

**PENGARUH PEMBERIAN MINYAK ATSIRI DARI DAUN SIRIH (*Piper betle* Linn)
TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Staphylococcus aureus* Rosebanch**

**INFLUENCE THE GRANTING OF ESSENTIALS OIL FROM LEAVES OF THE BETLE
(*Piper betle* Linn) AGAINST THE GROWTH OF BACTERIA
Staphylococcus aureus Rosebanch**

Flentina Meri Kristin Simanjuntak¹, dan Rosita Tarigan²

Universitas Negeri Medan, Medan^{1*}

Email: meriflentina65@gmail.com

(Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Negeri Medan, Jalan Willem Iskandar Psr.V,
Medan Estate, 20221. Telp. (061) 6625970)

Universitas Negeri Medan, Medan²

ABSTRACT

The research method used was experimental method using Random Design complete (RAL) Non Factorial with 3 degrees of treatment, namely A₀ = 0%, A₁ = 0.1%, A₂ = 0.5%, A₃ = 1%, A₄ = 2% and A₅ = 3%. To know the success rate is done with 4 replicates with unit testing as many as 24 units. From the results of the analysis of research data shows that the provision of essential oil from the leaves of the betel (*Piper betle* Linn) with different concentrations of different inhibitory zones affect the bacteria *Staphylococcus aureus* Rosebanch. The Diameter of the zones of drag on the concentration of 0% is 0 mm, diameter drag zone on the concentration of 0.1% is 1.3 mm, the diameter of the zones of drag at a concentration of 0.5% is 1.5 mm, the diameter of the zones of drag at concentrations of 1% is 1.6 mm, the diameter of the zones of drag on the concentration of 2% is 1.8 mm, and the diameter of the zones of drag at 3% concentration was 2.1 mm. Diameter drag the smallest zone generated by the essential oil from the leaves of the betel (*Piper betle* Linn) with concentrations of 0%. And the diameter of the largest drag zone generated by the essential oil from the leaves of the betel (*Piper betle* Linn) with a concentration of 3%. Inhibitory power of essential oils are said to be effective when the drag power of essential oils from the leaves of the betel leaves are present in the highest concentration of 3% with a diameter of 2.1 mm.

Keywords: Essential oils, the bacteria Staphylococcus aureus Rosebanch, concentration, the diameter of the zones of drag.

ABSTRAK

Metode Penelitian yang digunakan adalah metode eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) Non Faktorial dengan 6 taraf perlakuan, yaitu A₀ = 0%, A₁ = 0,1%, A₂ = 0,5%, A₃ = 1%, A₄ = 2% dan A₅ = 3%. Untuk mengetahui tingkat penelitian dilakukan dengan 4 ulangan dengan unit percobaan sebanyak 24 unit. Dari hasil analisis data penelitian menunjukkan bahwa pemberian minyak atsiri dari daun sirih (*Piper betle* Linn) dengan konsentrasi yang berbeda beda berpengaruh terhadap zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus* Rosebanch. Diameter zona hambat pada konsentrasi 0% adalah 0 mm, diameter zona hambat pada konsentrasi 0,1% adalah 1,3 mm, diameter zona hambat pada konsentrasi 0,5% adalah 1,5 mm, diameter zona hambat pada konsentrasi 1% adalah 1,6 mm, diameter zona hambat pada konsentrasi 2% adalah 1,8 mm, dan diameter zona hambat pada konsentrasi 3% adalah 2,1 mm. Diameter zona hambat yang terkecil yang dihasilkan oleh minyak atsiri dari daun sirih (*Piper betle* Linn) dengan konsentrasi 0%. Dan diameter zona hambat yang terbesar

dihasilkan oleh minyak atsiri dari daun sirih (*Piper betle* Linn) dengan konsentrasi 3%. Daya hambat minyak atsiri dikatakan efektif ketika daya hambat dari minyak atsiri dari daun sirih paling tinggi terdapat pada konsentrasi 3% dengan diameter 2,1 mm.

Kata kunci : Minyak atsiri, bakteri *Staphylococcus aureus* Rosebanch, konsentrasi, diameter zona hambat.

1. PENDAHULUAN

Bakteri merupakan salah satu mikroba yang mempengaruhi kehidupan manusia. Di daerah tropis seperti Indonesia, penyakit yang disebabkan oleh bakteri patogen memiliki peringkat yang cukup tinggi dalam urutan penyakit yang banyak diderita oleh masyarakat.

Bakteri *Staphylococcus aureus* dapat menyerang seluruh tubuh. Bentuk klinisnya tergantung dari bagian tubuh yang terkena infeksi. Toxic shock syndrome merupakan suatu keadaan yang ditandai dengan panas mendadak, diare, syok, diffuse maculo erythematous rash, hiperemi pada konjungtiva, orofarings, dan membran mucus vagina. Keracunan makanan terjadi akibat menelan makanan yang telah terkontaminasi dengan enterotoksin stafilokokus. Jenis keracunan makanan seperti ini disebut tipe toksik. Masa inkubasi singkat (2 – 6 jam) dan gejala yang timbul biasanya muntah dan diare, tetapi biasanya dapat sembuh spontan (dalam 24 – 36 jam) (Dzen *et al.*, 2003).

Infeksi bakteri ini pada kulit umumnya dalam bentuk impetigo, folliculitis, furuncle abscesses (abses), carbuncle (bisul) dan luka lecet yang terinfeksi. Dasar dari lesi pada impetigo “scalded skin” (luka bakar) yang lain daripada yang lain disebabkan oleh strain *Staphylococcus aureus*, sebagian besar tergolong dalam group II yang memproduksi toksin epidermik (Nasution, 2014).

Dalam bidang pengobatan antibiotik, saat ini sudah banyak bakteri yang resisten terhadap obat antibiotik karena pemakaian yang tidak sesuai aturan sehingga merubah pola kerja dari bakteri tersebut. Sebagai alternatif dari penggunaan antibiotik tersebut, bisa digunakan antibakteri yang berasal dari alam, diharapkan tidak menimbulkan resistensi, lebih alami dan meminimalisir masuknya zat-zat kimia dalam tubuh (Salleh, 1997).

Berkembangnya ilmu pengetahuan khususnya dibidang kesehatan memberikan dampak terhadap cara hidup dan kebiasaan masyarakat. Akan tetapi banyak hal, diantaranya dalam pengobatan tradisional, tetap bertahan dan merupakan kebiasaan yang diwariskan secara turun-temurun. Pemanfaatan tanaman sebagai bahan baku untuk keperluan obat telah merupakan warisan nenek moyang yang cukup lama dengan cara pengolahan yang sederhana. Salah satu tanaman yang telah lama digunakan untuk keperluan pengobatan adalah sirih (Kuspriyanto, 1989).

Sejak dahulu orang telah mempergunakan berbagai macam tumbuhan untuk mengobati penyakit. Manusia primitif juga telah menggunakan tumbuhan sebagai obat

dan kebanyakan dari mereka menggunakan peranan dan pengalaman pengalaman mereka. Berbeda dengan masyarakat yang telah maju seperti halnya dengan bangsa Tionghoa pada zaman dahulu telah pandai dalam bidang obat-obatan yang berasal dari tumbuh-tumbuhan (Hasairin, 2009).

Sejak zaman dahulu sudah diketahui kalau sirih mampu menghambat pertumbuhan kuman, terutama *Candida albicans* yang sering menyebabkan keputihan pada wanita. Infusum sirih dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*, *Staphylococcus koagulans*, *Salmonella typhosa*, bahkan *Pseudomonas aeruginosa* yang kerap kali resisten terhadap antibiotik.

Bagi masyarakat Indonesia, sirih merupakan tanaman yang sudah dikenal secara luas. Sirih digunakan untuk berbagai keperluan, baik untuk upacara adat, kesehatan maupun kecantikan. Secara tradisional sirih banyak digunakan untuk obat batuk, obat sakit gigi, mengeringkan luka, dan lain-lain (Yanti et al, 2000).

Sirih (*Piper betle* Linn) merupakan salah satu jenis tanaman yang banyak manfaatnya. Penggunaan daun sirih sebagai obat biasanya diberikan dalam bentuk godogan, daun segar yang dimemarkan atau ditumbuk halus, ekstrak ataupun dalam bentuk minyak atsiri (Soedibjo, 1991).

Daun sirih (*Piper betle* Linn) secara umum telah dikenal masyarakat sebagai bahan obat tradisional. Seperti halnya dengan antibiotika, daun sirih juga mempunyai daya antibakteri. Kemampuan tersebut karena adanya berbagai zat yang terkandung di dalamnya (Sastroamidjojo, 1997).

Ekstrak daun sirih telah dikembangkan dalam beberapa bentuk sediaan seperti pasta gigi, sabun, obat kumur karena daya antiseptiknya. Sediaan perasan, infus, ekstrak air-alkohol, ekstrak heksan, ekstrak kloroform maupun ekstrak etanol dari daun sirih mempunyai aktivitas sebagai antibakteri terhadap gingivitis, plak dan karies (Suwondo et al., 1991).

Ekstrak daun sirih juga telah diuji efektivitasnya sebagai antibakteri terhadap mastitis subklinis. Bakteri yang diuji berasal dari hasil isolasi susu sapi penderita mastitis subklinis yaitu *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* dan *Streptococcus agalactiae*. Hasil uji in vitro menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih mempunyai efektivitas sebagai antibakteri terhadap ketiga bakteri uji tersebut (Alfarisi, 2009).

2. METODE PENELITIAN.

Penelitian dilaksanakan pada bulan Mei sampai Juni 2014 di Balai Laboratorium Kesehatan Medan Jl. Willem Iskandar Pasar V Barat 1 No 4 Medan.

Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: Daun sirih (*Piper betle* Linn) sebanyak 1000 gram, Biakan murni bakteri *Staphylococcus aureus* Rosebanch, NaSO₄ anhidrant, Etanol, Media Mueller Hinton Agar (MHA) dan etanol.

Tahap Pelaksanaan Penelitian

Ekstraksi Daun Sirih

Daun sirih dirajang lalu dimasukkan kedalam labu destilasi, setelah dimasukkan kedalam labu destilasi lalu ditambahkan dengan aquadest sebanyak $\frac{3}{4}$ bagian. Selanjutnya dilakukan proses destilasi dengan uap dan air selama 4 jam, selanjutnya diperoleh hasil berupa destilat dan kemudian ditampung dengan botol vial berukuran 5 ml. Lalu ditambahkan NaSO₄ anhidrant yang bertujuan untuk memisahkan air yang terkandung dalam minyak tersebut. Lalu diperoleh minyak atsiri dan kemudian disimpan dalam kulkas sebelum digunakan yang bertujuan untuk menghindari terjadinya penguapan.

Cara Pembuatan Konsentrasi Minyak Atsiri

Konsentrasi minyak atsiri yang digunakan dalam penelitian ini adalah: 0%, 0,1%, 0,5%, 1%, 2% dan 3%. Cara membuat konsentrasi minyak atsiri sebagai berikut:

1. Untuk membuat 0,1% minyak atsiri : 0,1 ml minyak atsiri dicampur dengan etanol sebanyak 99,9 ml didalam gelas ukur.
2. Untuk membuat 0,5% minyak atsiri : 0,5 ml minyak atsiri dicampur dengan etanol sebanyak 99,5 ml didalam gelas ukur.
3. Untuk membuat 1% minyak atsiri : 1 ml minyak atsiri dicampur dengan etanol sebanyak 99 ml didalam gelas ukur.
4. Untuk membuat 2 % minyak atsiri : 2 ml minyak atsiri dicampur dengan etanol sebanyak 98 ml didalam gelas ukur.
5. Untuk membuat 3% minyak atsiri : 3 ml minyak atsiri dicampur dengan eanol sebanyak 97 ml didalam gelas ukur.

Pembuatan Media Agar

Sebanyak 28 gram MHA dimasukkan ke dalam beker gelas lalu ditambah 1 liter aquades steril kemudian dipanaskan sambil diaduk selama 10 menit. Setelah itu bahan dimasukkan kedalam tabung reaksi sebanyak 24 buah lalu ditutup dengan kapas. Tabung reaksi yang berisi Nutrient tersebut dimasukkan ke dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit untuk tujuan sterilisasi dan agar tidak terkontaminasi dengan bakteri lain.

Mempersiapkan Bakteri *Staphylococcus aureus*

Bakteri *Staphylococcus aureus* diperoleh dari media miring diambil dengan menggunakan jarum ose yang telah terlebih dahulu disterilkan diatas lampu bunsen lalu didinginkan selama 30 detik. Bakteri yang kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi yang telah berisi nutrient. Kemudian dimasukkan kedalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam.

Pengenceran Sampel Bakteri *Staphylococcus aureus*

Sebelum dilakukan pengenceran terlebih dahulu disiapkan 6 buah tabung reaksi steril yang telah berisi aquaest steril sebanyak 9 ml. Masing masing tabung ditambahkan 1 ml bakteri *Staphylococcus aureus* yang telah diinkubasi selama 24 jam. Ini dilakukan secara bertahap yaitu:

1. 1 ml sampel *Staphylococcus aureus* dimasukkan kedalam tabung I yang berisi aquades sebanyak 9 ml, sehingga konsentrasi larutan menjadi 10^{-1}
2. 1 ml sampel tabung I dimasukkan kedalam tabung II yang berisi aquades sebanyak 9 ml, sehingga konsentrasi larutan menjadi 10^{-2}
3. 1 ml sampel tabung II dimasukkan kedalam tabung III yang berisi aquades sebanyak 9 ml, sehingga konsentrasi larutan menjadi 10^{-3}
4. 1 ml sampel tabung III dimasukkan kedalam tabung IV yang berisi aquades sebanyak 9 ml, sehingga konsentrasi larutan menjadi 10^{-4}
5. 1 ml sampel tabung IV dimasukkan kedalam tabung V yang berisi aquades sebanyak 9 ml, sehingga konsentrasi larutan menjadi 10^{-5}
6. 1 ml sampel tabung V dimasukkan kedalam tabung VI yang berisi aquades sebanyak 9 ml, sehingga konsentrasi larutan menjadi 10^{-6}

Dalam hal ini bakteri yang digunakan dalam media agar adalah bakteri dengan tingkat pengenceran 10^{-6} . Dengan menggunakan tingkat pengenceran 10^{-6} pada bakteri maka dapat dihitung jumlah koloni yang tepat karena jumlah koloni yang paling praktis diamati adalah 30 – 300 koloni.

Mencampurkan Minyak Atsiri Daun Sirih (*Piper betle* Linn) dengan Media Agar dan *Staphylococcus aureus*

Minyak atsiri daun sirih yang diencerkan dimasukkan kedalam petridish sesuai dengan konsentrasi kemudian ditambahkan sampel bakteri *Staphylococcus aureus* sebanyak 1 ml yang berasal dari pengenceran 10^{-6} kedalam petridish tadi selanjutnya ditambahkan media MHA, lalu digoyang membentuk angka 8 agar merata. Setelah dingin cawan dibalikkan kemudian diinkubasi pada inkubator dengan suhu 37°C. Pengamatan

pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* setiap 1× 24 jam dengan Colony Counter (Tarigan, 1988)

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan dari pengamatan yang telah dilakukan tentang pengaruh pemberian minyak atsiri dari daun sirih (*Piper betle* Linn) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* Rosebanch maka diperoleh hasil sebagai berikut:

Hasil Penelitian

Daya Hambat Minyak Atsiri dari Daun Sirih (*Piper betle* Linn) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Rosebanch

Daya hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* Rosebanch yang ditanam dengan media MHA ditambah minyak atsiri daun sirih (*Piper betle* Linn) dapat dilihat pada Tabel 1. Pada Tabel tersebut dapat dilihat bahwa daya hambat minyak atsiri daun sirih yang paling tinggi terdapat pada konsentrasi 3%. Masa inkubasi semua perlakuan adalah 1× 24 jam.

Tabel 1. Daerah Hambat Pengaruh Pemberian Minyak Atsiri dari Daun Sirih (*Piper betle* Linn) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Rosebanch.

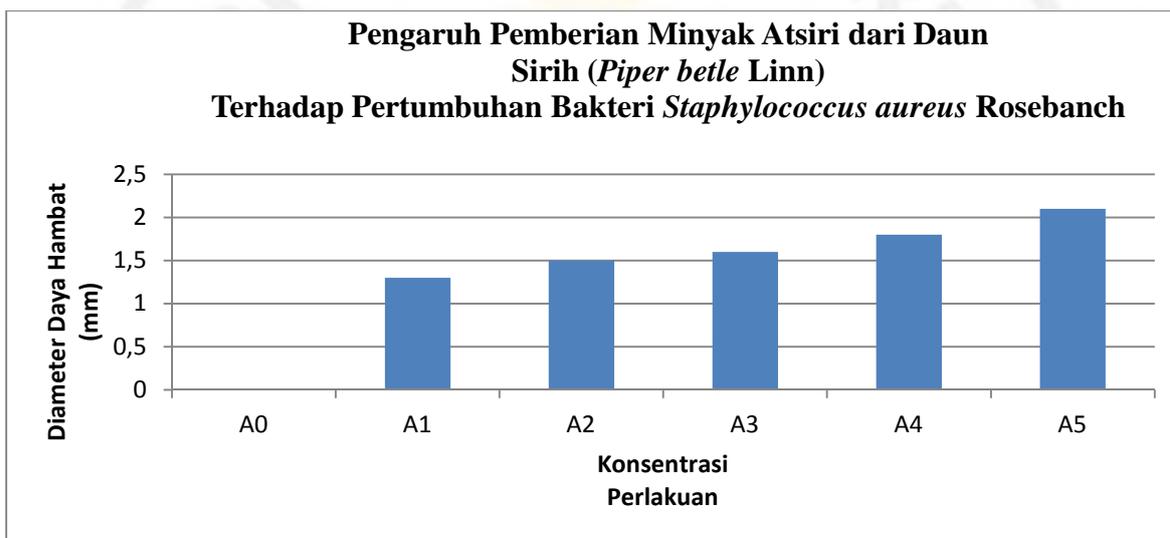
Perlakuan	Ulangan				Total	Rata rata
	I	II	III	IV		
A ₀	0	0	0	0	0	0
A ₁	1,3	1,3	1,5	1,6	5,7	1,425
A ₂	1,5	1,5	1,7	1,8	6,5	1,625
A ₃	1,6	1,6	1,8	1,9	6,9	1,725
A ₄	1,8	1,8	2,0	2,1	7,7	1,925
A ₅	2,1	2,1	2,2	2,3	8,7	2,175
Total	8,3	8,3	9,2	9,7	35,5	8,875

Konsentrasi Minyak Atsiri Yang Paling Efektif Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Rosebanch

Diameter daerah hambat yang terjadi pada pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* Rosebanch tampak berbeda beda dari masing masing perlakuan. Dimana zona hambat yang terkecil adalah 0 mm pada konsentrasi minyak atsiri dari daun sirih (*Piper betle* Linn) 0% dan diameter zona hambatan yang besar adalah 2,1 mm pada konsentrasi 3%

Hal ini menunjukkan bahwa tingkat penghambatan perkembang biakan bakteri *Staphylococcus aureus* Rosebanch oleh minyak atsiri daun sirih (*Piper betle* Linn) mengalami kenaikan dari 0% hingga 3%. Dengan demikian pada konsentrasi minyak atsiri daun sirih (*Piper betle* Linn) 3% sangat efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*

Untuk mengetahui Pengaruh Pemberian Minyak Atsiri dari Daun Sirih (*Piper betle* Linn) Terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* Rosebanch dapat dilihat pada Gambar 1 dibawah ini:



Gambar 1. Grafik Pengaruh Pemberian Minyak Atsiri dari Daun Sirih (*Piper betle* Linn) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Rosebanch

4. PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa minyak atsiri dari daun sirih mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* Rosebanch. Hal ini diduga karena ada kandungan senyawa seskuiterpen dan eugenol di dalam minyak atsiri daun sirih. Senyawa ini berperan aktif sebagai bahan antiseptik yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* Rosebanch.

Eugenol merupakan suatu senyawa kimia yang digunakan sebagai antiseptik antimikroba. Menurut Herborne (1984) eugenol merupakan senyawa kimia turunan fenil propanoid dimana fenil propanoid merupakan salah satu turunan dari senyawa fenol. Senyawa seskuiterpen merupakan suatu senyawa kimia yang mudah menguap dan merupakan komponen utama dari minyak menguap atau minyak atsiri, seskuiterpen merupakan senyawa turunan dari golongan terpenoid.

Eugenol bekerja dengan merusak membran sel, mengganggu lapisan fosfolipid dari membran sel yang mengakibatkan peningkatan permeabilitas sehingga

makromolekul dan ion dalam sel akan keluar, menyebabkan kerusakan ataupun kematian dari sel tersebut.

Menurut Dzen (2003) senyawa fenol merupakan suatu senyawa yang dapat digunakan sebagai antiseptik seperti yang digunakan oleh Sir Joseph Lister untuk mencuci alat-alat sebelum operasi. Turunan senyawa fenol (fenolat) banyak terjadi secara alami sebagai flavonoid, alkaloid, dan senyawa fenolat yang lainnya, salah satu contoh senyawa fenolat adalah heksaklorofen. Heksaklorofen digunakan dalam bentuk sabun atau losion, untuk alat-alat bedah, kosmetik, deodorant dan pasta gigi. Efektif sebagai bakteriostatik terhadap bakteri gram positif seperti *Staphylococcus* dan *Streptococcus*.

Menurut Harborne (1984) senyawa terpenoid merupakan senyawa metabolit sekunder pada tumbuhan, terpenoid merupakan komponen penyusun banyak minyak atsiri yang dihasilkan tumbuhan. Terpenoid dapat digunakan sebagai pengobatan dan kesehatan, secara kimiawi senyawa terpenoid umumnya larut dalam lemak dan terdapat didalam sitoplasma sel tumbuhan.

Menurut Jawetz *et al.*, (2001) pertumbuhan bakteri yang terhambat atau kematian bakteri akibat suatu zat antibakteri dapat disebabkan oleh penghambatan terhadap sintesis dinding sel, penghambatan terhadap fungsi membran sel, penghambatan terhadap sintesis protein, atau penghambatan terhadap sintesis asam nukleat.

Diantara berbagai kerusakan yang terdapat pada sel tersebut, yang mungkin terjadi pada bakteri *Staphylococcus aureus* akibat pemberian minyak atsiri dari daun sirih adalah penghambatan terhadap sintesis dinding sel. Ini didasarkan pada adanya kandungan eugenol yang merupakan senyawa fenol (Herborne, 1984). Senyawa fenol dapat bersifat koagulator protein (Dwidjoseputro, 1994). Protein yang menggumpal tidak dapat berfungsi lagi, sehingga akan mengganggu pembentukan dinding sel bakteri.

Staphylococcus aureus adalah bakteri gram positif berbentuk bulat, tidak bergerak, tidak berspora dan mampu membentuk kapsul. Dinding selnya mengandung peptidoglikan yang tebal serta diikuti pula dengan adanya ikatan benang-benang teichoic acid dan teichoronic acid, yang merupakan 50% dari berat dinding sel dan 10% dari berat keseluruhan sel. Dinding selnya mengandung asam teiokat, yaitu sekitar 40% dari berat dinding selnya. Asam teiokat adalah beberapa kelompok antigen dari *Staphylococcus*. Asam teiokat mengandung aglutinogen dan N-asetilglukosamin, *Staphylococcus aureus* mengandung lisostafin yang dapat menyebabkan lisisnya sel darah.

Staphylococcus aureus mengandung polisakarida dan protein, bersifat antigen yang merupakan substansi penting di dalam struktur dinding sel. Peptidoglikan, suatu polimer polisakarida yang mengandung subunit-subunit yang terangkai, merupakan eksoskeleton kaku pada dinding sel. Peptidoglikan dihancurkan oleh asam kuat atau lisozim. Hal ini penting dalam pathogenesis infeksi: zat ini menyebabkan monosit

membuat interleukin-1 (pirogen endogen), antigen opsonik dan juga dapat menjadi endotoksin. Asam teikoat, merupakan polimer gliserol atau ribitol fosfat, berikatan dengan peptidoglikan dan bersifat antigenik (Nasution, 2014).

Penggunaan konsentrasi minyak atsiri daun sirih yang beeda beda memberikan tingkat pengaruh yang berbeda beda pula terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Pada konsentrasi minyak atsiri 0,1% sudah dapat menghambat pertumbuhan bakteri , tapi diameter zona hambat lebih kecil dibandingkan dengan konsentrasi 0,5% , dan nilai diameter zona hambat yang tumbuh diantara kedua konsentrasi perlakuan ini memiliki rentang yang jauh, hal ini terjadi pada setiap konsentrasi perlakuan selanjutnya sampai pada konsentrasi 3%.

Semua ini akan mengindikasikan bahwa semakin tinggi konsentrasi minyak atsiri daun sirih maka pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* semakin dihambat karena semakin banyak bahan aktif dalam larutan tersebut.

Diameter zona hambat yang terjadi pada perkembangbiakan bakteri *Staphylococcus aureus* juga dipengaruhi ole faktor faktor lain, diantaranya adalah sebagai berikut:

1. Kekeruhan suspensi bakteri

Bila kurang keruh, diameter daerah atau zona hambat lebih besar dan keruh diameter atau zona hambat lebih kecil, diameter atau zona hambat lebih kecil pada saat pengeceran bakteri berlangsung tingkat kekeruhan harus diperhatikan. Bila warna sudah kelihatan keruh maka dapat dilakukan penanaman bakteri kedalam media. Tingkat kekeruhan suspense yang tepat akan menghasilkan diameter daerah atau zona hambat, yang hanya akan dipengaruhi oleh daya suspense tersebut.

2. Waktu penyerapan suspensi bakteri kedalam media agar

Waktu yang dibutuhkan untuk bakteri meresap kedalam media tidak boleh lebih dari batas yang telah ditentukan. Hal ini dilakukan agar tidak mengganggu pertumbuhan diameter zona hambat. Setelah penanaman bakteri dilakukan, media agar dibiarkan mongering selama 5 menit tidak boleh kurang atau lebih agar penyerapan suspense bakteri berlangsung baik kedalam media agar. Waktu peresapan yang baik akanmembentuk diameter zona/ daerah hambat yang hanya dipengaruhi daya bentuk tersebut.

3. Temperatur inkubasi

Untuk memperoleh pertumbuhan bakteri yang optimal, masa inkubasi dilakukan pada suhu 35°C - 37°C. Apabila kurang dari suhu 35°C maka akan menyebabkan

diameter/ zona hambat akan lebih lebar. Hal ini dapat mengakibatkan media plate bertumpuk tumpuk pada saat inkubasi.

4. Waktu inkubasi

Waktu inkubasi yang digunakan pada umumnya berkisar antara 18-24 jam. Apabila dibawah 18 jam perkembangbiakan bakteri belum sempurna sehingga sulit dibaca diameternya karena zonanya semakin melebar, sedangkan diatas waktu 24 jam perkembangbiakan lebih sempurna yang menyebabkan perkembangbiakan bakteri lebih sempurna diameternya karena zonanya semakin menyempit.

5. Ketebalan media

Pada umumnya ketebalan media berkisar 4-6 mm, larutan sebanyak 12-15 cc. Media agar yang terlalu tebal atau tipis menyebabkan penanaman bakteri dan peresapannya tidak berlangsung dengan baik.

6. Komposisi media

Untuk menumbuhkan suatu mikroorganisme diperlukan suatu substrat makanan dimana media harus mengandung nutrient yang cocok yaitu berupa garam garam anorganik dan senyawa senyawa organik yang dibutuhkan untuk perkembangbiakan. Substrat tersebut harus sesuai dengan ketentuan, karena berpengaruh pada perkembangbiakan bakteri yang digunakan.

Media yang digunakan adalah media Mueller Hinton Agar (MHA) untuk menguji daya resistensi bakteri *Staphylococcus aureus* terhadap obat antimikroba dari minyak atsiri daun sirih dengan menggunakan larutan NaCl 0,9%, dimana larutan isotonis yang tepat untuk menetralkan kondisi tubuh bakteri *Staphylococcus aureus* saat diisolasi dan untuk mendeteksi suatu mikroorganisme.

5. KESIMPULAN & SARAN

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Bahwa minyak atsiri dari daun sirih dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi yang berbeda beda yaitu dengan konsentrasi 0,1% (1,3 mm), 0,5% (1,5 mm), 1% (1,6 mm), 2% (1,8 mm), dan 3% (2,1 mm).
2. Pada konsentrasi 3% (2,1 mm) minyak atsiri daun sirih (*Piper betle* Linn) sangat efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* Rosebanch

SARAN

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh pemberian minyak atsiri dari daun sirih (*Piper betle* Linn) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* Rosebanch dengan menggunakan konsentrasi 3%.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh pemberian minyak atsiri dari daun sirih (*Piper betle* Linn) terhadap mikroba lain.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Age; Heri. (2007), *Tanaman Obat*. Jakarta. PT Panca Anugerah Sakti.
- [2] Agustina, L. (2008), *Efektivitas Minyak Atsiri Lengkuas (Alpinia galanga L) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus*. Medan. FMIPA UNIMED.
- [3] Fardiaz, S. (1993), *Analisis Mikrobiologi Pangan*. Jakarta. Raja Grafindo Persada.
- [4] Gaman, Sherrington. (1992). *Ilmu Pangan , Pengantar Ilmu Pangan Nutrisi dan Mikrobiologi Edisi Kedua*. (Alih Bahasa: Murdijati Gardjito). Yogyakarta. Universitas Gadjah Mada
- [5] Harborne, J.B, (1987), *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung. ITB
- [6] Hasairin, A. (2009), *Bahan Ajar Etnobotani*. Medan. FMIPA UNIMED.
- [7] Koensomardiyah. (2010), *A to Z Minyak Atsiri untuk Industri Makanan, Kosmetik, dan Aromaterapi*. Yogyakarta. ANDI OFFSET.
- [8] Robinson, T. (1991), *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi Edisi ke 6*. Bandung. ITB Press.
- [9] Salleh. (1997), *Ethno botany, Ethno Pharmacognosy and Documentation of Malaysia Medicinal and Aromatic Plants*. Malaysia. Universiti Kerajaan Malaysia.
- [10] Tarigan, J. (1988), *Mikrobiologi*. P2PLTK DIRJEN DIKTI. Jakarta
- [11] Waluyo, L. (2007), *Mikrobiologi Umum*. Malang. UMM Press.