

AKTIVITAS ANTIBAKTERI MINYAK NILAM (*Pogostemon cablin* Benth) PADA BEBERAPA TINGKAT KADAR PATCHOULI ALCOHOL

ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF PATCHOULI OIL IN SOME PATCHOULI ALCOHOL CONTENT

Sarifah Nurjanah, Dwi Merita Rosi, Rizqi Putri Fathoni, Sudaryanto Zain,
Asri Widyasanti, Indra Lanti Kaya Putri

Fakultas Teknologi Industri Pertanian, Universitas Padjadjaran
Email :sarifah@unpad.ac.id

Makalah: Diterima 17 April 2019; Diperbaiki 19 Oktober 2019; Disetujui 5 Desember 2019

ABSTRACT

Patchouli oil (*Pogostemon cablin* Benth) contains patchouli alcohol (PA) as the main component, which has antibacterial activity. Some previous studies suspect that the antibacterial activity is caused by the content of PA. This study aims to find out the antibacterial activity of several patchouli oil fractions resulting from the fractionation process. The method used is decriptif method. The treatment given was fractionated fraction of oil with several levels of PA (fraction 2 with PA content of 25.62%, fraction 7 with PA content of 34.65% and fraction 8 with PA content of 54.49%) and the bacterias, included :*Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumonia*, and *Proteus mirabilis*. The antibacterial activity was conducted by measuring the zones of inhibition. The results showed that increasing levels of patchouli PA oil affected the inhibitory diameter in several types of bacteria. The higher the PA level can increase the zones of inhibition of some types of bacteria. Fraction 8 is the most effective fraction in inhibiting the growth of *P. acnes*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *M. luteus* as gram-positive bacteria with zones of inhibition of 23.02 mm and 13.00 mm, 24.10 mm, respectively. 31.22 mm. Whereas in *P. aeruginosa*, *E. aerogenes*, *K. pneumonia*, and *P. mirabilis* as gram negative bacteria zones of inhibition is not formed.

Keywords : antibacterial activity, fractionation, patchouli oil, patchouli alcohol

ABSTRAK

Minyak nilam (*Pogostemon cablin* Benth) mengandung patchouli alcohol (PA) sebagai komponen utama, yang mempunyai aktivitas antibakteri. Beberapa penelitian sebelumnya menduga bahwa aktivitas antibakteri tersebut disebabkan oleh kandungan PA pada minyak nilam. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan pengujian aktivitas antibakteri beberapa fraksi minyak nilam hasil proses fraksinasi. Metode yang digunakan adalah metode deskriptif, dengan perlakuan yang diberikan adalah fraksi minyak hasil fraksinasi dengan beberapa tingkatan kadar PA (fraksi 2 dengan kadar PA 25,62%, fraksi 7 dengan kadar PA 34,65% dan fraksi 8 dengan kadar PA 54,49%) dan jenis bakteri *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumonia*, dan *Proteus mirabilis*. Parameter yang diujikan adalah uji aktivitas antibakteri dengan mengukur diameter daya hambat menggunakan metode sumuran. Hasil penelitian menunjukkan bahwa peningkatan kadar PA minyak nilam berpengaruh terhadap diameter daya hambat pada beberapa jenis bakteri. Semakin tinggi kadar PA dapat meningkatkan diameter daya hambat beberapa jenis bakteri. Fraksi 8 merupakan fraksi yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *P. acnes*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *M. luteus* yang merupakan bakteri gram positif dengan diameter daya hambat berturut-turut 23,02 mm, 13,00 mm, 24,10 mm, dan 31,22 mm, sedangkan pada bakteri *P. aeruginosa*, *E. aerogenes*, *K. pneumonia*, dan *P. mirabilis* sebagai bakteri gram negatif tidak terbentuk diameter daya hambat.

Kata kunci : antibakteri, fraksinasi, minyak nilam, patchouli alcohol

PENDAHULUAN

Minyak nilam adalah salah satu jenis minyak atsiri yang terdapat di Indonesia. Minyak nilam diperoleh dari hasil penyulingan daun, batang dan cabang tanaman nilam (*Pogostemon cablin* Benth). Minyak nilam sangat digemari di dunia karena daya fiksasinya yang cukup tinggi terhadap pewangi lain, sehingga dapat mengikat bau wangi dan mencegah penguapan zat pewangi sehingga bau

wangi tidak cepat hilang (Agustian dan Sulawatty, 2015). Komponen utama yang dikandung minyak nilam adalah patchouli alcohol (PA, C₁₅H₂₆O) (Swamy et al., 2015).

Menurut Chomchalow (2002), minyak nilam dapat digunakan sebagai bahan aromaterapi, industri farmasi, sabun, sampo, dan desinfektan. Hal tersebut dikarenakan minyak nilam, memiliki kemampuan sebagai antibakteri, antidepresan,

antijamur, antiinfeksi, anti-inflamasi, antiseptik, antivirus dan karminatif (Pullagummi *et al.*, 2013).

Secara umum, kandungan minyak nilam merupakan senyawa hidrokarbon seperti terpen, seskuiterpen, senyawa hidrokarbon teroksigenasi dan senyawa lain (Deguerry *et al.*, 2006). Menurut El-Shazly dan Hussein (2004), senyawa seskuiterpen, terutama seskuiterpen alkohol dari minyak nilam sangat menentukan aktivitas antibakteri untuk merusak membran sel bakteri. Komponen *patchouli alcohol* pada minyak nilam diduga merupakan komponen yang bertanggungjawab terhadap aktivitas antibakteri minyak nilam (Yunget *et al.*, 2013; Kongkathip *et al.*, 2009).

Peningkatan kadar *patchouli alcohol* minyak nilam dapat dilakukan dengan suatu proses lanjutan salah satunya yaitu destilasi fraksinasi (Su *et al.*, 2014). Destilasifraksinasi merupakan proses pemisahan komponen kimia pada minyak atsiri berdasarkan perbedaan titik didih dan berat molekulnya.

Berbagai macam jenis bakteri *pathogen* yang terdapat pada manusia yang dapat menyebabkan penyakit seperti *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, dan *Proteus mirabilis*. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh minyak nilam hasil destilasi fraksinasi terhadap aktivitas antibakteri pada bakteri gram positif (*P. acnes*, *S. aureus*, *S. epidermidis* dan *M. luteus*) dan bakteri gram negatif (*P. aeruginosa*, *E. aerogenes*, *K. pneumoniae*, dan *P.*). Bakteri tersebut merupakan bakteri yang mudah hidup di daerah tropis dan bersifat patogen.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan baku yang digunakan adalah minyak nilam yang berasal dari Aceh Selatan. Bahan kimia yang digunakan yaitu aquades, alkohol 90% dan 96%, fenoltalein (pp), KOH 0,1 N dan 0,5 N, HCl 0,5 N, BaCl₂ 1%, H₂SO₄ 1%, dan NaCl 0,85%. Bakteri uji yang digunakan adalah bakteri gram positif (*P. acnes*, *S. aureus*, *S. epidermidis* dan *M. luteus*) dan bakteri gram negatif (*P. aeruginosa*, *E. aerogenes*, *K. pneumoniae*, dan *P. mirabilis*) yang diperoleh dari Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran, Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam dan Fakultas Farmasi, Institut Teknologi Bandung. Media penumbuhan yang digunakan *nutrient agar* (NA) serta *mueller hinton agar* (MHA) yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Pangan Fakultas Teknologi Industri Pertanian, Universitas Padjadjaran.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu destilasi fraksinasi, piknometer, refraktometer

ABBE, polarimeter, erlenmeyer, alkohol meter, buret, *spectrophotometer chromameter* CM-5, *gas chromatography mass spectrometry* (GC-MS) Shimadzu QP 2010, autoklaf, oven, inkubator, cawan petri, tabung reaksi, ose, bunsen, spektrofotometer, mikropipet, fintip, timbangan analitik, *vortex*, gelas ukur, *beaker glass* dan alat bantu lainnya.

Metode

Penelitian ini dilakukan dengan metode deskriptif dengan dua faktor, dan diulang sebanyak 3 kali. Adapun faktor tersebut adalah fraksi minyak nilam (3 fraksi) dan jenis bakteri (*P. acnes*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *M. luteus*, *P. aeruginosa*, *E. aerogenes*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*).

Persiapan Bahan

Persiapan bahan dilakukan dengan melakukan destilasi fraksinasi minyak nilam pada suhu 120°C-150°C dengan tekanan vakum sebesar (-) 60 cmHg (-)74 cmHg selama ± 4,5jam. Hasil destilasifraksinasi diperoleh 8 fraksi. Hasil pengujian kadar *Patchouli alcohol* (PA) dengan menggunakan GCMS menunjukkan bahwa fraksi 2 merupakan fraksi dengan kadar PA terendah (25,62%), fraksi 8 merupakan fraksi dengan kadar PA tertinggi (54,49%) dan fraksi 7 merupakan fraksi dengan kadar PA diantara keduanya (34,96%), sehingga pada penelitian ini digunakan ketiga fraksi tersebut yang mewakili kadar PA pada 8 fraksi yang dihasilkan.

Analisis Mutu Minyak Nilam dan Hasil Destilasi Fraksinasi

Minyak nilam sebelum difraksinasi dianalisis mutunya sesuai dengan Standar Nasional Indonesia minyak nilam (SNI Minyak Nilam 06-2385-2006) meliputi bobot jenis, indeks bias, putaran optik, kelarutan dalam alkohol 90%, bilangan asam, bilangan ester, dan warna. Analisis juga dilakukan pada minyak hasil fraksinasi untuk melihat perubahan karakteristik karena proses fraksinasi. Analisis komponen senyawa yang terdapat dalam minyak nilam dilakukan dengan menggunakan GC-MS dengan kolom kapiler *silica ZB-5MS* (30m × 0,25mm × 0,25µm). Detektor dioperasikan dalam mode FI (*flame ionization*) dengan rentang pemindaian dari m/z 35 hingga 500 pada 0,7 kV. Komponen diidentifikasi dengan menggunakan NIST 3.0 dan WILEY 275.

Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi sumuran. Regenerasi bakteri menggunakan media NA dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, sedangkan pengujian aktivitas antibakteri menggunakan media MHA pada cawan petri. Lubang sumuran dibuat dengan diameter 6 mm dan fraksi minyak nilam dimasukkan sebanyak 60 µL (0,0594 g). Selanjutnya diinkubasi

pada suhu 37°C selama 24 jam (Nurainy *et al.*, 2008). Standarisasi larutan mikroba dilakukan dengan membandingkan suspensi mikroba dengan larutan Mc.Farland 1 (3×10⁸ CFU/mL). Pengukuran diameter daya hambat bakteri diukur dengan mengukur diameter zona bening kemudian dikurangi diameter lubang sumuran (6 mm). Kontrol positif yang digunakan sebagai pembanding yaitu antibiotik Gentamisin (konsentrasi 50%) dan antibiotik Ciprofloxacin (konsentrasi 50%), sedangkan kontrol negatif yang digunakan adalah aquadest.

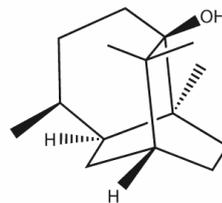
HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Minyak Nilam Hasil Fraksinasi

Kadar Patchouli Alcohol

Berdasarkan pada hasil pengujian dengan GCMS yang diidentifikasi komponennya dengan menggunakan perbandingan dengan spektra NIST 3.0 dan WILEY 27, kadar patchouli alcohol mengalami kenaikan seiring bertambahnya jumlah fraksi seperti terlihat pada Tabel 1. Kadar patchouli alcohol tertinggi berada pada fraksi 8 sebesar 54,49%. Tingginya kadar patchouli alcohol pada

fraksi 8 dikarenakan sebagian komponen dengan titik didih yang lebih rendah dari patchouli alcohol sudah terpisahkan pada fraksi sebelumnya. Komponen dengan titik didih rendah dari patchouli alcohol (287°C) diantaranya adalah δ-elemene (254,5°C), β-patchoulene (260°C), β-elemene (252,1°C), seychellene (259,5°C), α-guaiene (281°C), dan trans-caryophyllene (245,3°C). Hal ini dikarenakan semakin lama proses fraksinasi berlangsung membuat suhu dan tekanan vakum meningkat sehingga fraksi dengan titik didih tinggi semakin banyak yang terpisahkan. Struktur molekul patchouli alcohol disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Patchouli alcohol

Tabel 1. Komponen minyak nilam dan hasil fraksinasi

Komponen	Rumus kimia	Bobot molekul (g)	Minyak Nilam (%)	Fraksi 2 (%)	Fraksi 7 (%)	Fraksi 8 (%)
Propanoic acid	C ₁₄ H ₁₈ O ₂	218	-	-	-	0,03
Aromadendrene, dehydro-	C ₁₅ H ₂₂	202	-	1,13	0,85	0,68
delta- Elemene	C ₁₅ H ₂₄	204	0,20	0,28	0,10	-
beta- Patchoulene	C ₁₅ H ₂₄	204	2,81	-	2,46	0,83
beta- Elemene	C ₁₅ H ₂₄	204	1,36	1,90	1,52	0,45
Seychellene	C ₁₅ H ₂₄	204	8,17	12,84	8,20	3,86
Caryophyllene	C ₁₅ H ₂₄	204	3,31	3,94	3,56	1,60
alpha- Guaiene	C ₁₅ H ₂₄	204	15,97	18,63	16,12	4,79
alpha- Selinene	C ₁₅ H ₂₄	204	0,24	0,34	0,19	0,12
alpha- Humulene	C ₁₅ H ₂₄	204	1,08	1,48	1,11	0,53
alpha- Patchoulene	C ₁₅ H ₂₄	204	5,74	7,09	5,80	3,12
Azulene	C ₁₅ H ₂₄	204	2,98	0,59	3,53	4,86
Patchoulene	C ₁₅ H ₂₄	204	1,38	1,71	1,33	0,62
trans- Caryophyllene	C ₁₅ H ₂₄	204	0,73	0,89	0,69	-
Germacrene	C ₁₅ H ₂₄	204	0,17	-	-	-
gamma- Gurjunene	C ₁₅ H ₂₄	204	1,03	4,43	1,01	2,39
delta- Guaiene	C ₁₅ H ₂₄	204	14,36	15,06	15,95	10,91
Butyric acid	C ₁₄ H ₂₀ O ₂	220	0,43	-	-	0,25
alpha- Panasinsen	C ₁₅ H ₂₄	204	0,53	0,51	0,48	0,51
alpha- Cubebene	C ₁₅ H ₂₄	204	0,13	-	0,13	-
Isolongifolene	C ₁₅ H ₂₂	202	-	0,19	0,26	0,59
Caryophyllene oxide	C ₁₅ H ₂₄ O	220	1,22	0,80	0,85	2,04
Naphthalenamine	C ₁₅ H ₂₄ O	220	0,54	-	-	1,04
Longifolenaldehyde	C ₁₅ H ₂₄ O	220	-	0,06	0,24	0,76
Globulol	C ₁₅ H ₂₆ O	222	0,89	0,98	-	2,24
Palustrol	C ₁₅ H ₂₆ O	222	0,31	-	-	-
Caryophyllenyl alcohol	C ₁₅ H ₂₆ O	222	0,18	0,80	-	-
Epoxyxysalvia	C ₁₅ H ₂₄ O	220	-	-	-	0,36
Veridiflorol	C ₁₅ H ₂₆ O	222	-	-	-	1,36
Patchouli alcohol	C ₁₅ H ₂₆ O	222	35,28	25,62	34,96	54,49
Naphthalenone	C ₁₅ H ₂₂ O	218	0,26	0,17	0,08	0,93
Acetic acid	C ₂₃ H ₃₄ O ₄	374	0,10	0,06	0,07	0,17
Others			0,60	0,50	0,51	0,47
Jumlah			100	100	100	100

Karakteristik Minyak Nilam dan Fraksi

Hasil penelitian karakteristik minyak nilam dan bahan setiap fraksi yang meliputi bobot jenis, indeks bias, putaran optik, kelarutan dalam alkohol, bialangan asam, dan bilangan ester disajikan pada Tabel 2.

Bobot Jenis

Bobot jenis setiap fraksi yang diperoleh dalam penelitian ini berkisar 0,945-0,991 seperti terlihat pada Tabel 2. Berdasarkan pada hasil perhitungan bobot jenis, menunjukkan bahwa semakin bertambahnya fraksi minyak nilam, maka nilai bobot jenisnya semakin tinggi.

Nilai bobot jenis tertinggi berada pada fraksi 8 sebesar 0,991. Menurut Armando (2009), bobot jenis sering dihubungkan dengan berat komponen yang terkandung di dalamnya. Semakin tinggi fraksi berat yang terkandung dalam minyak, maka semakin tinggi pula bobot jenisnya. Pada fraksi 8 mengandung lebih banyak fraksi berat salah satunya yaitu *patchouli alcohol* yang memiliki berat molekul 222,36 g/mol, sedangkan pada fraksi 2 dan 7 lebih banyak mengandung senyawa seskuiterpen $C_{15}H_{24}$ yang memiliki berat molekul 204,35 g/mol (*α -guaiene*), sehingga semakin tinggi kadar *patchouli alcohol*, maka nilai bobot jenisnya akan semakin besar.

Indeks Bias

Nilai indeks bias fraksi minyak nilam hasil fraksinasi yang diperoleh dalam penelitian ini yaitu berkisar 1,505-1,511. Berdasarkan pada hasil perhitungan menunjukkan bahwa nilai indeks bias semakin tinggi seiring dengan bertambahnya fraksi minyak nilam seperti yang disajikan pada Tabel 3. Peningkatan nilai indeks bias mengindikasikan

peningkatan komponen-komponen senyawa kimia dari minyak nilam yang memiliki susunan rantai karbon panjang atau ikatan rangkap yang banyak.

Nilai indeks bias tertinggi berada pada fraksi 8 yaitu sebesar 1,511. Tingginya nilai indeks bias pada fraksi ini dikarenakan tingginya kadar *patchouli alcohol* yang terkandung. Menurut Armando (2009), semakin tinggi komponen berantai panjang seperti seskuiterpen (*δ -guaiene*, *α -guaiene*, dan *seychellene*) atau komponen bergugus oksigen (*patchouli alcohol*, (-)-*globulol*, *caryophyllene oxide*) pada minyak nilam membuat nilai indeks bias menjadi besar. Hal ini dikarenakan kerapatan medium bahan akan bertambah sehingga cahaya yang datang akan sukar untuk dibiaskan. Oleh karena itu semakin tinggi kadar *patchouli alcohol*, maka nilai indeks bias akan semakin besar.

Putaran Optik

Berdasarkan pada hasil uji putaran optik, bahan hasil fraksinasi berada pada kisaran (-)44,30°-(-)81,03°. Tabel 3 menunjukkan bahwa semakin bertambahnya fraksi minyak nilam, maka nilai putaran optik semakin besar memutar ke kiri (negatif).

Pada minyak nilam fraksi 8 menunjukkan nilai putaran optik tertinggi yaitu sebesar -81,03°. Tingginya nilai putaran optik pada fraksi ini dikarenakan tingginya kadar *patchouli alcohol* yang terkandung. Menurut Harimurti *et al.* (2012), kecenderungan minyak nilam memutar ke arah kiri disebabkan karena komponen alkohol yang memiliki daya optik aktif ke kiri (-) yang lebih besar. Nilai putaran optik yang semakin tinggi menunjukkan kandungan karbon asimetris yang semakin banyak. Karbon asimetris yang terkandung dalam fraksi bahan yaitu *patchouli alcohol*.

Commented [W71]: Gunakan format yang seragam untuk penyitiran rujukan.

Tabel 2. Data karakteristik minyak nilam dan fraksi hasil fraksinasi

Parameter	Minyak nilam	Fraksi 2	Fraksi 7	Fraksi 8
Bobot jenis	0,957	0,945	0,958	0,991
Indeks bias	1,509	1,505	1,507	1,511
Putaran optik (°)	-53,55	-44,30	-54,90	-81,03
Kelarutan dalam alkohol	1:1	1:7	1:6	1:1
Bilangan asam (mg KOH/g bahan)	5,941	1,70	1,70	2,80
Bilangan ester (mg KOH/g bahan)	7,468	7,30	6,60	7,70

Tabel 3. Karakteristik setiap fraksi hasil fraksinasi

Parameter	Fraksi 2	Fraksi 7	Fraksi 8
Bobot jenis	0,945	0,958	0,991
Indeks bias	1,505	1,507	1,511
Putaran optik (°)	-44,30	-54,90	-81,03
Kelarutan dalam alkohol	1:7	1:6	1:1
Bilangan asam (mg KOH/g bahan)	1,70	1,70	2,80
Bilangan ester (mg KOH/g bahan)	7,30	6,60	7,70

Kelarutan dalam Alkohol

Menurut Badan Standardisasi Nasional mengenai SNI minyak nilam (06-2385-2006), minyak nilam larut jernih dalam alkohol 90% pada perbandingan 1:10. Berdasarkan pada hasil uji kelarutan dalam alkohol 90% (Tabel 3), minyak nilam pada setiap fraksi mempunyai nilai kelarutan yang berbeda.

Nilai kelarutan dalam alkohol terendah berada pada fraksi 8 yaitu 1:1. Hal ini menyatakan bahwa pada minyak nilam fraksi 8 lebih mudah larut dalam alkohol. Minyak yang kaya akan komponen *oxygenated* lebih mudah larut dalam alkohol dari pada yang kaya akan terpen. Menurut Deguerry *et al.* (2006), salah satu golongan *oxygenated* pada minyak nilam adalah *patchouli alcohol*. Oleh karena itu, semakin tinggi kadar *patchouli alcohol* membuat minyak semakin mudah larut dalam alkohol. Rendahnya nilai kelarutan dalam alkohol pada fraksi 8 ini menunjukkan bahwa minyak nilam mudah larut dalam alkohol.

Bilangan Asam

Hasil analisis bilangan asam pada minyak hasil fraksinasi yang diperoleh berada pada kisaran 1,7-2,8 mg KOH/g minyak nilam, seperti terlihat pada Tabel 3. Menurut Badan Standardisasi Indonesia mengenai SNI minyak nilam (06-2385-2006) untuk bilangan asam yaitu maksimal 8.

Minyak nilam pada fraksi 8 merupakan minyak dengan nilai bilangan asam tertinggi yaitu sebesar 2,8 mg KOH/g minyak nilam. Tingginya nilai bilangan asam pada fraksi ini dikarenakan kandungan asam pada fraksi 8 lebih tinggi dibandingkan dengan fraksi lain. Berdasarkan hasil uji GC-MS pada fraksi 8, terdapat komponen *propanoic acid*, *butyric acid* dan *acetic acid*, sehingga diduga komponen tersebut membuat nilai bilangan asam pada fraksi 8 meningkat. Penyebab lain dari besarnya nilai bilangan asam pada fraksi 8 diduga dikarenakan adanya senyawa golongan aldehid salah satunya seperti *longifolenaldehyde* yang lebih banyak dibandingkan fraksi 2 dan fraksi 7. Hasil GC-MS menunjukkan bahwa luas area senyawa *longifolenaldehyde* pada fraksi 8 yaitu sebesar 0,76%, sedangkan pada fraksi 2 yaitu 0,06% dan pada fraksi 7 sebesar 0,24%.

Bilangan Ester

Menurut Badan Standardisasi Nasional mengenai SNI minyak nilam (06-2385-2006) untuk bilangan ester maksimal 20 mg KOH/g bahan. Nilai bilangan ester yang dihasilkan dalam penelitian ini berkisar 6,6-7,7 mg KOH/g bahan, seperti terlihat pada Tabel 3.

Nilai bilangan ester tertinggi berada pada fraksi 8 yaitu sebesar 7,7 mg KOH/g bahan. Tingginya bilangan ester pada fraksi ini yaitu diduga karena pada proses pemisahan minyak fraksi 8, suhu yang tinggi dan pemanasan yang berlangsung lama

menyebabkan meningkatnya bilangan ester. Arpi *et al.* (2011) menyatakan bahwa semakin lama waktu penyulingan maka semakin banyak komponen minyak nilam dengan titik didih tinggi yang mengalami polimerisasi.

Warna

Berdasarkan hasil uji derajat warna menunjukkan nilai HUE ketiga fraksi berada pada kisaran 81,26°-87,89°. Angka tersebut berada pada rentang 54°-90° yang menunjukkan warna kromatis minyak nilam hasil fraksinasi adalah *Yellow Red*, seperti terlihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Warna setiap fraksi hasil destilasi fraksinasi

Perlakuan	L*±SD	°Hue±SD	Kisaran Warna Kromatis
Fraksi 2	92,40 ± 0,02	81,86 ± 0,96	Kuning kemerahan
Fraksi 7	92,70 ± 0,11	81,26 ± 0,88	Kuning kemerahan
Fraksi 8	81,43 ± 0,04	87,89 ± 0,96	Kuning kemerahan

Minyak nilam mengandung senyawa *patchouli alcohol*, *patchoulene*, *azulene*, dan *sesquiterpenes*. Komponen tersebut memiliki karakteristik warna kekuningan atau kehijauan hingga coklat gelap (Panda, 2010). Senyawa aromatik yang terkandung pada minyak nilam hasil fraksinasi yaitu *patchouli alcohol*, *patchoulene* dan *azulene*. Sehingga diduga kandungan senyawa tersebut memberikan pengaruh terhadap warna terutama *patchouli alcohol* yang merupakan komponen tertinggi pada ketiga fraksi.

Pengujian Aktivitas Antibakteri

Uji antibakteri ketiga fraksi bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri minyak nilam hasil destilasi fraksinasi dalam menghambat pertumbuhan bakteri yang diujikan. Bakteri yang digunakan yaitu gram positif (*P. acnes*, *S. aureus*, *S. epidermidis* dan *M. luteus*) dan bakteri gram negatif (*P. aeruginosa*, *E. aerogenes*, *K. pneumonia*, dan *P. mirabilis*). Bakteri tersebut merupakan bakteri yang mudah hidup di daerah tropis dan bersifat patogen.

Minyak nilam yang digunakan dalam uji antibakteri ini yaitu minyak nilam hasil destilasi fraksinasi pada fraksi 2 dengan kadar *patchouli alcohol* 25,62%, fraksi 7 dengan kadar *patchouli alcohol* 34,86% dan fraksi 8 dengan kadar *patchouli alcohol* 54,49%.

Ketiga fraksi minyak nilam dapat menghambat bakteri gram positif *P. acnes*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, dan *M. luteus*. Hal ini sesuai beberapa penelitian sebelumnya bahwa minyak nilam dapat menghambat bakteri *P. acnes* (Sulistyaningsih *et al.*, 2015), *S. aureus* dan *S. epidermidis* (Yang *et al.*, 2013; Piotr *et al.*, 2018).

Tabel 5. Aktivitas antibakteri fraksi minyak nilam hasil destilasi fraksinasi

Kultur	Diameter Daya Hambat (mm)			Kontrol
	Fraksi 2	Fraksi 7	Fraksi 8	
<i>Propionibacterium acnes</i>	6,48 ± 0,81	8,42 ± 0,61	23,02 ± 0,84	19,58 ± 0,38
<i>Staphylococcus aureus</i>	8,00 ± 0,93	15,00 ± 0,66	13,63 ± 0,11	19,33 ± 0,94
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	15,66 ± 0,70	23,68 ± 0,30	24,10 ± 0,28	40,20 ± 1,22
<i>Micrococcus luteus</i>	10,74 ± 0,36	19,43 ± 0,86	31,22 ± 0,78	37,97 ± 1,65
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	19,34 ± 1,23
<i>Enterobacter aerogenes</i>	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	19,98 ± 0,67
<i>Klebsiella pneumonia</i>	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	36,92 ± 0,99
<i>Proteus mirabilis</i>	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	36,20 ± 1,59

Diameter daya hambat tertinggi pada bakteri *P. acnes*, *S. epidermidis*, dan *M. luteus* yaitu pada fraksi 8. Tingginya kadar *patchouli alcohol* (54,49%) pada fraksi ini diduga mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan baik. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Yunget *et al.* (2013) dan Kongkathip *et al.* (2009) yang menyatakan bahwa semakin tinggi kadar *patchouli alcohol* pada minyak nilam semakin tinggi aktivitas antibakterinya. Pada bakteri *S. aureus* tidak menunjukkan semakin tinggi kadar *patchouli alcohol*, daya hambat terhadap bakteri semakin tinggi. Diameter daya hambat tertinggi pada bakteri *S. aureus* berada pada fraksi 7 dengan kadar *patchouli alcohol* (34,86%). Perbedaan kecepatan difusi senyawa antibakteri pada media agar diduga mampu mempengaruhi pertumbuhan bakteri. Pada minyak nilam fraksi 8 memiliki nilai kekentalan yang lebih tinggi dibandingkan dengan fraksi 2 dan fraksi 7. Konsentrasi yang tinggi akan menghasilkan larutan yang kental. Larutan yang terlalu kental akan sulit berdifusi dibandingkan dengan larutan yang lebih encer. Akibatnya diameter penghambatan mengalami penurunan. Nilai kekentalan yang tinggi pada fraksi 8 diduga membuat kecepatan difusi minyak nilam menjadi lebih rendah sehingga mengakibatkan penurunan daya hambatnya.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa minyak nilam hasil fraksinasi tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif. Hal ini dikarenakan bakteri gram negatif mempunyai ketahanan yang lebih baik terhadap senyawa antibakteri dibandingkan dengan bakteri gram positif. Menurut Pratiwi (2008), pada dinding bakteri gram positif banyak mengandung peptidoglikan. Rendahnya kandungan peptidoglikan pada dinding sel bakteri gram negatif relatif lebih tahan terhadap kerusakan mekanis.

Menurut Pelczar dan Chan (2006), respon yang berbeda dari dua golongan bakteri terhadap senyawa ini disebabkan karena adanya perbedaan kepekaan pada bakteri gram positif dan bakteri gram negatif terhadap senyawa antibakteri yang terkandung. Bakteri gram positif cenderung lebih sensitif terhadap komponen antibakteri. Hal ini disebabkan oleh struktur dinding sel bakteri gram positif lebih sederhana sehingga memudahkan senyawa antibakteri untuk masuk ke dalam sel dan

menemukan sasaran untuk bekerja, sedangkan struktur dinding sel bakteri gram negatif lebih kompleks dan berlapis tiga, yaitu lapisan luar berupa lipoprotein, lapisan tengah yang berupa peptidoglikan dan lapisan lipopolisakarida.

Menurut Nazzaro *et al.* (2013), dinding sel dari bakteri gram positif memungkinkan molekul hidrofobik seperti minyak atsiri berpenetrasi pada sel dan merusak dinding sel dan juga sitoplasma. Bakteri gram positif mempunyai dinding sel yang mengandung 90% peptidoglikan serta lapisan tipis asam teikoat. Peptidoglikan berperan mengatur difusi molekul ke dalam sel sedangkan asam teikoat merupakan bagian penyusun peptidoglikan. Dinding sel bakteri gram positif lebih banyak mengandung asam amino alanin yang berfungsi menjaga stabilitas protein dalam bakteri yang bersifat hidrofobik, sehingga lebih mampu mengikat senyawa non-polar seperti minyak atsiri dibandingkan dengan pada bakteri gram negatif.

Membran luar bakteri gram negatif memiliki sifat hidrofilik yaitu mudah berikatan dengan air dan gugus polar lainnya, namun tidak dengan minyak atsiri yang merupakan senyawa non polar. Membran luar juga berperan sebagai barrier masuknya senyawa-senyawa yang tidak dibutuhkan sel, diantaranya bakteriosin, enzim, dan senyawa lain yang bersifat hidrofobik (Davidson *et al.*, 2005). Selain itu, pada bakteri gram negatif terdapat saluran yang terbuat dari protein yaitu porin yang berfungsi sebagai tempat masuknya komponen hidrofilik seperti gula (oligosakarida, monosakarida) dan asam amino yang penting untuk kebutuhan nutrisi bakteri, hal itu juga yang menyebabkan senyawa dengan molekul besar tidak dapat memasuki dinding sel bakteri gram negatif, sehingga bakteri gram negatif lebih resiten untuk dihambat dengan minyak nilam yang bermolekul besar.

Aktivitas kerja minyak atsiri dalam menghambat pertumbuhan atau mematikan bakteri dengan cara mengganggu proses terbentuknya membran atau dinding sel, membran atau dinding sel tidak terbentuk atau terbentuk secara tidak sempurna. Minyak atsiri dari komponen terpenoid yang terkandung dalam suatu tanaman dapat merusak membran sel bakteri dengan cara berikatan dengan protein enzim dan merusak membran sel sehingga dapat menghambat pertumbuhan sel

bakteri. Pratiwi (2008) menyatakan bahwa membran plasma juga tempat aksi bagi beberapa agen antimikroba, sehingga diduga kemampuan aktivitas antibakteri minyak nilam terhadap bakteri gram positif yaitu dengan cara merusak membran atau dinding sel bakteri. Pada bakteri gram negatif, struktur dinding sel yang lebih kompleks diduga membuat senyawa aktif pada minyak nilam tidak mampu merusak membran atau dinding sel bakteri.

KESIMPULAN DAN SARAN

Minyak nilam hasil destilasi fraksinasi mampu menghambat pertumbuhan bakteri gram positif (*P. acnes*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, dan *M. luteus*) tetapi tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif (*P. aeruginosa*, *E. aerogenes*, *K. pneumoniae*, dan *P. mirabilis*), dimana pada fraksi 8 dengan kadar PA 54,49% merupakan fraksi yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *P. acnes*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *M. luteus* yang merupakan bakteri gram positif dengan diameter daya hambat berturut-turut 23,02 mm, dan 13,00 mm, 24,10 mm, 31,22 mm.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustian E dan Sulaswaty A. 2015. Produksi minyak nilam untuk “fixative aromatherapy” : studi kasus desain kondensor distilasi uap. *Biopropal Industri* 6 (1): 19-27.
- Arpi N, Erika C, Ermaya D. 2011. Survey and study on yield and quality of patchouli oil in Aceh Barat Daya District, Indonesia based on original area of raw materials, methods and length of distillation. *Proceedings of The Annual International Conference Syiah Kuala University*, Aceh 29-30 November 2011.
- Armando R. 2009. *Memproduksi 15 Minyak Asiri Berkualitas*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Chomchalow N. 2002. Production of Aromatic Plants in Asia - An Overview. *AU Journal of Technology*. 1 (3): 1-12.
- Davidson PM, Sofos JN, dan Brannen AL. 2005. *Antimicrobial in Food*. 3rd edition. London (GB) : Taylor and Francis Group.
- Deguerry F, Pastore L, Wu S, Clark A, Chappel J, Scalk M. 2006. The diverse sesquiterpene profile of patchouli, *Pogostemon cablin*, is correlated with limited number of sesquiterpene synthases. *Biochemistry and Biophysics* 454 : 123-136.
- El-Shazly AM dan Hussein KT. 2004. Chemical analysis and biological activities of the essential oil of *Teucrium leucocladum* Boiss (Lamiaceae). *Biochemical Systemic and Ecology* 32 (7): 665-764.
- Harimurti N, Soerawidjaja TH, Djajeng S, Risfaheri. 2012. Ekstraksi minyak nilam (*Pogostemon Cablin* Benth) dengan teknik hidrodifusi pada tekanan 1-3 Bar. *Journal Pascapanen* 9 (1): 1-10.
- Kongkathip N, Tanasombat M, Udomkunsori P. 2009. Development of patchouli extraction with quality control and isolation of active compounds with antibacterial activity. *Kasetsart Journal*. (43) : 519 - 525.
- Nazarro F, Florinda F, Laura D M, Raffaele C, Vincenzo DF. 2013. Effect of essential oils on pathogenic bacteria. *Pharmaceuticals* 6: 1451-1474.
- Nurainy F, Samsul R, dan Yudiantoro. 2008. Pengaruh konsentrasi kitosan terhadap aktivitas antibakteri dengan metode difusi agar (Sumur). *Jurnal Teknologi Industri dan Hasil Pertanian*. 3 (2) : 117-125.
- Panda H. 2010. *Perfumes and Flavours Technology Handbook*. Delhi: Asia Pasific Bussines Press Inc.
- Piotr S, Magdalena Z, Joanna P, Barbara K, Slawomir M. 2018. Essential oils as potential anti-*Staphylococcal* agents. *Acta Veterinaria-Beograd* 68 (1) : 95-107.
- Pelczar MJ, dan Chan ESC. 2006. *Dasar-dasar Mikrobiologi I*. Penerjemah : Ratna SH, Teja I, S.Sutarmi T, dan Sri LA. Jakarta.: UI-Press.
- Pratiwi SUT. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: PT. Gelora Aksara Pratama Erlangga.
- Pullagummi C, Venkatesh K, Chandra SS, Arun JB, Prem KB, Amareshwari P, Roja RA. 2013. Phytochemical, Pharmacological importance of Patchouli (*Pogostemon cablin* (Blanco) Benth) an aromatic medicinal plant. *International Journal Pharm. Sci. Rev. Res.*, 21(2), 7-15.
- Su ZQ, Wu XL, Bao MJ, Li CW, Kong SZ, Su ZR, Lai, XP, Li YC, Chen JN. 2014. Isolation of (-)-patchouli alcohol from patchouli oil by fraction distillation and crystallization. *Tropical Journal Pharmaceutical Research* 13 (3) : 359-363.
- Sulistiyarningsih R, Surahman E, dan Lenggogeni P. 2015. Anti-acne (*Acne vulgaris*) emulgen formulation of aromatic oil from Patchouli leaves (*Pogostemon cablin* Benth) and in vitro antibacterial activity test against *Propionibacterium acnes*. *International Journal of Medicine and Pharmacy* 3(2) 57-64.
- Swamy MK, Mohanty SK, Sinniah UR, Maniyan A. 2015. Evaluation of patchouli (*Pogostemon cablin* Benth) cultivars for growth, yield and quality parameters. *TEOP* 18 (4) : 826-832.
- ang X, Zhang X, Yang SP, Liu WQ. 2013. Evaluation of antibacterial of patchouli oil. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 12 (3) : 307- 316