



**UJI ANTIBAKTERI SENYAWA α -PINENA
DARI MINYAK TERPENTIN DALAM SEDIAAN GEL
*HAND SANITIZER***

Skripsi
disusun sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar Sarjana Sains
Program Studi Kimia

oleh
Anisa Widiyastuti
4311414020

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG
2018**

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa skripsi ini bebas plagiat, dan apabila di kemudian hari terbukti terdapat plagiat dalam skripsi ini, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai ketentuan peraturan perundang-undangan.

Semarang, 25 September 2018



Anisa Widiyastuti
4311414020

PERSETUJUAN PEMBIMBING

Skripsi ini telah disetujui oleh pembimbing untuk diajukan ke Sidang Panitia Ujian Skripsi Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang.

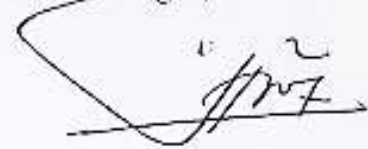
Pembimbing I



Dr. Nanik Wijayati, M.Si
NIP. 196910231996032002

Semarang, September 2018

Pembimbing II,



Dr. Sri Mursiti, M. Si
NIP. 196709131999032001

PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul

Uji Antibakteri Senyawa α -pinena dari Minyak Terpentin dalam Sediaan
Gel *Hand sanitizer*

disusun oleh

Anisa Widiyastuti

4311414020

telah dipertahankan di hadapan Sidang Panitia Ujian Skripsi FMIPA UNNES pada
tanggal 3 Oktober 2018.



Prof. Dr. Zaenuri, S.E, M. Si, Akt
NIP 196412231988031001

Sekretaris

Dr. Nanik Wijayati, M.Si
NIP 196910231996032002

Ketua Penguji

Willy Tirza Eden S.Farm, M.Sc, Apt
NIP 198911022015041001

Anggota Penguji/
Pembimbing I

Dr. Nanik Wijayati, M.Si
NIP 196910231996032002

Anggota Penguji/
Pembimbing II

Dr. Sri Mursiti, M.Si
NIP 1967091319992001

MOTTO DAN PERSEMBAHAN

Motto

- Sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan. Maka apabila engkau telah selesai tetaplah bekerja keras (untuk urusan lain). Dan hanya kepada Tuhanmu lah engkau berharap. (QS. Al Insyirah : 6-8).
- Kesuksesan itu bukan ditunggu, tetapi diwujudkan melalui usaha dan kegigihan.

Persembahan

Untuk Ayah, Ibu, Adik, Keluarga dan
sahabat-sahabat saya

PRAKATA

Alhamdulillah puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyusun dan menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Antibakteri Senyawa α -Pinena dari Minyak Terpentin dalam Sediaan Gel *Hand Sanitizer*”.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah memberikan pengarahan baik dalam penelitian maupun penyusunan skripsi. Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada :

1. Dr. Nanik Wijayati, M.Si, Ketua Jurusan Kimia, dosen wali dan dosen Pembimbing I yang telah memberikan arahan, ilmu serta bimbingannya sehingga Skripsi ini dapat terselesaikan.
2. Dr. Sri Mursiti, M.Si, dosen Pembimbing II yang penuh kesabaran dalam membimbing, memberikan arahan dan motivasi dalam penyusunan skripsi ini.
3. Willy Tirza Eden S. Farm, M.Sc, Apt, dosen Penguji Utama yang telah membimbing, memberikan saran, kritikan, arahan dan masukan sehingga skripsi ini menjadi lebih baik.
4. Kepala Laboratorium Kimia FMIPA Universitas Negeri Semarang dan Kepala UPT Laboratorium Universitas Diponegoro yang telah memberikan ijin penelitian.
5. Teknisi dan Laboran di laboratorium yang telah membantu dan mempermudah jalannya penelitian.
6. Seluruh dosen Jurusan Kimia UNNES yang telah membagi ilmu dan pengalaman.
7. Semua pihak yang telah membantu dan tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Demikian ucapan terima kasih dari penulis, kritik dan saran yang membangun dari berbagai pihak penulis harapkan demi kesempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini bermanfaat bagi berbagai pihak yang membutuhkan.

Semarang, September 2018

Penulis

ABSTRAK

Widiyastuti, Anisa. 2018. Uji Antibakteri Senyawa α -Pinena dari Minyak Terpentin dalam Sediaan Gel *Hand Sanitizer*. Skripsi, Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang. Pembimbing Utama Dr. Nanik Wijayati, M.Si dan Pembimbing Pendamping Dr. Sri Mursiti, M.Si.

Kata Kunci : minyak terpentin, α -pinena, antibakteri, *hand sanitizer*

Kebersihan tangan merupakan cara yang efektif dalam menjaga kesehatan tubuh. Tangan manusia adalah salah satu perantara masuknya berbagai macam virus, bakteri dan jamur. Salah satu penyakit yang disebabkan karena tidak menjaga kebersihan tangan adalah diare. Upaya pencegahan penyakit tersebut perlu dicari bahan alam yang memiliki aktivitas antibakteri salah satunya adalah minyak terpentin untuk diaplikasikan dalam sediaan gel *hand sanitizer*. Minyak terpentin merupakan minyak atsiri yang berasal dari penyulingan getah pinus. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antibakteri sediaan gel minyak terpentin dan gel α -pinena terhadap *S. aureus* dan *E. coli*. Metode yang digunakan untuk isolasi α -pinena yaitu destilasi fraksinasi, analisis senyawa yang terkandung dalam α -pinena menggunakan FT-IR dan GC-MS. Hasil analisis GC-MS menunjukkan bahwa α -pinena mengandung senyawa golongan terpenoid. Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi cakram kertas. Uji aktivitas antibakteri menunjukkan adanya daya hambat terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Minyak terpentin mempunyai aktivitas antibakteri tertinggi terhadap bakteri *S. aureus* dengan zona hambat 13,8 mm dan pada bakteri *E. coli* menghasilkan zona hambat 8,83 mm sehingga dapat diaplikasikan dalam bentuk gel *hand sanitizer* sebagai pengganti alkohol. Hasil uji antibakteri gel menunjukkan bahwa gel minyak terpentin memberikan efek antibakteri yang lebih baik dibandingkan gel α -pinena. Gel minyak terpentin mempunyai zona hambat 3,47 mm dan gel α -pinena 2,2 mm terhadap bakteri *S. aureus*, sedangkan terhadap bakteri *E. coli* gel minyak terpentin mempunyai zona hambat 3,33 mm dan dan gel α -pinena 2,37 mm.

ABSTRACT

Widiyastuti, Anisa. 2018. Antibacterial Test of α -Pinene Compounds from Turpentine Oil in Hand Sanitizer Gel. Undergraduate thesis, Chemistry Department, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Semarang State University. Main supervisor Dr. Nanik Wijayati, M.Si and Supervising Companion Dr. Sri Mursiti, M.Si.

Keywords: turpentine oil, α -pinena, antibacterial, hand sanitizer

Hand hygiene is one effective way to maintain a healthy body. The human hand is one of the intermediaries for the entry of various kinds of bacteria and germs. One of the diseases caused by not maintaining hand hygiene is diarrhea. Efforts to prevent this disease, we need to look for natural ingredients that have antibacterial activity, one of which is turpentine oil to be applied in the hand sanitizer gel. Turpentine oil is an essential oil derived from pine sap distillation. The purpose of this research was to determine the antibacterial activity of turpentine oil and α -pinene gel against *S. aureus* and *E. coli*. The method used for isolation of α -pinene was done by fractionation distillation, analysis of compounds contained in α -pinene using FT-IR and GC-MS. GC-MS analysis results showed that α -pinene contained terpenes compounds. Antibacterial activity testing using paper disc diffusion method. Antibacterial activity test showed the inhibitory power against *S. aureus* and *E. coli* bacteria. Turpentine oil had the highest antibacterial activity against *S. aureus* with 13,7 mm inhibition zone and in *E. coli* bacteria produces 8,56 mm inhibition zone so that it can be applied in the form of hand sanitizer gel as a substitute for alcohol. Antibacterial gel test results showed that turpentine oil gel gave a better antibacterial effect than α -pinene gel. Turpentine oil gel had a 3,47 mm inhibition zones and 2,2 mm α -pinene gel against *S. aureus* bacteria, while turpentine oil had 3,33 mm inhibition zone and α -pinene gel 2,37 mm.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
PERNYATAAN.....	ii
PERSETUJUAN PEMBIMBING.....	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
MOTTO DAN PERSEMBAHAN	v
PRAKATA	vi
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Antibakteri.....	4
2.2 Bakteri Uji	6
2.3 Minyak Terpentin	10
2.4 Senyawa α -Pinena	11
2.5 Sediaan Gel <i>Hand sanitizer</i>	12
2.6 Gas Chromatografi Spektrometri Masa (GC-MS)	15
2.7 Spektrofotometer FT-IR	16
BAB 3 METODE PENELITIAN.....	19
3.1 Tempat Penelitian.....	19
3.2 Variabel Penelitian	19
3.2.1 Variabel Bebas	19
3.2.2 Variabel Terikat.....	19
3.2.3 Variabel Terkendali.....	19
3.3 Alat dan Bahan	19
3.3.1 Alat	19
3.3.2 Bahan.....	19
3.4 Cara Kerja	20
3.4.1 Isolasi α -pinena dari Minyak Terpentin	20

3.4.2 Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Terpentin dan α -pinena	20
3.4.3 Pembuatan Sediaan Gel <i>Hand sanitizer</i>	20
3.4.4 Tahap Analisis Sediaan Gel <i>Hand sanitizer</i>	21
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN	23
4.1 Analisis α -pinena.....	23
4.2 Sediaan Gel <i>Hand Sanitizer</i>	27
4.2.1 Uji Organoleptik.....	28
4.2.2 Uji pH.....	28
4.2.3 Uji Homogenitas	28
4.3 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri	29
BAB 5 PENUTUP	35
5.1 Simpulan.....	35
5.2 Saran.....	35
DAFTAR PUSTAKA	36
LAMPIRAN	40

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kategori Daya Hambat Bakteri.....	5
Tabel 2.2 Perbedaan Bakteri Gram Negatif dan Gram Positif	7
Tabel 2.3 Sifat Minyak Terpentin	11
Tabel 2.4 Sifat Fisik α -pinena Hasil Isolasi Minyak Terpentin	12
Tabel 3.1 Formulasi Sediaan Gel <i>Hand sanitizer</i>	21
Tabel 4.1 Sifat Fisik Senyawa α -pinena.....	23
Tabel 4.2 Interpretasi Kromatogram GC Minyak Terpentin	24
Tabel 4.3 Interpretasi Spektrum IR α -pinena.....	25
Tabel 4.4 Interpretasi Kromatogram GC-MS α -pinena	26
Tabel 4.5 Formulasi Sediaan Gel <i>Hand sanitizer</i>	27
Tabel 4.6 Hasil Uji Organoleptik Gel <i>Hand sanitizer</i>	28
Tabel 4.7 Hasil Uji pH	28
Tabel 4.8 Hasil Uji Homogenitas.....	28
Tabel 4.9 Hasil Uji Antibakteri terhadap <i>S. aureus</i> dan <i>E. coli</i>	32
Tabel 4.10 Kategori Daya Hambat Bakteri.....	33

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Bakteri <i>S. aureus</i>	8
Gambar 2.2 Bakteri <i>E. coli</i>	9
Gambar 2.3 Komponen Minyak Terpentin	10
Gambar 2.4 Struktur α -pinena.....	12
Gambar 2.5 Struktur CMC.....	13
Gambar 2.6 Struktur TEA.....	14
Gambar 2.7 Struktur Propilen glikol.....	14
Gambar 2.8 Struktur Gliserin.....	14
Gambar 2.9 Kromatogram GC-MS Minyak Terpentin.....	16
Gambar 2.10 Kromatogram GC-MS α -pinena.....	16
Gambar 2.11 Spektrum IR Minyak Terpentin	17
Gambar 2.12 Spektrum IR α -pinena	17
Gambar 4.1 Kromatogram GC Minyak Terpentin.....	24
Gambar 4.2 Spektrum IR α -pinena	25
Gambar 4.3 Kromatogram GC-MS α -pinena.....	26
Gambar 4.4 Spektrum massa α -pinena	26
Gambar 4.5 Zona Hambat Gel terhadap <i>S. aureus</i>	31
Gambar 4.6 Zona Hambat Gel terhadap <i>E. coli</i>	32

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Diagram Alir Penelitian.....	40
Lampiran 2 Hasil Penelitian.....	45
Lampiran 3 Dokumentasi Penelitian.....	47
Lampiran 4 Data Analisis.....	49

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kesehatan merupakan aspek penting yang dapat mempengaruhi kualitas hidup (*quality of life*) setiap individu. Salah satu cara yang efektif dalam menjaga kesehatan tubuh adalah dengan memelihara kebersihan tangan (Radji *et al.*, 2007). Berbagai macam virus, bakteri dan jamur menempel pada tangan setiap harinya melalui kontak fisik. Upaya pencegahan penyebaran virus, bakteri dan jamur salah satu cara yang paling tepat adalah mencuci tangan dengan sabun dan air bersih yang mengalir. Jika air bersih tidak tersedia, dapat menggunakan sabun dan air yang tersedia (Wijaya, 2013). Hal ini dilakukan karena tangan seringkali menjadi agen yang membawa kuman dan menyebabkan patogen berpindah dari satu orang ke orang lain dan menimbulkan penyakit.

Salah satu penyakit yang disebabkan karena tidak menjaga kebersihan tangan adalah diare. Kemenkes (2011) menyatakan bahwa berdasarkan pola penyebab kematian semua umur, diare menduduki peringkat ke -13 dengan proporsi kematian sebesar 3,5%. Sementara dengan mencuci tangan dapat menurunkan potensi diare sebesar 47%.

Penyebab penyakit diare dapat dikelompokkan dalam 6 golongan besar yaitu infeksi (disebabkan oleh bakteri, virus atau parasit), malabsorpsi, alergi, keracunan, immunodefisiensi dan sebab lainnya. Penyebab tersering yang menyebabkan penyakit ini adalah infeksi bakteri (Kemenkes, 2011). Bakteri penyebab diare antara lain bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

Bakteri *S. aureus* merupakan salah satu bakteri yang juga melekat pada tangan manusia. Bakteri *S. aureus* dapat menyebabkan berbagai infeksi pada manusia seperti pneumonia, meningitis, infeksi saluran kemih dan keracunan makanan dengan cara melepaskan enterotoxin ke dalam makanan (Thaker, 2009).

Bakteri *E. coli* merupakan anggota flora normal usus. Bakteri *E. coli* berperan penting dalam sintesis vitamin K, konversi pigmen-pigmen empedu,

asam-asam empedu dan penyerapan zat-zat makanan. Bakteri *E. coli* menjadi patogen jika jumlah bakteri ini dalam saluran pencernaan meningkat atau berada di luar usus. *E. coli* akan menghasilkan enterotoksin yang menyebabkan diare (Jawetz *et al.*, 2005).

Bakteri berpotensi menjadi patogen jika jumlahnya melebihi batas dan akan menjadi bahaya bagi manusia. Kemunculan bakteri yang melebihi batas dapat disebabkan oleh berbagai cara salah satunya ialah kurangnya kebiasaan mencuci tangan. Pada kondisi tertentu, sering kali keberadaan air dan sabun menjadi kendala karena tidak tersedianya sarana untuk membersihkan tangan, sehingga seiring perkembangan zaman kebiasaan mencuci tangan menggunakan air dan sabun telah teralihkan dengan menggunakan *hand sanitizer*.

Hand sanitizer yang umum digunakan dalam suatu sediaan biasanya dari golongan alkohol dengan konsentrasi 50-70% dan jenis desinfektan yang lain seperti klorheksidin dan triklosan (Block, 2001). Alkohol sebagai desinfektan mempunyai aktivitas bakterisidal yang bekerja terhadap berbagai jenis bakteri, tetapi karena alkohol merupakan pelarut organik maka dapat melarutkan lapisan lemak dan sebum pada kulit yang mana lapisan tersebut berfungsi sebagai pelindung terhadap infeksi mikroorganisme. Oleh karena itu, diperlukan gel *hand sanitizer* yang berbahan dasar atau mengandung bahan alam yang aman apabila diaplikasikan pada telapak tangan secara berulang (Manus *et al.*, 2016).

Salah satu bahan alam yang dapat menggantikan alkohol sebagai bahan aktif serta memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai antiseptik ialah minyak terpentin. Minyak terpentin merupakan salah satu produk unggulan *non* kayu PT. Perhutani di Indonesia sebagai hasil penyulingan getah pohon pinus (famili *Pinaceae*). Permintaan pasar terhadap minyak ini semakin meningkat setiap tahunnya karena “*Back to Nature*” cenderung dipilih untuk memenuhi kebutuhan industri, sehingga permintaan maupun harga minyak terpentin cenderung meningkat. Adanya peningkatan permintaan industri atas minyak terpentin sering sebagai bahan baku farmasi, parfum, pelarut, resin dan polimer (Amini *et al.*, 2014).

Minyak terpentin dihasilkan atau diperoleh dari penyulingan getah pohon *Pinus merkusii* Jungh. Et. De. Vr (Wijayati *et al.*, 2014). Minyak terpentin

Indonesia mengandung 65-85% α -pinena, 1-3% β -pinena, kurang 1% kamfena, 10-18% 3-karena, dan 1-3% limonena. Komponen utama minyak terpentin adalah senyawa α -pinena. Semakin tinggi kandungan α -pinena menjadikan senyawa ini semakin tinggi tingkat kemurniannya dan kualitas minyak terpentin menjadi semakin baik serta mempunyai nilai jual tinggi (Utami *et al.*, 2011).

Mimoune *et al* (2013) melakukan penelitian uji aktivitas antibakteri minyak terpentin terhadap *S. aureus* yang dapat menghambat dengan zona sebesar 13 mm dan *E. coli* dengan zona hambat sebesar 8 mm. Hasil penelitian lain menunjukkan adanya aktivitas antibakteri minyak terpentin terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* dengan diameter zona hambat 13,33 mm dan *E. coli* 8,33 mm, yang mana termasuk dalam kategori sedang (Zeynep *et al.*, 2014). Masruri *et al* (2007) melakukan penelitian adanya aktivitas antibakteri α -pinena terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* dengan diameter zona hambat 8,3 mm dan *E. coli* 8,9 mm.

Berdasarkan uraian diatas, penelitian ini diharapkan dapat mengetahui aktivitas antibakteri minyak terpentin dan α -pinena terhadap *S. aureus* dan *E. coli* dalam sediaan gel *hand sanitizer*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas diperoleh rumusan masalah yaitu Bagaimana aktivitas antibakteri sediaan gel *hand sanitizer* minyak terpentin dan gel *hand sanitizer* α -pinena terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah Mengetahui aktivitas antibakteri sediaan gel *hand sanitizer* minyak terpentin dan gel *hand sanitizer* α -pinena terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil yang didapatkan dari penelitian ini diharapkan mampu memformulasikan sediaan gel *hand sanitizer* dari minyak terpentin dan α -pinena yang selanjutnya diuji aktivitas antibakterinya terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Antibakteri

Antibakteri merupakan substansi yang dihasilkan oleh suatu mikroorganisme yang mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan ataupun membunuh mikroorganisme lain (Andries *et al.*, 2014).

Aktivitas antibakteri dibagi menjadi dua macam yaitu aktivitas bakteriostatik (menghambat pertumbuhan tetapi tidak membunuh patogen) dan aktivitas bakterisidal (dapat membunuh patogen dalam kisaran luas) (Brooks *et al.*, 2007). Berdasarkan mekanisme kerjanya, antibakteri dibagi menjadi 4 yaitu :

1. Perusakan pada dinding sel

Peptidoglikan (pelindung dinding sel) dirusak oleh antibakteri sehingga setelah masuk dapat dengan mudah merusak membran sel bakteri.

2. Perusakan membran sel

Permeabilitas membran sel bakteri dirusak oleh zat antibakteri dimana transport nutrisi ke dalam sel menjadi terhambat sehingga pertumbuhan sel bakteri juga terhambat yang mengakibatkan kematian sel.

3. Penghambatan metabolisme sel

Reaksi metabolisme sel bakteri dihambat sehingga tidak ada lagi aktivitas metabolisme dalam sel yang mengakibatkan kematian sel bakteri.

4. Penghambat sintesis protein dan sintesis asam nukleat

Zat antibakteri menghambat pembentukan molekul sederhana berupa peptide dan merusak enzim-enzim pensintesis asam nukleat. Kerusakan ini tidak dapat diperbaiki lagi sehingga bakteri akan mati.

Di bidang farmasi, bahan antibakteri dikenal dengan nama antibiotik, yaitu suatu substansi kimia yang dihasilkan oleh mikroba dan dapat menghambat pertumbuhan mikroba lain. Kategori daya hambat bakteri menurut Rita (2010) disajikan dalam Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Kategori Daya Hambat Bakteri

Daya Hambat Bakteri (mm)	Kategori
≥ 20	Sangat kuat
10 – 20	Kuat
5 – 10	Sedang
≤ 5	Lemah

Pengujian senyawa antibakteri bertujuan untuk mengetahui besarnya potensi dan kualitas zat antibakteri. Ada beberapa metode yang dapat dilakukan dalam menguji senyawa antibakteri, yaitu :

1. Metode difusi

Metode difusi merupakan salah satu metode yang sering digunakan. Metode difusi dilakukan dengan mengukur zona bening yang merupakan petunjuk adanya respon penghambatan bakteri oleh suatu senyawa antibakteri.

a. Metode sumuran

Pada metode ini, media agar yang telah diberi bakteri dibuat beberapa sumuran. Lubang tersebut diisi dengan berbagai zat antibakteri yang akan diuji. Setelah media agar diinkubasi, diamati zona hambat yang terbentuk pada sekeliling sumuran).

b. Metode cakram kertas

Metode ini hanya menggunakan sedikit bahan yang diuji. Metode cakram kertas memerlukan *petri dish* yang mengandung 15-25 mL agar. Uji ini dilakukan dengan mengaplikasikan cakram kertas saring berisi sejumlah obat tertentu diatas permukaan medium agar (medium padat) yang sebelumnya telah diinokulasi bakteri uji, selanjutnya diinkubasi selama 18-24 jam dan dilakukan pengukuran daerah hambatan yang jernih disekitar cakram (Chamber, 2007). Metode ini akan digunakan dalam penelitian. Metode ini lebih dikenal dengan metode Kirby-Bauer (Cappucino *et al.*, 2001). Pada penelitian ini menggunakan metode cakram kertas karena mudah dilakukan dan tidak memerlukan peralatan khusus.

2. Metode dilusi

Metode ini bertujuan untuk menentukan konsentrasi terendah zat antimikroba yang diuji. Hasil pengamatan dapat diukur dengan kadar hambat

minimal (KHM) dan kadar bunuh minimal (KBM). Metode ini terdiri dari dua cara yaitu :

a. Metode agar dilusi

Metode agar dilusi merupakan metode tanpa membutuhkan penggunaan alat yang canggih. Pada metode ini, bahan yang diuji digabungkan kedalam agar kemudian ditanamkan bakteri di permukaannya. Beberapa konsentrasi bahan yang diuji dapat dibagi dengan cara membagi permukaan agar menjadi kotak-kotak. Agar tersebut kemudian diinkubasi selama 24 jam atau lebih kemudian pertumbuhan bakteri pada campuran ekstrak-agar dapat dihitung. Metode ini menggunakan sejumlah besar volume bahan yang diuji dibanding dengan metode difusi.

b. Metode pengenceran

Metode ini menggunakan zat antibakteri yang diencerkan beberapa kali terlebih dahulu. Kemudian suspensi bakteri dimasukkan ke dalam berbagai konsentrasi zat antibakteri yang akan diuji pada suatu media cair. Setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰C diamati pertumbuhan bakteri dengan melihat kekeruhan cairan (Jorgensen, 2009).

2.2 Bakteri Uji

Bakteri adalah mikroorganisme bersel satu, berkembang biak dengan cara membelah diri dan hanya dapat dilihat dengan mikroskop (Jawetz *et al.*, 2005). Ada beberapa bentuk dasar bakteri yaitu bulat (tunggal: coccus, jamak: cocci), batang atau silinder (tunggal: bacillus, jamak: bacilli), dan spiral yaitu berbentuk batang melengkung atau melingkar-lingkar (Pratiwi, 2008). Berdasarkan sifat bakteri terhadap pewarnaan Gram, bakteri dapat digolongkan menjadi Gram positif dan Gram negatif. Tabel 2.2 berikut ini menjelaskan perbedaan antara bakteri Gram positif dan Gram negatif.

Tabel 2.2 Perbedaan bakteri Gram positif dan Gram negatif

Ciri-ciri	Perbedaan Relatif	
	Gram Positif	Gram Negatif
Struktur dinding sel	Tebal (15-80 nm) Berlapis tunggal (mono)	Tipis (10-15 nm) Berlapis tiga (multi)
Komposisi dinding sel	Kandungan lipid rendah (1-4%) Peptidoglikan ada sebagai lapisan tunggal; komponen utama merupakan lebih dari 50% berat kering pada beberapa sel bakteri. Ada asam terkoat	Kandungan lipid tinggi (11-22%) Peptidoglikan ada dalam lapisan kaku sebelah dalam; Jumlahnya sedikit, hanya sekitar 10% berat kering. Tidak ada asam terkoat
Ketahanan terhadap penisilin	Lebih rentan	Kurang rentan
Resistensi terhadap gangguan fisik	Lebih resisten	Kurang resisten

(Pelczar & Chan, 2007)

a. Bakteri Gram Positif

Bakteri Gram positif adalah bakteri yang dinding selnya menyerap warna violet dan memiliki lapisan peptidoglikan yang tebal. Contoh bakteri Gram positif yaitu *Clostridium tetani*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* dan *Clostridium perfringens*. *S. aureus* digunakan dalam penelitian ini karena merupakan salah satu bakteri yang paling sering mengkontaminasi kulit tangan. Penyebaran *S. aureus* paling sering ditularkan dari tangan ke tangan (Widyawati *et al.*, 2017).

Bakteri *S. aureus* adalah bakteri Gram positif berbentuk bulat berdiameter 0,7-1,2 μm , tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur, fakultatif anaerob, tidak membentuk spora, dan tidak bergerak. Bakteri ini tumbuh pada suhu optimum 37⁰C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25⁰C). Koloni pada perbenihan padat berwarna abu-abu sampai kuning keemasan, berbentuk bundar, halus, menonjol dan berkilau (Jawetz *et al.*, 2005).

Klasifikasi dari *S. aureus* adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Eubacteria
Filum	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Ordo	: Bacillales
Famili	: Staphylococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Spesies	: <i>S. aureus</i>



Gambar 2.1. Bakteri *S. aureus*

Keracunan makanan dapat disebabkan kontaminasi enterotoksin dari *S. aureus*. Waktu onset dari gejala keracunan biasanya cepat dan akut, tergantung pada daya tahan tubuh dan banyaknya toksin yang termakan. Jumlah toksin yang dapat menyebabkan keracunan adalah 1,0 µg/gr makanan. Gejala keracunan ditandai oleh rasa mual, muntah-muntah, dan diare yang hebat tanpa disertai demam (Jawetz *et al.*, 2005).

b. Bakteri Gram Negatif

Bakteri Gram negatif adalah bakteri yang dinding selnya menyerap warna merah dan memiliki lapisan peptidoglikan yang tipis. Lapisan peptidoglikan pada bakteri Gram negatif terletak di ruang periplasmik antara membran plasma dengan membran luar. Contoh bakteri Gram negatif antara lain *Hemophilis influenza*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella* dan *Salmonella*. Pada penelitian ini menggunakan bakteri *E. coli* karena *E. coli* merupakan bakteri penyebab diare dan bersifat patogen.

Bakteri *E. coli* merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang pendek yang memiliki panjang sekitar 2 μm , diameter 0,7 μm , lebar 0,4-0,7 μm dan bersifat anaerob fakultatif. *E. coli* membentuk koloni yang bundar, cembung, dan halus dengan tepi yang nyata (Jawetz *et al.*, 2005).

Klasifikasi dari *E. coli* adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Prokaryota
Filum	: Gracilicutes
Kelas	: Scotobacteria
Ordo	: Eubacteriales
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: Escherichia
Spesies	: <i>E. coli</i>

(Juliantina, 2009)



Gambar 2.2. Bakteri *E. coli*

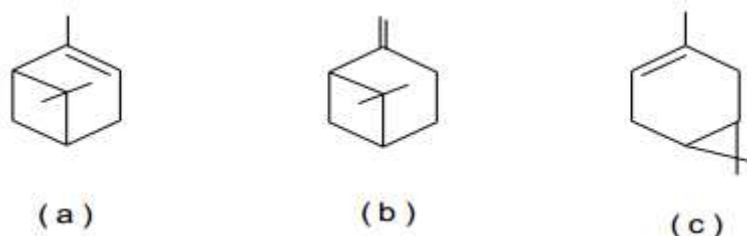
Bakteri *E. coli* dapat menyebabkan penyakit seperti diare (infeksi primer pada usus halus), infeksi saluran kemih, pneumonia, meningitis pada bayi yang baru lahir dan infeksi luka (Jawetz *et al.*, 2005). Penyebaran *E. coli* dapat terjadi dengan cara kontak langsung (bersentuhan, berjabat tangan dan sebagainya) kemudian diteruskan melalui mulut, akan tetapi *E. coli* pun dapat ditemukan tersebar di alam sekitar kita. Penyebaran secara pasif dapat terjadi melalui makanan atau minuman (Melliawati, 2006).

2.3 Minyak Terpentin

Di Indonesia, terpentin dihasilkan dari getah pinus jenis *Pinus merkusii*. Terpentin dihasilkan sebagai hasil atas proses distilasi dan hasil bawahnya berupa gondorukem. Terpentin merupakan salah satu produk unggulan non kayu Perum Perhutani di Indonesia. Produksi minyak terpentin dari getah pinus sampai dengan bulan Desember 2014, dilaporkan mencapai 17.150 ton dengan luas hutan pinus sekitar 876.992,66 hektar (Wijayati, 2016).

Minyak terpentin merupakan cairan yang berwarna (jernih) dan berbau khas. Minyak terpentin sering disebut dengan *spirit of turpentine*, berupa cairan yang mudah menguap, berasal dari penyulingan getah jenis pohon yang tergolong dalam getah pinus. Pohon pinus (*famili Pinaceae*) yang dibudidayakan di Indonesia sebagian besar adalah jenis pinus *merkusii Jungh et de Vr*. Pohon ini merupakan tumbuhan asli Indonesia, dan tumbuh di daerah Aceh, Sumatera Utara dan Pulau Jawa (Wijayati *et al.*, 2013).

Kandungan utama dari minyak terpentin mentah adalah monoterpen hidrokarbon seperti (a) α -pinena, (b) β -pinena dan (c) 3-karena (Haneke, 2002). Komponen penyusun minyak terpentin ditunjukkan pada Gambar 2.3.



Gambar 2.3. Komponen minyak terpentin (Wijayati, 2016)

Terpenoid disebut juga isoprenoid, karena kerangka penyusun terpenoid adalah isoprena (C_5H_8). Tabel 2.3 adalah sifat minyak terpentin menurut SNI 7633: 2011.

Tabel 2.3. Sifat minyak terpentin

Sifat	Keterangan
Penampakan fisik	Cairan tak berwarna
Titik didih	150 – 160 °C
Titik lebur	-60 sampai -50 °C
Densitas	0,854 – 0,868 g/cm ³
Kelarutan dalam air	Tidak larut (larut dalam benzena, kloroform, eter, petroleum eter, minyak)
Bau	Memiliki bau khas

Sumber : SNI minyak terpentin

Kegunaan terpentin yang semula hanya bisa dipakai sebagai pelarut cat sehingga harganya rendah, ternyata dari terpentin ini bila diproses lebih lanjut bisa menghasilkan komponen α -pinena dan β -pinena yang bernilai ekonomis tinggi dan menjadi bahan baku industri parfum, kapur barus dan desinfektan (Wijayati *et al.*, 2011).

Minyak terpentin dapat digunakan dalam berbagai macam bidang industri. Kegunaan minyak terpentin dapat disajikan sebagai berikut:

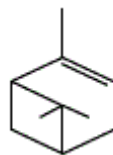
- Kegunaan paling penting minyak terpentin, sebagai bahan baku industri kimia dan farmasi seperti sintesis kamfer, terpineol dan terpenil asetat.
- Minyak terpentin digunakan sebagai minyak dalam industri cat dan pernis.
- Kegunaan lain yaitu dalam industri perekat dan pelarut lilin.

Berdasarkan penelitian terdahulu minyak terpentin mempunyai aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* dengan diameter zona hambat 13 mm dan *E. coli* 8 mm, yang mana termasuk dalam kategori sedang (Mimoune *et al.*, 2013). Peneliti lain oleh Zeynep *et al* (2014) melakukan uji aktivitas antibakteri menunjukkan zona hambat terhadap *S. aureus* dengan diameter 13,33 mm dan *E. coli* dengan diameter 8,33 mm.

2.4 Senyawa α -Pinena

Salah satu senyawa monoterpena yang terdapat dalam minyak terpentin adalah α -pinena atau 2,6,6-trimetil bisiklo [3.1.1]-2-heptena (Lindmark, 2003; Li *et al.*, 2005). Senyawa monoterpena digunakan secara luas dalam industri parfum karena baunya menarik, berat molekulnya rendah, dan volalitasnya tinggi (Sastrohamidjojo, 2002). Kandungan α -pinena yang tinggi dapat diperoleh dengan

cara destilasi bertingkat (fraksinasi). Cara destilasi ini menjadikan kemurnian α -pinena meningkat hingga mencapai 97% (Ringgani *et al.*, 2016).



Gambar 2.4. Struktur α -pinena

Senyawa α -pinena mempunyai kegunaan yang penting sebagai campuran dalam pembuatan lilin, sintesis kamfer, pembuatan geraniol, dan sebagainya. Senyawa α -pinena bila terkena cahaya dapat mengalami autooksidasi dan untuk menstabilkan dapat dilakukan dengan menambah hidrokuinon.

Hasil penentuan sifat fisik sampel α -pinena hasil isolasi dengan destilasi fraksinasi vakum pada suhu kamar datanya disajikan pada Tabel 2.4.

Tabel 2.4. Sifat Fisik α -Pinena Hasil Isolasi Minyak Terpentin

Jenis	Keterangan
Wujud	Cairan
Warna	Jernih kekuningan
Berat jenis	0,860 g/ml
Indeks bias (20°C)	1,4652

Masruri *et al* (2007) melakukan penelitian adanya aktivitas antibakteri α -pinena terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* dengan diameter zona hambat 8,3 mm dan *E. coli* 8,9 mm.

2.5 Sediaan Gel *Hand sanitizer*

Hand sanitizer merupakan cairan pembersih tangan yang digunakan untuk membunuh mikroorganisme dengan cara pemakaian tanpa dibilas dengan air. Cairan dengan berbagai kandungan yang sangat cepat membunuh mikroorganisme yang ada di kulit tangan (Khaerunnisa *et al.*, 2015).

Banyak gel berasal dari bahan beralkohol yang dicampurkan bersama dengan bahan pengental, misal karbomer, gliserin dan menjadikannya serupa jelly, gel atau busa untuk memudahkan penggunaan dan menghindari perasaan kering karena penggunaan alkohol. *Hand sanitizer* mulai populer digunakan karena penggunaannya yang mudah dan praktis karena tidak membutuhkan air dan sabun.

Walaupun mencuci tangan dengan sabun dan air efektif untuk mengurangi penyebaran infeksi namun untuk melakukannya dibutuhkan wastafel dan air.

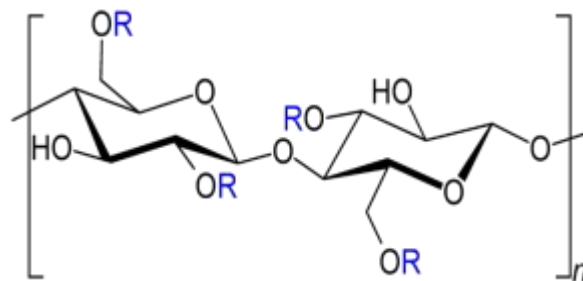
Sesuai perkembangan zaman, dikembangkan juga gel *hand sanitizer* non alkohol yang penggunaannya bisa dibbilang jauh lebih praktis daripada mencuci tangan dengan sabun. Akan tetapi jika tangan benar-benar dalam keadaan kotor, baik oleh tanah, darah ataupun lainnya, maka penggunaan air dan sabun untuk mencuci tangan lebih disarankan daripada *hand sanitizer*, baik yang berbahan dasar alkohol maupun non alkohol (Sari & Isadiartuti, 2006).

Formulasi gel *hand sanitizer* dalam penelitian tentang antiseptik minyak atsiri sereh adalah minyak atsiri sereh, CMC, gliserin, propilen glikol dan aquades (Manus *et al.*, 2016). Hasil pengujian antiseptik sediaan gel minyak atsiri daun sereh 5% memiliki rata-rata koloni sebanyak 80, sediaan gel minyak atsiri daun sereh 10% sebanyak 18 koloni dan sediaan gel minyak atsiri 15% sebanyak 8 koloni (Manus *et al.*, 2016).

Berikut merupakan uraian bahan pada formulasi gel antiseptik :

a. CMC (*Carboxymethylcellulose*)

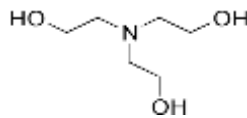
Carboxymethylcellulose adalah serbuk putih tidak berbau dan berbentuk bubuk granular. *Carboxymethylcellulose* berfungsi sebagai agen pelapis, agen penstabil, pensuspensi, disintegran tablet dan kapsul, pengikat tablet, meningkatkan viskositas dan agen penyerap air. Konsentrasi yang lebih tinggi biasanya 3-6% digunakan untuk menghasilkan gel yang dapat digunakan sebagai dasar untuk aplikasi dan pasta (Rowe *et al.*, 2009).



Gambar 2.5. Struktur CMC

b. TEA (*Triethanolamine*)

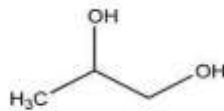
Bentuk dari TEA adalah cairan kental, berwarna kuning pucat hingga tidak berwarna, larut dalam kloroform dan etanol, dapat bercampur dengan aseton. *Triethanolamine* berfungsi sebagai agen penetral pH, agen pengemulsi, buffer dan meningkatkan kejernihan ((Rowe *et al.*, 2009).



Gambar 2.6. Struktur TEA

c. Propilen glikol

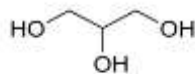
Propilen glikol merupakan cairan bening, tidak berwarna, kental, tidak berbau, manis dan memiliki rasa yang sedikit tajam menyerupai gliserin. Larut dalam pelarut aseton, kloroform, etanol, gliserin dan dapat melarutkan minyak esensial (Rowe *et al.*, 2009). Propilen glikol umumnya digunakan sebagai pengawet antimikroba, disinfektan, *plasticizer*, pelarut dan zat penstabil, serta sebagai humektan atau penahan lembab yang berfungsi meningkatkan daya sebar sediaan dan melindungi kemungkinan menjadi kering (Titaley *et al.*, 2014).



Gambar 2.7. Struktur propilen glikol

d. Gliserin

Gliserin merupakan cairan kental, jernih, tidak berwarna, tidak berbau, berasa manis dan memiliki sifat higroskopis. Gliserin mudah bercampur dengan air dan etanol 95% namun tidak larut dalam kloroform, minyak lemak, dan minyak atsiri. Gliserin pada sediaan memiliki fungsi sebagai humektan (menjaga kelembaban sediaan) dan *emollient* (menjaga kehilangan air dari sediaan) (Rowe *et al.*, 2009).



Gambar 2.8. Struktur gliserin

e. Aquades

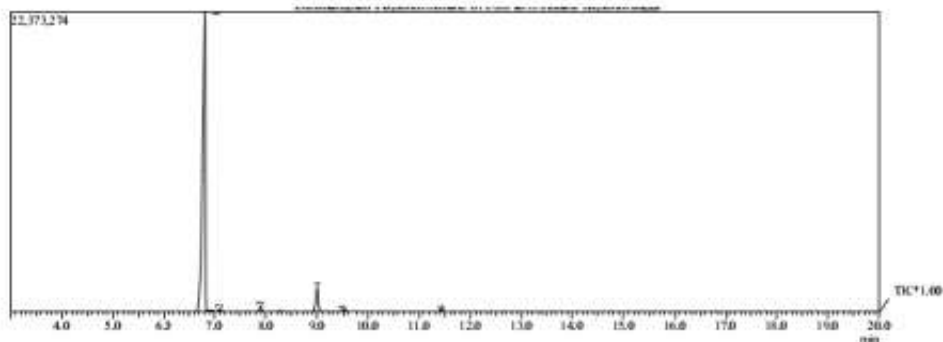
Aquades dalam sediaan farmasi biasanya digunakan sebagai pelarut dan medium pendispersi. Aquades merupakan air murni yang diperoleh dari penyulingan dan terbebas dari kotoran atau mikroba jika dibandingkan dengan air biasa. Aquades berbentuk cairan jernih, tidak berbau dan tidak memiliki rasa.

2.6 Gas Chromatografi Spektrometri Masa (GC-MS)

GC-MS merupakan alat untuk menentukan struktur molekul senyawa organik, khususnya untuk senyawa organik yang cukup volatil. *Gas Chromatography* (GC) dan *Mass spectrometry* (MS) sangat *compatible* (cocok) karena senyawa yang keluar dari kolom GC berupa gas atau uap dan yang dibutuhkan oleh MS juga senyawa dalam fasa uap. Banyak senyawa volatil yang dapat dianalisis dengan GC-MS tanpa bantuan spektrokopi lainnya (Panji, 2012).

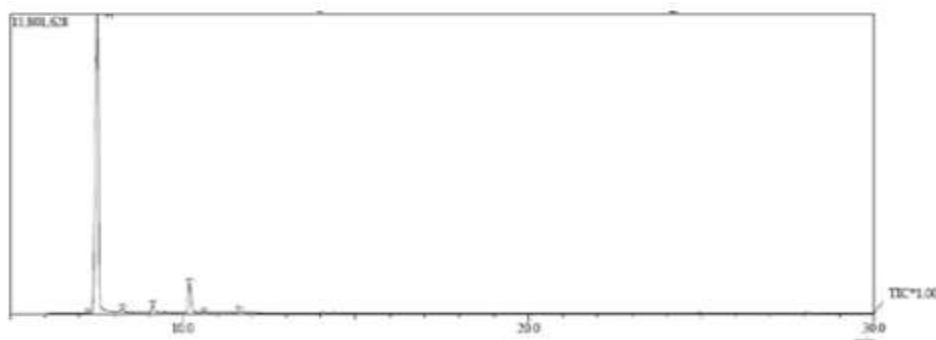
Metode dalam GC-MS terdiri dari sebuah spektrometer massa menghasilkan sejumlah besar data, terutama dalam kombinasi dengan inlet sampel kromatografi. Penggunaan indeks retensi dalam hubungannya dengan informasi struktural yang diberikan oleh GC-MS diterima secara luas, dan secara rutin digunakan untuk menceritakan identitas senyawa. Selain itu, indeks retensi saat digabungkan (Zeller, 2010).

Kromatografi Gas Spektrofotometer Massa (GC-MS) bekerja berdasarkan pada pemisahan senyawa volatil yang terikat antara fasa diam dan fasa gerak. Fasa diam yang digunakan seperti silika dan alumina merupakan adsorben dengan tingkat kepolaran tertentu. Fasa gerak merupakan gas inert yang tidak bereaksi dengan sampel dan fasa diamnya serta stabil pada suhu tinggi. Prinsip pemisahannya yaitu "like dissolve like", masing-masing komponen akan terpisahkan berdasarkan waktu retensi (kecepatan senyawa melalui kolom). Senyawa hasil pemisahan selanjutnya masuk ke dalam ruang ionisasi spektrometer massa. Senyawa akan ditembak dengan elektron berenergi tinggi dan dihasilkan ion molekul yang bermuatan listrik, pada umumnya ion molecular (M^+). Fragmen ion akan terbentuk dikarenakan adanya perbedaan rasio massa/energi (m/z). Fragmen ion yang paling banyak dihasilkan dijadikan puncak dasar (*base peak*) yang menggambarkan karakteristik suatu senyawa hidrokarbon (Fitriana, 2017).



Gambar 2.9. Kromatogram GC-MS Minyak Terpentin (Pratigto *et al.*, 2015)

Berdasarkan kromatogram GC-MS minyak terpentin mengandung lima senyawa yaitu α - pinena, β -pinena, kamfena, limonena, dan terpinolena dengan kadar yang berbeda-beda pada tiap senyawa. Kadar paling tinggi dari lima senyawa tersebut yaitu α - pinena dengan kadar 77,55 %.



Gambar 2.10. Kromatogram GC-MS α -pinena (Wulandari *et al.*, 2013)

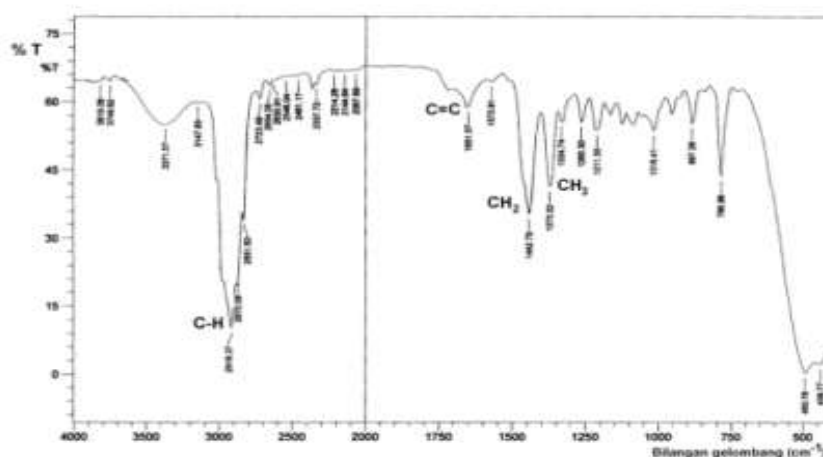
Kadar senyawa α -pinena setelah distilasi berdasarkan analisa dengan GCMS adalah 88,46%.

2.7 Spektrofotometer FT-IR

Senyawa yang belum diketahui gugus fungsionalnya dapat diuji dengan data korelasi untuk mendeteksi gugus fungsional yang ada di dalamnya. Spektrofotometer Infra Merah (IR) adalah suatu instrumen yang digunakan untuk mengukur radiasi infra merah pada berbagai panjang gelombang. Spektrum IR mengandung banyak campuran yang dihubungkan dengan sistem vibrasi yang berinteraksi dengan molekul dan mempunyai karakteristik yang unik pada setiap

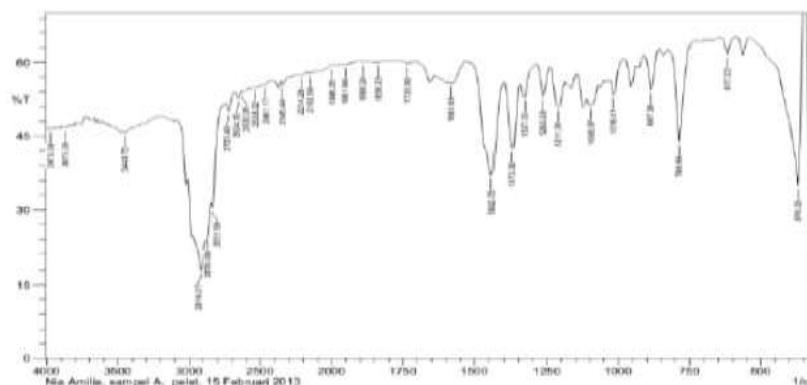
molekul sehingga spektrum ini memberikan pita serapan yang khas (Sastrohamidjojo, 2002).

Sinar inframerah yang dilewatkan melalui cuplikan organik sejumlah frekuensi diserap sedangkan frekuensi yang lain akan diteruskan karena atom-atom dalam suatu molekul tidak diam melainkan bervibrasi sehingga penyerapan ini akan mengakibatkan terjadinya transisi di antara tingkat vibrasi tereksitasi .



Gambar 2.11. Spektrum IR Minyak Terpentin (Wijayati *et al.*, 2014)

Spektrum IR minyak terpenin pada gambar menunjukkan puncak kuat pada bilangan gelombang 2916 cm^{-1} dan 2870 cm^{-1} yang berupa ikatan C-H alkana, ini diperkuat oleh puncak pada bilangan gelombang 1442 cm^{-1} yang menunjukkan gugus metilena ($-\text{CH}_2$) dan puncak pada bilangan gelombang 1373 cm^{-1} yang menunjukkan gugus metil ($-\text{CH}_3$). Sedangkan puncak lemah pada bilangan gelombang 1651 cm^{-1} menunjukkan senyawa alkena ($-\text{C}=\text{C}-$).



Gambar 2.12 Spektrum IR α -pinena (Adhiati *et al.*, 2014)

Berdasarkan spektrum IR α -pinena yang diperoleh adanya gugus C-H alifatik pada $2916,37\text{ cm}^{-1}$, gugus C=C alkena pada $1581,63\text{ cm}^{-1}$, gugus (-CH₂) pada $1442,75\text{ cm}^{-1}$, dan gugus (-CH₃) pada $1373,32\text{ cm}^{-1}$. Dari spektrum yang muncul, sehingga dimungkinkan bahwa senyawa tersebut merupakan α -pinena.

BAB 5

PENUTUP

5.1 Simpulan

Berdasarkan penelitian dan pembahasan yang telah dilakukan, didapat simpulan bahwa sediaan gel *hand sanitizer* minyak terpentin dan gel *hand sanitizer* α -pinena dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* yang mana termasuk ke dalam kategori lemah yaitu dengan zona hambat ≤ 5 mm.

5.2 Saran

Adapun saran yang didapat dari hasil penelitian, pembahasan dan kesimpulan adalah sebagai berikut :

1. Perlu adanya penelitian lebih lanjut pada sediaan gel dengan formula terbaik.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pada pengaplikasian lain agar lebih inovatif.

DAFTAR PUSTAKA

- Adhiati, Titis Sukma., Kusoro Siadi dan Latifah. 2014. Sintesis α -terpineol Melalui Reaksi Hidrasi α -pinena Menggunakan Katalis Zeolit Alam Teraktivasi. *Indonesian Journal of Chemical Science*. 3 (2) : 131-134.
- Amini, Rekfa Wika., Masruri dan Mohamad Farid Rahman. 2014. Analisis Minyak Terpentin (Pinus merkusii) Hasil Produksi Perusahaan Lokal dan Perdagangan Menggunakan Kromatografi Gas-Spektroskopi Massa (KG-SM) serta Metode Pemurniannya. *Kimia Student Jurnal*. 1 (1) : 147-153.
- Andries, Jovensius R., Paulina N.Gunawan dan Aurelia, Supit. 2014. Uji Efek Antibakteri Ekstrak Bunga Cengkeh terhadap Bakteri *Streptococcus mutans* secara In Vitro. *Jurnal e-Gigi*. 2 (2) : 1-8.
- Block, S. 2001. *Disinfection, Sterilization and Preservation*. Philadelphia : Williams and Wilkins.
- Brooks GF., Butel JS., Carrol KC., Morse SA., Jawetz Melnick and Alderberg's. 2007. *Medical Microbiology*. 24th Edition. USA : MC Graw Hill.
- Chambers, HF. 2007. *Dasar Farmakologi*. Edisi 10. Jilid 2. Jakarta : Kedokteran EGC.
- Cappucino JG, Sherman N. 2001. *Microbiology a Laboratory Manual*. San Fransisco : Pearson Education.
- Ditjen POM. 2000. *Farmakope Indonesia*. Edisi Ketiga. 33. Jakarta : Depkes RI.
- Fitriana, Wiwit Denny. 2017. Analisis Komponen Kimia Minyak Atsiri pada Ekstrak Metanol Daun Kelor. *Jurnal Pharma Science*. 4 (1) : 122-129.
- Haneke, Karen E. 2002. *Turpentine Oil, Wood Turpentine, Sulfate Turpentine, Sulfit Turpentine*. North Carolina : Integrated Laboratory Systems.
- Haryati, Nur Aini., Chairul Saleh dan Erwin. 2015. Uji Toksisitas dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Merah Tanaman Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) Terhadap Bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. *Jurnal Kimia Mulawarman*. 13 (1) : 35 – 40.
- Jawetz, Melnick & Adelberg's. 2005. *Medical Microbiology*. San Fransisco : University of California.
- Jorgensen, James H and Ferraro, Mary J. 2009. Antimicrobial Suspectibility Testing : A Review of General Principles and Contemporary Practices. Infections Diseases Society of America. *Journal of Coastal Life Medicine*. 1 (1) : 110-119.

- Juliantina, R. F. 2009. Manfaat Sirih Merah (*Piper crocatum*) Sebagai Agen Antibakterial Terhadap Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia*. 1 (1) : 1-6.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2011. Situasi Diare di Indonesia. *Buletin Jendela Data dan Informasi Kesehatan*. 2 (2) : 1-38.
- Khaerunnisa Riana Rahayu., Sani Ega Priani dan Fetri Lestari. 2015. Formulasi dan Uji Efektivitas Sediaan Gel Antiseptik Tangan Mengandung Ekstrak Etanol Daun Mangga Arumanis (*Mangifera Indica L.*). *Prosiding Penelitian Unisba*. 2 (2) : 553-561.
- Kusumawati, Eko., Supomo dan Libiyah. 2017. Uji Daya Antibakteri pada Sediaan *Hand sanitizer* Kitosan terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Sains dan Terapan*. 5 (1) : 1-44.
- Li, L.S. Liu, Y Shi, S. Yu, C. Xie & C. Qi. 2013. Synthesis of Terpynil Acetate Using Octadecylamine Ethoxylate Ionic Liquids as Catalyst. *Res Chem Intermed*. 3 (9) : 2095-2105.
- Manus, Noriko., Paulina V. Y. YamLean dan Novel S. Kojong. 2016. Formulasi Sediaan Gel Minyak Daun Sereh (*Cymbopogon citratus*) Sebagai Antiseptik Tangan. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 5 (3) : 85-93.
- Masruri, Mohammad Farid Rahman dan Tegas Imam Prasodjo. 2007. Identifikasi dan Uji Aktifitas Antibakteri Senyawa Volatil Terpenoid Minyak Terpentin. *Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati*. 19 (1) : 32-35.
- Melliawati, Ruth., Ricky Setiadi Suherman dan Bambang Subardjo. 2006. Pengkajian Kapang Endofit dari Taman Nasional Gunung Halimun Sebagai Penghasil Glukoamilase. *Berk. Penelitian Hayati*. 12 (1) : 19-25.
- Mimoune, Nouara Ait., Djouher Ait Mimoune and Aziza Yataghene. 2013. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of Pinus pinaster. *Journal of Coastal Life Medicine*. 1 (1) : 55-59.
- Miradiana., Nurdin Saidi dan Risa Nursanty. 2017. Potensi Ekstrak *N*-Heksana Daun Kapas (*Gossypium hirsutum L.*) Terhadap Bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). *Bioleuser*. 1 (1) : 13-19.
- Ningsih, Ayu Putri., Nurmiati dan Anthoni Agustien. 2013. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kental Tanaman Pisang Kepok Kuning (*Musa paradisiaca Linn.*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*. 2 (3) : 207-213.
- Panji, T. 2012. *Teknik Spektroskopi untuk Eludasi Struktur Molekul*. Yogyakarta : Graha Ilmu.
- Pelczar, M., & Chan ECS. 2007. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: UI Press.

- Pratigto, Setiarto., Kusoro Siadi dan Edy Cahyono. 2015. Efek Perubahan Konsentrasi pada Hidrasi α -pinena dari Terpentin dengan Katalis Asam Trikloroasetat. *Indonesian Journal of Chemical Science*. 4 (2) : 112-116.
- Pratiwi, S. T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta : Erlangga.
- Radji, Maksum., Herman Suryadi dan Dessy Ariyanti. 2007. Uji Efektivitas Antimikroba Beberapa Merek Dagang Pembersih Tangan Antiseptik. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 4 (1) : 1-6.
- Ringgani, Retno., Budhijanto dan Arief Budiman. 2016. Kinetika Reaksi Isomerisasi α -pinene. *Eksergi*. 13 (1) : 6-12.
- Rini, Anggy Rinela Sulistya., Supartono dan Nanik Wijayati. 2017. *Hand Sanitizer* Ekstrak Kulit Nanas Sebagai Antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Echerichia coli*. *Indonesian Journal of Chemical Scince*. 6 (1) : 62-66.
- Rita, Wiwik Susanah. 2010. Isolasi, Identifikasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Golongan Triterpenoid pada Rimpang Temu putih (Curcuma Zedoaria (Berg) Roseoe). *Jurnal Kimia*. 4 (1) : 20-26.
- Rowe R.C., Sbeskey P.J., and Owen S.C. 2009. *Handbook of Pharmaceutical Exipients, pharmaceutical Press, American Pharmaceutical Associations*, 5th edition, 346 : 466-624.
- Sari, Retno dan Dewi Isadiartuti. 2006. Studi Efektivitas Sediaan Gel Antiseptik Tangan Ekstrak Daun Sirih (Piper betle Linn). *Majalah Farmasi Indonesia*. 17 (4) : 163-169.
- Sastrohamidjojo, H. 2002. *A Study of Some Indonesian Essential Oils*. Yogyakarta : UGM.
- Selvia, Wina Rahayu., Dina Mulyanti dan Sri Peni Fitriyaningsih. 2015. Formulasi Sediaan Gel *Hand sanitizer* Ekstrak Kulit Buah Rambutan (*Nephelium lappaceum L.*) serta Uji Aktivitasnya terhadap Bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. *Prosiding KNMSA*. 1 (5) : 351-355.
- Taurina, Wintari dan Rafikasari. 2014. Uji Efektivitas Sediaan Gel Minyak Atsiri Buah Jeruk Pontianak (*Citrus nobilis Lour. Var. microcarpa*) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Traditional Medicine Journal*. 19 (2) : 70-73.
- Thaker, L.M. 2009. Antibacterial Activity of Essential Oils from Palmarosa, Evening Primrose, Lavender and Tuberose. *Pharmaceutical Science*. 1 (1) : 134-136.
- Titaley, Stany., Fatimawali dan Widya A. Lolo. 2014. Formulasi dan Uji Efektivitas Sediaan Gel Ekstrak Etanol Daun Mangrove Api-api (*Avicennia Marina*) sebagai Antiseptik Tangan. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 3 (2) : 99-106.

- Tranggono, Retno, I., Latifah dan Fatimah. 2007. *Buku Pegangan Ilmu Pengetahuan Kosmetik*. Jakarta : Gramedia Pustaka Umum.
- Utami, Herni., Arief Budiman., Roto dan Wahyudi Budi Setiawan. 2011. Studi Kinetika Reaksi Heterogen α -pinena Menjadi Terpeneol dengan Katalisator Asam Kloro Asetat. *Reaktor*. 13 (4) : 248-253.
- Widyawati, Lili., Baiq Ayu Aprilia Mustariani dan En Purmafitriah. 2017. Formulasi Sediaan Gel Hand Sanitizer Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata linn*) Sebagai Antibakteri Terhadap *S. aureus*. *Jurnal Farmasetis*. 6 (2) : 47-57.
- Wijaya, Johan Iswara. 2013. Formulasi Sediaan Gel *Hand sanitizer* dengan Bahan Aktif Triklosan 1,5% dan 2%. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*. 2 (1) : 1-14.
- Wijayati, Nanik., Pranowo, H.D dan Jumina, Tiyono. 2011. Synthesis of Terpeneol from α -pinena catalyzed TCA/HY-Zeolite. *Indonesian Journal of Chemical Science*. 11 (3) : 234-237.
- Wijayati, Nanik., Pranowo, H.D dan Jumina, Tiyono. 2013. The Acid Catalyzed Reaction of α -pinena over Y-Zeolite. *Indonesian Journal of Chemical Science*. 13 (1) : 59-65.
- Wijayati, Nanik., Chrstina Astutiningsih dan Suci Mulyati. 2014. Transformasi α -pinena dengan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25923. *Journal of Biology & Biology Education*. 6 (1) : 25-28.
- Wijayati, Nanik. 2016. *Biotransformasi Alfa Pinena dari Minyak Terpentin*. Semarang : UNNES PRESS.
- Wulandari, Ivitarina., Moh. Farid Rahman dan Elvina Dhiaul Iftitah. 2013. Pengaruh Variasi Jumlah Mol Asetonitril Terhadap Produk Sintesis Senyawa Organonitrogen Berbasis α -pinena Hasil Isolasi dari Minyak Terpentin. *Kimia Student Jurnal*. 2 (1) : 303-309.
- Zeller, B. D. 2010. *Analysis of Essential Oils*. Italy : CRC Press.
- Zeynep, Ulunkali., Karabörklü Salih., Bozok Fuat., Ates Burhan., Erdogan Selim., Cenet Menderes., Karaaslan Merve Göksin. 2014. Chemical composition, antimicrobial, insecticidal, phytotoxic and antioxidant activities of Mediterranean Pinus brutia and Pinus pinea essential oils. *Chinese Journal of Natural Medicines*. 12 (12) : 901-910.