

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI ASAP CAIR DARI CANGKANG BIJI  
KARET (*Hevea brasiliensis*) TERHADAP *Bacillus* sp. DAN *Escherichia coli*  
SERTA ANALISIS KOMPONEN KIMIANYA

SKRIPSI

Oleh

Nailul Luthfiyah



FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2017

## ABSTRAK

### UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI ASAP CAIR DARI CANGKANG BIJI KARET (*Hevea brasiliensis*) TERHADAP *Bacillus* sp. DAN *Escherichia coli* SERTA ANALISIS KOMPONEN KIMIANYA

Nailul Luthfiah

Cangkang biji karet mengandung selulosa dan lignin, oleh karena itu cangkang biji karet berpotensi untuk dijadikan sebagai bahan baku asap cair. Asap cair mengandung asam laktat dan fenol, kedua senyawa ini bersifat antibakteri. Tujuan penelitian ini yaitu menguji aktivitas antibakteri asap cair cangkang biji karet terhadap *Bacillus* sp. dan *E. coli*, menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM), serta identifikasi senyawa kimia penyusunnya. Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode dilusi sumur dengan konsentrasi 100%, 10% dan 2%. Penentuan nilai KHM dan KBM menggunakan dilusi cair dengan konsentrasi 2%, 1%, 0,5%, 0,25% dan 0,125%. Identifikasi senyawa kimia menggunakan GC-MS. Data yang didapat dianalisis secara deskriptif. Hasil dari penelitian ini yaitu asap cair cangkang biji karet bersifat antibakteri terhadap *Bacillus* sp. dan *E. coli*, *E. coli* lebih peka dibandingkan *Bacillus* sp. KHM asap cair terhadap *Bacillus* sp. dan *E. coli* adalah 1%. Konsentrasi 2% belum membunuh bakteri uji. Asap cair cangkang biji karet terdiri dari 20 macam senyawa kimia, senyawa yang mendominasi yaitu asam asetat, phenol, 2-methoxy, phenol,2-methoxy-4-methyl, dan 2-furancarboxaldehyde dengan persentase masing-masing secara berturut-turut yaitu 45,382%, 14,382%, 11,242%, dan 7,972%.

**Kata kunci:** Antibakteri, KBM, KHM, asap cair, cangkang biji karet

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI ASAP CAIR DARI CANGKANG BIJI  
KARET (*Hevea brasiliensis*) TERHADAP *Bacillus* sp. DAN *Escherichia coli*  
SERTA ANALISIS KOMPONEN KIMIANYA**

Oleh  
**Nailul Luthfiyah**

**Skripsi**  
Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar  
SARJANA SAINS  
Pada  
Jurusan Biologi  
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2017**

**Judul Skripsi** : **UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI ASAP CAIR  
DARI CANGKANG BIJI KARET (*Hevea  
brasiliensis*) TERHADAP *Bacillus* sp. DAN  
*Escherichia coli* SERTA ANALISIS  
KOMPONEN KIMIANYA**

**Nama Mahasiswa** : **Nailul Luthfiyah**

**No. Pokok Mahasiswa** : **1317021053**

**Jurusan** : **Biologi**

**Fakultas** : **Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**

**MENYETUJUI**

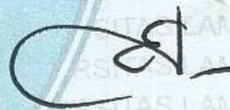
**1. Komisi Pembimbing**

**Pembimbing 1**



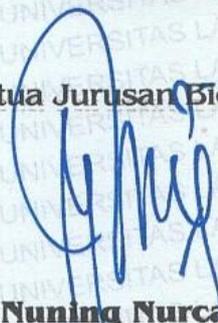
**Ir. Salman Farisi, M.Si.**  
**NIP. 19610418 198703 1 001**

**Pembimbing 2**



**Dra. Christina N. Ekowati, M.Si.**  
**NIP. 19580818 198503 2 001**

**2. Ketua Jurusan Biologi FMIPA**

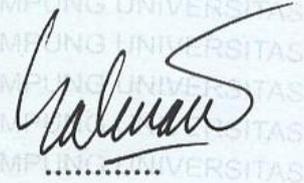


**Dra. Nuning Nurcahyani, M.Sc.**  
**NIP. 19660305 199103 2 001**

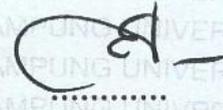
**MENGESAHKAN**

**1. Tim Penguji**

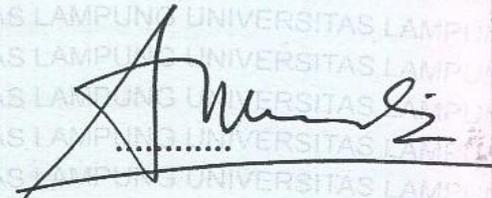
**Ketua : Ir. Salman Farisi, M.Si.**



**Sekretaris : Dra. Christina N. Ekowati, M.Si.**



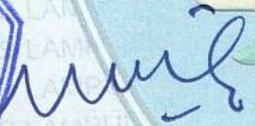
**Penguji  
Bukan Pembimbing : Dr. Sumardi, M.Si.**



**2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



**Prof. Warsito, S.Si., D.E.A., Ph.D.**  
Telp. 19710212 199512 1 001



**Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 18 Agustus 2017**

## RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Kampung Negeri Batin, Kabupaten Way Kanan, Provinsi Lampung pada tanggal 18 Juni 1995. Anak pertama dari lima bersaudara, dari Bapak Su'ban dan Ibu Saro'ah.

Penulis memulai pendidikan di Sekolah Dasar Negeri 3 Negeri Batin yang diselesaikan pada tahun 2007.

Melanjutkan ke Madrasan Tsanawiyah Negeri Way Kanan dan diselesaikan pada tahun 2009. Setelah itu melanjutkan ke Madrasah Aliyah Negeri 1 Bandar Lampung dan diselesaikan pada tahun 2013. Penulis terdaftar sebagai mahasiswa Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam di Universitas Lampung pada tahun 2013 melalui Jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN).

Selama menjadi mahasiswa di Jurusan Biologi FMIPA Unila, penulis pernah mendapat beasiswa PPA pada tahun 2014 – 2016 dan pernah menjadi asisten praktikum mata kuliah Mikrobiologi Umum Jurusan Agroteknologi Fakultas Pertanian (2016), dan asisten praktikum Mikrobiologi Lingkungan Jurusan Biologi FMIPA (2017).

Semasa kuliah, penulis aktif di beberapa organisasi intra kampus. Pada tahun 2014-2015 penulis menjadi bendahara Departemen Pendidikan dan Lingkungan Hidup (PSLH) BEM FMIPA Unila, anggota Bidang Infokom Himpunan Mahasiswa Biologi (Himbio) FMIPA Unila, dan anggota Bidang Kajian Rohani Islam (Rois) FMIPA Unila. Tahun 2015 penulis menjadi Ketua Departemen Eksakta Unit Kegiatan Mahasiswa Penelitian (UKMP) Unila. Tahun 2016 penulis menjadi Ketua Departemen Infokom Unit Kegiatan Mahasiswa Penelitian (UKMP) Unila.

Penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata pada bulan Januari-Maret 2016 di Pekon Puralaksana, Kecamatan Way Tenong, Kabupaten Lampung Barat. Pada bulan Juli-September 2016 penulis melaksanakan Kerja Praktik (KP) di Laboratorium Biokatalis dan Fermentasi Pusat Penelitian Bioteknologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Cibinong dengan judul “Formulasi Konsorsium Bakteri Laut Pendegradasi Minyak”.

MOTTO



**-3 Mantra Kehidupan-**

مَنْ جَدَّ وَجَدَّ

“Siapa yang berungguh-sungguh akan berhasil”

مَنْ صَبَرَ ظَفِرَ

“Siapa yang bersabar akan beruntung”

مَنْ سَارَ عَلَى الدَّرَبِ وَصَلَ

“Siapa yang berjalan di jalan-NYA akan sampai”

**Karya ini Aku Persembahkan untuk:**

**Bapak dan Mamak Tercinta**

Motivator terbesar dalam hidupku. Terimakasih karena selalu menyayangiku mencintaiku, mendidikku, medoakanku, dan memberi semua yang terbaik untukku. Pengorbanan kalian telah mengantarkanku sampai di titik ini. Semoga Kalian selalu diberi kesehatan dan selalu dalam lindungan Allah *subhanahu wa ta'ala*. Aku menyayangi kalian.

**Adik-adik Tercinta**

Nailul Itsna Afifah, Diah Rahma wati, Naila Cantika Dewi, dan Nala Widya Dhana. Penghibur yang selalu memberikan keceriaan, dukungan dan mengiringi langkahku. Aku menyayangi kalian.

**Bapak dan Ibu dosen**

Pendidik, Pembimbing, dan pensemhatku selama belajar di Universitas Lampung.

**Almamater**

Universitas Lampung

## SANWACANA

Puji syukur kehadirat Allah *subhanahu wa ta'ala* atas limpahan rahmat dan karuniaNya, shalawat serta salam kepada junjungan kita Nabi Muhammad *shallallahu 'alaihi wa sallam*. *Alhamdulillah* penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Antibakteri Asap Cair dari Cangkang Biji Karet (*Hevea brasiliensis*) terhadap *Bacillus* sp. dan *Escherichia coli* serta Analisis Komponen kimianya” tepat pada waktunya. Dengan selesainya skripsi ini penulis mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada:

1. Bapak Ir. Salman Farisi, M.Si selaku Dosen Pembimbing I yang telah memberikan nasehat, bimbingan, kritik dan saran selama pembuatan skripsi ini.
2. Ibu Dra. Christina N. Ekowati, M.Si selaku Dosen Pembimbing II yang telah memberikan perhatian, pengertian, bimbingan, serta dukungan selama pembuatan skripsi ini.
3. Bapak Dr. Sumardi, M.Si selaku Dosen pembahas yang telah memberikan masukan, kritik, dan sarannya agar tulisan ini menjadi lebih baik . Terima kasih atas pengertiannya, serta nasihat yang baik kepada penulis.
4. Ibu Dra. Nuning Nurcahyani, M.Sc selaku Pembimbing Akademik dan Ketua Jurusan Biologi FMIPA yang telah memberikan saran, pengertian, nasihat, dan bimbingan selama penulis menyelesaikan studi.

5. Bapak Prof. Warsito, S.Si., DEA., Ph.D. selaku Dekan FMIPA Universitas Lampung.
6. Bapak dan Ibu Dosen beserta karyawan yang tidak dapat penulis sebutkan satupersatu. Terima kasih atas ilmu dan bantuan yang sudah diberikan selama penulis melaksanakan studi di Jurusan Biologi.
7. Bapak Imron, Laboran Mikrobiologi yang telah banyak membantu selama penulis melakukan praktikum dan penelitian.
8. Kedua orangtua dan Adik-adikku yang selalu membangkitkan kembali semangat kuliah dan mengiringi dengan doa sehingga menjadikan penulis sebagai “sarjana Pertama” di keluarga.
9. Teman-teman Microholic, Balqis, Aini, Vina, Cikal, Bella N, Dea, Imeh, Hafiz, Hendra, Lina, Rohman, Yopita, Sarah, dan Jani yang telah memberikan bantuan dan informasi-informasi serta menemani hari-hari penulis selama di Laboratorium Mikrobiologi.
10. Shohibul Wasi'I. Siti Meisita, Siti Asiyah, Siti Ardianti, Dewi Ariska, dan Niswatun Hasanah. Terima kasih atas kebersamaan, keceriaan, kesabaran, pelajaran, motivasi, dan dukungan kepada penulis selama ini.
11. Teman-teman UKM Penelitian Unila. Vina Rosalina, Kak Mahmud, Arina, Erzal, Toni Chanigia, Sinta Alvianti, dan lain-lain yang tidak bias di sebutkan satu persatu. Terimakasih atas sara, motivasi, dan semangat yang telah diberikan. Terimakasih pula telah meminjamkan alat pirolisis asap cair, penulis merasa sangat terbantu.

12. *Volunteer* Griya Jejama. Terimakasih atas pengertian, semangat, dan doa'a yang telah diberikan. Terimakasih pula telah menemani penulis begadang untuk menulis revisi skripsi.
13. Teman Kelompok PKMM-Griya Jejama, Mutiatul Karimah, Eka Agustina, Ridho dan Dewi Setyawati. Terimakasih atas semangat dan doa yang telah diberikan.
14. Teman-teman Biologi angkatan 2013, kakak tingkat 2011-2012 serta adik tingkat 2014-2016 yang tidak dapat disebutkan satu-persatu. Terimakasih atas kebersamaan, dukungan, motivasi, dan semangat untuk penulis.
15. Siti Meisita, *mamak* terbaikku selama di Universitas Lampung. Terimakasih atas perhatian, bantuan, dan motivasi yang telah di berikan. Semangat Mei.
16. Siti Asiyah, teman terbaikku selama belajar di Universitas Lampung. Senang rasanya punya *partner* yang sepemikiran. Semoga kita tetap idealis ya.
17. Eka Nurhasanah, teman sekelas dan teman Kerja Praktik. Terimakasih atas perhatian, bantuan, dan motivasi yang telah di berikan.
18. Keluarga besar penghuni kos Daniah Putri. terimakasih atas kebersamaan, dukungan, motivasi, dan semangat untuk penulis.
19. Almamater tercinta Universitas Lampung.

Bandar Lampung, 22 Agustus 2017

Penulis,

Nailul Luthfiyah

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>PERSEMBAHAN</b> .....	i
<b>SANWACANA</b> .....	ii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	v
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	viii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	ix
<b>I. PENDAHULUAN</b> .....	1
A. Latar Belakang .....	1
B. Tujuan Penelitian .....	2
C. Manfaat Penelitian .....	3
D. Kerangka Pemikiran.....	3
E. Hipotesis .....	6
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	7
A. Tumbuhan Karet .....	7
B. Pirolisis dan Destilasi.....	8
C. Asap Cair .....	10
D. Antibakteri .....	11
E. Antibakteri Pembanding (Asam Benzoat) .....	14
F. Bakteri Uji.....	15
1. <i>Bacillus</i> sp.....	15
2. <i>Escherichia coli</i> .....	16
G. Metode Uji Antibakteri .....	17
1. Metode Difusi. ....	17
2. Metode Dilusi.....	18
H. <i>Gas Chromatography dan Mass Spectrometry (GC-MS)</i> .....	21
<b>III. METODE PENELITIAN</b> .....	22
A. Waktu dan Tempat .....	22
B. Alat dan Bahan.....	22

1. Alat.....	22
2. Bahan .....	23
C. Rancangan Penelitian.....	23
D. Prosedur Kerja .....	25
1. Produksi Asap Cair .....	25
2. Pembuatan Media Bakteri.....	27
3. Peremajaan Bakteri Uji dan Pembuatan Suspensi Bakteri. ....	28
4. Uji Aktivitas Antibakteri Asap Cair Cangkang Biji Karet .....	29
5. Penentuan nilai KHM dan KBM Asap Cair Cangkang Biji Karet	29
6. Analisis Kimia Kandungan Asap Cair Cangkang Biji Karet Menggunakan GC-MS .....	32
E. Analisis Data.....	32
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>34</b>
A. Produksi Asap Cair .....	34
B. Aktivitas Antibakteri Asap Cair Cangkang Biji Karet terhadap <i>Bacillus</i> sp. Dan <i>E. coli</i> .....	37
C. Uji KHM dan KBM Asap Cair Cangkang Biji Karet .....	41
D. Analisis Komponen Kimia Asap Cair Cangkang Biji Karet menggunakan GC-MS .....	46
<b>V. SIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>50</b>
A. Simpulan .....	50
B. Saran .....	50
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>52</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>57</b>
Lampiran 1. Peremajaan Bakteri Uji dan Membuat Suspensi Bakteri Uji .....	58
Lampiran 2. Uji Aktivitas Antibakteri Asap Cair Cangkang Biji Karet Menggunakan Metode Difusi Sumuran.....	59
Lampiran 3. Cara Menghitung Diameter Zona Hambat pada Uji Aktivitas Antibakteri Asap Cair Cangkang Biji Karet Menggunakan Metode Difusi Agar Sumuran .....	60
Lampiran 4. Penentuan KHM Asap Cair Cangkang Biji Karet.....	61
Lampiran 5. Penentuan KBM Asap Cair Cangkang Biji Karet .....	63
Lampiran 6. Cara Kerja Pembuatan Larutan NaCl Fisiologis 0,9% .....	64
Lampiran 7. Bakteri Uji .....	65
Lampiran 8. Struktur Dinding Sel Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif.....	66
Lampiran 9. Uji Aktivitas Antibakteri Asap Cair terhadap <i>Bacillus</i> sp. menggunakan difusi sumuran .....	67
Lampiran 10. Uji Aktivitas Antibakteri Asap Cair terhadap <i>E. coli</i> . menggunakan difusi sumuran .....	68

Lampiran 11. Tabel Perhitungan zona hambat uji Aktivitas Antibakteri Asap Cair terhadap <i>Bacillus</i> sp. dan <i>E. coli.</i> menggunakan difusi sumuran .....	69
Lampiran 12. Hasil Uji KHM Asap Cair dengan Metode Dilusi Cair.....	70
Lampiran 13. Hasil Uji KBM Asap Cair dengan Metode streak pada media Natrium Agar.....	72
Lampiran 14. Komponen Kimia dan KromatoGram GC-MS Asap Cair Cangkang biji karet hasil destilasi pada suhu >65 °C .....	74
Lampiran 15. Rumus Struktur, Sifat Fisik, dan Kegunaan Senyawa Asap Cair Cangkang Biji Karet .....	77
Lampiran 16. Dokumentasi Kegiatan .....	81

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1 pH Asap cair .....	36
Tabel 2. Hasil Penentuan KBM Antibakteri Asap Cair Cangkang Biji Karet Terhadap <i>Bacillus</i> sp. dan <i>E. coli</i> dengan Metode Dilusi cair .....	42
Tabel 3 Hasil Analisis Komponen Kimia sap Cair Cangkang Biji Karet menggunakan GC-MS .....	47
Tabel 4. Perhitungan Zona Hambat Uji Aktivitas Antibakteri Asap Cair terhadap <i>Bacillus</i> sp. dan <i>E. coli</i> . menggunakan Difusi Sumuran.....	69
Tabel 5. Hasil Uji KHM Asap Cair dengan Metode Dilusi Cair.....	70
Tabel 6. Hasil Uji KBM Asap Cair dengan Metode Streak pada Media Nutrient Agar .....	72
Tabel 7. Komponen Kimia dan Kromatogram GC-MS Asap Cair Cangkang Biji Karet Hasil Destilasi pada Suhu >65 °C.....	74
Tabel 8. Rumus Struktur, Sifat Fisik, dan Kegunaan Senyawa Asap Cair Cangkang Biji Karet .....	77

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Morfologi Buah Karet.....	8
Gambar 2. Rumus Struktur Fenol.....	13
Gambar 3. Rumus Struktur Asam Asetat .....	13
Gambar 4. Rumus Struktur Benzoat .....	14
Gambar 5. Metode Dilusi Cair.....	19
Gambar 6. Skema Alat Produksi Asap Cair Sederhana .....	25
Gambar 7. Alat <i>Rotatory Evaporator</i> .....	26
Gambar 8. Diagram Alir Penelitian .....	33
Gambar 9. Asap cair (a) Pirolisis, (b) Destilasi <math><65\text{ }^\circ\text{C}</math>, (c) Destilasi >math>>65\text{ }^\circ\text{C}</math>. 34	34
Gambar 10. Diameter Zona Hambat pada Aktivitas Antibakteri Asap Cair Cangkang Biji Karet terhadap <i>Bacillus</i> sp. dan <i>E. coli</i> .....	37
Gambar 11. Hasil Inkubasi <i>Bacillus</i> sp. pada Media NB dengan Antibakteri Asap Cair Cangkang Biji Karet Ditumbuhkan pada Media NA....	43
Gambar 12. Hasil Inkubasi <i>E. coli</i> pada Media NB dengan Antibakteri Asap Cair Cangkang Biji Karet Ditumbuhkan pada Media NA.....	43
Gambar 13. Peremajaan Bakteri .....	58
Gambar 14. Pembuatan Suspensi Bakteri Pembuatan Suspensi Bakteri.....	58
Gambar 15. Uji Aktivitas Antibakteri Asap Cair Cangkang Biji Karet Menggunakan Metode Difusi Agar Sumuran.....	59
Gambar 16. Cara Menghitung Diameter Zona Hambat pada Uji Aktivitas Antibakteri Asap Cair Cangkang Biji Karet Menggunakan Metode Difusi Agar Sumuran.....	60
Gambar 17. Penentuan KHM Asap cair Cangkang Biji Karet pada perlakuan Uji.....	61

Gambar 18. Penentuan KHM Asap cair Cangkang Biji Karet pada perlakuan Kontrol .....	62
Gambar 19. Penentuan KBM Asap Cair Cangkang Biji Karet .....	64
Gambar 20. Bakteri Uji.....	65
Gambar 21. Struktur Dinding Sel Bakteri Gram Positif dan Negatif .....	66
Gambar 22. Uji Aktivitas Antibakteri Asap Cair terhadap <i>Bacillus</i> sp. menggunakan difusi sumuran .....	67
Gambar 23. Uji Aktivitas Antibakteri Asap Cair terhadap <i>E. coli</i> menggunakan Difusi Sumuran .....	68
Gambar 24. <i>Chromatogram Plot</i> Asap Cair Cangkang Biji Karet.....	75
Gambar 25. Bahan baku cangkang karet.....	81
Gambar 26. Alat Pirolisis sederhana.....	81
Gambar 27. Instrumen GC-MS .....	82
Gambar 28 Peremajaan Bakteri .....	82
Gambar 29. Pembuatan suspensi bakteri, mencocokkan dengan standar Mc. Farland 0,5 .....	82

## I. PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Biji karet dilindungi oleh cangkang keras yang terdiri dari kandungan selulosa dan lignin. Cangkang biji karet tersebut memiliki daya awet yang tinggi sehingga tidak cepat membusuk meskipun berada di tempat terbuka. Hal ini menunjukkan bahwa cangkang biji karet memiliki senyawa antibakteri yang mampu menekan pertumbuhan jamur dan bakteri.

Kandungan selulosa dan lignin pada cangkang biji karet menyebabkan apabila cangkang dibakar maka proses pembakarannya akan berlangsung lambat sehingga menghasilkan banyak asap. Asap yang dihasilkan dari cangkang biji karet memiliki kandungan senyawa aromatik dan mengandung senyawa asam yang lebih banyak dibandingkan dengan kayu lunak (Prasetyowati dkk., 2014). Oleh sebab itu cangkang biji karet berpotensi untuk dijadikan sebagai bahan dasar pembuatan asap cair.

Asap cair merupakan campuran larutan dari dispersi asap kayu dalam air yang dibuat dengan mengkondensasikan asap hasil pirolisis kayu (Karseno dkk., 2002). Asap cair biasa digunakan dalam industri makanan sebagai bahan pengawet dan pemberi rasa, sedangkan dalam bidang farmasi sebagai antiseptik dan pencampur bahan kosmetik. Asap cair kebanyakan dibuat

dengan menggunakan bahan cangkang buah-buahan serta jenis kayu-kayuan (Panagan dan Nirwan, 2009; Novita 2013; Rinaldi dan Aman, 2015; Ariyani, 2015).

Menurut penelitian Sholichah (2013), komponen utama asap cair adalah asam organik seperti asam asetat dan asam propionat dan senyawa fenol dan turunannya. Senyawa-senyawa tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Hasil Penelitian Panagan dan Nirwan (2009) asap cair hasil pirolisis kayu pelawan dapat menghambat pertumbuhan *E. coli* dan bersifat antibakterisidal kuat.

Informasi mengenai aktivitas antibakteri dan kandungan kimia asap cair dari cangkang biji karet belum diketahui. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian mengenai aktivitas antibakteri asap cair cangkang biji karet terhadap *Bacillus* sp. dan *E. coli* serta analisis senyawa kimianya menggunakan GC-MS.

## **B. Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini yaitu:

1. Mengetahui aktivitas antibakteri asap cair cangkang biji karet terhadap *Bacillus* sp. dan *E. coli*.
2. Menentukan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) asap cangkang biji karet hasil destilasi terhadap *Bacillus* sp. dan *E. coli*.

3. Mengetahui komponen kimia penyusun asap cangkang biji karet hasil pemurnian.

### **C. Manfaat Penelitian**

Manfaat dari penelitian ini yaitu

1. Memberikan informasi mengenai aktivitas antimikroba asap cair cangkang biji karet terhadap *Bacillus* sp. dan *E. coli*.
2. Memberikan informasi mengenai KHM dan KBM asap cair cangkang biji karet terhadap *Bacillus* sp. dan *E. coli*.
3. Memberikan informasi mengenai senyawa penyusun asap cair cangkang biji karet.

### **D. Kerangka Pemikiran**

Cangkang biji karet mengandung selulosa dan lignin, apabila dipirolisis maka kedua komponen tersebut akan terdegradasi menjadi senyawa-senyawa baru yang tergabung dalam asap cair. Komponen Utama asap cair umumnya terdiri dari asam organik seperti asam asetat dan asam propionat, senyawa fenol dan turunannya serta senyawa keton (Sholichah, 2013), senyawa-senyawa tersebut bersifat antibakteri. Asam asetat mampu menembus dinding sel dan mampu menetralkan gradien pH transmembran. Senyawa fenol mengganggu permeabilitas membran sel, inaktivasi enzim-enzim esensial, dan merusak atau inaktivasi fungsional material genetik.

Respon bakteri terhadap senyawa antibakteri berbeda-beda hal ini dikarenakan komponen penyusun bakteri juga berbeda-beda. Bakteri Gram

positif umumnya mempunyai membran plasma tunggal yang dikelilingi dinding sel tebal berupa peptidoglikan. Sekitar 90 % dari dinding sel tersebut tersusun atas peptidoglikan sedangkan sisanya berupa molekul lain bernama asam teikoat. Bakteri Gram negatif memiliki sistem membran ganda, membran plasmanya diselimuti oleh membran luar permeabel. Bakteri ini mempunyai dinding sel berupa peptidoglikan yang terletak di antara membran dalam dan membran luar (Jawetz, 2001).

Bakteri Gram positif umumnya lebih tahan terhadap tekanan fisik dibandingkan Gram negatif karena Gram positif memiliki lapisan peptidoglikan yang lebih tebal dan kuat (Jawetz, 2001). Bakteri Gram negatif umumnya lebih tahan terhadap antibakteri dan desinfektan dibandingkan bakteri Gram positif yang tidak bersporadik karena bakteri Gram negatif memiliki lapisan lipopolisakarida pada membran selnya sehingga bisa menghalangi masuknya antibakteri dan ke dalam sel (McDonnell dan Russell, 2001). Penelitian ini digunakan 2 jenis bakteri yaitu *Bacillus* sp. dan *E. coli*. *Bacillus* sp. mewakili bakteri Gram positif sedangkan *E. coli* mewakili Gram negatif.

Penentuan aktivitas antibakteri asap cair biji karet menggunakan metode difusi agar sumuran. Antibakteri diinjeksikan pada sumuran media yang telah ditanami bakteri. Setelah dilakukan inkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya zona jernih disekitar sumuran. Zona jernih mengindikasikan adanya penghambatan bakteri oleh asap cair. Faktor-faktor yang mempengaruhi ukuran zona hambatan diantaranya yaitu kepadatan Inokulum, waktu pemberian antibakteri, suhu inkubasi, waktu inkubasi,

ukuran petri, potensi/persentase antibakteri dan sensitifitas bakteri (Saraswati, 2011).

Zona hambat hanya menunjukkan zona penghambatan tapi belum menunjukkan daya bunuh suatu antibakteri, oleh karena itu perlu dilakukan uji lanjut dengan penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) menggunakan metode dilusi cair.

Komponen kimia asap cair dipengaruhi oleh bahan baku yang digunakan. Analisis komponen kimia asap cair cangkang biji karet menggunakan alat *Gas Chromatography - Mass Spectroscopy* (GC-MS). Metode analisa menggunakan GC - MS dapat mengukur jenis dan kandungan senyawa dalam suatu sampel baik secara kualitatif dan kuantitatif. Instrumen ini merupakan perpaduan dari dua buah instrumen, yaitu Kromatografi Gas yang berfungsi untuk memisahkan senyawa menjadi senyawa tunggal dan Spektroskopi Massa yang berfungsi mendeteksi jenis senyawa berdasarkan pola fragmentasinya.

## E. Hipotesis

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini yaitu:

1. Asap cair cangkang biji karet memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Bacillus* sp. dan *E. coli* .
2. Asap cair cangkang biji karet memiliki Konsentrasi Hambat Minimum (KBM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) terhadap *Bacillus* sp. dan *E. coli*.
3. Asap cair cangkang biji karet mengandung senyawa kimia yang bersifat anti bakteri.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

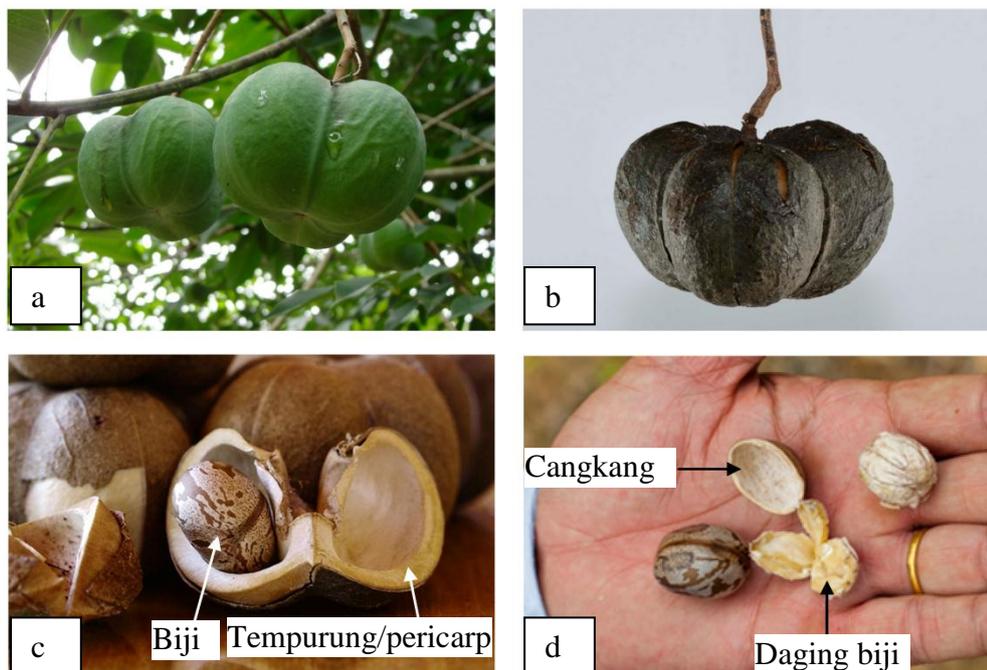
### A. Tumbuhan Karet

Tanaman Karet (*Hevea brasiliensis* Willd ex A. de Juss.. Mull. Arg.), termasuk dalam genus *Hevea* dari famili Euphorbiaceae, yang merupakan pohon kayu tropis yang berasal dari hutan Amazon, Brazil. Di dunia, setidaknya 2.500 spesies tanaman diakui dapat memproduksi lateks, tetapi *H. brasiliensis* saat ini merupakan satu-satunya sumber komersial produksi karet alam dikarenakan memiliki kualitas fisik dan kuantitas lateks yang bagus (Cornish, 2001). Pohon karet merupakan tanaman industri yang penting untuk produksi karet alam. Karet alam memiliki ketahanan sobek dibandingkan dengan karet sintetis (De Fay & Jacob, 2010). *H. brasiliensis* dibudidayakan secara intensif di Indonesia.

Klasifikasi tanaman karet adalah sebagai berikut:

Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Bangsa	: Euphorbiales
Suku	: Euphorbiaceae
Marga	: <i>Hevea</i>
Jenis	: <i>Hevea brasiliensis</i> (NRCS-USDA, 2017).

Cangkang biji karet merupakan bagian pembungkus biji karet luar setelah cangkang buah. Cangkang biji karet ini sangat keras seperti tempurung kelapa. Cangkang biji karet yang keras banyak mengandung zat pembentuk kayu-kayuan berupa serat alami. Menurut Hermanto dan Salman (2014), persentase komposisi pada berbagai serat alami berbeda-beda. Umumnya serat mengandung 60-80% selulosa, 5-20% lignin dan sisanya adalah kadar air hingga 20%.



Gambar 1. Morfologi Buah Karet

Keterangan: (a) buah muda, (b) buah matang, (c) biji dalam Tempurung/pericarp terbuka dan (d) kernel dan cangkang biji karet (Shak dkk., 2015)

## B. Pirolisis dan Destilasi

Pirolisis adalah proses pemanasan suatu zat dengan oksigen terbatas sehingga terjadi penguraian komponen-komponen penyusun kayu keras. Pada proses pirolisis energi panas mendorong terjadinya oksidasi sehingga

molekul karbon yang kompleks terurai sebagian besar menjadi karbon atau arang. Istilah lain dari pirolisis adalah *destructive distillation* atau destilasi kering, yaitu suatu proses yang tidak teratur dari bahan-bahan organik disebabkan oleh pemanasan yang tidak berhubungan dengan udara luar (Yaman, 2004).

Proses pirolisis terjadi beberapa macam reaksi yaitu dekomposisi, oksidasi, polimerisasi, dan kondensasi. Penghilangan air dari kayu terjadi pada suhu 120-150 °C, pirolisis hemiselulosa pada suhu 200-250 °C, pirolisis selulosa pada suhu 280-320 °C dan pirolisis lignin pada suhu 400 °C. Pirolisis pada suhu 400 °C menghasilkan senyawa yang mempunyai kualitas organoleptik yang tinggi. Penggunaan pada suhu yang lebih tinggi lagi menyebabkan terbentuknya senyawa tar dan Polisiklis Aromatis Hidrokarbon (PAH) (Girard, 1992).

Degradasi selulosa dan hemiselulosa adalah sumber utama senyawa karbonil dan asam karboksilat, sedangkan fenol diperoleh dari pirolisa lignin. Selain kelas fungsional ini, ada produk lain seperti alkohol, lakton, dan hidrokarbon (Ramakrishnan dan patrick, 2002). Dekomposisi masing-masing komponen berbeda karena perbedaan struktur kimia masing-masing komponen dalam bahan organik (Ardilla dkk., 2015).

Destilasi merupakan proses pemisahan berdasarkan perbedaan titik didih dari komponen-komponen yang akan dipisahkan (Guillen dkk., 2000). Destilasi asap cair dilakukan untuk menghilangkan senyawa-senyawa yang tidak diinginkan dan berbahaya seperti PAH dan tar, dengan cara pengaturan suhu

didih sehingga diharapkan didapat asap cair yang jernih serta bebas tar dan benzopiren (Anggraini and Susy, 2013).

### C. Asap Cair

Asap cair adalah cairan yang berasal dari pengembunan asap dari proses pembakaran (Anggraini and Susy, 2013). Asap diproduksi dengan cara pembakaran yang tidak sempurna yang melibatkan reaksi dekomposisi konstituen polimer menjadi senyawa organik dengan berat molekul rendah karena pengaruh panas yang meliputi reaksi oksidasi, polimerisasi, dan kondensasi. Komposisi dan sifat organoleptik asap cair sangat bergantung pada sifat kayu, suhu pirolisis, jumlah oksigen, kelembaban kayu, ukuran partikel kayu dan alat pembuatn asap cair (Girrard, 1992).

Ariyani dkk. (2015) menganalisis kandungan senyawa kimia asap cair dari sekam padi, senyawa yang berhasil dianalisis terdiri dari 7 macam yaitu sebagai berikut:

1. Asam organik dan turunannya : Asam Asetat, Asam Propanoat, Asam 2-metil-propanoat
2. Fenol: p-Guaiakol
3. Keton: Aseton, 1-hidroksi-2-propanon, 1-hidroksi-2-butanon, 2-butanon, 3,3-dimetil-2-butanon
4. Alkohol: 2-propen-1-ol, Tetrahidro-2-furanmetanol, Etilen glikol
5. Ester: Alil butanoat
6. Eter: Trans-2,3-dimetil-Oksiran dan 2,3-dihidro-1,4-Dioksin
7. Aldehid: 3-furaldehid dan Citronella

Senyawa yang sangat berperan sebagai antimikrobia dalam asap cair adalah senyawa fenol dan asam asetat, sifat antimikroba akan meningkat jika ada asam organik bersama dengan senyawa fenol (Anggraini and Susy, 2013). Selain dua senyawa tersebut, senyawa aldehid, aseton dan keton juga memiliki daya bakteristatik dan bakterisidal pada produk asap.

#### **D. Antibakteri**

Antibakteri adalah zat yang dapat membunuh atau menekan pertumbuhan bakteri. Mekanisme kerja antibakteri dapat dibagi menjadi lima cara (Liwa dan Hyasinta, 2015), yaitu:

- a. Penghambat sintesis dinding sel. Antibakteri dapat menghambat sintesis dinding sel dengan cara mengganggu pembentukan peptidoglikan pada dinding sel bakteri dengan begitu akan terjadi kerusakan sel akibat tidak adanya lapisan pelindung. Kerja antibakteri ini dapat dilihat pada penisilin dan sefalosporin.
- b. Perusak membran sel. Antibakteri merusak membran sel dengan cara mengganggu permeabilitasnya. Jika permeabilitas membran rusak maka transport nutrisi dari/menjadi sel terganggu dengan begitu pertumbuhan sel akan terhambat. Contoh dari antibakteri ini dapat dilihat pada polimiksin dan tirosidin.
- c. Penghambat sintesis protein. Antibakteri ini bekerja untuk mencegah pembentukan polipeptida dengan cara menghambat pembentukan molekul sederhananya berupa peptida, contohnya aminoglikosida dan tetrasiklin.

- d. Penghambat sintesis asam nukleat. Dengan cara merusak enzim-enzim penyintesis asam nukleat dengan menjadi Inhibitor DNA topoisomerase dan Inhibitor sintesis RNA mikroba.
- e. Antimetabolit. Menghambat reaksi metabolisme sel bakteri dengan menghasilkan inhibitory enzyme competition.

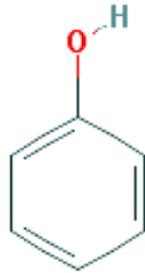
Anggraini and Susy (2013), mengemukakan bahwa dua senyawa utama dalam asap cair yang diketahui mempunyai efek bakterisidal/bakteriostatik adalah fenol dan asam asetat. Selain itu Milly dkk. (2008) mengemukakan senyawa aldehid juga memiliki kemampuan antiakteri sehingga berpengaruh terhadap masa simpan produk pengasapan.

#### 1. Fenol

Bentuk murni Senyawa fenol ( $C_6H_5OH$ ) adalah kristal halus, tidak berwarna atau merah muda pucat atau kuning pucat dan berwarna gelap dengan penyimpanan, berbau spesifik. Fenol Sangat larut dalam alkohol, kloroform, eter, gliserol, air dan parafin cair. Fenol lebih aktif dalam larutan asam. (Rappoport, 2003).

Golongan fenol mampu merusak membran sel, menginaktifkan enzim dan mendenaturasi protein sehingga dinding sel mengalami kerusakan karena penurunan permeabilitas. Perubahan permeabilitas membran sitoplasma memungkinkan terganggunya transportasi ion-ion organik yang penting ke dalam sel sehingga berakibat terhambatnya pertumbuhan bahkan hingga kematian sel (Damayanti dan Suparjana, 2007). Dalam konsentrasi tinggi, kandungan fenol menembus dan mengganggu dinding sel bakteri dan

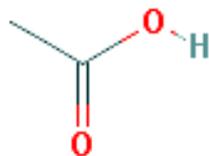
mempresipitasi protein dalam sel bakteri. Dalam konsentrasi yang lebih rendah, fenol menginaktifkan sistem enzim penting dalam sel bakteri (Oliver dkk., 2001).



Gambar 2. Rumus Struktur Fenol

## 2. Asam Asetat

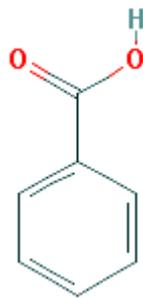
Asam asetat ( $C_2H_4O_2$ ) merupakan cairan jernih tidak berwarna, dengan bau menyengat dan rasa asam yang tajam. Dalam larutan, asam asetat terionisasi lemah. Asam asetat merupakan pelarut yang baik untuk senyawa organik, dapat bercampur dengan air, alkohol, glyserol dan lemak. Tidak bereaksi dengan karbonat dan fosfat, titik didih  $39^\circ C$ , titik cair  $-8,5^\circ C$ . Asam asetat bersifat mampu menembus dinding sel dan secara efisien mampu menetralsir gradien pH transmembran (Harmsen dkk., 2010).



Gambar 3. Rumus Struktur Asam Asetat

### E. Antibakteri Pemandang (Asam Benzoat)

Asam benzoat/asam benzene karboksilat/asam phenil karboksilat ( $C_7H_6O_2$  atau  $C_6H_5COOH$ ) merupakan suatu senyawa kimia yang umum digunakan sebagai bahan pengawet yang dianggap aman oleh FDA. Secara kimia asam benzoat dapat dihasilkan melalui oksidasi fase cair dari toluena. Asam benzoat memiliki bentuk serbuk kristal padat, tidak berwarna, tidak berbau, sedikit terlarut di dalam air, tetapi larut dalam etanol dan sangat mudah larut dalam benzena dan aseton (Hendra dkk., 2014).



Gambar 4. Rumus Struktur Asam Benzoat

Dalam bahan pangan benzoat terurai menjadi bentuk yang efektif yaitu bentuk asam benzoat yang tidak terdisosiasi, namun, memiliki efek racun pada pemakaian berlebih terhadap konsumen (Siaka, 2009). Batas Maksimum asam benzoat pada setiap kategori makanan berbeda-beda, antara 250 mg/kg hingga 1000 mg/kg tergantung kategori makanan yang diawetkan (Cahyadi, 2009).

Menurut Pujihastuti (2007), mekanisme kerja antibakteri senyawa benzoat dan garamnya berdasarkan permeabilitas dari membran sel mikroba terhadap molekul asam yang tidak terdisosiasi. Isi sel mikroba mempunyai pH yang

selalu netral. Bila sel mikroba menjadi asam/basa maka akan terjadi gangguan pada organ-organ sel sehingga metabolisme terhambat dan akhirnya sebagian sel mati.

## F. Bakteri Uji

### 1. *Bacillus* sp.

Genus *Bacillus* merupakan kelompok bakteri berbentuk batang, tergolong bakteri Gram positif, motil, bersifat aerob (beberapa spesies bersifat anaerob fakultatif), katalase positif, dan oksidasi bervariasi. Tiap spesies berbeda dalam penggunaan gula, sebagian melakukan fermentasi dan sebagian tidak. *Bacillus* menghasilkan spora yang tahan terhadap panas, radiasi, desinfektan, dan kondisi lingkungan kering. Sebagian besar spesies tidak memiliki potensi patogenik dan jarang dikaitkan dengan penyakit pada manusia atau hewan lainnya, kecuali *Bacillus anthracis* menyebabkan penyakit antraks, Beberapa spesies lainnya dapat menyebabkan keracunan makanan dan Infeksi, dan strain *Bacillus thuringiensis* bersifat patogen pada Invertebrata (Maughan dan Geraldine, 2011).

Klasifikasi *Bacillus* sp menurut de Vos dkk. (2009) pada buku Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, adalah sebagai berikut:

Filum : Firmicutes

Kelas : Bacilli

Bangsa : Bacillales

Suku : Bacillaceae  
Marga : *Bacillus*  
Jenis : *Bacillus* sp.

## 2. *Escherichia coli*

Simatupang (2006), menjelaskan bahwa *Escherichia coli* merupakan bakteri famili *Enterobacteriaceae* yang merupakan bagian dari flora normal, dengan morfologi mikroskopis yakni, Gram negatif, bentuk batang pendek, susunan tidak teratur, tidak berspora, sebagian besar dapat bergerak (flagel peritrik). Morfologi makroskopis pada medium padat yakni berbentuk bulat dengan ukuran kecil hingga sedang, permukaan konveks dan halus serta pinggiran yang rata.

Klasifikasi *E. coli* menurut Brenner dkk. (2005) pada buku Bergey's Manual of Systematic Bacteriology adalah sebagai berikut:

Filum : Proteobacteria  
Kelas : Gamma Proteobacteria  
Bangsa : Enterobacteriales  
Suku : Enterobacteriaceae  
Marga : *Escherichia*  
Jenis : *Escherichia coli*.

*E. coli* termasuk bakteri mesofilik dengan suhu optimum sekitar 37 °C.

*E. coli* dapat dibedakan dengan Enterobacteriaceae lainnya berdasarkan uji gula-gula dan uji biokimia. Secara sederhana uji-uji untuk grup penting ini disebut dengan *indole*, *methyl red*, *Voges-Proskauer*, *citrate* atau disingkat

IMViC (Adams dan Moss 2008). Pelczar dan Chan (2007), menambahkan bahwa bakteri ini termasuk ke dalam bakteri anaerobik fakultatif, yang artinya bakteri ini secara terbatas dapat hidup dalam keadaan aerobik ataupun anaerobik serta dapat bertahan hidup hingga suhu 60 °C selama 15 menit atau pada 55 °C selama 60 menit.

## **G. Metode Uji Antibakteri**

### **1. Metode Difusi.**

Metode difusi difusi (Harmita dan Maksun, 2008) adalah metode yang sering digunakan untuk melihat aktifitas antimikroba. Metode ini terdiri dari tiga macam yaitu metode silinder, metode sumuran dan metode cakram. Area jernih yang terbentuk mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba permukaan media agar

#### **a. Difusi Silinder**

Metode ini menggunakan silinder yang terbuat dari gelas atau besi tahan karat yang diletakkan diatas media yang telah di inokulasikan dengan bakteri. Tiap silinder diisi dengan larutan uji kemudian diinkubasi. setelah itu pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada atau tidaknya daerah hambat disekeliling silinder.

b. Difusi Sumuran

Metode ini diawali dengan membuat sumuran pada agar padat yang sudah diinokulasikan dengan bakteri. Letak sumuran disesuaikan. kemudian sumuran diisi dengan larutan uji setelah itu diinkubasi. Pertumbuhan bakteri dilihat dari ada atau tidaknya zona hambat disekeliling sumuran.

c. Difusi Cakram

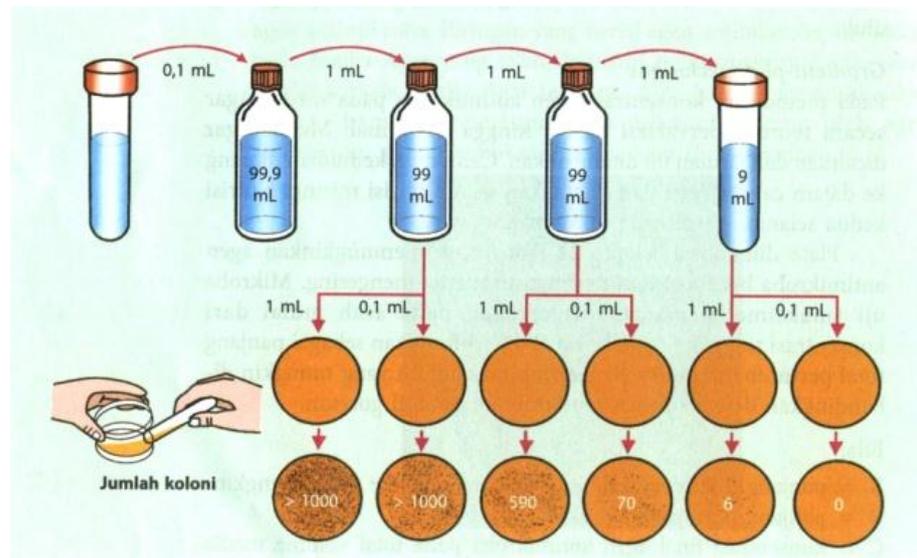
Metode ini menggunakan cakram yang terbuat dari kertas saring. Cakram yang telah mengandung zat antimikroba di letakkan pada permukaan media agar yang sudah diinokulasikan dengan bakteri, letak cakram disesuaikan. setelah itu di inkubasi. Pertumbuhan bakteri dilihat dari ada atau tidaknya zona hambat disekeliling sumuran.

## 2. Metode Dilusi

a. Dilusi Cair

Metode dilusi atau metode pengenceran (Harmita dan Maksum, 2008) yaitu metode mengukur Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM), caranya dengan membuat seri pengenceran zat antibakteri pada medium cair kemudian ditambahkan dengan bakteri uji. Media kultur yang berisi Larutan uji agen antimikroba pada kadar terkecil yang terlihat jernih

tanpa adanya pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai KHM. Selanjutnya dikultur ulang pada media padat tanpa penambahan mikroba uji ataupun agen antimikroba lagi, dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media padat yang tidak ditumbuhi koloni bakteri ditetapkan sebagai KBM.



Gambar 5. Metode Dilusi Cair

b. Dilusi Padat

Metode ini serupa dengan metode dilusi cair namun menggunakan media padat (solid). Keuntungan metode ini adalah satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji.

Faktor-faktor yang mempengaruhi ukuran zona penghambatan (Saraswati, 2011) yaitu sebagai berikut:

1. Kepadatan inokulum. Inokulum yang terlalu sedikit, maka zona hambat akan menjadi besar meskipun kepekaan organisme tidak berubah. Maka secara relatif bakteri yang resisten mungkin dapat dilaporkan sebagai peka.
2. Waktu pemberian antibakteri. Jika cawan petri setelah disemai dengan bakteri yang akan diuji dibiarkan pada suhu kamar setelah kurun waktu yang lebih lama dari standarnya maka perkembangbiakan inokulum akan terjadi sebelum antibakteri diberikan. Hal ini menyebabkan turunnya diameter zona dan dapat mengakibatkan bakteri yang peka dilaporkan sebagai resisten.
3. Suhu inkubasi. Aktivitas antiakteri biasanya diinkubasi pada suhu 35-37 °C untuk pertumbuhan yang optimal. Jika suhunya dinaikkan maka waktu yang diperlukan untuk pertumbuhan yang efektif menjadi lebih panjang dan akan terbentuk zona yang lebih besar.
4. Waktu inkubasi. Kebanyakan teknik biasa memakai waktu inkubasi antara 16-18 jam.
5. Ukuran petri. Memberi jarak yang benar pada cawan sangat penting untuk mencegah zona hambat tidak tumpang tindih.
6. Potensi antibakteri. Semakin banyak konsentrasi antibakteri yang digunakan maka zona hambat yang terbentuk akan semakin besar.
7. Sensifitas bakteri terhadap antibakteri. Perbedaan sensifitas bakteri disebabkan oleh perbedaan komponen penyusun bakteri.

## H. *Gas Chromatography dan Mass Spectrometry (GC-MS)*

GC-MS terdiri dari dua bagian yaitu *gas chromatography* (GC) dan *mass spectrometry* (MS) yang masing-masing mempunyai fungsi berbeda. GC berfungsi untuk memisahkan senyawa-senyawa dalam sampel. Pemisahan terjadi pada bagian kolom. Prinsip pemisahan berdasarkan perbedaan tingkat volatilitas dari senyawa dan juga berdasarkan interaksi dengan fase diam (*stationary phase*). Pada kolom diberlakukan gradien suhu dan *holding* untuk mengoptimalkan proses pemisahan senyawa tersebut (Hermanto, 2008).

Senyawa-senyawa yang sudah terpisah pada kolom GC, akan memasuki MS. MS terdiri dari tiga bagian yaitu sumber ion, *mass analyzer* dan detektor. Senyawa yang masuk ke MS akan mengalami ionisasi dan fragmentasi menjadi ion-ion fragmen. Ionisasi terjadi karena adanya elektron yang berasal dari sumber ion (Hermato 2008).

Mekanismenya ionisasi dapat bermacam-macam, misalnya pengurangan atau penambahan elektron, protonasi atau deprotonasi, penambahan atau pengurangan nukleofil, penambahan atau pengurangan elektrofil dan pembentukan gugus fungsional. Mekanisme-mekanisme tersebut menyebabkan pembentukan ion (Stashenko dan Jairo, 2014).

### **III. METODE PENELITIAN**

#### **A. Waktu dan Tempat**

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung dan Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi Universitas Lampung, Bandar Lampung, Lampung pada bulan Februari – April tahun 2017.

#### **B. Alat dan Bahan**

##### **1. Alat**

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu kondensator asap cair sederhana (tanpa merk) untuk produksi asap cair, *Gas Chromatography - Mass Spectrofotomeer* (GC-MS) untuk analisis kandungan asap cair, alat destilasi untuk pemurnian asap cair, *shaker incubator*, peralatan gelas, autoklaf, tabung reaksi, labu ukur, oven, *vortex*, *laminar air flow*, jarum ose, cawan petri, mikropipet, bunsen, timbangan analitik, oven, gelas beaker, kertas saring, kertas cakram, spatula, kain kasa, kapas dan alat-alat standar lainnya yang digunakan di laboratorium.

## 2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu, cangkang biji karet 1 kg sebagai bahan dasar asap cair yang sudah dikecilkan ukurannya diperoleh dari salahsatu perkebunan di Kabupaten Way Kanan. Bakteri uji yang digunakan yaitu bakteri *Bacillus* sp. dan *E. coli*. *Bacillus* sp. Diisolasi dari tanah dan *E. coli* dari WC. Antibakteri pembanding yang digunakan adalah Asam benzoat. Media yang digunakan yaitu *Nutrien Agar* (NA) dan *Natrium Broth* (NB). Bahan kimia yang digunakan yaitu Aquades, alkohol, dan NaCl 0,9 %.

### C. Rancangan Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan *post test only control group design*. Sampel pada penelitian eksperimental ini adalah asap cair cangkang biji karet yang sudah dimurnikan sedangkan bakteri uji yang digunakan adalah *Bacillus* sp. dan *E. coli*. Penelitian terdiri dari 3 tahap, yaitu uji aktivitas anti bakteri asap cair cangkang biji karet, penentuan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) asap cair cangkang biji karet dan uji komponen kimia asap cair cangkang biji karet menggunakan GC-MS.

Uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi agar sumuran, kelompok perlakuan dengan konsentrasi asap cair 100%, 10%, dan 2%, dan dua kelompok kontrol yaitu kontrol positif menggunakan asam benzoat 1000 ppm dan kontrol negatif menggunakan aquades. Aktivitas antibakteri ditentukan

dengan melihat ada atau tidaknya zona hambat yang terbentuk di sekitar sumuran. Pengujian ini dilakukan 7 kali ulangan.

Pengujian aktivitas antibakteri digunakan bakteri *Bacillus* dan *E. coli*, *Bacillus* adalah bakteri Gram positif sedangkan *E. coli* adalah bakteri Gram negatif. Penggunaan dua bakteri ini mewakili masing-masing Gram untuk mengetahui spektrum antibakteri asap cair dari cangkang biji karet.

Dikatakan spektrum luas apabila dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan Gram negatif, sedangkan spektrum sempit apabila hanya menghambat pertumbuhan dari salah satu jenis bakteri tersebut.

Penentuan nilai KHM dan KBM menggunakan metode dilusi cair. Kelompok perlakuan terdiri dari 5 konsentrasi asap cair berbeda sedangkan kelompok kontrol terdiri dari kontrol positif, kontrol negatif dan kontrol media.

Penentuan KHM dilakukan dengan cara melihat kejernihan secara visual dan penentuan KBM dilakukan dengan cara melihat ada atau tidaknya koloni yang tumbuh setelah kultur bakteri pada dilusi cair digoreskan pada media padat dan di inkubasi selama 24 jam.

Uji kandungan asap cair cangkang biji karet menggunakan GC MS untuk melihat komponen kimia seperti fenol dan asam asetat pada asap cair cangkang biji karet yang sudah dimurnikan.

## D. Prosedur Kerja

### 1. Produksi Asap Cair

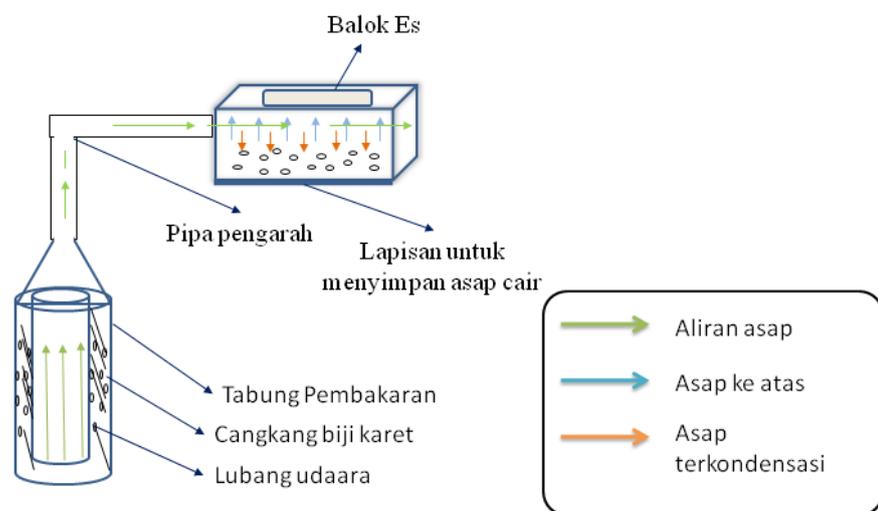
Berikut tahapan-tahapan dalam memproduksi asap cair:

#### a. Persiapan bahan baku

Bahan baku cangkang biji karet didapatkan dari salahsatu perkebunan karet di Kabupaten Way Kanan. Biji karet yang masih utuh di pecah dan dipisahkan bagian isi dan cangkangnya. kemudian cangkang-cangkang dibersihkan setelah itu ditimbang sebanyak 2 kg.

#### b. Pembuatan asap cair cangkang biji karet

Pembuatan asap cair cangkang biji karet menggunakan alat produksi asap cair sederhana yang dibuat sendiri (tanpa merk). Alat ini terdiri dari tabung pembakaran, corong asap, dan kotak kondensator.



Gambar 6. Skema Alat Produksi Asap Cair Sederhana

Cangkang biji karet sebanyak 2 kg dimasukkan ke dalam tabung pembakaran hingga penuh. Pembuatan bara api dilakukan dengan menyulutkan api pada cangkang biji karet di bagian bawah tabung pembakaran. Setelah terbentuk bara api dan keluar asap dalam jumlah yang banyak, tabung pembakaran ditutup menggunakan corong penangkap asap untuk disalurkan ke wadah penampung asap. Plastisin direkatkan pada bagian yang menghubungkan pipa penyalur asap dengan wadah penampungan serta bagian-bagian yang memungkinkan asap keluar dari ruang kondensator. Balok es diletakkan di atas penampung asap, sehingga terbentuklah ruang kondensator asap. Setelah proses kondensasi selesai, bagian penutup kondensator dibuka. Asap cair yang terbentuk dimasukkan ke dalam botol penampung asap cair dengan menggunakan sendok dan corong kemudian diukur pHnya menggunakan pH meter dan dihitung rendemennya dengan rumus berikut.

$$\text{Persen Rendeman (\%)} = \frac{\text{Asap cair yang dihasilkan}}{\text{Asap baha yang dipirolisis}} \times 100\%$$

c. Pemurnian Asap Cair Cangkang Biji Karet



Gambar 7. Alat *Rotatory Evaporator*

Asap cair dimurnikan dengan cara destilasi vakum menggunakan alat *rotatory evaporator*. Asap cair dimasukkan ke labu destilasi kemudian dipanaskan di atas water bath. Hasil proses pemurnian didapat dua fraksi yaitu fraksi suhu  $<65\text{ }^{\circ}\text{C}$  dan fraksi suhu  $>65\text{ }^{\circ}\text{C}$ , asap cair masing-masing fraksi ditampung dalam erlenmeyer yang berbeda.

Fraksi yang digunakan dalam pengujian antibakteri adalah fraksi  $>65\text{ }^{\circ}\text{C}$ , fraksi ini kandungan air lebih sedikit dibandingkan fraksi  $<65\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Dasar pemilihan Fraksi suhu destilasi dipilih untuk menghilangkan kandungan air pada asap cair (Luditama, 2006).

## 2. Pembuatan Media Bakteri

Media yang digunakan pada penelitian ini yaitu media *Nutrient Broth* (NB) dan *Nutrient Agar* (NA). NA digunakan untuk peremajaan bakteri, uji aktivitas antimikroba dan penentuan nilai KBM sedangkan NB digunakan untuk menentukan nilai KHM. Prosedur pembuatan media adalah sebagai berikut:

### a. Medium *Nutrient Broth* (NB)

NB ditimbang sebanyak 2,3 Gram kemudian dilarutkan dalam 1 liter aquades, diaduk menggunakan *Hot Plate Magnetik Stirer* tanpa pemanas hingga homogen. Setelah itu disterilisasi dengan autoklaf pada suhu  $121\text{ }^{\circ}$

°C selama 15 menit. Media dapat disimpan dalam lemari pendingin apabila belum digunakan.

b. Medium *Nutrient Agar* (NA)

NA ditimbang sebanyak 8 Gram kemudian dilarutkan dalam 1 liter aquades, diaduk dan dipanaskan menggunakan *Hot Plate Magnetik Stirrer*. Setelah itu disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit. Media dapat disimpan dalam lemari pendingin apabila belum digunakan.

**3. Peremajaan Bakteri Uji dan Pembuatan Suspensi Bakteri.**

Peremajaan bakteri dilakukan pada media NA miring dengan cara menggoreskan satu ose biakan bakteri dari stok ke media NA miring yang baru kemudian diinkubasi dalam suasana aerob pada suhu 37 °C selama 24 jam.

Isolat murni yang didapat kemudian dibuat suspensi bakteri. Pembuatan suspensi bakteri dilakukan dengan cara diambil sebanyak 1 - 2 ose biakan murni bakteri uji kemudian disuspensikan dalam larutan NaCl 0,9 % pada tabung reaksi steril kemudian dihomogenkan. Kekeruhan bakteri ditentukan hingga diperoleh kekeruhan sesuai larutan Mc Farland 0,5 (Victor, 1980) sebanding dengan  $10^8$  CFU/ml.

#### **4. Uji Aktivitas Antibakteri Asap Cair Cangkang Biji Karet**

Asap cair hasil destilasi pada suhu  $>65^{\circ}\text{C}$  dilarutkan kedalam aquades steril sesuai konsentrasi yang dibutuhkan yaitu pengenceran 100 %, 10 % dan 2 % (Anisah, 2014).

Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi agar dengan sumuran. Metode ini diawali dengan bakteri uji diinokulasikan pada media NA steril dengan cara *pour plate*. Setelah memadat dibuat sumuran-sumuran dengan diameter 9,6 mm menggunakan mikrotip 1 ml. Kemudian sumuran diisi dengan larutan uji yaitu asap cair konsentrasi 100 %, 10 %, dan 2 %, kontrol Positif digunakan Asam Aseat 1000 ppm dan kontrol negatif digunakan aquades steril. Setelah itu diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam.

Aktivitas antibakteri ditentukan dengan mengukur diameter zona hambat pertumbuhan bakteri disekeliling sumuran. Pengujian ini dilakukan sebanyak 7 kali ulangan. Selanjutnya dipilih kosentrasi asap cair terendah yang mampu menghambat bakteri kemudian dijadikan sebagai acuan penggunaan konsentrasi yang akan digunakan dalam penentuan nilai KHM dan KBM.

#### **5. Penentuan nilai KHM dan KBM Asap Cair Cangkang Biji Karet**

Penentuan nilai KHM dan KBM menggunakan metode dilusi cair (Wardani dkk., 2012) dengan ketentuan 5 tabung sebagai perlakuan, 1

tabung sebagai kontrol positif, 1 tabung sebagai kontrol negatif, dan 1 tabung sebagai kontrol media.

a. Perlakuan uji

Tabung perlakuan (5 tabung) diisi medium NB sebanyak 5 ml.

Tabung 1 ditambahkan 5 ml asap cair dari fraksi  $>65^{\circ}\text{C}$  dengan konsentrasi 4 % kemudian dihomogenkan menggunakan *vortex*.

Campuran asap cair dan media pada tabung 1 diambil 5 ml dipindahkan dalam tabung kedua kemudian dihomogenkan.

Campuran pada tabung 2 diambil 5 ml dipindahkan dalam tabung 3 kemudian dihomogenkan. Campuran pada tabung 3 diambil 5 ml dipindahkan dalam tabung 4 kemudian dihomogenkan. Campuran pada tabung 4 diambil 5 ml dipindahkan dalam tabung 5 kemudian dihomogenkan. Campuran pada tabung 5 diambil 5 ml dan dibuang.

Masing-masing tabung (tabung 1 - 5) diambil larutannya 0,1 ml kemudian dibuang setelah itu ditambahkan 0,1 ml suspensi bakteri  $1 \times 10^8$  CFU/ml sehingga volume total masing-masing tabung adalah 5 ml.

b. Kontrol negatif

Tabung 6 diisi NB sebanyak 4,9 ml kemudian ditambahkan 0,1 ml suspensi bakteri  $10^8$  CFU/ml, setelah itu dihomogenkan (wardani dkk., 2012).

c. Kontrol positif

Tabung 7 diisi sebanyak 5 ml NB kemudian ditambahkan 5 ml larutan stok asam bezoat 2000 ppm dan dihomogenkan. 0,1 ml dari larutan stok tersebut di buang kemudian ditambahkan 0,1 ml suspensi bakteri  $10^8$  CFU/ml dan dihomogenkan kembali. Konsentrasi akhir asam bezoat menjadi 1000 ppm (wardani dkk., 2012).

d. Kontrol media

Tabung 8 merupakan kontrol media berisi media NB sebanyak 1 ml.

Selanjutnya semua tabung (tabung 1-8) diinkubasi pada waterbath shaker pada suhu  $40^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam. Kemudian diamati ada atau tidaknya kekeruhan pada media kultur dan dibandingkan dengan kontrol.

Konsentrasi terkecil pertama yang menunjukkan kejernihan ditetapkan sebagai nilai KHM asap cair cangkang biji karet terhadap masing-masing bakteri uji. Pengujian ini dilakukan sebanyak 3 ulangan.

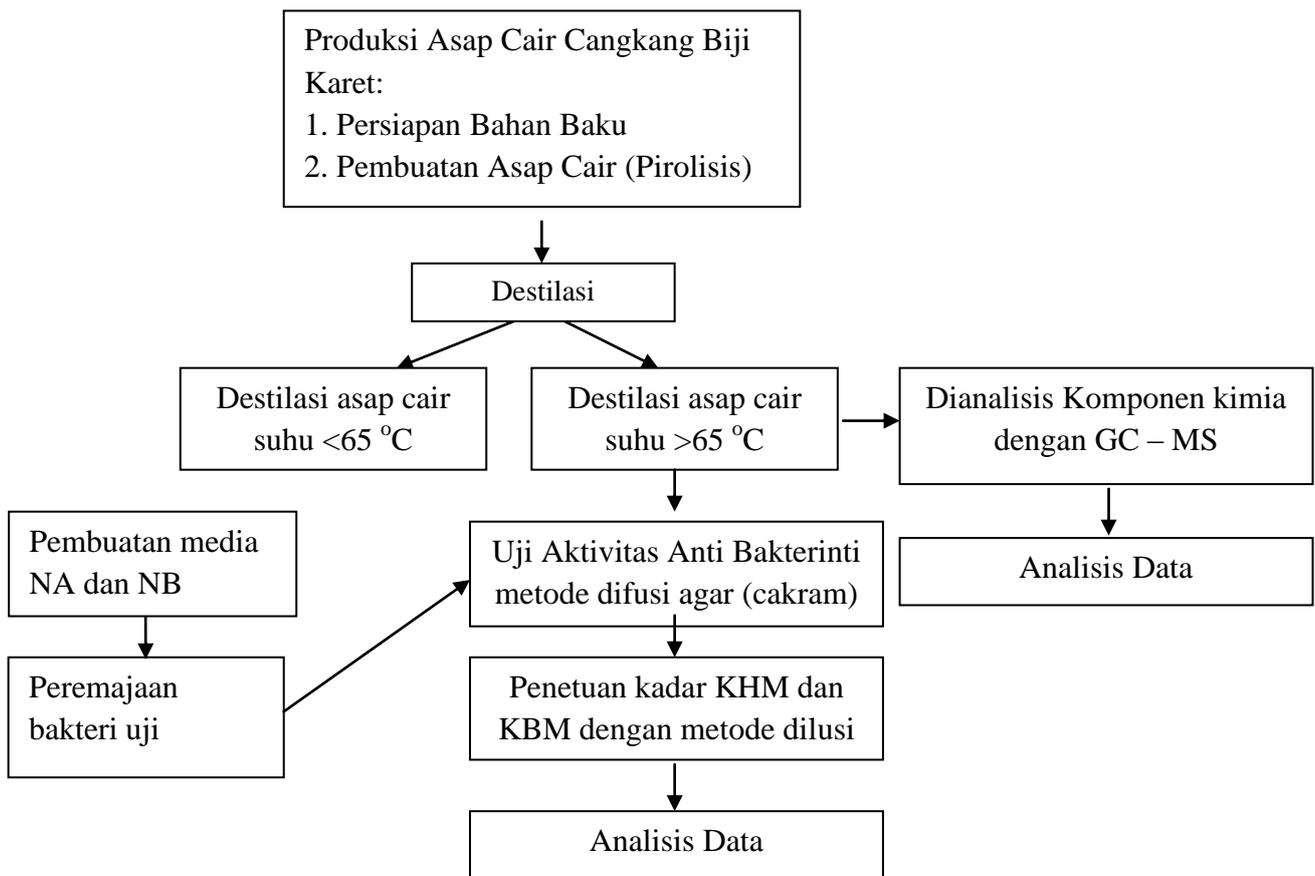
Penentuan KBM dilakukan dengan cara media kultur pada masing-masing tabung digoreskan pada media NA. Inkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam selanjutnya dilihat ada atau tidaknya koloni bakteri yang tumbuh dan bandingkan dengan kontrol. Untuk lebih jelasnya cara kerja penentuan KHM dan KBM dapat dilihat pada Lampiran 4 dan 5.

## **6. Analisis Kimia Kandungan Asap Cair Cangkang Biji Karet Menggunakan GC-MS**

Asap cair yang dianalisis kimia merupakan asap cair yang sudah dimurnikan pada suhu  $>65\text{ }^{\circ}\text{C}$ . 50  $\mu\text{L}$  asap cair dalam tabung reaksi ditambahkan 1 ml etanol lalu dikocok. Diamkan selama 1 jam. Hasil siap diinjek. GC-MS dioptimalkan pada suhu  $50\text{ }^{\circ}\text{C}$  dipertahankan selama 3 menit, suhu kemudian ditingkatkan menjadi  $280\text{ }^{\circ}\text{C}$  dengan kenaikan  $10\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{menit}$  dan dipertahankan selama 5 menit. Suhu pada sumber ion disetel pada  $250\text{ }^{\circ}\text{C}$  sedangkan suhu injektor disetel pada  $230\text{ }^{\circ}\text{C}$  (Anisah, 2014).

### **E. Analisis Data**

Data yang didapat adalah data kualitatif yaitu dengan melihat ada atau tidaknya suatu komponen dalam sampel dan disajikan dalam bentuk gambar. Selanjutnya data dianalisis secara deskriptif.



Gambar 8. Diagram Alir Penelitian

## V. SIMPULAN DAN SARAN

### A. Simpulan

1. Asap cair cangkang biji karet memiliki aktifitas antibakteri terhadap *Bacillus* sp. dan *E. coli*. *E. coli*. lebih peka terhadap antibakteri asap cair cangkang biji karet dibandingkan *Bacillus* sp.
2. KHM Asap cair cangkang biji karet terhadap *Bacillus* sp. dan *E. coli* adalah 1 % . Konsentrasi asap 2 % belum membunuh bakteri uji.
3. Komponen kimia Asap cair cangkang biji karet menggunakan GC-MS terdeteksi terdiri dari 20 macam senyawa kimia. Senyawa yang paling mendominasi adalah asam asetat, phenol, 2-methoxy, phenol,2-methoxy-4-methyl, dan 2-furancarboxaldehyde dengan persentase masing-masing secara berturut-turut yaitu 45,382 %, 14,382 %, 11,242 %, dan 7,972 %.

### B. Saran

Adapun saran dari penelitian ini yaitu

1. Asap cair cangkang biji karet dapat digunakan sebagai antibakteri.
2. Asap cair cangkang biji karet 1% dapat digunakan sebagai pengawet makanan dan antiseptik.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai 20 senyawa pada asap cair cangkang biji karet yang memiliki sifat antibakteri.

4. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai uji aktifitas antioksidan, uji toksisitas, dan pengujian antibakteri asap cair cangkang biji karet terhadap mikroba patogen lain.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adams, M.R. dan Moss M.O. 2008. *Food Microbiology 3<sup>rd</sup> Edition*. Cambridge: RSC Pub.
- Aida , A.N., Enny Suswati, dan Misnawi. 2016. Uji in Vitro Efek Ekstrak Etanol Biji Kakao (*Theobroma cacao*) sebagai Antibakteri terhadap *Propionibacterium acnes*. *e-Jurnal Pustaka Kesehatan*, 4 (1).
- Anggraini, S.P.A. dan Susy Yuniningsih. 2013. Liquid Smoke Purification Process for Benzo (A) Pyrene Levels Lowering on Food Safety. *J. Agric. Food. Tech.*, 3(12):1-4.
- Anisah, Kurnia. 2014. Analisa Komponen Kimia dan Uji Antibakteri Asap Cair Tempurung Kelapa Sawit pada bakteri *E. coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Skripsi UIN Syarif Hidayatullah*. Jakarta.
- Ardilla, D., Tamrin, Basuki Wirjosentono, Eddyanto, dan Muhammad Said Siregar. 2015. Determination of Phenol Content of Liquid Smoke of Palm Oil Shell: Characterizations by using of Gas Chromatography-Mass Spectra and Fourier Transformed Infra Red. *Chemistry and Materials Research*, 7(4): 71-75.
- Ariyani D., Dwi Rasy Mujiyanti, dan Dewi Umaningrum Yuda Arimba Harlianto. 2015. Studi Kajian Kandungan Senyawa pada Asap Cair dari Sekam Padi. *Prosiding Seminar Nasional Kimia*, hal. 128 - 133.
- Brenner, Don J. Noel R. Krieg, James T. Staley, dan George M. Garrity. 2005. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 2<sup>nd</sup> Edition Volume Two: The Proteobacteria, Part A Introductory Essays*. Bergey's Manual Trust. New York.
- Brown, L., Julie M. Wolf, Rafael Prados-Rosales dan Arturo Casadevall. 2015. Through the wall: extracellular vesicles in Gram-positive Bacteria, Mycobacteria and Fungi. *Nature Reviews Microbiology*, 13: 620–630.
- Cahyadi, Wisnu. 2009. *Analisis dan Aspek Kesehatan Bahan Tambahan Pangan*. Bumi Aksara. Jakarta.
- Cornish K. 2001. Similarities and Differences in Rubber Biochemistry Among Plant Species. *Phytochemistry*, 57: 1123-1134.

- Damayanti, E. dan T. B. Suparjana. 2007. Efek Penghambatan Beberapa Fraksi Ekstrak Buah Mengkudu terhadap *Sfhigella dysenteriae*. *Prosiding Seminar Nasional Tehnik Kimia Kejuangan*. Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman. Banyumas.
- De Fay, E. dan Jacob J.L. 2010. Cyanogenesis and the Onset of Tapping Panel Dryness in Rubber Tree. *Pesq. Agropec. Bras*, 45: 1372-1380.
- De Vos, Paul, George M. Garrity, Dorothy Jones, Noel R. Krieg, Wolfgang Ludwig, Fred A. Rainey, Karl-Heinz Schleifer dan William B. Whitman. 2009. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 2<sup>nd</sup> Edition Volume Three: The Firmicutes*. Bergey's Manual Trust. New York.
- Dubal, Z.B., Paturkar A.M., Wesker V.S. 2004. Effect of Food Grade Organic Acids on Inoculated *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *E. Coli* and *S. typhimurium* in sheep P/Gout Stored at Refrigeration Temperature. *Meat Sci*, 66: 817-821.
- Ewadh, M., Hamid Hasan, Ilham Bnyan, Falih Mousa, dan Jasim Sultan. 2013. Antibacterial Activity of 2- (2-Hydroxy phenylimino) Acetic Acid. *Advances in Life Science and Technology*, 7: 15-19.
- Fachraniah, Zahra Fona, dan Zahratur Rahmi. 2009. Peningkatan Kualitas Asap Cair dengan Distilasi. *Jurnal Reaksi (Journal of Science and Technology)*, 7 (14).
- Girarrd, J.P. 1992. *Smoking in Technology of Meat and Meat Product*. Ellis Horwood. New York.
- Guillen, M.D., Sopelana, P., dan Partearroyo, M.A. 2000. Polycyclic aromatic hydrocarbons in liquid smoke flavorings obtained from different types of wood, effect of storage in polyethylene flasks on their concentrations. *J. Agric. Food Chem*, 48: 5083-6087.
- Halstead, F.D., Maryam Rauf, Naiem S. Moiemmen, Amy Bamford, Christopher M. Wearn, Adam P. Fraise, Peter A. Lund, Beryl A. Oppenheim, dan Mark A. Webber. 2015. The Antibacterial Activity of Acetic Acid against Biofilm-Producing Pathogens of Relevance to Burns Patients. *PLoS ONE*, doi: 10.1371/journal.pone.0136190.
- Harmita dan Maksum Radji. 2008. *Buku Ajar Analisis Hayati, Edisi 3*. EGC Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta.
- Harmsen, P.F.H., W.J.J. Huijgen, L.M. Bermúdez Lopez, dan R.R.C. Bakker. 2010. *Literature Review of Physical and Chemical Pretreatment Processes for Lignocellulosic Biomass*. ECN. Netherlands.
- Hendra A., Ignatius D.A.W, Danny P.A.S dan Yeremia A.W. 2014. Asam Benzoat. <http://www.foodchem-studio.com/2014/06/asam-benzoat.html> diakses pada tanggal 25 Desember 2016.

- Hermanto, S. 2008. *Megenal Lebih Jauh Teknik Analisa Kromatografi dan Spektrofotometri*. Pusat Laboratorium Terpadu UIN Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Ida Madiha, Y., Rukayadi, Y. dan Norhayati, H. 2017. Effects of Extraction Conditions on Yield, Total Phenolic Contents and Antibacterial Activity Of Methanolic *Cinnamomum zeylanicum* Blume Leaves Extract. *International Food Research Journal*, 24(2): 779-786.
- Jawetz, Melnick dan Adelberg. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran*. Salemba Medika. Jakarta.
- Karseno, Darmadji P., Rahayu, K. 2002. Daya Hambat Asap Cair Kayu Karet terhadap Bakteri Pengkontaminan Lateks Dan Ribbed Smoke Sheet. *Agritech*, 21(1): 10–15.
- Liwa, C.A., dan Hyasinta Jaka. 2015. Antimicrobial Resistance: Mechanisms of Action of Antimicrobial. *Formatex*, hal. 876-885.
- Luditama, Candra. 2006. Isolasi dan Pemurnian Asap Cair Berbahan Dasar Tempurung dan Sabut Kelapa secara Pirolisis dan Destilasi. *Skripsi Teknologi Pertanian*. IPB. Bandung.
- Malicki, A., Wojciech Zawadzki, Szymon Bruzewicz, Stanislaw Graczyk dan Albert Czernski. 2004. Effect of Formic and Propionic Acid Mixture in *E.coli* in Fish Meal Stored at 12 °C. *Pakistan Journal of Nutrition*, 3(6): 353-356.
- Maughan, Hether dan Geraldine Van der Auwera. 2011. Bacillus Taxonomy in the Genomic Era Finds Phenotypes to be Essential Though Often Misleading. *Infection, Genetics and Evolution*, 11: 789–797.
- McDonnell, Gerald dan Russell A.D., 2001. Antiseptics and Disinfectants: Activity, Action, and Resistance. *Clin Microbiol Rev*, 14(1):227.
- Milly, P.J., R.T. Toledo dan J. Chen. 2008. Evaluation of Liquid Smoke Treated Ready-to Eat (RTE) Meat Products for Control of *Listeria innocua*. *J. Food Sci*, 73: 179-183.
- Nopiyanti, H.T., Fitri Agustriani, Isnaini, dan Melki. 2015. Skrining *Nypa fruticans* sebagai Antibakteri *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Maspari journal*, 8(2): 83-90.
- Novita A.R. IGN Arya Sidemen dan Wiratmo. 2013. Aktivitas Asap Cair Tempurung Kelapa sebagai Desinfektan pada Instrumen Medis Berbahan Logam. *Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa*. Fakultas Farmasi Universitas Jember. Jember.
- NRCS-USDA (Natural Resources Conservation Service-United States Departement of Agricultur). 2017. *Classification for Kingdom Plantae*

*Down to Species Hevea brasiliensis (Willd. ex A. Juss.) Müll. Arg.* di akses di <https://plants.usda.gov> pada tanggal 28 Agustus 2017.

- Oliver, S. P., B. E. Gillespie, M. J. Lewis, S. J. Ivey, R. A. Almeida, D. A. Luther, D. L. Johnson, K. C. Lamar, H. D. Moorehead dan H. H. Dowlen. 2001. Efficacy of a New Premilking Teat Disinfectant Containing a Phenolic Combination for the Prevention of Mastitis. *J. Dairy Sci*, 84: 1545-1549.
- Panagan, A.T. dan Nirwan Syarif. 2009. Uji Daya Hambat Asap Cair Hasil Pirolisis Kayu Pelawan (*Tristania abavata*) terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Penelitian Sains*, hal. 30-33.
- Pelczar, M. J. dan E. C. S., Chan. 2007., Penerjemah: Hadioetomo, R, S. Dkk. 2007. *Dasar-dasar Mikrobiologi, Jilid I*. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta.
- Prasetyowati, Muhammad Hermanto, dan Salman Farizy. 2014. Pembuatan Asap Cair dari Cangkang Buah Karet sebagai Koagulan Lateks. *Jurnal Teknik Kimia*, 20(4): 14 – 21.
- Pujihastuti, D.R. 2007. *Pengaruh Konsentrasi Natrium Benzoat Terhadap Umur Simpan Minuman Beraroma Apel*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Pundir, Ram Kumar dan Pranay Jain. 2011. Evaluation of Five Chemical Food Preservatives for Their Antibacterial Activity Against Bacterial Isolates from Bakery Products and Mango Pickles. *J. Chem. Pharm. Res.*, 3(1): 24-31.
- Ramakrishnan, S. dan Patrick Moeller. 2002. Liquid Smoke: Product of Hardwood Pyrolysis. *Fuel Chemistry Division Preprints*, 47(1): 366-367.
- Rappoport, ZVI (ed). 2003. *The chemistry of phenols*. John Wiley & Sons, Ltd. England.
- Rinald, A., Alimuddin dan Aman Sentosa Panggabean. 2015. Pemurnian Asap Cair dari Kulit Durian dengan Menggunakan Arang Aktif. *Molekul*, 10(2).
- Roe, A.J., O'Byrne, C., Mclaggan, D., dan Booth, I.R. 2002. Inhibition of *Escherichia Coli* Growth by Acetic Acid : a Problem with Methionine Biosynthesis and Homocysteine Toxicity. *Microbiology*, 148 :2215-2222.
- Saraswati, Dian. 2011. Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Daun Sirih terhadap Daya Hambat *Escherichia coli*. *Jurnal Health and Sport*, 3(2) : 331-338.
- Shak, M.A.M , Siti Nur Ain Mohd Hassan, Siti Nurlia Ali, Mohd Fauzi Abdullah, Asnida Yanti Ani, Nur Nasulhah Kasim, Ali H. Jawad, Wan Izhan Nawawi Wan Ismail dan Khudzir Ismail. 2015. Overview of Obtaining Alternative Fuels in The Co-liquefaction Processes with Biomass and Coal in Malaysia. *Intech Biofuels - Status and Perspective*, hal. 85-204.
- Sholichah, Enny. Wawan A. dan Dewi D. 2013. Identifikasi Senyawa Poly Aromatic Hydrocarbon (PAH) dalam Produk Asap Cair Hasil Samping

Proses Karbonisasi Tongkol Jagung Menggunakan Drum Karbonisasi dengan Blower. *Seminar Nasional & Workshop : Peningkatan Inovasi Dalam Menanggulangi Kemiskinan – LIPI*, hal. 281-287.

Siaka, I.M. 2009. Analisis Bahan Pengawet Pada Saos Tomat di Wilayah Kota Denpasar. *JP Kimia*, 3(2): 87-92.

Simatupang, M. 2006. *Morfologi, Struktur, Fisiologi dan Metabolisme Bakteri*. Departemen Mikrobiologi Universitas Sumatera Utara. Padang.

Siswandono dan Soekardjo, B. 2000. *Kimia Medisinal*. Airlangga University Press. Surabaya.

Stashenko, Elena dan Jairo René Martínez. 2014. Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Intech*, hal. 1-38.

Susanto, Sudrajat D., Ruga R. 2012. Studi Kandungan Bahan Aktif Tumbuhan Meranti Merah (*Shorea leprosula* Miq.) sebagai Sumber Senyawa Antibakteri. *Mulawarmnan Scientific*, 11(2):181-90.

Victor, L. 1980. *Antibiotics in Laboratory Test*. The Williams and Wilkins Company. USA.

Wardani, Ratih K., Tjahjaningsih W. dan Rahardja B.S. 2012. Uji Efektifitas Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper Rocatum*) terhadap Bakteri *Aeromonas Hydrophila* Secara In Vitro. *jurnal ilmiah perikanan dan kelautan*, 4(1).

Yaman, S. 2004. Pyrolysis of Biomass to Produce Fuels and Chemical Feedstocks. *Energy Conversion and Management*, 45: 651–671.

Yatagai, Mitsuyoshi. 2002. *Utilization of Charcoal And Wood Vinegar in Japan*. Graduate School of Agricultural and Life Science. The University of Tokyo. Japan.

Yulstiani, Ratna. 2008. *Monograf Asap Cair sebagai Bahan Pengawet Alami pada Produk Daging dan Ikan*. Upn Veteran Jawa Timur. Surabaya.