri Gram positif *S. aureus* kurang resistan sedangkan bakteri Gram negatif *E. coli* O157: H7 paling resistan terhadap kedua minyak atsiri tersebut.

Kadar Air

Hasil pengujian menunjukkan kadar air sabun transparan yang dihasilkan berkisar 12,37-13,51% (Tabel 2). Semakin banyak minyak atsiri jeringau yang ditambahkan maka kadar air sabun transparan semakin rendah. Hal ini disebabkan karena minyak atsiri bersifat hidrofobik sehingga sabun transparan dengan penambahan minyak atsiri jeringau akan memiliki gugus hidroksil (larut dalam air) lebih sedikit akibat tergantikan oleh gugus hidrofobiknya (tidak larut dalam air). Menurut Efendi dan Widjanarko (2014), minyak atsiri jeringau bersifat hidrofobik karena minyak atsiri jeringau memiliki senyawa terpen berantai karbon panjang dan senyawa aromatik yang bersifat non polar sehingga semakin banyak minyak atsiri jeringau yang ditambahkan maka kemampuan mengikat airnya semakin kecil.

Sabun mandi padat transparan yang ditambahkan dengan minyak atsiri jeringau memiliki kadar air sesuai dengan standar mutu yang sudah ditetapkan oleh Badan Standarisasi Nasional (2016)

yaitu maksimal 15%. Kadar air dapat mempengaruhi tingkat kekerasan dan daya guna sabun. Semakin banyak air yang terkandung dalam sabun maka tingkat kekerasan sabun akan menurun. Banyaknya air dalam sabun akan menyebabkan sabun cepat habis saat digunakan karena sabun akan mudah larut dalam air.

Jumlah Asam Lemak

Jumlah asam lemak adalah keseluruhan asam lemak baik asam lemak yang terikat dengan natrium maupun asam lemak bebas dan lemak netral yang tidak tersabunkan (*unsaponified fat*) (SNI, 1994). Sabun mandi merupakan hasil reaksi antara senyawa natrium atau kalium dengan asam lemak dari minyak nabati dan atau lemak hewani berbentuk padat, lunak atau cair, berbusa digunakan sebagai pembersih, dengan menambahkan zat pewangi, dan bahan lainnya yang tidak membahayakan kesehatan, maka SNI sabun mandi padat (1994) mensyaratkan jumlah asam lemak dalam sabun mandi padat lebih dari 70 (%). Hal ini untuk memastikan kecukupan jumlah asam lemak untuk terjadinya reaksi saponifikasi. Namun, berdasarkan SNI sabun mandi padat (2016) tidak mensyaratkan adanya ketentuan jumlah asam lemak lebih dari 70%.

Hasil pengukuran jumlah asam lemak sabun transparan berkisar antara 31,23-34,42% (Tabel 2). Semakin banyak minyak atsiri jeringau yang ditambahkan maka jumlah asam lemak dalam sabun padat transparan semakin tinggi. Hal ini disebabkan karena minyak atsiri jeringau mengandung asam lemak heksadekanoat dan heptadekanoat (Efendi dan Widjanarko, 2014), selain asam lemak bebas yang terukur dengan bilangan asam sebesar 3,59.

Selain minyak atsiri rimpang jeringau, sumber asam lemak pada sabun transparan berasal dari asam stearat dan minyak goreng sawit yang digunakan sebagai bahan baku. Menurut Pasaribu (2004), asam lemak dominan pada minyak sawit adalah asam palmitat (40-46%) dan asam oleat (30-45%). Bahan lain yang menjadi sumber asam lemak dalam sabun transparan adalah DEA. Menurut Hambali *et al.* (2004), DEA merupakan surfaktan nonionik yang dibuat dengan mereaksikan asam lemak dengan dietanolamida.

Jumlah asam lemak yang diperoleh dari analisis sabun transparan berada dalam kisaran 31,23-34,42%. Rentang nilai ini belum memenuhi batas minimum mutu sabun yang ditetapkan oleh SNI sabun mandi padat (1994) tetapi tidak untuk SNI sabun mandi padat (2016). Hasil penelitian Prapanta (2014) menunjukkan bahwa jumlah asam lemak pada sabun transparan dengan penambahan minyak atsiri kulit jeruk pontianak dengan konsentrasi 0,025-0,1% juga cukup rendah yaitu berkisar 34,45-34,83%. Hal yang sama juga terjadi pada penelitian Qisti (2009) yaitu sabun transparan yang diberi perlakuan penambahan madu dengan konsentrasi 2,5-7,5% memiliki jumlah asam lemak berkisar 20,03-30,64%. Rendahnya jumlah asam

lemak dalam sabun transparan disebabkan karena formulasi sabun transparan yang ditambahkan beberapa bahan tambahan lain seperti gliserin dan alkohol yang dapat meningkatkan transparansi. Menurut Qisti (2009), penambahan alkohol yang berfungsi sebagai pelarut dan pembentuk transparansi akan menyebabkan asam lemak larut karena alkohol bersifat non polar, sehingga mengurangi jumlah asam lemak dalam sabun transparan.

Asam Lemak Bebas/Alkali Bebas

Hasil pengukuran asam lemak bebas sabun transparan berkisar 1,01-1,76% (Tabel 2). Semakin banyak minyak atsiri jeringau yang ditambahkan maka jumlah asam lemak semakin bertambah dan nilai asam lemak bebas sabun transparan semakin tinggi. Hal ini disebabkan karena semakin banyak minyak atsiri yang ditambahkan maka semakin bertambah jumlah asam lemak bebas akibat reaksi hidrolisis dengan adanya air yang ditambahkan selama proses pembuatan sabun transparan. Semakin tinggi jumlah asam lemak minyak atsiri, maka jumlah alkali (NaOH) yang ditambahkan semakin tidak cukup untuk menyabunkan seluruh lemak, sehingga meningkatkan jumlah asam lemak yang tidak ikut bereaksi atau asam lemak bebas. Hasil penelitian ini sebanding dengan hasil penelitian Ismanto *et al.* (2016), dimana penambahan minyak gaharu 1% dapat meningkatkan kadar asam lemak bebas sabun padat aromaterapi. Menurut Ayu *et al.* (2010), asam lemak bebas yang tinggi dapat mengurangi daya ikat sabun pada kotoran, minyak, lemak, ataupun keringat. Asam lemak bebas tidak mampu mengikat kotoran karena lebih bersifat polar, berbeda dengan minyak, lemak ataupun kotoran yang bersifat non polar.

Kadar asam lemak bebas sabun juga dapat dipengaruhi oleh kadar asam lemak bebas dari minyak yang digunakan. Kandungan asam lemak bebas pada minyak kelapa sawit yang digunakan yaitu 0,25%. Kadar asam lemak bebas ini masih memenuhi standar minyak goreng sawit maksimal sebesar 0,3% (SNI, 2012).

Besarnya alkali bebas sabun transparan pada penelitian ini tidak terukur, karena jumlahnya yang sangat kecil. Hasil penelitian ini serupa dengan hasil penelitian Ismanto *et al.* (2016), dimana alkali bebas tidak terukur karena semua alkali telah bereaksi dengan semua asam lemak dari minyak kelapa murni dan minyak atsiri yang digunakan. Kelebihan alkali dalam sabun tidak diharapkan karena akan menyebabkan rasa panas pada kulit saat sabun digunakan, namun kekurangan alkali juga akan menyebabkan kelebihan asam lemak bebas karena semakin banyaknya asam lemak yang tidak tersabunkan oleh alkali.

Derajat Keasaman (pH)

Hasil pengukuran nilai pH sabun transparan berkisar 9,93-10,23 (Tabel 2). Semakin banyak

minyak atsiri jeringau yang ditambahkan maka nilai pH sabun transparan semakin rendah. Efendi dan Widjanarko (2014) menyatakan bahwa minyak atsiri jeringau mengandung asam heksadekanoat dan asam heptadekanoat. Hasil analisa juga menunjukkan minyak atsiri jeringau memiliki bilangan asam 3,59. Semakin banyak minyak atsiri yang ditambahkan maka semakin banyak asam organik dalam sabun transparan sehingga pH sabun padat transparan menjadi semakin turun. Hasil penelitian ini sebanding dengan penelitian Prapanta (2014) dimana penambahan minyak atsiri dari kulit buah jeruk Pontianak sebesar 0,025-0,1% dapat menurunkan pH sabun transparan, dengan kisaran antara 10,79-10,92.

Pengukuran nilai pH dilakukan untuk mengetahui sabun yang dihasilkan bersifat asam atau basa. Pada umumnya sabun memiliki sifat basa, hal ini dikarenakan bahan dasar penyusun sabun padat tersebut yaitu NaOH yang bersifat basa kuat. pH yang terlalu rendah dapat meningkatkan daya absorpsi kulit sehingga menyebabkan iritasi pada kulit. Nilai pH yang tinggi menyebabkan kulit menjadi bersisik (Trifena, 2012).

Uji Iritasi

Iritasi ditandai dengan adanya eritema dan edema pada kulit. Tingkat eritema ditandai dengan adanya reaksi kemerahan ataupun adanya luka sedangkan tingkat edema ditandai dengan bengkak yang ditimbulkan di permukaan kulit (Trifena, 2012). Tabel 2 menunjukkan rata-rata pengujian iritasi terhadap panelis berkisar antara 0,05-0,52 (tidak ada eritema sampai sedikit eritema). Penambahan minyak atsiri jeringau 0-0,20 mL ke dalam formulasi sabun transparan tidak berpengaruh nyata terhadap iritasi yang ditimbulkan. Hal ini berkaitan dengan minyak atsiri jeringau yang tidak mengandung komponen yang dapat menyebabkan iritasi.

Iritasi yang dialami beberapa panelis berupa eritema ringan lebih dikaitkan dengan nilai pH sabun transparan yang relatif tinggi dibandingkan dengan pH kulit manusia. Nilai pH yang terlalu tinggi mampu menyebabkan iritasi dan dehidrasi kulit. Meskipun pH sabun yang dihasilkan sudah memenuhi standar yang ditetapkan SNI (1996), namun iritasi juga dapat disebabkan oleh kesensitifan kulit panelis terhadap jenis alkali yang digunakan dalam pembuatan sabun. Hadia (2006) menyatakan bahwa sensitifitas kulit seseorang berbeda-beda, tergantung pada hormon, kesehatan kulit, dan sifat genetisnya.

Rekapitulasi Hasil Perlakuan Terpilih

Sabun mandi merupakan sediaan pembersih kulit yang dibuat dari proses saponifikasi atau netralisasi dari lemak, minyak, wax, rosin atau asam dengan basa organik atau anorganik tanpa menimbulkan iritasi pada kulit (SNI, 2016). Oleh karena itu, produk sabun mandi harus memenuhi

syarat mutu yang telah ditetapkan oleh Standar Nasional Indonesia (SNI). Nilai kadar air, asam lemak bebas/alkali bebas, dan Ph sabun transparan pada semua perlakuan telah memenuhi syarat mutu sabun mandi. Jumlah asam lemak sabun transparan belum memenuhi standar yang telah ditetapkan oleh SNI (1996), tetapi SNI (2016) tidak mensyaratkan adanya ketentuan jumlah asam lemak yang lebih dari 70%.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa semakin banyak penambahan minyak atsiri rimpang jeringau menunjukkan peningkatan aktivitas antibakteri pada sabun transparan. Penambahan minyak atsiri jeringau 0,20 mL pada formulasi sabun transparan merupakan perlakuan terbaik yang memberikan zona hambat tertinggi terhadap bakteri *S. aureus* 15,46 mm dan *E. coli* 11,67 mm, dengan karakteristik kadar air 12,37%, jumlah asam lemak 34,42%, asam lemak bebas 1,76%, pH 9,93, dan nilai uji iritasi eritema 0,05 (hampir tidak tampak).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Penambahan minyak atsiri 0,05-0,2 mL dalam 100 mL formulasi sabun transparan memperlihatkan daya hambat kategori sedang-kuat terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Semakin banyak penambahan minyak atsiri rimpang jeringau meningkatkan jumlah asam lemak, asam lemak bebas, dan pH sabun transparan. Perlakuan S4 (penambahan minyak atsiri jeringau 0,20 mL) pada sabun padat transparan merupakan perlakuan terbaik dengan zona hambat terhadap bakteri *S. aureus* 15,46 mm dan *E. coli* 11,67 mm, kadar air 12,37%, jumlah asam lemak 34,42%, asam lemak bebas 1,76%, pH 9,93, dan nilai uji iritasi eritema 0,05 (hampir tidak tampak).

Saran

Penelitian ini perlu dilanjutkan dengan kajian pengaruh penambahan minyak atsiri rimpang jeringau terhadap karakteristik sensori sabun padat transparan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih diucapkan kepada Laboratorium Teknologi Hasil Ternak Fakultas Peternakan Universitas Andalas, Padang atas kesediaannya memberikan isolasi bakteri uji *S. aureus* ATCC-25329 dan *E. coli* 0157.

DAFTAR PUSTAKA

Yanti AH, Anisah, dan Khotimah S. 2014. Aktivitas antibakteri ekstrak rimpang jeringau (*Acorus calamus* L.) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Journal Protobiont*. 3(3): 1-5.

- Ali S, Baharuddin M, dan Sappewali S. 2013. Pengujian aktivitas antibakteri minyak atsiri jahe (*Zingiber officinale* Roscoe) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Al-Kimia*. 1(2):18-31.
- Ayu DF, Ali A, dan Sulaiman R. 2010. Evaluasi mutu sabun padat dari minyak goreng bekas makanan jajanan di Kecamatan Tampan Kota Pekanbaru dengan penambahan natrium hidroksida dan lama waktu penyabunan. *Prosiding Konferensi dan Seminar Nasional XX Badan Kerjasama Pusat Studi Lingkungan - Seminar Nasional Lingkungan Hidup*. Pekanbaru, Indonesia. 14-16 Mei 2010.
- [SNI] Standarisasi Nasional Indonesia 3532.2016. *Standar Mutu Sabun Mandi Padat*. Jakarta: Badan Standarisasi Nasional.
- [SNI] Standarisasi Nasional Indonesia 06-3532. 1994. *Standar Mutu Sabun Mandi Padat*. Jakarta: Badan Standarisasi Nasional.
- [SNI] Standarisasi Nasional Indonesia 06-4085. 1996. *Standar Mutu Sabun Cair*. Jakarta: Badan Standarisasi Nasional.
- [SNI] Standarisasi Nasional Indonesia 06-2385.2006. *Standar Mutu Minyak Nilam*. Jakarta: Badan Standarisasi Nasional.
- [SNI] Standarisasi Nasional Indonesia 7709.2012. *Standar Mutu Goreng Sawit*. Jakarta: Badan Standarisasi Nasional.
- [SNI] Standarisasi Nasional Indonesia 3954. 2014. *Standar Mutu Minyak Kayu Putih*. Jakarta: Badan Standarisasi Nasional.
- Bridson EY. 2006. *The Oxoid Manual*. 9th ed. Basingstoke: Oxoid, Ltd.
- Brooks GF, Butel JS, dan Morse SA. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi ke-22. Jakarta: Salemba Medika.
- Calo JR, Crandall PG, O'Bryan CA, Ricke S C. 2015. Essential oils as antimicrobials in food systems – A review. *Food Control*. 54: 111–119.
- Cherrat L, Espina L, Bakkali M, Garcia-Gonzalo D, Pagan R, Laglaoui A. 2014. Chemical composition and antioxidant properties of *Laurus nobilis* L. and *Myrtus communis* L. essential oils from Morocco and evaluation of their antimicrobial activity acting alone or in combined processes for food preservation. *Journal Science Food Agric*. 94: 1197-1204.
- Efendi VP dan Widjanarko SB. 2014. Distilasi dan karakterisasi minyak atsiri rimpang jeringau (*Acorus calamus*) dengan kajian lama waktu distilasi dan rasio bahan:pelarut. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 2(2): 1-8.
- Febriyenti F, Sari LI, dan Nofita R. 2014. Formulasi sabun transparan minyak ylang-ylang dan uji efektivitas terhadap bakteri penyebab jerawat. *jsfk*. 1(1): 61-71.

- Hadia PKR. 2006. Komposisi dan evaluasi hasil pembuatan sabun padat *Virgin Coconut Oil* (VCO) dengan sari jeruk nipis. [Skripsi]. Padang: Universitas Andalas.
- Hambali E, Bunasor TK, Suryani A, Kusumah GA. 2004. Aplikasi dietanolamida dari asam laurat minyak inti sawit pada pembuatan sabun transparan. *Jurnal Teknologi Industri Pertanian*.15(2): 46-53.
- Ismanto SD, Neswati, dan Amanda S. 2016. Pembuatan sabun padat aromaterapi dari minyak kelapa murni (*Virgin Coconut Oil*) dengan penambahan minyak gubal gaharu (*Aquilaria malaccensis*). *Jurnal Teknol Pertanian Andalas*. 20(2): 9-19.
- Kalemba D dan Kunicka A. 2003. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Curr. Med. Chem.* 10:813-829.
- Kasture A, Patel S, Chauhan J, Krishnamurthy R. 2015. In vitro antimicrobial effect of essential oil from leaf and rhizome of various accessions of *Acorus calamus* Linn. and its phytochemical screening. *Eur. Journal Med. Chem.* 9(2): 1-13.
- Kumar R, Sharma S, Sharma S, Kumari A, Kumar D, Nadda G, Padwad Y, Ogra RK, Kumar. N. 2016. Chemical composition, cytotoxicity and insecticidal activities of *Acorus calamus* accessions from the western Himalayas. *Ind Crop Prod.* 94:520-527.
- Lim JY, Yoon JW, dan Hovde CJ. 2013. A brief overview of *Escherichia coli* O157:H7 and its plasmid O157. *Journal Microbiol Biotechnol.* 20(1): 5–14.
- Prapanta M. 2014. Uji efektivitas sabun transparan anti jerawat minyak atsiri kulit buah jeruk pontianak (*Citrus nobilis* Lour. var. microcarpa) terhadap isolat (*Propionibacterium acnes*). *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan*.1(1):1-12.
- Qisti R. 2009. Sifat kimia sabun transparan dengan penambahan madu pada konsentrasi yang berbeda. [Skripsi].Bogor:Institut Pertanian Bogor.
- Rita WS, Suirta IW, dan Utami PPP. 2017. Aktivitas antibakteri minyak atsiri rimpang jeringan terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Cakra Kimia (Indonesiaan E-Journal of Applied Chemistry)*. 5(2): 130-136.
- Sihite DT. 2009. Karakteristik minyak atsiri jeringau (*Acorus calamus*). [Skripsi]. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Trifena. 2012. Analisis uji *in vitro* dan *in vivo* ekstrak kombinasi kulit manggis (*Garcinia mangostona* L.) dan pegangan (*Centella asiatica* L.) sebagai krim antioksidan. [Tesis]. Depok: Universitas Indonesia.
- Tong SYT, Davis JS, Elchenberger E, Holland TL, Fowler VG. 2015. *Staphylococcus aureus* Infections: Epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Clin. Microbiol. Rev.* 28 (3): 603–61.
- Yuliani S dan Satuhu. 2012. *Panduan Lengkap Minyak Atsiri*.Jakarta: Penebar Swadaya