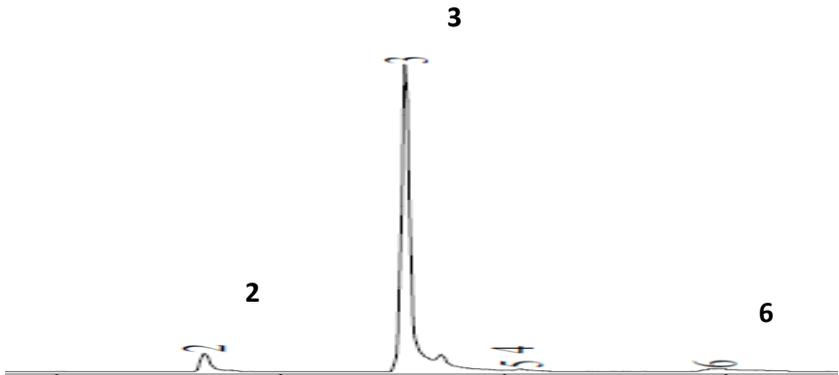


BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Identifikasi komponen penyusun MJP

MJP yang digunakan dalam penelitian ini adalah hasil penyulingan campuran ranting dan daun jeruk purut (*Hystrix D.C.*). Hasil karakterisasi MJP menggunakan KG-SM diperoleh data kromatogram yang ditunjukkan dalam **Gambar 4.1**

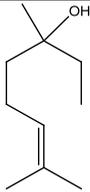
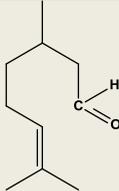
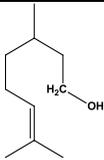


Gambar 4.1 Kromatogram MJP hasil analisis dengan KG- SM

Berdasarkan kromatogram diatas MJP yang digunakan sebagai sampel terdeteksi 10 puncak yang berarti bahwa komponen penyusun MJP terdeteksi 10 komponen. Komponen utama dalam MJP dengan kadar > 2% terdapat 3 komponen.

Dalam penelitian, untuk memastikan jenis komponen penyusun MJP dilakukan dengan cara membandingkan pola fragmentasi setiap komponen dengan pola fragmentasi senyawa yang terdapat dalam *library WILEY7.LIB* yang memiliki *similarity indeks* 95. Dengan cara itu diperoleh tiga komponen utama tersebut yang meliputi sitronelal (83,88%), linalool (6,98%), sitronelol (2,03%). Berikut pola fragmentasi dari komponen utama MJP ditunjukkan dalam tabel 4.2

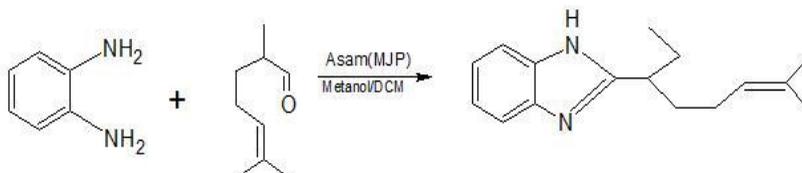
Tabel 4.2 Hasil Analisis KG-SM dari 3 komponen utama MJJ

Puncak	Waktu retensi (menit)	Pola fragmentasi (m/z)	% Relatif	Perkiraan	
				Struktur	Nama senyawa
2	11,658	136, 121, 107, 93, 71 (basepeak), 69, 43, 41, 39	6,98	 SI (97)	Linalool
3	12,558	154, 139, 121, 111, 95, 83, 69, 55, (base peak) 41	83,88	 SI (95)	Sitronelal
6	13,942	156, 138, 123, 95, 81, 69, 55 (base peak), 41	2,03	 SI (84)	β - Sitronelol

4.2 Sintesis benzimidazol dari sitronelal dalam MJJ dengan o-fenildiamin menggunakan pelarut metanol dan diklorometana

Penelitian Kaushika [14], benzimidazol dapat disintesis dari 2 mol aldehyd dan 1 mol o-fenildiamin dengan bantuan katalis logam heterogen. Penelitian yang sama pada Naemi [9], benzimidazol juga dapat disintesis dari o-fenildiamin dengan benzaldehid menggunakan pelarut acetonitrile dengan bantuan katalis DDQ menggunakan *microwave* [15]. Sedangkan penelitian Kankeaw [6] menyebutkan bahwa benzimidazol disintesis dari reaksi sitronelal dan o-

fenildiamin tanpa bantuan katalis. Sehingga dalam penelitian ini, sintesis benzimidazol melalui reaksi kondensasi antara sitronelal dan o-fenildiamin tidak menggunakan katalis, hanya saja memanfaatkan komponen-komponen MJP selain sitronelal yang akan ikut bereaksi memberikan suasana asam pada saat reaksi, suasana asam tersebut mampu bertindak sebagai katalis karena reaksi berlangsung dalam suasana asam. Berikut persamaan pembentukan sitronelil benzimidazol dapat ditunjukkan dalam gambar 4.3



Gambar 4.3 Persamaan pembentukan sitronelil benzimidazol secara umum

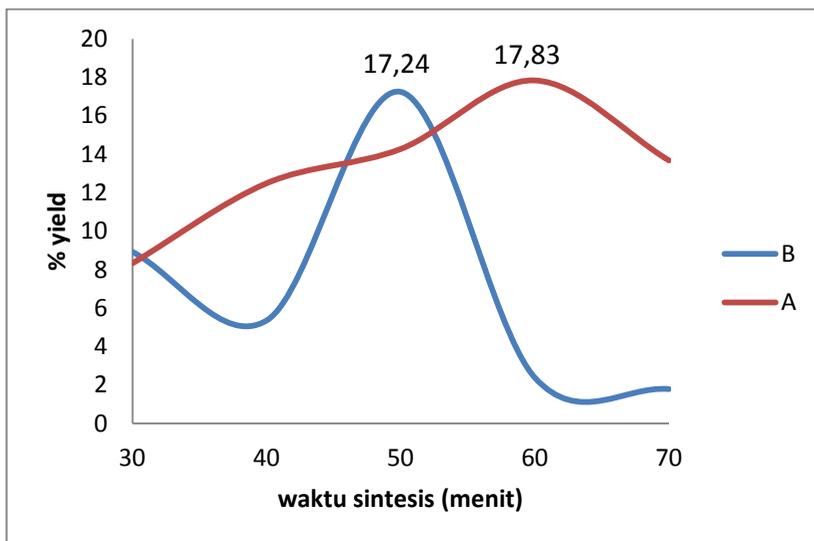
Jika dilihat dari mekanisme reaksi sitronelil benzimidazol terdapat 4 tahap diantaranya: 1) tahap kondensasi antara gugus amina dengan karbonil, 2) pelepasan molekul air (H_2O), 3) pembentukan ikatan rangkap $C=N$, 4) pembentukan ikatan $C-N$ dengan melepas 2 molekul hidrogen, mekanisme reaksi pembentukan sitronelil benzimidazol dapat dituliskan sesuai pada Lampiran C.1.

Dalam penelitian ini, terbentuknya ikatan rangkap $C=N$ memanfaatkan udara yang ada didalam *microwave* saat reaksi berlangsung. Udara panas yang ditimbulkan menjadikan terbentuknya oksigen yang radikal, adanya oksigen radikal membuat ikatan rangkap $C=N$ mudah terbentuk. Dengan udara radikal mendorong ikatan antara $N-H$ mudah lepas sehingga terjadi pemutusan homolitik, dan N akan membentuk ikatan dengan C terbentuk ikatan rangkap $C=N$.

Berdasarkan penelitian sebelumnya digunakan pelarut etanol dan acetonitrile dengan bantuan refluks maupun *microwave* diperoleh hasil padatan berwarna kuning dengan kemurnian yang rendah, Sedangkan penelitian ini, digunakan pelarut diklorometana dan metanol dengan bantuan *microwave* untuk mengetahui tingkat

kepolaran suatu pelarut dalam mempengaruhi kemurnian hasil sintesis. Jika ditinjau dari mekanisme reaksi, perbandingan mol sitronelal dan o-fenildiamin yang digunakan adalah 2:1 dapat dilihat pada Lampiran B.2. Untuk mol sitronelal digunakan dua kali lebih banyak dengan mempertimbangkan kadar sitronelal yang ada di dalam MJP. Dengan perbandingan mol tersebut, diharapkan nantinya semua sitronelal tepat habis bereaksi menjadi sitronelil benzimidazol.

4.2.1 Perbandingan % yield hasil sintesis sitronelil benzimidazol dengan pelarut diklorometana dan metanol



Gambar 4.4 Hasil sintesis sitronelil benzimidazol dari sitronelal dengan bantuan *microwave*. Keterangan: A.dengan pelarut diklorometan, B.dengan pelarut metanol

Dari gambar 4.4 nampak bahwa untuk sitronelil benzimidazol dengan pelarut metanol pada menit 30 ke 50 cenderung mengalami kenaikan dan pada menit 50 ke atas mengalami penurunan % yield. Fenomena tersebut juga hampir sama untuk sintesis sitronelil benzimidazol dengan pelarut diklorometana hanya saja waktu optimum yang membedakan. Pada menit 30 sampai 60 mengalami kenaikan secara signifikan dan pada menit 60 keatas

mengalami penurunan. Dari kedua hasil tersebut menunjukkan bahwa waktu optimum untuk sintesis sitronelil benzimidazol dengan pelarut metanol dan diklorometana secara berturut turut pada menit ke 50 dan 60 dengan % yield yaitu 17,242 % dan 17,837 %.

Hal ini bertentangan dengan teori yang ada, menurut Cho Eun Jin [22] Sintesis benzimidazol hasil reaksi dari o-fenildiamin dan sitronelal menggunakan pelarut metanol menghasilkan % yield paling besar, dikarenakan metanol merupakan pelarut yang memiliki reaktivitas baik. Methanol termasuk pelarut polar protik yaitu pelarut yang memiliki gugus hidroksil (OH) dimana atom hidrogen akan menyerang atom elektronegatif berupa oksigen, dan oksigen akan bermuatan negatif. Kereaktifan dari metanol tersebut, ditunjukkan dengan adanya perbedaan momen dipol pada alkil berparsial positif dan oksigen pada hidroksil berparsial negatif, perbedaan tersebut dapat mempengaruhi kerapatan ikatan karbonil dari sitronelal sehingga terbentuk karbokation, dan oksigen yang elektronegatif menarik proton H menjadi OH dan nukleofil (o-fenildiamin) mudah masuk ke dalam ikatan karbonil (karbokation dari aldehyd). Berdasarkan reaksi tersebut, terbentuk ikatan hidrogen yang akan menyerap energi, sehingga menimbulkan rotasi yang memunculkan energi panas, dimana energi panas tersebut dimanfaatkan untuk proses sintesis.

Menurut Cho Eun Jin [22] Sedangkan untuk pelarut diklorometana merupakan pelarut yang kurang baik karena kurang reaktif. Diklorometana termasuk pelarut aprotik, tidak adanya gugus hidroksil (OH). Sehingga terdiri dari atom-atom yang memiliki keelektronegatifannya lebih kecil. Dengan momen dipol yang kecil menjadikan gaya tarik menarik antara ion-ion elektrolit lemah pada diklorometana. Sehingga pada waktu sintesis dengan pelarut diklorometana, pengaruh perbedaan dipol pada diklorometana pengaruhnya tidak sebesar pada metanol untuk sintesis benzimidazol. Akan tetapi hal tersebut bertentangan dengan hasil yang diperoleh yaitu produk optimum diperoleh dengan pelarut diklorometana.

Hal tersebut dapat dijelaskan menurut Rajashekar [8] bahwa sintesis benzimidazol menggunakan *microwave* dengan pelarut

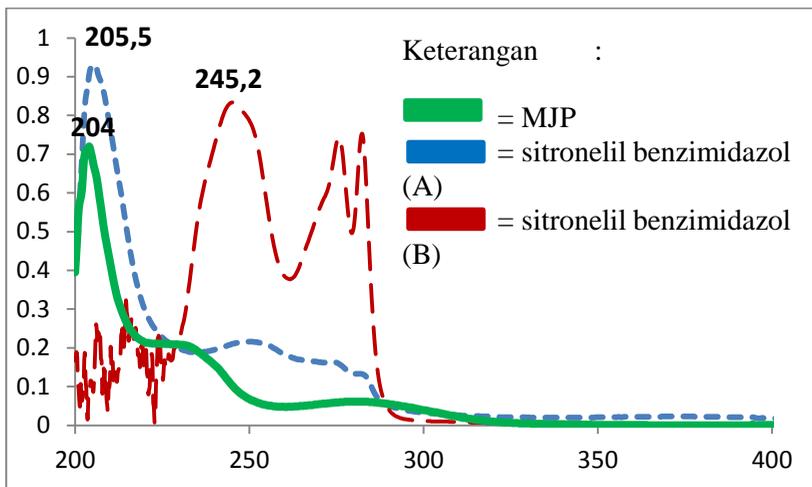
metanol memiliki kepolaran hampir sama dengan produk sehingga saat penyaringan masih terdapat sisa produk larut dalam metanol. Sehingga benzimidazol dengan pelarut metanol menghasilkan produk kristal berwarna kuning yang menunjukkan tingkat kemurniannya lebih kecil dibandingkan dengan benzimidazol menggunakan diklorometana. Untuk hasil sintesis benzimidazol dengan pelarut metanol diperoleh padatan yang cepat hilang diudara terbuka. Sehingga menurut Kumar Atul [20] sintesis benzimidazol menggunakan pelarut metanol akan menghasilkan % yield banyak dengan bantuan katalis CuSO_4 . Karena pada dasarnya katalis CuSO_4 tidak mempercepat reaksi akan tetapi memperbanyak % yield yang diperoleh. Hasil yang diperoleh berwarna kuning yang kemurniannya lebih rendah dibandingkan benzimidazol dengan pelarut diklorometana.

4.3 Hasil Karakterisasi Produk Sitronelil Benzimidazol Hasil Sintesis

4.3.1 Karakterisasi dengan Spektrofotometer UV-VIS

Karakterisasi hasil sintesis sitronelil benzimidazol dilakukan pada baseline 200-400 nm. Hasil spektra yang diperoleh dibandingkan untuk mengetahui perubahan panjang gelombang yang terjadi pada hasil sintesis. Spektra spektrofotometer UV-VIS sitronelil benzimidazol dan MJP ditunjukkan pada gambar 4.5

Spektra yang ditunjukkan oleh gambar 4.5 mengindikasikan adanya perubahan panjang gelombang maksimum dari *starting material* yaitu MJP sebesar 204 nm menjadi 205.5 nm untuk sitronelil benzimidazol (metanol) dan 245.2 nm yang dihasilkan dari sitronelil benzimidazol (diklorometana). *G.F.Philips* [25] menyatakan bahwa C-N *double bond* menunjukkan adanya transisi elektron yang kuat dari $\pi \rightarrow \pi^*$ dengan panjang gelombang maksimum pada 220 nm dan lemah jika > 300 nm.



Gambar 4.5 Spektra UV-VIS sitronelil benzimidazol dan MJP.
Keterangan : A. Hasil sintesis dengan pelarut metanol, B. Hasil sintesis dengan pelarut diklorometana

Dari panjang gelombang maksimum yang diperoleh, diketahui bahwa senyawa hasil sintesis dengan pelarut metanol dan diklorometana memiliki panjang gelombang yang berada pada area panjang gelombang maksimum ikatan C=N yaitu kisaran 205-250 nm dengan transisi elektron yang terjadi yaitu dari $\pi \rightarrow \pi^*$. Senyawa hasil sintesis mengalami pergeseran batokromik dikarenakan adanya perubahan struktur dari senyawa awal serta pengaruh dari kepolaran pelarut yang digunakan [26]. Meskipun transisi $\pi \rightarrow \pi^*$ pada ikatan ganda memiliki puncak absorpsi didaerah UV vakum tetapi transisi $\pi \rightarrow \pi^*$ bergantung pada konjugasi ikatan ganda dengan suatu gugus fungsi substituen. Akibatnya $\pi \rightarrow \pi^*$ pada ikatan ganda terkonjugasi mempunyai puncak absorpsi pada daerah UV dekat, dengan panjang gelombang lebih besar dari 200 nm sehingga transisi yang penting dalam penentuan struktur molekul senyawa yang memiliki konjugasi ikatan ganda adalah transisi $\pi \rightarrow \pi^*$ serta beberapa transisi $n \rightarrow \pi^*$ atau $n \rightarrow \sigma^*$ [26].

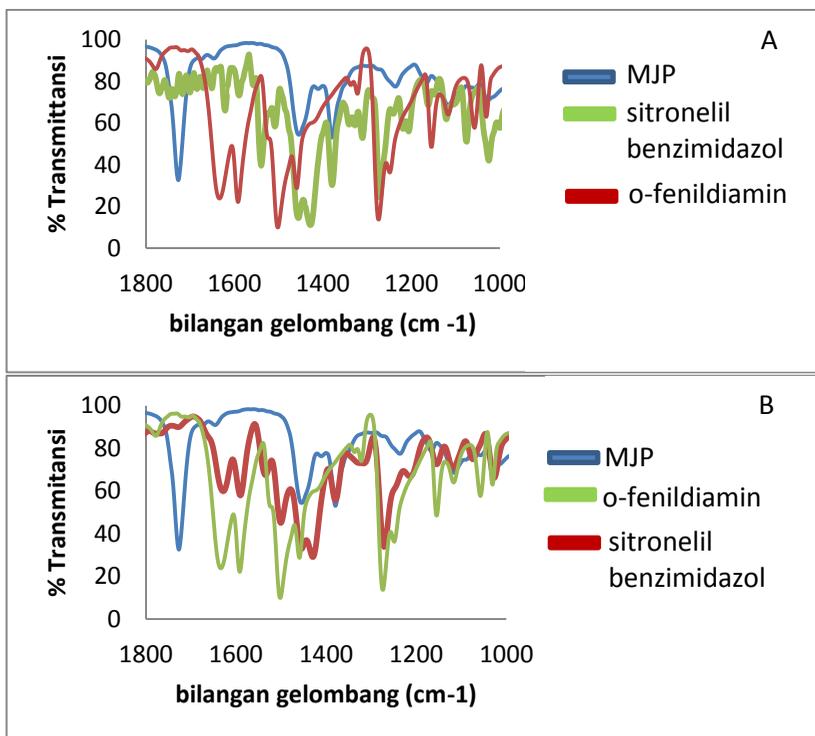
Dalam spektra UV-VIS sitronelil benzimidazol dengan pelarut metanol dan diklorometana terdapat pula serapan kecil yang dihasilkan dari transisi $n \rightarrow \pi^*$ pada panjang gelombang kisaran 270-280 nm. Menurut Kurniawan A.M [27] transisi $n \rightarrow \pi^*$ terjadi karena

adanya interaksi dari pasangan elektron bebas (PEB) dengan senyawa tak jenuh (memiliki ikatan rangkap). Dari persamaan tersebut dapat diasumsikan bahwa senyawa hasil sintesis telah membentuk ikatan C=N yang merupakan gugus utama dari senyawa sitronelil benzimidazol.

4.3.2 Karakterisasi dengan Spektrofotometer IR

Karakterisasi produk sitronelil benzimidazol dilakukan pada daerah serapan bilangan gelombang 400-4000 cm^{-1} . Hasil spektra yang diperoleh dibandingkan untuk mengetahui adanya gugus yang hilang dan munculnya gugus baru pada hasil reaksi.

Untuk spektra IR yang membandingkan produk hasil sintesis masing-masing yaitu ditampilkan pada gambar 4.6



Gambar 4.6 Spektra IR sitronelil benzimidazol dibandingkan dengan MJP dan o-fenildiamin. Keterangan : A. menggunakan diklorometan, B. menggunakan metanol.

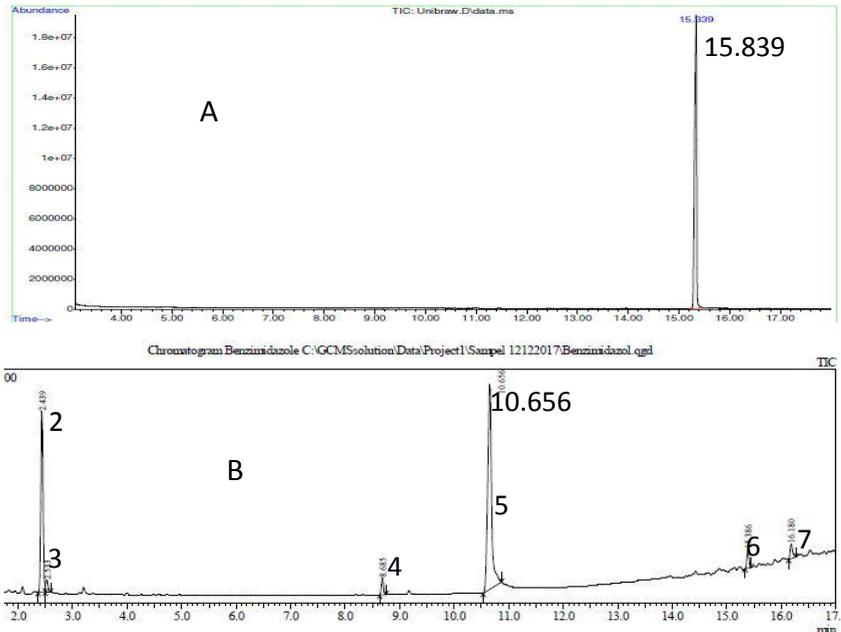
Berdasarkan **Gambar 4.6**, karakterisasi hasil sintesis produk sitronelil benzimidazol yang terbentuk telah memiliki gugus imina (C=N) yang merupakan karakter dari benzimidazol. Gugus imina ditunjukkan dengan adanya serapan di 1630.85 cm^{-1} untuk sitronelil benzimidazol (metanol) dan 1620.86 cm^{-1} untuk sitronelil benzimidazol (diklorometana). Selain itu, serapan C=C aromatik pada sitronelil benzimidazol (diklorometana) pada serapan bilangan gelombang 1639.86 cm^{-1} dan 1645.93 cm^{-1} untuk MJP, serta o-fenildiamin terdapat serapan di 1634.36 cm^{-1} . Untuk sitronelil benzimidazol (metanol) muncul serapan N-H pada bilangan gelombang 3310 cm^{-1} , menunjukkan bahwa produk tersebut terdapat gugus amin. Untuk CH=O (aldehid) di daerah $2874.50\text{-}2716.36\text{ cm}^{-1}$ dan C=O berada di 1726.93 cm^{-1} dari (MJP) yang ada pada bahan utama tidak muncul di serapan produk sitronelil benzimidazol. Hal ini menandakan bahwa bahan utama (MJP dan o-fenildiamin) telah bereaksi membentuk sitronelil benzimidazol. Untuk mempermudah dalam menggolongkan serapan bilangan gelombang pada spektrum akan ditabulasikan hasil analisis gugus fungsi dari spectra FT-IR yang diperoleh pada **Tabel 4.7**

Tabel 4.7 Hasil bilangan gelombang dan gugus fungsi dari sitronelil benzimidazol terhadap bahan utamanya

Gugus	Bilangan gelombang(cm^{-1})			
	Sitronelil benzimidazol (metanol)	Sitronelil benzimidazol (diklorometana)	MJP	o-fenildiamin
N-H (amina)	3310	-	-	3387,63
C=C	-	1639,86	1645.93	1634,36
C-N	1287,19	1271,76	-	1273,69
CH=O	-	-	(2874,50 - 2716,36)	-
C=O	-	-	1726,93	-
C=N	1630,85	1620,86	-	-

4.3.3 Karakterisasi menggunakan KG-SM

Sitronelil benzimidazol hasil sintesis dengan pelarut diklorometana dan metanol dilakukan karakterisasi dengan KG-SM. Karakterisasi hasil sintesis menggunakan KG-SM diperoleh data kromatogram (TIC) pada Gambar 4.8



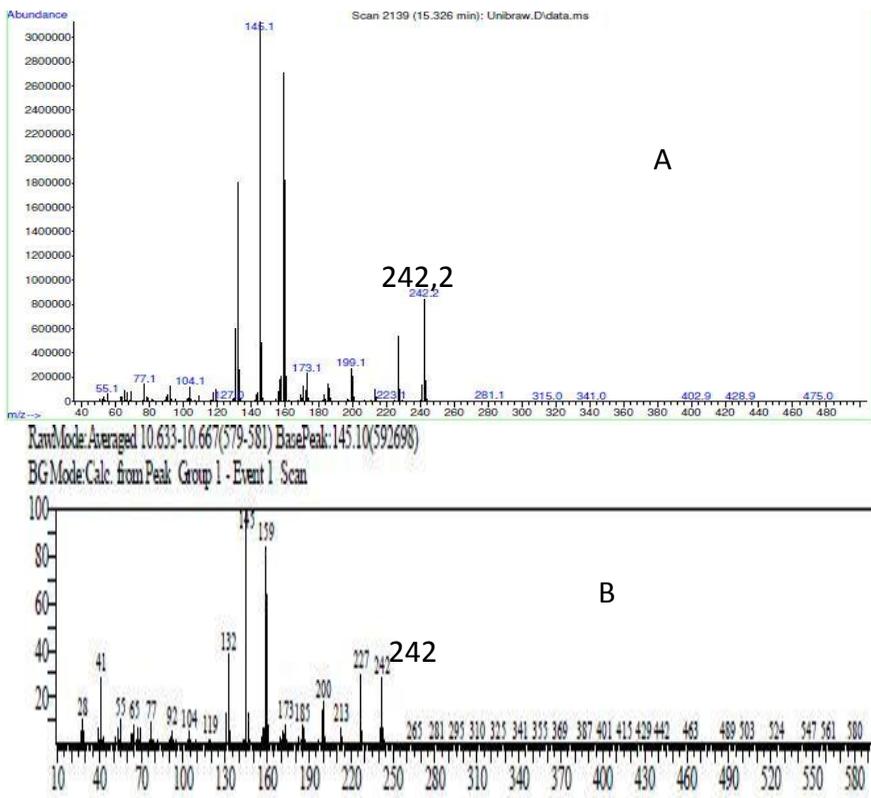
Gambar 4.8 Data TIC produk sitronelil benzimidazol

A= dengan pelarut diklorometan

B= dengan pelarut metanol

Dari data kromatogram A diketahui bahwa produk hasil sintesis yang terbentuk hanya memiliki satu komponen penyusun yaitu berupa sitronelil benzimidazol dengan waktu retensi sebesar 15.339 menit. Senyawa utama tersebut dapat ditetapkan dengan cara membandingkan pola fragmentasi dari senyawa tersebut dengan pola-pola fragmentasi senyawa yang terdapat dalam *library* KG-SM dengan SI sebesar 95%. Sedangkan dari data kromatogram B diketahui bahwa produk hasil sintesis yang terbentuk memiliki 7

komponen penyusun yaitu salah satunya berupa sitronelil benzimidazol dengan waktu retensi sebesar 10.656 menit. Senyawa utama tersebut dapat ditetapkan dengan cara membandingkan pola fragmentasi dari senyawa tersebut dengan pola-pola fragmentasi senyawa yang terdapat dalam *library* KG-SM dengan SI sebesar 69%. Akan tetapi data yang terdapat dalam *library* tidak sesuai dengan hasil yang diperoleh. Sehingga untuk menentukan jenis senyawa yang berada pada puncak ke 5 dilakukan pendekatan dengan melihat hasil spektra massa puncak ke 5 dengan dibandingkan spektra massa dari sitronelil benzimidazol (diklorometan). Dari kedua data TIC tersebut, menunjukkan tingkat kemurnian sitronelil benzimidazol (diklorometana) lebih tinggi dibandingkan dengan metanol dikarenakan masih terdapat komponen lain yang ikut dalam produk sitronelil benzimidazol (metanol), dibuktikan dengan hasil produk yang diperoleh berwarna kuning. Komponen lain tersebut berasal dari bahan utama yaitu minyak jeruk purut (beta-sitronelol, Ethane, 1,1-oxybis, 1-hydroxyisopropyl) dan o-fenildiamin (p-fenildiamin dan Phosphine, bis, 2,2-dimethylpropyl). Akan tetapi dengan begitu, puncak tertinggi (5) dari produk sitronelil benzimidazol (metanol) yang dianalisis terukur rasio massa per muatan yang sama dengan rasio massa per muatan dari spektra massa sitronelil benzimidazol (diklorometan) yaitu sebesar 242 yang menunjukkan bahwa nilai tersebut analog dengan massa dari sitronelil benzimidazol. Dan kedua ion fragmen puncak diperoleh yang sama yaitu $m/z=145$, dibuktikan dengan spektra massa sebagai berikut:



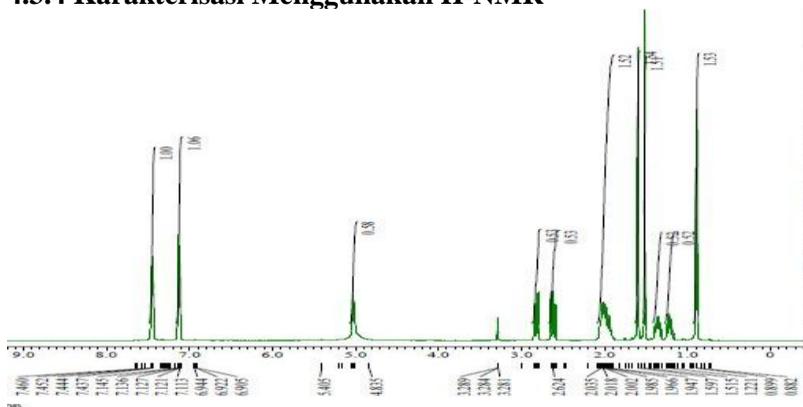
Gambar 4.9 Spektra massa dari produk sitronelil benzimidazol
 A= dengan pelarut diklorometan
 B= dengan pelarut metanol

Berdasarkan kedua spektra massa diatas, rasio perbandingan massa per muatan dari sitronelil benzimidazol (diklorometan) dan metanol dapat ditunjukkan pada tabel 4.10.

Tabel 4.10 Perbandingan hasil analisis KG-SM benzimidazol (diklorometan) dan benzimidazol (metanol)

Puncak	Waktu retensi (menit)	Pola fragmentasi (m/z)	% Relatif	Perkiraan	
				Struktur	Nama senyawa
1	15.839	242.2, 223.1, 199.1, 173.1, (basepeak) 145.1 , 6,98, 127.9, 104.1, 77.1, 55.1	100	<chem>CC(C)CC(C)C1=CN=C2C=CC=CC12</chem>	Benzimida zol
5	10.656	242, 227, 213, 200, 185, 173, 159, (basepeak) 145 , 132, 119, 104, 92, 77, 65, 55, 41, 28	57.37	<chem>CC(C)CC(C)C1=CN=C2C=CC=CC12</chem>	Benzimida zol

4.3.4 Karakterisasi Menggunakan H-NMR



Gambar 4.11 Spektrum H-NMR dari produk sitronelil benzimidazol

Karakterisasi H-NMR untuk hasil sintesis dengan pelarut diklorometana dilakukan untuk mengetahui letak pergeseran kimia, integrasi jumlah proton penyusun dan bentuk sinyal yang terbentuk. Spektra ¹H-NMR senyawa produk hasil sintesis berupa sitronelil benzimidazol tampak pada gambar 4.11. Berdasarkan spektrum ¹H-NMR muncul 11 sinyal pada pergeseran kimia 0-11 ppm. Munculnya 11 sinyal tersebut menunjukkan bahwa terdapat 11 jenis lingkungan proton yang tidak ekuivalen. Geseran kimia δ_H muncul pada 2.624 ppm dan 5.2 ppm. Geseran kimia tersebut khas untuk senyawa imina. Untuk mengetahui pergeseran kimia yang terjadi dilakukan identifikasi yang akan ditunjukkan pada Tabel 4.12

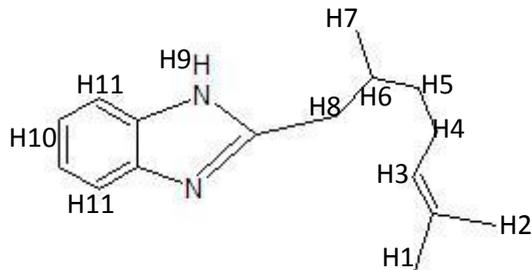
Tabel 4.12 Identifikasi pergeseran kimia pada produk sitronelil benzimidazol (diklorometana)

H Nomor	Pergeseran Kimia δ (ppm)	Pembelahan sinyal	Jumlah proton
1	1,50	s	3
2	1,60	s	3
3	2,00	Multiplet	1
4	1,35	t, d	2
5	1,22	t, d	2
6	2,60	Multiplet	1
7	0,90	d	3
8	2,80	d d	2
9	5,02	s	1
10	7,22	Multiplet	2 (H-Ar)
11	7,44	Multiplet	2 (H-Ar)

Keterangan: d= doublet, s= singlet, t= triplet

Berdasarkan tabel 4.12 dapat diperkirakan bahwa senyawa produk hasil sintesis tersusun atas proton dari Alkil primer $-CH_3$ sebanyak 3, Alkil sekunder $-CH_2-$ sebanyak 3, Alkil tersier $-CH$ sebanyak 1, C=C-H sebanyak 1, H-Aromatis sebanyak 4 dan N-H Amina 2^o sebanyak 1. Sehingga total jumlah proton yang menyusun produk hasil sintesis benzimidazol dari sitronelal dan o-fenildiamin dengan pelarut diklorometana sebanyak 22 proton. Hal tersebut

sesuai dengan rumus kimia benzimidazol yaitu $C_{16}H_{22}N_2$ yang dapat terlihat pada gambar 4.13



Gambar 4.13 Struktur sitronelil benzimidazol

4.4 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Sitronelil Benzimidazol

4.4.1 Penentuan zona hambat sitronelil benzimidazol dengan metode difusi cakram

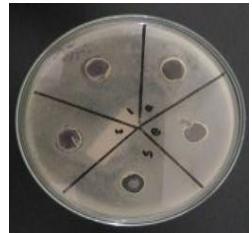
Zona hambat sitronelil benzimidazol (metanol) terhadap bakteri gram positif (*S. aureus*) dan gram negatif (*S. thypi* dan *EPEC*) disajikan pada gambar 4.14 – Gambar 4.16



Gambar 4.14 (A)



Gambar 4.15 (B)



Gambar 4.16 (C)

Keterangan :

Gambar 4.14 = uji zona hambat sitronelil benzimidazol (metanol) terhadap (*S. aureus*) A

Gambar 4.15 = uji zona hambat sitronelil benzimidazol (metanol) terhadap (*S. thypi*) B

Gambar 4.16 = uji zona hambat sitronelil benzimidazol (metanol) terhadap (*EPEC*) C

Tabel 4.17 Nilai uji zona hambat sitronelil benzimidazol (metanol)

No	jenis bakteri	densitas bakteri (CFU/mL)	Diameter hambat (mm)		
			100 (ppm)	300 (ppm)	500 (ppm)
1	<i>S. aureus</i>	$5,65 \times 10^6$	8,3±0,4	28,7±2,27	6,0± 1,0
2	<i>S. thypi</i>	$5,35 \times 10^6$	7,6±1,0	7,3 ± 1,0	7,0 ± 1,0
3	<i>EPEC</i>	$5,05 \times 10^6$	12±1,5	9,3± 1,0	6,0 ± 1,0

Note : waktu inkubasi selama 24 jam

Penelitian Davis dan Stout [28] menyebutkan bahwa kriteria nilai uji zona hambat pada suatu bakteri dapat digolongkan untuk diameter zona hambat >20mm (sangat kuat), 10-20 mm(kuat), 5-10mm (sedang) dan <5 mm (lemah). Berdasarkan penelitian tersebut, sehingga diperoleh nilai uji zona hambat untuk sitronelil benzimidazol (metanol) dengan lama inkubasi selama 24 jam yang sudah ada pada tabel 4.17, menunjukkan pada *S. aureus* diperoleh diameter zona hambat terbesar pada konsentrasi 300 ppm yaitu 28,7 mm dengan standar deviasi 2,27. Dari nilai tersebut, menunjukkan kemampuan zona hambat sitronelil benzimidazol untuk *S. aureus* sangat kuat. Sedangkan untuk *S. thypi* kemampuan zona hambat dari sitronelil benzimidazol tergolong sedang karena nilai diameter hambat yang diperoleh 7,6 mm dengan standar deviasi 1,0 dan untuk *EPEC* diperoleh diameter zona hambat sebesar 12 mm dengan standar deviasi 1,5 yang menunjukkan kemampuan zona hambat tergolong kuat. Untuk perhitungan konsentrasi sitronelil benzimidazol dapat dilihat pada Lampiran B.5. Dengan demikian dapat diperoleh tingkat kekuatan hasil uji aktivitas terhadap bakteri dalam pengukuran zona hambat produk sitronelil benzimidazol menggunakan pelarut metanol yaitu terhadap bakteri gram positif (*S. aureus*) sangat kuat dibandingkan terhadap bakteri gram negatif (*S. thypi* dan *EPEC*).

Tabel 4.18 Nilai uji zona hambat sitronelil benzimidazol (metanol)

No	jenis bakteri	densitas bakteri (CFU/mL)	Diameter hambat (mm)		
			100 (ppm)	300 (ppm)	500 (ppm)
1	<i>S. aureus</i>	$5,65 \times 10^6$	5,7± 0,4	25 ± 5,0	5,0 ± 1,0
2	<i>S. thypi</i>	$5,35 \times 10^6$	6,0± 1,0	6,3 ± 1,0	6,0± 1,0
3	<i>EPEC</i>	$5,05 \times 10^6$	9,3± 1,1	7,7 ± 1,2	6,0± 0,0

Note : waktu inkubasi selama 48 jam

Dari tabel diatas untuk waktu inkubasi selama 48 jam, menunjukkan bahwa lamanya waktu inkubasi dapat mempengaruhi keefektifan dari sitronelil benzimidazol. Hal tersebut dapat ditunjukkan dengan nilai diameter zona hambat untuk ketiga bakteri mengalami penurunan yaitu *S. aureus* awalnya 28,7 mm menjadi 25,00 mm, pada *S. thypi* awalnya 7,6 mm menjadi 6,00 mm dan *EPEC* awalnya 12 mm menjadi 9,33. Penurunan kualitas zona hambat tersebut dikarenakan adanya penurunan konsentrasi produk sehingga mempengaruhi kekuatan produk dalam menghambat aktivitas antibakteri.

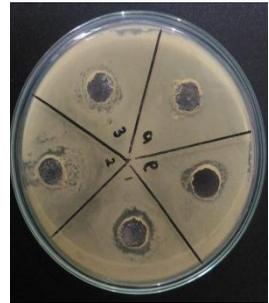
Penentuan zona hambat menggunakan metode difusi cakram pada produk sitronelil benzimidazol (diklorometan) terhadap *S. aureus*, *S. thypi* dan *EPEC* dapat ditampilkan pada gambar 4.19 - 4.21



Gambar 4.19 (A)



Gambar 4.20 (B)



Gambar 4.21 (C)

Keterangan :

- Gambar 4.19 = uji zona hambat sitronelil benzimidazol (diklorometana) terhadap (*S. aureus*) A
- Gambar 4.20 = uji zona hambat sitronelil benzimidazol (diklorometana) terhadap (*S. thypi*) B
- Gambar 4.21 = uji zona hambat sitronelil benzimidazol (diklorometana) terhadap (*EPEC*) C

Tabel 4.22 Nilai uji zona hambat sitronelil benzimidazol (diklorometana)

Nomor	jenis bakteri	Densitas bakteri (CFU/mL)	Diameter hambat (mm)		
			100 (ppm)	300 (ppm)	500 (ppm)
1	<i>S. aureus</i>	5.35×10^6	6	8,3	5
2	<i>S. thypi</i>	5.9×10^6	4	6,3	10,7
3	<i>EPEC</i>	5.05×10^6	12	9	11.67

Note : waktu inkubasi selama 24 jam

Berdasarkan tabel diatas, untuk pemantauan selama 24 jam, pada *S. aureus* diperoleh diameter zona hambat terbesar pada konsentrasi 300 ppm yaitu 8,3 mm hal tersebut menunjukkan kemampuan zona hambat sedang. Sedangkan untuk *S. thypi* dapat dikatakan kemampuan zona hambat kuat karena yang diperoleh 10,7 mm dan untuk *EPEC* diperoleh diameter zona hambat sebesar 12 mm yang menunjukkan kemampuan zona hambat kuat. Dengan demikian dapat diperoleh kriteria kekuatan hasil uji zona hambat produk sitronelil benzimidazol terhadap bakteri gram positif (*S. aureus*) lebih lemah dibandingkan terhadap bakteri gram negatif (*S. thypi* dan *EPEC*).

Tabel 4.23 Nilai uji zona hambat sitronelil benzimidazol (diklorometana)

Nomor	jenis bakteri	densitas bakteri (CFU/mL)	konsentrasi produk (ppm)		
			100 (mm)	300 (mm)	500 (mm)
1	<i>S. aureus</i>	$5,35 \times 10^6$	4	11,6	19
2	<i>S. thypi</i>	$5,9 \times 10^6$	3,7	2	8
3	<i>EPEC</i>	$5,05 \times 10^6$	11,67	9	10

Note: waktu inkubasi selama 48 jam

Berdasarkan tabel diatas, untuk pemantuan selama 48 jam terjadi perubahan diameter zona hambat, pada *S. aureus* mengalami kenaikan dari 8,3 mm menjadi 19 mm. Pada *S. thypi* awalnya 10,7 mm menjadi 8 mm dan *EPEC* awalnya 12 mm menjadi 11,67 mm.

Dari data tersebut menunjukkan bahwa keefektifan produk sitronelil benzimidazol (diklorometan) tidak bergantung pada waktu inkubasi, dapat ditunjukkan dengan nilai uji zona hambat yang diperoleh tidak selalu menurun dengan semakin lamanya waktu inkubasi, yang ditunjukkan bakteri *S.aureus*. Faktor lain juga dapat berasal dari bakterinya, dalam aktivitas bakteri tidak selalu stabil dan sensitif untuk terkontaminan, sehingga akan berpengaruh pada hasil pengukuran zona hambat. Beberapa faktor juga mempengaruhi pengukuran zona hambat yaitu efek elektronik dari ikatan rangkap yang berdekatan, tegangan cincin, maupun substituen di sekeliling yang berfungsi untuk modifikasi lipofilisitas[29]. Sedangkan untuk zona hambat produk dibandingkan dengan MJP dan antibiotik (ampicillin) dapat ditunjukkan pada tabel 4.2

Tabel 4.24 Nilai uji zona hambat sitronelil benzimidazol dibandingkan dengan MJP dan antibiotik

No	Nama bakteri	konsentrasi produk (ppm)			MJP (mm)	Ampicillin (mm)
		100 (mm)	300 (mm)	500 (mm)		
1	<i>S. aureus</i>	6,33	5,33	6	5,33	5
2	<i>S. thypi</i>	7,33	6,67	8,33	5	6
3	<i>EPEC</i>	5,67	6	5	5,33	5,33

Note: lama inkubasi 24 jam

Dari hasil uji zona hambat produk sitronelil benzimidazol (metanol) maupun diklorometana dengan dibandingkan MJP serta ampicillin, tingkat kekuatan produk berada diatas ampicilin dan MJP. Hal tersebut menunjukkan bahwa produk sitronelil benzimidazol memiliki aktivitas kuat untuk menghambat bakteri gram positif maupun negatif. Kriteria daya hambat disesuaikan dengan Davis dan Stout [29] yang menyatakan diameter zona hambat >20mm (sangat kuat), 10-20 mm(kuat), 5-10mm (sedang) dan <5 mm (lemah). Selain itu, kecenderungan produk dalam aktivitas antibakteri uji zona hambat lebih besar pada bakteri gram positif (*S. aureus*) dibandingkan dengan bakteri gram negatif (*S. thypi* dan *EPEC*) hal

tersebut sesuai dikarenakan perbedaan sensitivitas bakteri terhadap produk sitronelil benzimidazol (antibakteri). Sensitivitas dipengaruhi oleh struktur dinding sel bakteri. Bakteri gram positif *S. aureus* cenderung lebih sensitive terhadap antibiotik, karena struktur dinding sel lebih sederhana (berlapis tunggal). Sedangkan bakteri gram negatif *S. thypi* dan *EPEC* kurang sensitif karena struktur dinding sel yang kompleks (berlapis tiga) yaitu lapisan bagian luar berupa lipoprotein, bagian tengah berupa peptidoglikan dan bagian dalam berupa lipopolisakarida susah ditembus senyawa antibiotik [30]

4.4.2 Penentuan konsentrasi hambat minimum sitronelil benzimidazol dengan metode *microdilution*

Penentuan KHM dilakukan dengan melakukan pengenceran medium agar menjadi 5 konsentrasi berbeda, kemudian dilakukan secara *pour plate*. Uji KHM dilakukan terhadap bakteri *S. aureus*, *S. thypi* dan *EPEC* ditampilkan pada tabel secara berurutan yaitu tabel 4.25 - 4.27

Tabel 4.25 Hasil uji KHM dari produk sitronelil benzimidazol pada *S. aureus*

Jenis sampel	jumlah bakteri (CFU/mL)	konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	jumlah bakteri (sel/mL)	persentase penghambatan (%)
Sitronelil benzimidazol	1.29×10^7	3,12	$1,9 \times 10^4$	99,89
		6,25	$1,0 \times 10^4$	99,92
		12,5	$1,2 \times 10^4$	99,91
		25	$1,5 \times 10^4$	99,89
		50	$2,0 \times 10^4$	99,84

Berdasarkan uji KHM pada *S. aureus* diperoleh persentase penghambatan produk mencapai >99% menunjukkan bahwa produk

pada konsentrasi diantara 50 hingga 3,12% mampu menghambat *S. aureus* sebesar >99%. Hal tersebut menunjukkan produk sitronelil benzimidazol memang dapat dijadikan sebagai senyawa antibakteri. Menurut Cappucinno dan Sherman [31] KHM yaitu penentuan konsentrasi hambat minimum atau menentukan konsentrasi terendah dari senyawa antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba uji. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode pengenceran dan *Total Plate Count* . Berdasarkan penelitian, konsentrasi hambat minimum yang dilihat dari aktifitas antibakteri, terhadap bakteri *S. aureus* adalah >99%. Hasil ini tergolong sangat besar sehingga diperlukan pengujian lebih lanjut untuk mengetahui konsentrasi hambat minimum yang tepat. Dengan cara memperkecil konsentrasi yaitu menggunakan konsentrasi 3,12 ; 1,56 dan 0,78 % merupakan kisaran yang dimungkinkan sebagai konsentrasi hambat minimum untuk kedua bakteri lainnya. Sedangkan untuk uji KHM pada bakteri *S. thypi* dapat ditunjukkan pada tabel 4.26

Tabel 4.26 Nilai uji KHM dari produk sitronelil benzimidazol terhadap *S. thypi*

Sampel	jumlah bakteri (CFU/mL)	konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	jumlah bakteri (sel/mL)	persentase penghambatan (%)
Sitronelil benzimidazol	$1,67 \times 10^7$	3,12	$2,2 \times 10^4$	99,87
		1,56	$2,5 \times 10^4$	99,85
		0,78	$2,2 \times 10^4$	99,86

Tabel 4.27 Nilai uji KHM dari produk sitronelil benzimidazol terhadap *EPEC*

Sampel	jumlah bakteri (CFU/mL)	konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	jumlah bakteri (sel/mL)	persentase penghambatan (%)
Sitronelil benzimidazol	$1,94 \times 10^7$	3,12	$2,0 \times 10^4$	99,89
		1,56	$9,5 \times 10^4$	99,51
		0,78	$25,4 \times 10^4$	98,69

Berdasarkan data pengujian yang dapat dilihat pada tabel 4.25-4.27 Konsentrasi hambat minimum untuk bakteri *S. aureus* sebesar 99,84% sedangkan untuk bakteri *S. thypi* dan *EPEC* secara berurutan sebesar 99,85%, 98,69%. Apabila dilihat dari hasil tersebut, dapat diketahui bahwa senyawa antibakteri benzimidazol memiliki kemampuan penghambatan yang lebih baik terhadap *EPEC* dibandingkan dengan bakteri *S. thypi* dan *S. aureus* karena dengan konsentrasi produk paling kecil 0,78 $\mu\text{g/mL}$ mampu menghambat bakteri *EPEC* sebesar 98,69% sedangkan untuk kedua bakteri lainnya perlu ditingkatkan hingga 99% untuk terlihat penghambatan minimum.