



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar Unand.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Unand.

**UJI DAYA HAMBAT MINYAK ATSIRI DARI DAUN JERUK NIPIS  
(Citrus aurantifolia) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI  
Staphylococcus aureus**

**SKRIPSI**



**AGMELIA ULFA  
1110342013**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS ANDALAS  
PADANG  
2015**

**HALAMAN PERSETUJUAN**

**UJI DAYA HAMBAT MINYAK ATSIRI DARI DAUN JERUK NIPIS  
(*Citrus aurantifolia*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI  
*Staphylococcus aureus***

Oleh :  
**AGMELIA ULFA**

**1110342013**

Skripsi ini telah disetujui dan diperiksa oleh Pembimbing Skripsi

Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Andalas

Padang, 6 Maret 2015

Menyetujui,

**Pembimbing I**



**Defriman Djafri, SKM, MKM, PhD**  
NIP. 198008052005011004

**Pembimbing II**

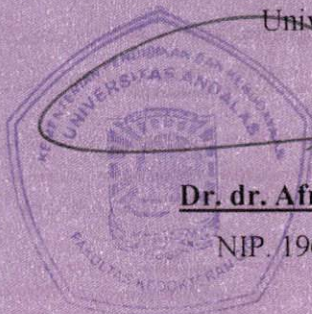


**drg. Aida Fitriana, M.Biomed**  
NIP. 197709212005012002

Mengetahui,

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi

Universitas Andalas



**Dr. dr. Afriwardi, Sp. KO, MA.**

NIP. 196704211997021001

## HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi dengan judul :

**UJI DAYA HAMBAT MINYAK ATSIRI DARI DAUN JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Staphylococcus aureus***

Yang dipersiapkan dan dipertahankan oleh :

**AGMELIA ULFA**

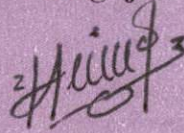
**1110342013**

Telah diuji dan dipertahankan di depan Tim Penguji Skripsi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Andalas pada tanggal 18 Februari 2015 dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Padang, 6 Maret 2015

Menyetujui,

**Penguji I**



**Dr. drg. Nila Kasuma, M.Biomed**

NIP. 197207202000122002

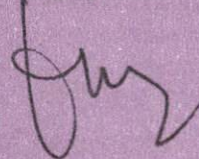
**Penguji II**



**Dra. Yustini Alioes, M.Si, Apt**

NIP. 196006141988112001

**Penguji III**



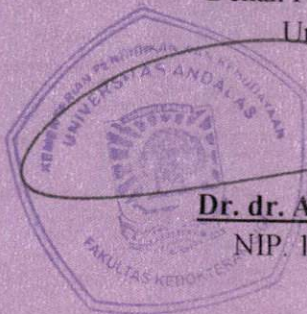
**drg. Didin Kustantiningtyastuty, Sp.Ort**

NIP. 19601161986032003

Mengetahui,

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi

Universitas Andalas



**Dr. dr. Afriwardi, Sp. KO, MA.**

NIP. 196704211997021001

## SKRIPSI

**Judul Skripsi** : UJI DAYA HAMBAT MINYAK ATSIRI DARI DAUN JERUK  
NIPIS (*Citrus aurantifolia*) TERHADAP PERTUMBUHAN  
BAKTERI *Staphylococcus aureus*  
**Peminatan** : Biologi Oral

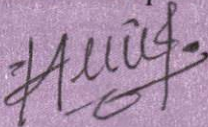
### Data Mahasiswa

Nama lengkap : Agmelia Ulfa  
No.BP : 1110342013  
Tempat/ Tanggal Lahir : Painan/ 2 Agustus 1992  
Tahun Masuk FKG Unand : 2011  
Dosen PA : drg. Kosno Suprianto  
Jenis Penelitian : Eksperimen

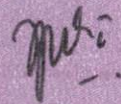
Padang, 6 Maret 2015

Diketahui oleh :

Koordinator Skripsi



Mahasiswa Peneliti



**Dr. drg. Nila Kasuma, M.Biomed**

NIP. 197207202000122002

**Agmelia Ulfa**

No.Bp. 1110342013

## SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Agmelia Ulfa  
No.Bp : 1110342013  
Fakultas : Kedokteran Gigi  
Angkatan : 2011  
Jenjang : Sarjana

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan plagiat dalam penulisan skripsi saya yang berjudul “Uji Daya Hambat Minyak Atsiri dari Daun Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*”.

Apabila terbukti bahwa saya melakukan plagiat, maka saya akan menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Demikian surat keterangan ini saya buat dengan sebenar – benarnya.

Padang, 6 Maret 2015



Agmelia Ulfa

# RIWAYAT HIDUP

## I. Identitas

Nama : Agmelia Ulfa  
BP : 1110342013  
Tempat/ TanggalLahir : Painan/ 2 Agustus 1992  
JenisKelamin : Perempuan  
Agama : Islam  
Alamat : Komp. Filano Jaya II blok cc4/ no.5 Parak  
Kerakah, Padang  
Email : agmelia.ulfa@yahoo.co.id

## II. Riwayat Pendidikan

1. TK Sari Anggrek Bukittinggi : 1998 - 1999
2. SD N 01 Tan Malaka Padang : 1999 - 2005
3. SMPN 8 Padang : 2005 - 2008
4. SMAN 1 Padang : 2008 - 2011
5. FKG Unand Padang : 2011 – sekarang

Padang, 6 Maret 2015

Agmelia Ulfa

Fakultas Kedokteran Gigi  
Universitas Andalas Padang  
Skripsi, Februari 2015

AGMELIA ULFA (1110342013)

**Uji Daya Hambat Minyak Atsiri Dari Daun Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*)  
Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus***

ix + 45 Halaman + 8 Gambar + 5 Tabel + 5 Lampiran

**ABSTRAK**

**Latar belakang dan tujuan** : minyak atsiri dari daun jeruk nipis mempunyai sifat antibakteri karena mengandung senyawa golongan monoterpen hidrokarbon dan golongan monoterpen teroksigenasi yang dapat digunakan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* penyebab infeksi di rongga mulut. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui daya hambat minyak atsiri daun jeruk nipis konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25% terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

**Material dan metode** : metode penelitian yang digunakan adalah eksperimental laboratorium. Minyak atsiri dibuat dengan menggunakan teknik destilasi uap dan etanol 96% sebagai kontrol perlakuan. Cakram direndam di dalam keenam kelompok perlakuan selama 15 menit, kemudian diletakkan pada media *Mueller Hinton Agar (MHA)* yang mengandung bakteri *Staphylococcus aureus* untuk melihat daya hambatnya. Perhitungan daya hambat dilakukan dengan menggunakan kaliper.

**Hasil** : penelitian menunjukkan bahwa etanol 96% tidak menunjukkan adanya daya hambat (0 mm) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, minyak atsiri daun jeruk nipis konsentrasi 100% menunjukkan daya hambat dengan kategori sangat kuat (diameter rata-rata 24,69 mm), minyak atsiri daun jeruk nipis konsentrasi 50% dan 25% menunjukkan daya hambat dengan kategori kuat (diameter rata-rata 13,76mm dan 11,88 mm), minyak atsiri daun jeruk nipis konsentrasi 12,5% menunjukkan daya hambat dengan kategori sedang (diameter rata-rata 9,82 mm), minyak atsiri daun jeruk nipis konsentrasi 6,25% menunjukkan daya hambat dengan kategori lemah (diameter rata-rata 3,89 mm) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Uji statistik *One Way ANOVA* menunjukkan perbedaan bermakna antar semua kelompok perlakuan dengan  $p=0,000$ .

**Kesimpulan** : minyak atsiri dari daun jeruk nipis mempunyai daya hambat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi paling baik adalah konsentrasi 100%.

**Kata kunci** : Minyak atsiri daun jeruk nipis, diameter zona hambat, *Staphylococcus aureus*.

*Faculty of Dentistry  
Andalas University Padang  
Script, February 2015*

**AGMELIA ULFA (1110342013)**

***Inhibition Capacity Test of Essential Oil from Citrus aurantifolia Leaf Toward the Growth of Staphylococcus aureus Bacteria***

*ix + 45 pages + 8 images + 5 table + 5 attachments*

**ABSTRACT**

**Background and purpose :** *essential oil of Citrus aurantifolia leaf has antibacterial properties because it contains compound of monoterpen hydrocarbon group and oxygenated monoterpens group that can be used to inhibit the growth of Staphylococcus aureus bacteria cause infection of the oral cavity. The purpose of this study is to determine inhibitory effect of essential oil from Citrus aurantifolia leaf with concentration 100%, 50%, 25%, 12,5%, and 6,25% toward the growth of Staphylococcus aureus bacteria.*

**Material and Method :** *the research method used experimental laboratory. Essential oil was made using steam destilation technique and ethanol 96% as a control group. Disc was placed in 6 group concentrations for 15 minutes, then placed in Mueller Hinton Agar (MHA) media containing Staphylococcus aureus to see inhibition power. Measurement inhibitory effect was calculated using caliper.*

**Result :** *the result of this study showed that ethanol 96% does not have inhibition power (0 mm) toward Staphylococcus aureus growth, essential oil 100% showed the strongest inhibition power (average diameter 24,69 mm), essential oil 50% and 25% showed strong inhibition power (average diameter 13,76mm and 11,88 mm), essential oil 12,5% showed moderate inhibition power (average diameter 9,82 mm), essential oil 6,25% showed weak inhibition power (average diameter 3,89 mm) toward Staphylcoccus aureus growth. One Way ANOVA test shows significant different among all experimental group with  $p=0,000$ .*

**Conclusion :** *the conclusion of this study is essential oil of Citrus aurantifolia leaf have inhibitory effect in inhibiting the growth of Staphylococcus aureus bacteria with the best concentration is 100%.*

**Keywords :** *Essential oil of Citrus aurantifolia leaf, inhibition zone diameter, Staphylococcus aureus.*

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala petunjuk, kemampuan, dan kekuatan yang telah diberikan-Nya sehingga penulis dapat menyusun skripsi yang berjudul " Uji Daya Hambat Minyak Atsiri dari Daun Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*"

Skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Gigi pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Andalas. Penelitian ini dapat terlaksana berkat bantuan dan pengarahan dari berbagai pihak. Untuk itu penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Bapak Dr.dr. Afriwardi, Sp.Ko, MA selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Andalas,
2. Bapak Defriman Djafri, SKM, MKM. PhD selaku Pembimbing I, dan drg. Aida Fitriana, M.Biomed selaku Pembimbing II yang telah memberikan masukan ilmu pengetahuan, saran, serta kritikan yang membangun dan memberikan pengarahan kepada penulis untuk menyelesaikan usulan penelitian ini.
3. Dr. drg. Nila Kasuma, M.Biomed, Dra. Yustini Alioes, Apt.MSi dan drg. Didin Kustantiningtyastuty, Sp.Ort selaku penguji yang telah memberikan kritik dan saran yang membangun terhadap usulan penelitian ini.
4. drg. Kosno Suprianto selaku pembimbing akademik (PA) yang telah memberikan kritik dan saran yang membangun selama menuntut ilmu.
5. Kedua orang tua tercinta, kakak-kakak, dan seluruh keluarga besar yang saya sayangi yang telah memberikan doa, semangat, masukan, dan motivasi.
6. Para Dosen dan Staf Kependidikan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Andalas.

7. Para sahabat dan seluruh teman – teman angkatan 2011 terkhususnya buat sahabat saya Nadia, Finnie, Nova, dan Indah yang telah memberikan doa, dukungan, motivasi, bantuan dan semangat selama penulisan usulan penelitian ini.
8. Semua pihak yang telah memberikan bantuan dalam penyelesaian usulan penelitian ini yang namanya tidak dapat saya sebutkan satu per satu.

Peneliti menyadari bahwa usulan penelitian ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu dengan segala kerendahan hati peneliti mengharapkan kritik dan saran yang membangun demi kesempurnaan usulan penelitian ini.

Akhir kata, semoga usulan penelitian ini dapat bermanfaat bagi semua pihak, khususnya bagi peneliti dan para pembaca pada umumnya, Amin.

Padang, Februari 2015

Peneliti

## DAFTAR ISI

JUDUL

HALAMAN PERSETUJUAN

ABSTRAK

ABSTRACT

KATA PENGANTAR..... i

DAFTAR ISI..... iii

DAFTAR GAMBAR..... vii

DAFTAR TABEL..... viii

DAFTAR LAMPIRAN..... ix

BAB I PENDAHULUAN..... 1

1.1 Latar Belakang..... 1

1.2 Perumusan Masalah..... 5

1.3 Tujuan Penelitian..... 6

1.3.1 Tujuan Umum..... 6

1.3.2 Tujuan Khusus..... 6

1.4 Manfaat Penelitian..... 7

1.5 Ruang Lingkup Penelitian..... 7

BAB II TINJAUAN PUSTAKA..... 8

2.1 Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*)..... 8

2.1.1 Klasifikasi Ilmiah..... 8

2.1.2 Morfologi Jeruk Nipis..... 9

2.1.3 Kandungan dan Kegunaan Jeruk Nipis.....	9
2.2 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	10
2.2.1 Defenisi Umum.....	10
2.2.2 Klasifikasi Ilmiah.....	11
2.2.3 Karakteristik dan Morfologi.....	11
2.3 Ekstraksi Minyak Atsiri.....	13
2.4 Mekanisme Antibakteri Minyak Atsiri Daun Jeruk Nipis.....	14
2.5 Kerangka Teori.....	17
<b>BAB III KERANGKA KONSEP DAN DEFINISI OPERASIONAL.....</b>	<b>20</b>
3.1 Kerangka Konsep.....	20
3.2 Variabel Penelitian.....	21
3.2.1 Variabel Independen.....	21
3.2.2 Variabel Dependen.....	21
3.2.3 Variabel Terkendali.....	21
3.3 Definisi Operasional.....	22
3.4 Hipotesis Penelitian.....	23
<b>BAB IV METODOLOGI PENELITIAN.....</b>	<b>24</b>
4.1 Jenis Penelitian.....	24
4.2 Lokasi Penelitian.....	24
4.3 Waktu Penelitian.....	24
4.4 Populasi dan Sampel.....	24

4.4.1 Populasi.....	24
4.4.2 Sampel.....	24
4.4.3 Besar Sampel.....	25
4.5 Alat dan Bahan Penelitian.....	26
4.5.1 Alat Penelitian.....	26
4.5.2 Bahan Penelitian.....	27
4.6 Prosedur Penelitian.....	27
4.6.1 Sterilisasi Alat.....	27
4.6.2 Pembuatan Media Bakteri.....	27
4.6.3 Pemiakan Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	28
4.6.4 Pembuatan Minyak Atsiri Daun Jeruk Nipis.....	28
4.6.5 Uji Daya Hambat Minyak Atsiri Daun Jeruk Nipis.....	29
4.6.6 Cara Pengukuran Zona Hambat.....	30
4.7 Pengolahan dan Analisa Data.....	31
4.8 Alur Penelitian.....	33
<b>BAB V HASIL PENELITIAN.....</b>	<b>34</b>
<b>BAB VI PEMBAHASAN.....</b>	<b>39</b>
<b>BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>44</b>
7.1 Kesimpulan.....	44
7.2 Saran.....	45

**KEPUSTAKAAN**

**LAMPIRAN**

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Buah Jeruk Nipis beserta Daunnya.....	9
Gambar 2.2 Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	11
Gambar 2.3 Kerangka Teori.....	17
Gambar 3.1 Kerangka Konsep .....	20
Gambar 4.1 Cara Mengukur Zona Hambat.....	31
Gambar 4.2 Alur Penelitian.....	33
Gambar 5.1 Cakram yang telah direndam bahan uji.....	34
Gambar 5.2 Zona hambat yang terbentuk pada media uji.....	35

## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Telaah Sistematis Efektifitas Minyak Atsiri Daun Jeruk Nipis Terhadap Aktivitas Antibakteri.....	18
Tabel 3.1 Aktivitas Antibakteri Menurut Davis Stout.....	23
Tabel 5.1 Rata-rata diameter zona hambat kelompok perlakuan.....	35
Tabel 5.2 Hasil Uji LSD seluruh kelompok perlakuan.....	37
Tabel 5.3 Frekuensi kategori zona hambat pada semua perlakuan.....	38

## **DAFTAR LAMPIRAN**

Lampiran 1: Surat permohonan izin penelitian dari FKG

Lampiran 2: Surat keterangan selesai penelitian Laboratorium KOBA FMIPA

Lampiran 3: Surat keterangan selesai penelitian Laboratorium Mikrobiologi

Lampiran 4: Master Tabel dan Hasil SPSS

Lampiran 5: Dokumentasi penelitian

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Minyak atsiri merupakan salah satu jenis minyak nabati yang multimanfaat. Bahan baku minyak ini diperoleh dari berbagai tanaman seperti daun, bunga, buah, biji, kulit biji, batang, akar, atau rimpang (Rusli, M.S, 2010). Minyak atsiri dikenal juga sebagai minyak eteris (*aetheric oil*), minyak esensial (*essential oil*), minyak terbang (*volatile oil*), serta minyak aromatik (*aromatic oil*). Minyak atsiri merupakan produk hasil penyulingan dengan uap dari bagian-bagian suatu tumbuhan (Sudaryani dan Sugiharti, 1999).

Indonesia merupakan negara yang cukup berpotensi dalam produksi minyak atsiri. Penggunaan minyak atsiri dari bahan alam sebagai obat semakin diminati masyarakat, seiring dengan gerakan “kembali ke alam” (*back to nature*) yang dilakukan masyarakat. Data statistik ekspor-impor dunia menunjukkan bahwa konsumsi minyak atsiri naik sekitar 8-10% dari tahun ke tahun (Effendi dan Widjanarko, 2014).

Tanaman obat peranannya dalam pola konsumsi makanan, minuman, dan obat-obatan semakin penting. Dengan meningkatnya kesadaran manusia terhadap pemanfaatan sumber daya alam, maka pemanfaatan produk herbal semakin berkembang, tidak hanya di negara-negara timur saja, melainkan juga ke negara-negara barat. Data WHO menunjukkan bahwa permintaan produk herbal di

negara-negara Eropa pada tahun 1999-2004 diperkirakan mencapai 66% dari permintaan dunia (Arniputri dkk, 2007)

Minyak atsiri pada bidang industri banyak digunakan sebagai bahan pembuat kosmetik, parfum, antiseptik, dan lain-lain. Beberapa jenis minyak atsiri mampu bertindak sebagai bahan terapi atau bahan obat suatu jenis penyakit. Fungsi minyak atsiri sebagai obat tersebut disebabkan adanya bahan aktif, sebagai contoh bahan anti radang, analgetik, anestetik, antiseptik, psikoaktif, dan anti bakteri (Arniputri dkk, 2007).

Tanaman genus *Citrus* merupakan salah satu tanaman penghasil minyak atsiri (Astarini dkk, 2009). Menurut data FAO pada tahun 2006, tanaman genus *Citrus* merupakan tanaman kedua di dunia dengan jumlah produksi terbanyak yaitu mencapai 108 juta ton produksi. Salah satu tanaman genus yang dikenal masyarakat adalah jenis genus *Citrus aurantifolia* atau jeruk nipis. Menurut Abdul Razak dkk, jeruk nipis juga digunakan sebagai penambah nafsu makan, penurun panas (antipireutik), diare, menguruskan badan, antiinflamasi, dan antibakteri. Bagian dari tanaman jeruk nipis yang memiliki kandungan minyak atsiri adalah pada daunnya. Daun jeruk nipis juga mempunyai sifat antibakteri (Yuliani dkk, 2011).

Rongga mulut merupakan tempat berkumpulnya ragam mikroorganisme atau disebut juga mikroba mulut. Mikroba-mikroba yang terdapat di dalam mulut tersebut bisa bermanfaat ataupun bisa menimbulkan penyakit atau masalah. Mulut menjadi tempat yang ideal untuk tumbuh dan berkembangnya mikroorganisme tersebut karena mulut memiliki kelembaban serta memiliki asupan makanan yang

teratur. Bakteri yang terdapat di dalam mulut di antaranya adalah *Streptococcus mutans*, *Streptococcus viridians*, *Staphylococcus aureus epidermis*, *Staphylococcus pneumonia* dan *Staphylococcus aureus* (Y.Ohara-Nemoto, 2008). *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri penyebab intoksikasi dan terjadinya berbagai macam infeksi. Bakteri ini menyebabkan timbulnya penyakit dengan tanda-tanda yang khas seperti nekrosis, peradangan dan pembentukan *abses* dalam rongga mulut (Hayati, 2009).

Bakteri *Staphylococcus aureus* ini telah dikenal sejak lama sebagai patogen di bidang medis, tetapi hanya sedikit penelitian mengenai *Staphylococcus aureus* di rongga mulut dilakukan (Cia, 2004). *Staphylococcus aureus* merupakan flora normal dalam rongga mulut yang dapat berubah menjadi patogen bila terjadi trauma atau abrasi pada permukaan mukosa (Sri, 2009). Pada banyak penelitian dikatakan keterkaitan bakteri *Staphylococcus aureus* ini pada terjadinya *denture stomatitis*. *Denture stomatitis* terjadi oleh karena tekanan gigi tiruan pada permukaan mukosa sehingga terjadi perubahan lingkungan mikroorganisme rongga mulut dan menyebabkan infeksi pada mukosa. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Monroy *et al* pada tahun 2005 didapatkan hasil bahwa prevalensi bakteri *Staphylococcus aureus* pada membran mukosa pemakai gigi tiruan sebesar 52,4 %. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Batubara pada tahun 2007 juga tidak jauh berbeda dengan Monroy, dimana didapatkan hasil bahwa prevalensi *Staphylococcus aureus* pada pasien *denture stomatitis* sebesar 50%.

Bakteri *Staphylococcus aureus* juga menjadi penyebab terbentuknya *abses* pada rongga mulut. *Abses* merupakan suatu penyakit infeksi yang ditandai oleh

adanya lubang yang berisi nanah (*pus*) dalam jaringan (Robertson dan Smith, 2009). Bakteri *Staphylococcus aureus* mengalami peningkatan prevalensi pada abses dental akut yaitu dari 0,7% menjadi 15% (Shweta, 2013). Pola penyebaran abses dipengaruhi oleh 3 kondisi, yaitu virulensi bakteri, ketahanan jaringan, dan perlekatan otot. Virulensi bakteri yang tinggi mampu menyebabkan bakteri bergerak secara leluasa ke segala arah. Pemberian obat antibiotik dan analgesik dapat diberikan untuk mengatasi hal tersebut, tetapi karena pemakaian antibiotik yang tidak sesuai sering menimbulkan resistensi. Resistensi bakteri yang terjadi dapat menimbulkan kekhawatiran munculnya *multidrug resistant* yang pada gilirannya akan semakin mempersulit proses terapi penderita penyakit infeksi (Najah, 2012; Wertheim *et al*, 2005). Dalam rangka menanggulangi tingginya angka resistensi obat antibiotik, obat herbal mulai dikembangkan. Salah satu obat herbal yang dapat digunakan sebagai obat antibakteri tersebut adalah minyak atsiri dari daun jeruk nipis seperti uraian diatas.

Penelitian yang dilakukan Hertiani dkk pada tahun 2011 tentang pengaruh minyak atsiri dari beberapa tanaman obat Indonesia terhadap *Streptococcus mutans* menggunakan metode dilusi didapatkan bahwa kadar hambat minimum minyak atsiri daun jeruk nipis terhadap *Streptococcus mutans* adalah 0,06% dan kadar bunuh minimum minyak atsiri daun jeruk nipis terhadap *Streptococcus mutans* adalah > 0,6%. Penelitian yang dilakukan Razak dkk pada tahun 2013 tentang uji daya hambat air perasan jeruk nipis didapatkan bahwa air perasan jeruk nipis mampu menghambat aktivitas bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%.

Penelitian yang dilakukan Dongmo dkk pada tahun 2009 tentang aktivitas antifungi minyak atsiri daun jeruk nipis terhadap *Phaeoramularia angolensis* didapatkan bahwa minyak atsiri daun jeruk nipis mempunyai aktivitas antifungi terhadap *Phaeoramularia angolensis*. Penelitian yang dilakukan Reddy dkk pada tahun 2012 tentang uji antibakteri dan antioksidan minyak atsiri daun jeruk nipis dan ekstrak daun jeruk nipis didapatkan hasil bahwa minyak atsiri dari daun jeruk nipis memiliki aktivitas antibakteri yang lebih baik dibandingkan dengan ekstrak daun jeruk nipis. Penelitian yang dilakukan oleh Astarini dkk pada tahun 2009 terkait minyak atsiri dari kulit buah jeruk nipis jenis *Citrus grandis*, *Citrus aurantium*, dan *Citrus aurantifolia* didapatkan hasil bahwa ketiga jenis *Citrus* tersebut memiliki sifat antibakteri dan insektisida.

Berdasarkan uraian diatas, maka penulis ingin meneliti bagaimana daya hambat minyak atsiri dari daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25% terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yang merupakan penyebab infeksi di rongga mulut.

## 1.2 Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan diatas, maka didapatkan rumusan masalah dari penelitian ini yaitu bagaimanakah daya hambat minyak atsiri dari daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ?

## 1.3 Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya hambat minyak atsiri dari daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

### 1.3.2 Tujuan Khusus

1. Untuk mengetahui daya hambat minyak atsiri dari daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) konsentrasi 100% terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.
2. Untuk mengetahui daya hambat minyak atsiri dari daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) konsentrasi 50% terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.
3. Untuk mengetahui daya hambat minyak atsiri dari daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) konsentrasi 25% terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.
4. Untuk mengetahui daya hambat minyak atsiri dari daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) konsentrasi 12,5% terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.
5. Untuk mengetahui daya hambat minyak atsiri dari daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) konsentrasi 6,25% terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

6. Untuk mengetahui konsentrasi paling baik dari minyak atsiri dari daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

#### **1.4 Manfaat Penelitian**

1. Memberikan kontribusi pada perkembangan ilmu pengetahuan serta menambah wawasan kepada dokter gigi dan masyarakat umum tentang salah satu manfaat minyak atsiri daun jeruk nipis sebagai antimikroba.
2. Sebagai bahan rujukan terhadap pelaku industri obat-obatan sehingga dapat memanfaatkan kandungan minyak atsiri daun jeruk nipis sebagai antibakteri.
3. Dapat dijadikan obat kumur pada penderita infeksi rongga mulut.
4. Sebagai informasi ilmiah bagi pemerintah dalam pengembangan tanaman obat.
5. Sebagai sumber pembandingan untuk penelitian selanjutnya.

#### **1.5 Ruang Lingkup Penelitian**

Ruang lingkup penelitian ini membahas tentang daya hambat minyak atsiri daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5% dan 6,25% terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*)

Pada daerah-daerah tertentu, jeruk nipis dikenal dengan istilah yang berbeda-beda, diantaranya : Kelangsa (Aceh), Jeruk pecel (Jawa), Jeruk nipis (Sunda), Lemau nepi (Kalimantan), Jeruk dhurga (Madura), Jeruk alit (Nusa Tenggara), Putat ebi (Maluku), dan Mudutelang (Flores) (Dalimarta, 2000).

##### 2.1.1 Klasifikasi Ilmiah

Klasifikasi ilmiah dari jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) adalah :

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Subdivisi	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Dicotyledonae</i>
Ordo	: <i>Rutales</i>
Famili	: <i>Rutaceae</i>
Genus	: <i>Citrus</i>
Spesies	: <i>Citrus aurantifolia</i> (Riset Teknologi Pertanian, 2000).



Gambar 2.1 Buah jeruk nipis beserta daunnya (Anonim, 2014)

### 2.1.2 Morfologi Jeruk Nipis

Jeruk nipis termasuk salah satu jenis tumbuhan perdu yang banyak memiliki dahan dan ranting. Tingginya sekitar 0,5–3,5 meter. Batang pohonnya berkayu ulet, berduri dan keras, sedangkan permukaan kulit luarnya berwarna tua dan kusam. Daunnya majemuk, berbentuk elips dengan pangkal membulat. Bunganya berukuran majemuk atau tunggal yang tumbuh di ketiak daun atau di ujung batang dengan diameter 1,5-2,5 cm. Buahnya berbentuk bulat sebesar bola pingpong dengan diameter 3,5-5 cm, kulit luar berwarna hijau atau kekuning-kuningan. Buah jeruk nipis yang sudah tua rasanya asam. Tanaman jeruk umumnya menyukai tempat-tempat yang dapat memperoleh sinar matahari langsung (Dalimarta, 2006).

### 2.1.3 Kandungan dan Kegunaan Jeruk Nipis

Beberapa bahan kimia yang terkandung dalam jeruk nipis diantaranya adalah *asam sitrat* sebanyak 7-7,6%, *dammar lemak*, *mineral*, *vitamin B1*, *sitralimonene*, *fellandren*, *lemon kamfer*, *geranil asetat*, *cadinen*, *linalin asetat*. Selain

itu, jeruk nipis juga mengandung vitamin C sebanyak 27mg/100 gr jeruk, Ca sebanyak 40mg/100 gr jeruk, dan P sebanyak 22 mg (Hariana, 2006).

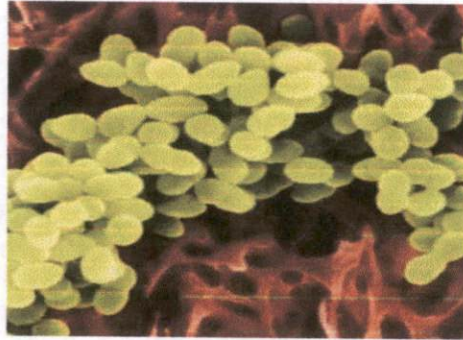
Senyawa kimia yang dihasilkan minyak atsiri daun jeruk nipis adalah *limonen*, *β pinen*, *sabinen*, *(E)-β-Ocimene*, *α-pinen*, dan *myrcene* yang merupakan golongan monoterpen hidrokarbon, dan *linalool*, *geranial*, *neral*, *citronellol*, *geranilasetat*, *nerilasetat*, *geraniol*, dan *nerol* yang merupakan golongan monoterpen teroksigenasi (Lota dkk, 2002; Dongmo dkk, 2009).

Jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dapat dijadikan obat tradisional yang berkhasiat mengurangi demam, batuk, infeksi saluran kemih, ketombe, menambah stamina, mengurangi jerawat serta sebagai anti-inflamasi dan antimikroba (Astarini *et al*, 2010).

## **2.2 Staphylococcus aureus**

### **2.2.1 Defenisi Umum**

*Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) merupakan nama spesies yang merupakan bagian dari genus *Staphylococcus*. Bakteri ini pertama kali diamati dan dibiakkan oleh Pasteur dan Koch, kemudian diteliti secara lebih terinci oleh Ogston dan Rosenbach pada era tahun 1880-an. Nama genus *Staphylococcus* diberikan oleh Ogston karena bakteri ini pada pengamatan mikroskopis berbentuk seperti setangkai buah anggur, sedangkan nama spesies *aureus* diberikan oleh Rosenbach karena pada biakan murni, koloni bakteri ini terlihat berwarna kuning keemasan (Franklin, 1998).



Gambar 2.2 Gambar *Staphylococcus aureus* (Franklin, 1998)

### 2.2.2 Klasifikasi Ilmiah

Domain	: <i>Bacteria</i>
Kingdom	: <i>Eubacteria</i>
Phylum	: <i>Firmicutes</i>
Class	: <i>Bacilli</i>
Ordo	: <i>Bacillales</i>
Family	: <i>Staphylococcaceae</i>
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Species	: <i>S.aureus</i> (Jawetz, 1995)

### 2.2.3 Karakteristik dan Morfologi

*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram Positif berbentuk bulat berdiameter 0,7-1,2 $\mu$ m, tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur, fakultatif anaerob, tidak membentuk spora, dan tidak bergerak. Bakteri ini tumbuh pada suhu optimum 37°C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25°C). Koloni pada perbenihan padat berwarna abu-abu sampai kuning keemasan, berbentuk bundar, halus, menonjol, dan berkilau. Lebih dari 90% isolat klinik menghasilkan *S.aureus* yang mempunyai

kapsul polisakarida atau selaput tipis yang berperan dalam virulensi bakteri (Fischetti *et al*, 2000). Bakteri gram positif adalah bakteri yang memiliki ketahanan terhadap alkohol. Ketahanan ini disebabkan oleh susunan lapisan luar dinding sel bakteri yang terdiri atas *peptidoglikan* dan *asam teikoat*, kedua lapisan ini tidak memiliki susunan lipida (lemak) yang dapat luntur ketika berikatan dengan alkohol (Brown, 2013).

Bakteri ini tumbuh subur pada lingkungan yang kaya oksigen dan mudah tumbuh pada berbagai media, bermetabolisme aktif dengan memfermentasi karbohidrat dan menghasilkan pigmen yang beragam mulai dari pigmen berwarna putih sampai kuning tua. Ketika bakteri ini tumbuh pada media *nutrient agar* dan diinkubasi selama 24 jam koloni terlihat bundar, halus, cembung, mengkilat, opak (buram), dengan diameter 2-4. Koloni pada perbenihan padat berwarna abu-abu sampai kuning keemasan dan berkilau (Sri, 2009).

Penyakit yang disebabkan oleh bakteri ini memproduksi nanah, oleh karena itu bakteri ini disebut piogenik. *Staphylococcus aureus* juga menghasilkan katalase, yaitu enzim yang mengkonversi  $H_2O_2$  menjadi  $H_2O$  dan  $O_2$  dan koagulase, yaitu enzim yang menyebabkan fibrin berkoagulasi dan menggumpal. Koagulasi diasosiasikan dengan patogenitas karena penggumpalan fibrin yang disebabkan oleh enzim ini terakumulasi di sekitar bakteri sehingga agen pelindung inang kesulitan mencapai bakteri dan fagositosis terhambat (Madigan, 2012).

Infeksi *S.aureus* ditandai dengan kerusakan jaringan yang disertai abses bernanah. Beberapa penyakit infeksi yang disebabkan *S.aureus* adalah bisul, jerawat, impetigo, dan infeksi luka. Infeksi yang lebih berat diantaranya

pneumonia, meningitis, infeksi saluran kemih, osteomielitis, dan endokarditis. *Staphylococcus aureus* juga merupakan penyebab utama infeksi nosokomial, keracunan makanan dan sindroma syok toksik (Sri, 2009).

Bakteri ini mempunyai peranan penting dalam menyebabkan maupun memperparah penyakit pada rongga mulut dan dapat menyebabkan *abses gingival*, *angular cheilitis* dan *denture stomatitis* (Warbung, 2013). Bakteri *Staphylococcus aureus* ini ditemukan mempunyai prevalensi tinggi pada pasien *denture stomatitis*. Kebanyakan infeksi yang berasal dari rongga mulut bersifat campuran (polimikrobial), biasanya terdiri dari dua kelompok mikroorganisme atau lebih dan biasanya infeksi rongga mulut ini disebabkan oleh *streptococcus* dan *staphylococcus* (Gordon, 1996).

### 2.3 Ekstraksi Minyak Atsiri

Ekstraksi minyak atsiri dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu metode penyulingan (*distillation*), pengepresan (*pressing*), ekstraksi dengan pelarut menguap (*solvent extraction*), serta ekstraksi dengan lemak.

Metode penyulingan atau destilasi merupakan metode yang paling banyak digunakan secara luas di seluruh dunia. Terdapat beberapa teknik yang digunakan untuk mendestilasi minyak atsiri diantaranya adalah destilasi air (*hydrodestillation*), destilasi air dan uap (*water and steam distillation*), serta destilasi uap (*steam distillation*) (Prasetyawati, 2011). Pada destilasi air, tanaman yang akan disuling akan mengalami kontak langsung dengan air mendidih, oleh karena itu sering disebut penyulingan langsung. Penyulingan dengan cara

langsung ini dapat menyebabkan banyaknya rendemen minyak yang hilang (tidak tersuling) dan terjadi pula penurunan mutu minyak yang diperoleh. Pada destilasi air dan uap, bahan tanaman yang akan disuling diletakkan di atas rak-rak atau saringan berlubang, serta bahan tanaman tersebut hanya akan berhubungan dengan uap dan tidak dengan air panas. Sedangkan pada destilasi uap, prinsipnya hampir sama dengan penyulingan langsung, hanya saja air penghasil uap tidak diisikan bersama-sama dalam ketel penyulingan serta diperlukan alat tambahan untuk memeriksa suhu dan tekanan (Djamal, 2010).

#### **2.4 Mekanisme Antibakteri Minyak Atsiri Daun Jeruk Nipis**

Antibakteri merupakan sifat dari suatu bahan yang menunjukkan efek penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri. Penghambatan pertumbuhan bakteri dibedakan menjadi 2 sifat, yaitu bakterisidal dan bakteriostatik. Suatu bahan disebut bersifat bakterisidal jika mampu membunuh bakteri, sedangkan sifat bakteriostatik hanya menghambat pertumbuhan bakteri. Bahan antibakteri dapat bersifat bakteriostatik pada konsentrasi rendah, namun bersifat bakterisidal pada konsentrasi tinggi. Mekanisme kerja bahan antibakteri dibagi menjadi 3 jenis, yaitu antibakteri yang menghambat sintesis asam nukleat, menghambat sintesis dinding sel, dan menghambat sintesis protein (Neal, 2002).

Senyawa utama minyak atsiri daun jeruk nipis yang mempunyai efek antimikroba terdiri dari golongan monoterpen hidrokarbon (*limonene*,  $\beta$  *pinen*, *sabinen*, (*E*)- $\beta$ -*Ocimene*,  $\alpha$ -*pinen*, *myrcene*) dan golongan monoterpen

teroksigenasi (*linalool, geranial, geraniol, neral, nerol, citronellol, geranil acetat, dan neril acetat*) (Lota dkk, 2002).

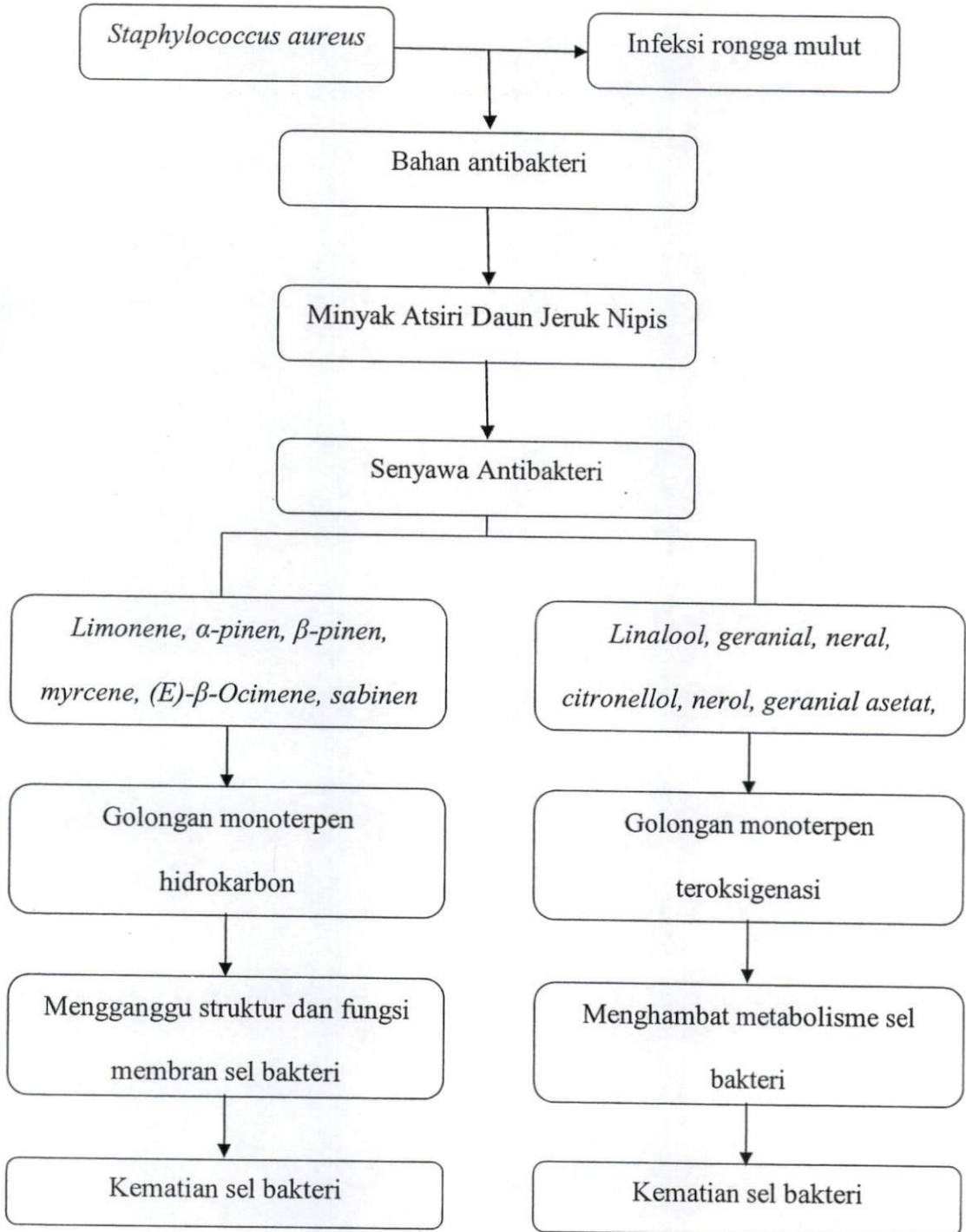
Mekanisme golongan monoterpen hidrokarbon dalam menghambat pertumbuhan bakteri atau membunuh bakteri adalah mengganggu struktur dan fungsi membran sel bakteri dengan cara senyawa ini berakumulasi pada jaringan lipid membran sel yang menyebabkan pembengkakan sel, perubahan permeabilitas membran sel dan kehilangan integritas membran sel yang mengakibatkan kebocoran membran dan komponen sitoplasma sehingga sel menjadi mengkerut dan akhirnya sel mati (Miksusanti, 2008).

Mekanisme golongan monoterpen hidrokarbon teroksigenasi dalam menghambat pertumbuhan bakteri adalah menghambat metabolisme bakteri dengan cara mengganggu proses transpor proton dan nutrisi ke dalam sel yang akan menghambat pembentukan ATP dan terhambatnya pertumbuhan sel yang akhirnya menyebabkan kematian sel (Miksusanti, 2008).

Golongan monoterpen teroksigenasi mempunyai turunan senyawa diantaranya adalah alkohol, aldehyd, dan ester (Regianto, 2009). *Linallol, nerol, geraniol*, dan *citronellol* merupakan turunan alkohol yang bekerja dengan mendenaturasi protein sel bakteri dan menginaktifkan enzim-enzim bakteri sehingga mengganggu proses metabolisme bakteri yang menyebabkan kematian sel bakteri (Radji dkk, 2007; Darjaz, 2013). *Geranial* dan *neral* merupakan turunan aldehyd yang bekerja dengan mendenaturasi protein sel bakteri dan menginaktifkan enzim-enzim bakteri yang menyebabkan proses metabolisme bakteri terganggu sehingga mengakibatkan kematian sel bakteri dan aldehyd

memiliki efek antimikroba yang kuat (Darjaz, 2013). *Geranil acetat* dan *neril acetat* merupakan turunan ester yang mempunyai efek antibakteri lemah ( Karkala dkk, 2009).

## 2.5 Kerangka Teori



Gambar 2.3 Kerangka Teori

**Tabel 2.1 Telaah Sistematis Efektifitas Minyak Atsiri Daun Jeruk Nipis Terhadap Aktivitas Antibakteri**

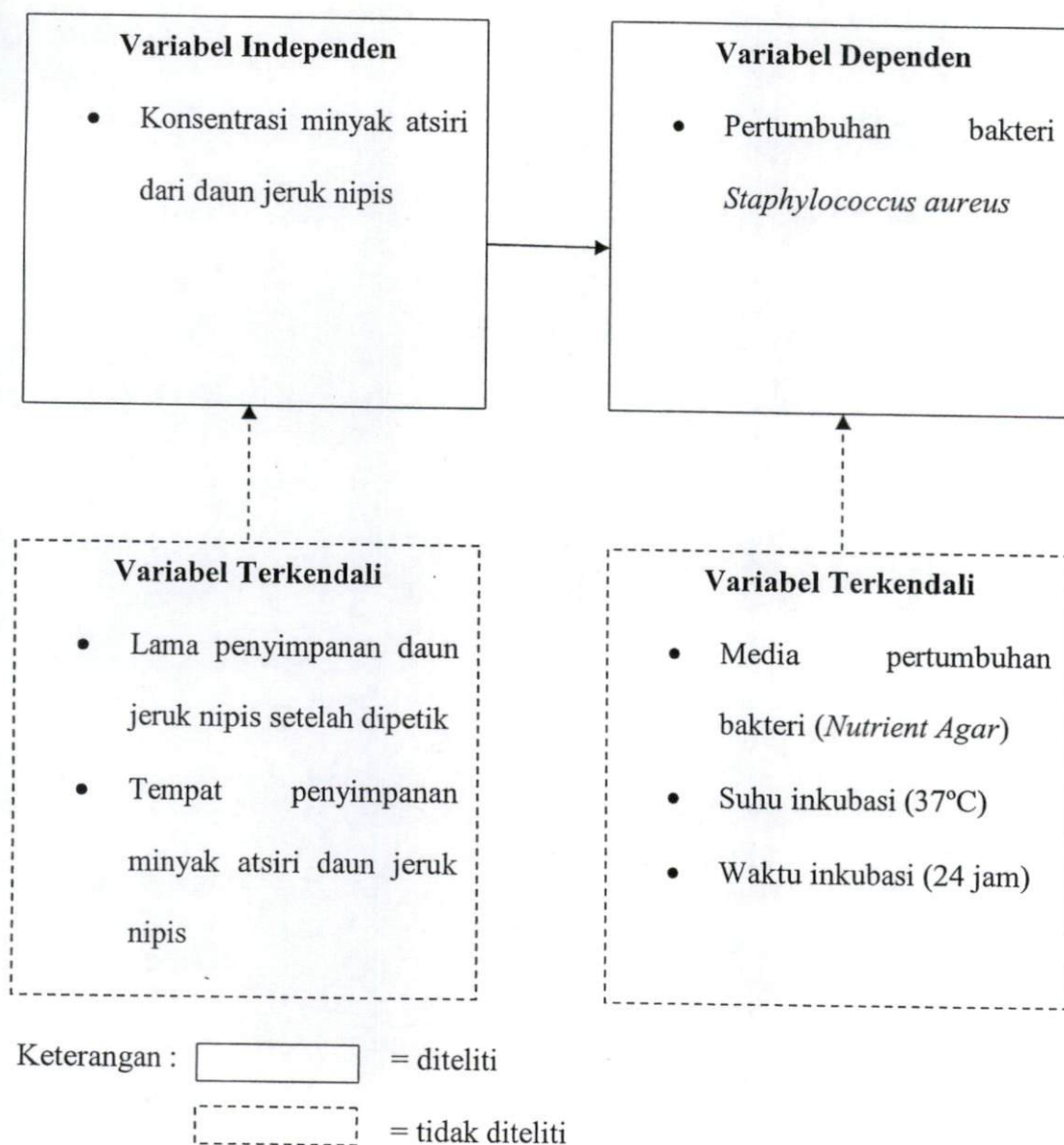
Penulis	Judul	Desain	Variabel	Hasil	Komentar
L. Joji Reddy, Reshma Devi Jalli, Beena Jose, dan Spandana Gopu (2012)	Evaluation of Antibacterial and Antioxidant Activities of the Leaf Essential Oil and Leaf Extract of <i>Citrus aurantifolia</i>	Eksperimental Laboratorium	Pertumbuhan bakteri Gram Positif dan Gram Negatif	Minyak atsiri dari daun jeruk nipis dan ekstrak daun jeruk nipis memiliki aktivitas antibakteri	Minyak atsiri daun jeruk nipis memiliki aktivitas antibakteri yang lebih efektif dibandingkan ekstrak daun jeruk nipis
Triana Hertiani, Sylvia Utami Tanjung Pratiwi, Irami Duma Kencana Irianto, Dian	Effects of Indonesian Medicinal Plants Essential Oils on <i>Streptococcus mutans</i> Biofilm	Eksperimental Laboratorium	Pertumbuhan <i>Streptococcus</i> <i>mutans</i> biofilm	Minyak atsiri dari beberapa tanaman didapatkan hasil bahwa minyak atsiri tanaman tersebut mampu	Penelitian menggunakan metode dilusi.

Adityaningrum, dan Budi Pranoto (2011)				menghambat pertumbuhan Streptococcus mutan	
Setiyaningrum (2010)	Isolasi, Identifikasi dan Uji Antibakteri Minyak Atsiri Daun Jeruk Nipis ( <i>Citrus aurantifolia</i> (Christm. & Panz.) Swingle) pada Udara Ruangan dengan Teknik Uji <i>Culture</i> <i>Settling Plate</i>	Eksperimental Laboratorium	Pertumbuhan bakteri di udara	Minyak atsiri daun jeruk nipis mampu mengurangi kandungan bakteri di udara.	Bakteri yang di uji adalah bakteri gram positif

## BAB III

### KERANGKA KONSEP DAN DEFINISI OPERASIONAL

#### 3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Kerangka Konsep

### 3.2 Variabel Penelitian

#### 3.2.1 Variabel Independen

Variabel independen dalam penelitian ini adalah :

- a. Kelompok I : Minyak atsiri daun jeruk nipis 100%
- b. Kelompok II : Minyak atsiri daun jeruk nipis 50%
- c. Kelompok III : Minyak atsiri daun jeruk nipis 25%
- d. Kelompok IV : Minyak atsiri daun jeruk nipis 12,5%
- e. Kelompok V : Minyak atsiri daun jeruk nipis 6,25%
- f. Kelompok VI : Etanol 96% sebagai kontrol perlakuan

#### 3.2.2 Variabel Dependen

Variabel dependen dalam penelitian ini adalah daya hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada masing-masing perlakuan.

#### 3.2.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah :

- a. Media *Nutrient Agar* sebagai media pertumbuhan dari bakteri *Staphylococcus aureus*
- b. Suhu inkubasi 37°C
- c. Waktu inkubasi 24 jam
- d. Lama penyimpanan daun jeruk nipis
- e. Tempat penyimpanan minyak atsiri daun jeruk nipis
- f. Pemakaian alat dan bahan yang steril

### 3.3 Definisi Operasional

- a. Minyak atsiri daun jeruk nipis adalah suatu senyawa organik yang dihasilkan dari daun jeruk nipis dan bersifat mudah menguap.

Konsentrasi minyak atsiri daun jeruk nipis adalah persentase volume per volume (% v/v) minyak atsiri daun jeruk nipis dalam pelarut etanol 96%.

Minyak atsiri daun jeruk nipis 100% adalah minyak atsiri murni yang diperoleh dari daun jeruk nipis tanpa ditambahkan pelarut. Minyak atsiri daun jeruk nipis 50% didapatkan dari 1 ml minyak atsiri daun jeruk nipis yang dilarutkan ke dalam 1 ml pelarut, minyak atsiri daun jeruk nipis 25% didapatkan dari 0,5 ml minyak atsiri daun jeruk nipis yang dilarutkan ke dalam 1,5 ml pelarut, minyak atsiri daun jeruk nipis 12,5% didapatkan dari 0,25 ml minyak atsiri daun jeruk nipis yang dilarutkan ke dalam 1,75 ml pelarut, serta minyak atsiri daun jeruk nipis 6,25% didapatkan dari 0,125 ml minyak atsiri daun jeruk nipis yang dilarutkan ke dalam 1,875 ml pelarut.

$$\% \text{ v/v} = \frac{\text{ml zat terlarut} \times 100\%}{\text{ml larutan}}$$

Cara ukur : menghitung konsentrasi minyak atsiri dengan rumus v/v

Alat ukur : gelas ukur

Skala ukur : rasio

Hasil ukur : minyak atsiri konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25%

- b. Diameter zona hambat *Staphylococcus aureus* adalah diameter zona dimana *Staphylococcus aureus* tidak tumbuh ditandai dengan zona bening yang diukur dengan kaliper dengan satuan millimeter.

Cara ukur : mengukur diameter terpanjang zona bening disekitar cakram

Alat ukur : kaliper

Hasil ukur : diameter terpanjang (mm) zona bening

Skala ukur : ordinal

Tabel 3.1 Aktivitas antibakteri menurut Davis Stout (Rokhman, 2007)

Aktivitas Antibakteri	Diameter Zona Hambat (mm)
Lemah	< 5 mm
Sedang	5 – 10 mm
Kuat	10 – 20 mm
Sangat Kuat	> 20 mm

### 3.4 Hipotesis Penelitian

- a. Minyak atsiri daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) mempunyai daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.
- b. Terdapat perbedaan daya hambat minyak atsiri daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) pada konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25% terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

## **BAB IV**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **4.1 Jenis Penelitian**

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental laboratorium.

#### **4.2 Lokasi Penelitian**

Pembuatan ekstraksi minyak atsiri dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam FMIPA Universitas Andalas, sedangkan penelitian uji antibakteri dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi RSUP. DR. M. Djamil.

#### **4.3 Waktu Penelitian**

Penelitian dilakukan pada bulan Oktober 2014 hingga selesai.

#### **4.4 Populasi dan Sampel**

##### **4.4.1 Populasi**

Populasi dalam penelitian ini adalah bakteri *Staphylococcus aureus*.

##### **4.4.2 Sampel**

Sampel dalam penelitian ini adalah biakan murni bakteri *Staphylococcus aureus* yang berasal dari Laboratorium Mikrobiologi RSUP DR. M. Djamil.

#### 4.4.3 Besar Sampel

Besar sampel pada penelitian ini menggunakan rumus Federer :

$$(t-1)(n-1) \geq 15$$

Keterangan : t = jumlah perlakuan

n = jumlah sampel

penelitian ini menggunakan 6 kelompok yang masing-masing terdiri dari :

- a. Kelompok I : minyak atsiri daun jeruk nipis 100%
- b. Kelompok II : minyak atsiri daun jeruk nipis 50%
- c. Kelompok III : minyak atsiri daun jeruk nipis 25%
- d. Kelompok IV : minyak atsiri daun jeruk nipis 12,5%
- e. Kelompok V : minyak atsiri daun jeruk nipis 6.25%
- f. Kelompok VI : kontrol perlakuan (etanol 96%)

Jadi, perlakuannya (t) adalah 6

$$(t-1)(n-1) \geq 15$$

$$(6-1)(n-1) \geq 15$$

$$5(n-1) \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Jumlah sampel (n) yang dipakai adalah 4, artinya pada kelompok I-V (5 variabel) dilakukan masing-masing sebanyak 4 kali percobaan. Sampel cadangan diambil 1 kali percobaan pada masing-masing kelompok, sehingga didapatkan 5 kali percobaan untuk masing-masing kelompok.

## **4.5 Alat dan Bahan Penelitian**

### **4.5.1 Alat Penelitian**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

1. Alat destilasi
2. Labu Erlenmeyer
3. Gelas ukur
4. Tabung reaksi
5. Pisau
6. Botol vial
7. Autoklaf (sterilisator)
8. Kaliper
9. Kertas cakram
10. Cawan petri
11. Inkubator
12. Jarum ose
13. *Cotton bud* steril
14. Timbangan
15. Pipet tetes
16. Pinset

#### **4.5.2 Bahan Penelitian**

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah :

1. Daun jeruk nipis sebanyak 3 kilogram
2. Biakan murni *Staphylococcus aureus*
3. Media *Nutrient Agar*
4. *Mueller Hinton Agar (MHA)*
5. Aluminium foil
6. Etanol 96%
7. Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidrat
8. Aquades

#### **4.6 Prosedur Penelitian**

##### **4.6.1 Sterilisasi Alat**

Alat yang akan digunakan dalam penelitian ini disterilkan terlebih dahulu sesuai dengan cara sterilisasi masing-masing alat. Alat-alat yang berbahan kaca dan berbahan logam disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 15 menit. Alat-alat yang sudah disterilkan kemudian didiamkan terlebih dahulu hingga mencapai suhu kamar serta dalam keadaan kering.

##### **4.6.2 Pembuatan Media Bakteri**

Sebelum dilakukan pembiakan bakteri *Staphylococcus aureus*, maka dibuatkan terlebih dahulu media agar yang akan digunakan sebagai tempat pembiakan bakteri yang akan diuji. Media yang akan digunakan pada penelitian ini adalah media *Nutrient Agar*. Media yang telah dibuat kemudian disterilkan di

dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C. Setelah disterilkan, media disimpan di dalam kulkas. Jika akan digunakan, media dipanaskan kembali hingga mendidih lalu dituangkan ke dalam cawan petri dan dibiarkan dingin.

#### **4.6.3 Pembiakan Bakteri *Staphylococcus aureus***

Bakteri *Staphylococcus aureus* yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari Laboratorium Mikrobiologi RSUP DR. M. Djamil. Pembiakan bakteri dilakukan dalam suasana aerob. Pembiakan bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan pada cawan petri berisi media padat *Nutrient Agar* yang telah disiapkan pada prosedur sebelumnya. Biakan bakteri diinkubasi dalam suasana aerob pada suhu 37°C selama 24 jam, lalu diamati apakah bakteri *Staphylococcus aureus* murni telah tumbuh. Jika pertumbuhan bakteri tidak tumbuh dan terjadi kontaminasi bakteri lain maka prosedur pembiakan bakteri dan pengamatan diulang kembali sampai didapatkan biakan yang murni.

#### **4.6.4 Pembuatan Minyak Atsiri Daun Jeruk Nipis**

Daun jeruk nipis yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari Kebun Tanaman Obat Universitas Andalas Padang, Sumatera Barat dan ekstraksi minyak atsiri dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam FMIPA UNAND.

Cara pembuatan minyak atsiri daun jeruk nipis adalah sebagai berikut :

- a. Sebanyak 3 kilogram daun jeruk nipis disiapkan, dibersihkan, dipotong kecil-kecil, tahap destilasi dibagi menjadi 8 tahapan yang mana pada masing-masing tahapan dilakukan destilasi sebanyak 375 gram
- b. Masing-masing 375 gram kemudian dimasukkan ke dalam labu destilasi dan ditambahkan aquades kedalam labu sampai 2/3 isi labu

- c. Mantel pemanas dinyalakan dan destilasi dilakukan selama 3-5 jam sampai tidak ada minyak atsiri yang keluar lagi dari alat destilasi
- d. Setelah 3 kg daun jeruk nipis dilakukan destilasi, didapatkanlah minyak atsirinya
- e. Minyak atsiri yang didapatkan merupakan campuran minyak dengan air yang selanjutnya dipisahkan menggunakan corong pisah. Hasil minyak atsiri yang diperoleh ditambahkan natrium sulfat ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) anhidrat di dalam erlenmeyer untuk memastikan tidak ada lagi air di dalam minyak atsiri
- f. Minyak atsiri daun jeruk nipis yang didapat merupakan minyak atsiri konsentrasi 100%
- g. Lalu minyak atsiri disimpan dalam botol gelap dan disimpan di tempat yang sejuk dan terhindar dari sinar matahari
- h. Untuk memperoleh minyak atsiri dengan konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25% minyak atsiri diencerkan menggunakan pelarut etanol 96%.

#### **4.6.5 Uji Daya Hambat Minyak Atsiri Daun Jeruk Nipis**

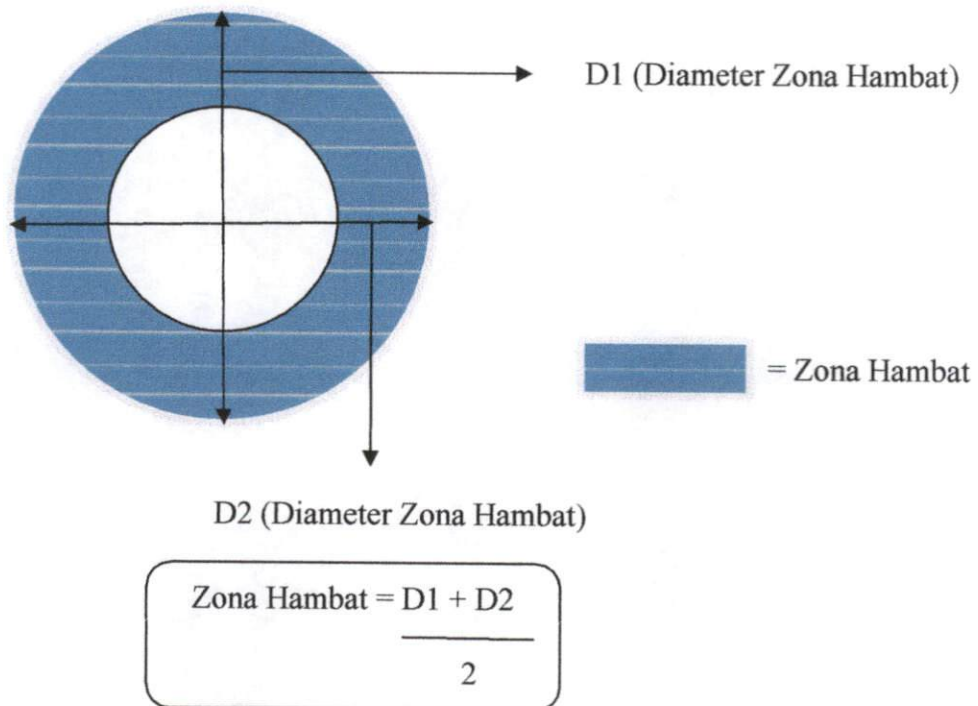
Urutan prosedur kerja untuk uji daya hambat antibakteri minyak atsiri daun jeruk nipis adalah :

- a. Penelitian dilakukan dengan menggunakan 30 cakram kosong yang direndam di dalam 6 wadah berbeda. Masing-masing wadah berisi minyak atsiri daun jeruk nipis 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25% dan etanol 96%. Setiap wadah terdapat 5 cakram kosong dan direndam selama 15 menit.

- b. Sebanyak 1-2 ose dari biakan murni bakteri uji yang telah dikultur dan tumbuh sudah disuspensikan dengan menggunakan NaCl 0,9% sampai diperoleh kekeruhan yang sama dengan standar *Mc.Farland* 0,5.
- c. Setelah itu disiapkan cawan petri berisi *Mueller Hinton Agar (MHA)* yang akan digunakan sebagai media uji bakteri.
- d. Kemudian *Staphylococcus aureus* yang telah disuspensi diambil dengan menggunakan *cotton bud* steril lalu dilakukan goresan atau usapan secara merata ke seluruh permukaan cawan petri yang berisi *Mueller Hinton Agar (MHA)*.
- e. Cakram kosong yang telah direndam pada 6 wadah tadi, diletakkan di setiap area pada 6 cawan petri yang telah berisi media *Mueller Hinton Agar (MHA)* tempat media uji antibakteri. Masing-masing cawan petri berisi 6 cakram yang telah direndam pada masing-masing media uji. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.
- f. Setelah 24 jam, cawan petri yang telah diinkubasi dikeluarkan dari inkubator dan dilihat daya hambat yang terbentuk pada setiap cakram dan diukur zona bening dengan menggunakan kaliper.

#### **4.6.6 Cara Pengukuran Zona Hambat**

Pengukuran zona hambat yang terbentuk pada cawan petri diukur sebanyak dua kali, yaitu pengukuran berdasarkan garis tengah diagonal dan hasilnya dirata-ratakan. Alat yang digunakan untuk pengukuran zona hambat adalah kaliper.



Gambar 4.1 Cara Mengukur Zona Hambat

#### 4.7 Pengolahan dan Analisis Data

##### a. Pengolahan data

Langkah-langkah dalam pengolahan data dilakukan sebagai berikut :

- 1) *Editing* yaitu kegiatan memeriksa kembali data yang telah dikumpulkan apakah sudah lengkap dan benar.
- 2) *Coding* yaitu peneliti memberi kode pada setiap data dan informasi yang sudah dikumpulkan untuk mempermudah *entry* data.
- 3) *Entry* yaitu memasukkan data yang telah diedit dan diberi pengkodean kemudian diproses ke dalam program statistik komputer.

4) *Cleaning* yaitu pengecekan kembali kelengkapan data.

b. Analisis Data

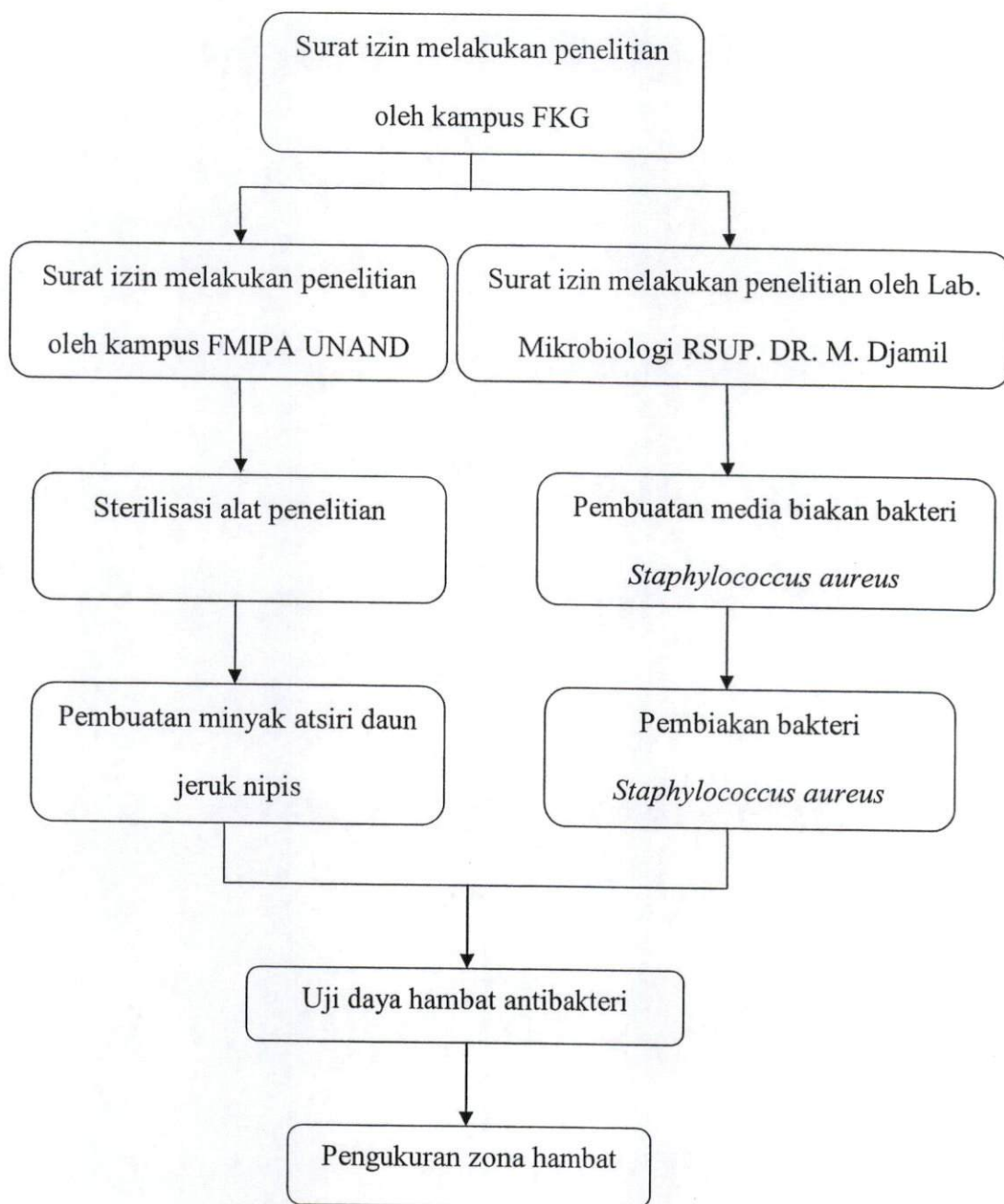
1) Analisis Univariat

Analisis univariat adalah analisis uraian untuk mengetahui distribusi frekuensi dari variabel yang diamati yaitu variabel dependen (Pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*) dan variabel independen (minyak atsiri daun jeruk nipis dengan berbagai konsentrasi dan kontrol perlakuan etanol 96%) sehingga dapat diketahui karakteristik atau gambaran dari variabel yang diteliti. Untuk mengetahui distribusi data digunakan uji *Shapiro Wilk* dikarenakan lebih akurat untuk sampel yang kecil dari 50.

2) Analisis Bivariat

Analisis bivariat yang digunakan untuk penelitian ini adalah dengan menggunakan metode *One Way ANOVA* dengan tingkat kemaknaan ( $p < 0,05$ ) untuk melihat perbedaan efek antibakteri pada semua kelompok perlakuan. Uji *One Way Anova* ini digunakan bila distribusi data populasi yang akan diuji berbentuk normal. Sedangkan bila distribusi data populasi tidak normal atau tidak diketahui distribusinya, maka dapat digunakan pendekatan uji statistik non parametrik yaitu uji *Rank Kruskal-Wallis*.

#### 4.8 Alur Penelitian

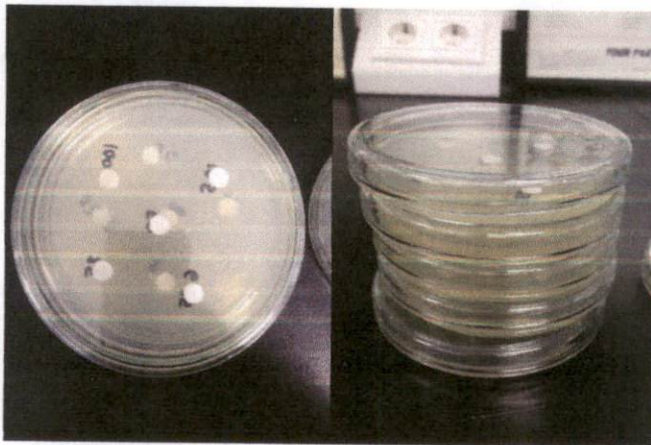


Gambar 4.2 Alur Penelitian

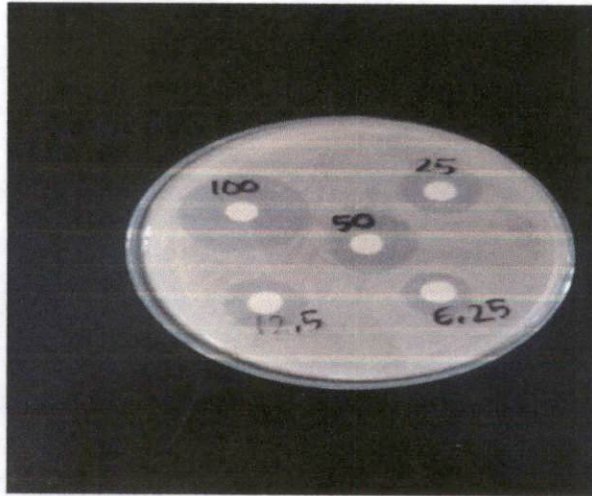
## BAB V

### HASIL PENELITIAN

Hasil penelitian diamati dan dianalisa setelah 30 cakram kosong yang berisi minyak atsiri daun jeruk nipis konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, dan kontrol perlakuan (etanol 96%) diletakkan pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA) yang telah disuspensi bakteri *Staphylococcus aureus*, kemudian diinkubasi selama 24 jam dan dilakukan pengamatan untuk melihat zona hambat yang terbentuk. Masing-masing perlakuan dilakukan 5 kali pengulangan artinya terdapat 5 cakram kosong yang akan diuji daya hambatnya pada setiap kelompok perlakuan dan diukur zona hambatnya. Zona hambat adalah zona dimana tidak ada lagi pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* disekitar cakram akibat dihambat oleh bahan uji yang ditandai dengan adanya daerah bening. Diameter zona hambat didapatkan dengan melakukan 2 kali pengukuran berdasarkan garis tengah diagonalnya kemudian dirata-ratakan.



Gambar 5.1 Cakram yang telah direndam minyak atsiri daun jeruk nipis dan diletakkan pada media uji antibakteri



Gambar 5.2 Zona hambat yang terbentuk pada media uji antibakteri setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C

Dari pengamatan diperoleh adanya zona hambat di sekitar cakram yang berisi bahan uji yaitu minyak atsiri daun jeruk nipis pada setiap kelompok perlakuan. Cakram kosong yang telah direndam minyak atsiri daun jeruk nipis konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25% mempunyai daya hambat dengan terdapatnya zona bening yang terbentuk disekitar cakram tersebut yang artinya terjadi penghambatan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Hanya cakram yang berisi etanol 96% yang tidak mempunyai daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Tabel 5.1 Rata-rata diameter zona hambat kelompok perlakuan

Kelompok perlakuan	n	Mean	Standar Deviasi
100%	5	24,69	3,00
50%	5	13,76	1,49
25%	5	11,88	1,80
12,5%	5	9,82	0,86
6,25%	5	3,89	0,37
Etanol 96%	5	0	0

Tabel 5.1 menunjukkan bahwa kelima konsentrasi memiliki zona hambat yang berbeda-beda. Minyak atsiri daun jeruk nipis yang menghasilkan daya hambat terbesar adalah minyak atsiri konsentrasi 100% dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 24,69 mm dan minyak atsiri daun jeruk nipis yang menghasilkan daya hambat terkecil adalah minyak atsiri konsentrasi 6,25% dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 3,89 mm.

Uji statistik yang digunakan adalah *One Way ANOVA* dan sebelumnya dilakukan uji normalitas dengan menggunakan *Shapiro Wilk*. Uji normalitas bertujuan untuk menguji apakah data bahan uji minyak atsiri daun jeruk nipis konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, dan kontrol etanol 96% menyebar secara normal atau mengikuti distribusi normal atau tidak. Dari hasil uji didapatkan bahwa distribusi normal.

*Uji One Way ANOVA* didapatkan bahwa nilai  $p= 0,000$ . Hal ini berarti, terdapat perbedaan yang bermakna ( $p<0,05$ ) pada keenam kelompok perlakuan. Untuk mengetahui perbedaan rata-rata diameter zona hambat masing-masing kelompok bahan uji dilakukan *Least Significant Difference (LSD) test* .

Tabel 5.2 Hasil Uji LSD Seluruh Kelompok Perlakuan

Kelompok perlakuan	Perbandingan	p value
100%	50%	0,000
	25%	0,000
	12,5%	0,000
	6,25%	0,000
	kontrol etanol 96%	0,000
50%	25%	0,076*
	12,5%	0,001
	6,25%	0,000
	kontrol etanol 96%	0,000
25%	12,5%	0,053*
	6,25%	0,000
	kontrol etanol 96%	0,000
12,5%	6,25%	0,000
	kontrol etanol 96%	0,000
6,25%	kontrol etanol 96%	0,001

\*p value >0,05 (tidak signifikan)

Dari tabel 5.2 di atas menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna ( $p < 0,05$ ) antara masing-masing kelompok perlakuan kecuali antara konsentrasi 50% dengan konsentrasi 25%, dan konsentrasi 25% dengan konsentrasi 12,5% dikarenakan nilai  $p > 0,05$ .

Kategori daya hambat antibakteri menurut Davis Stout terdiri dari 4 kategori, yaitu sangat kuat (diameter zona hambat >20 mm), kuat (diameter zona hambat 10-20 mm), sedang (diameter zona hambat 5-10 mm), dan lemah (diameter zona hambat <5 mm). Untuk mengetahui persentase kategori zona hambat pada semua perlakuan dilakukan uji *frequencies*.

Tabel 5.3 Frekuensi kategori zona hambat pada semua perlakuan

Kategori zona hambat	frekuensi	persen (%)
sangat kuat	5	16,7
Kuat	12	40
Sedang	3	10
Lemah	10	33,3
Total	30	100

Dari tabel 5.3 diatas menunjukkan bahwa pada 25 perlakuan uji antibakteri minyak atsiri daun jeruk nipis dan 5 perlakuan kontrol etanol 96%, didapatkan 40% diantaranya memiliki kategori diameter zona hambat yang kuat, 33,3% memiliki kategori diameter zona hambat yang lemah, 16,7% memiliki kategori kuat, dan 10% dengan kategori sedang.

## BAB VI

### PEMBAHASAN

Penelitian minyak atsiri dari daun jeruk nipis bertujuan untuk melihat daya hambat minyak atsiri daun jeruk nipis berbagai konsentrasi dan etanol 96% sebagai kontrol perlakuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode difusi agar. Pengukuran zona hambat dilakukan setelah media dinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam di inkubator. Kemudian pengukuran dilakukan dengan menggunakan kaliper.

Pembuatan minyak atsiri daun jeruk nipis dilakukan menggunakan metode *steam destilation* atau metode destilasi uap. Sebanyak 3 kg daun jeruk nipis menghasilkan minyak atsiri sebanyak 4,9 ml yang akan dijadikan 5 konsentrasi yaitu 100%, 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25%. Pengenceran minyak atsiri menjadi berbagai konsentrasi menggunakan etanol 96% dan volume setiap konsentrasi sebanyak 2 ml.

Berdasarkan hasil penelitian, didapatkan bahwa minyak atsiri dari daun jeruk nipis konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25% memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan terdapat perbedaan daya hambat pada masing-masing konsentrasi dan terlihat semakin besar konsentrasi, maka zona hambat yang terbentuk semakin besar pula.

Hal ini dikarenakan terdapat beberapa faktor yang dapat mempengaruhi diameter zona hambatan yaitu konsentrasi. Semakin tinggi konsentrasi suatu bahan maka semakin banyak mikroba yang dapat dihambat (Noer, 2011).

Kontrol perlakuan (etanol 96%) tidak menghasilkan daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yang dapat dilihat dengan tidak adanya terbentuk zona bening di sekitar cakram yang telah diberi etanol 96% pada media uji antibakteri. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Roslizawati (2013) tentang aktivitas antibakterial ekstrak etanol dan sarang semut (*Myrmecodia sp.*) terhadap bakteri *Escherichia Coli* dengan pelarut etanol 96% sebagai kontrol perlakuan dan dari hasil penelitian didapatkan bahwa tidak terdapat zona hambat yang dihasilkan oleh etanol 96%, ini disebabkan karena etanol 96% tidak mempunyai molekul air yang cukup yang akan mempercepat penetrasi ke jaringan sehingga tidak mempunyai efek antibakteri dan etanol yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri adalah etanol 50%-70% (Noer, 2011).

Skala ukur daya hambat antibakteri terbagi menjadi empat kategori menurut Davis Stout, yaitu sangat kuat dengan diameter zona hambat >20 mm, kuat dengan diameter zona hambat 10-20 mm, sedang dengan diameter zona hambat 5-10 mm, dan lemah dengan diameter zona hambat <5 mm. Berdasarkan klasifikasi tersebut, minyak atsiri daun jeruk nipis 100% mempunyai kategori antibakteri atau daya hambat yang sangat kuat yaitu 24,69 mm, minyak atsiri daun jeruk nipis 50% mempunyai kategori daya hambat yang kuat yaitu 13,76 mm, minyak atsiri daun jeruk nipis 25% mempunyai kategori daya hambat yang kuat yaitu 11,88 mm, minyak atsiri daun jeruk nipis 12,5% mempunyai kategori

daya hambat yang sedang yaitu 9,82 mm, dan minyak atsiri daun jeruk nipis 6,25% mempunyai kategori daya hambat yang lemah yaitu 3,89 mm. Hasil penelitian ini menunjukkan konsentrasi paling baik dari minyak atsiri daun jeruk nipis adalah konsentrasi 100% yang menghasilkan daya hambat paling besar dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dibandingkan konsentrasi lainnya.

Kemampuan minyak atsiri daun jeruk nipis memiliki efektivitas sebagai antibakteri karena terdapat zat antibakteri yang terkandung di dalamnya. Kandungan monoterpen yang tinggi dari minyak atsiri lebih mudah menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dibanding bakteri gram negatif. (Miksusanti, 2008). Senyawa kimia yang dihasilkan minyak atsiri daun jeruk nipis adalah *limonen*, *β pinen*, *sabinen*, *(E)-β-Ocimene*, *α-pinen*, dan *myrcene* yang merupakan golongan monoterpen hidrokarbon, dan *linalool*, *geranial*, *neral*, *citronellol*, *geranilasetat*, *nerilasetat*, *geraniol*, dan *nerol* yang merupakan golongan monoterpen teroksigenasi (Lota dkk, 2002; Dongmo dkk, 2009).

Mekanisme kerja golongan monoterpen hidrokarbon dalam menghambat pertumbuhan bakteri atau membunuh bakteri adalah mengganggu struktur dan fungsi membran sel bakteri dengan cara senyawa ini berakumulasi pada jaringan lipid membran sel yang menyebabkan pembengkakan sel, perubahan permeabilitas membran sel dan kehilangan integritas membran sel yang mengakibatkan kebocoran membran dan komponen sitoplasma sehingga sel menjadi mengkerut dan akhirnya sel mati (Miksusanti, 2008).

Mekanisme golongan monoterpen hidrokarbon teroksigenasi dalam menghambat pertumbuhan bakteri adalah menghambat metabolisme bakteri dengan cara mengganggu proses transpor proton dan nutrisi ke dalam sel yang akan menghambat pembentukan ATP dan terhambatnya pertumbuhan sel yang akhirnya menyebabkan kematian sel (Miksusanti, 2008).

Golongan monoterpen teroksigenasi mempunyai turunan senyawa diantaranya golongan alkohol, aldehid, dan ester. *Linalool*, *nerol*, *geraniol*, dan *citronellol* merupakan turunan alkohol (Darjaz, 2013). Mekanisme golongan alkohol dalam menghambat pertumbuhan bakteri adalah dengan mendenaturasi protein sel bakteri dan menginaktifkan enzim-enzim bakteri sehingga mengganggu proses metabolisme bakteri yang menyebabkan kematian sel bakteri (Radji, 2007). Golongan aldehid memiliki senyawa turunan yaitu *geranial* dan *neral* (Darjaz, 2013). Mekanisme golongan aldehid dalam menghambat pertumbuhan bakteri adalah dengan mendenaturasi protein sel bakteri dan menginaktifkan enzim-enzim bakteri yang menyebabkan proses metabolisme bakteri terganggu sehingga mengakibatkan kematian sel bakteri dan aldehid memiliki efek antimikroba yang kuat (Dongmo, 2009). Golongan ester terdiri dari senyawa *geranil acetat* dan *neril acetat* (Darjaz, 2013). Ester merupakan senyawa yang mempunyai efek antibakteri lemah (Karkala, 2009).

Penelitian ini membuktikan bahwa minyak atsiri daun jeruk nipis mempunyai efek antibakteri dan hal ini terbukti dari beberapa penelitian diantaranya penelitian yang dilakukan Reddy (2012) tentang uji aktivitas antibakteri dan antioksidan minyak atsiri daun jeruk nipis dan ekstrak daun jeruk

nipis terhadap bakteri *Enterobacter faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Proteus vulgaris*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella paratyphi*, *Bacillus cereus*, dan *Pseudomonas aeruginosa* dengan menggunakan metode difusi sumuran, didapatkan hasil bahwa minyak atsiri daun jeruk nipis dan ekstrak daun jeruk nipis memiliki efek antibakteri dan minyak atsiri daun jeruk nipis memiliki efek antibakteri yang lebih efektif dibandingkan ekstrak daun jeruk nipis. Penelitian lain oleh Setyaningrum (2010) tentang isolasi, identifikasi dan uji antibakteri minyak atsiri daun jeruk nipis pada udara ruangan dan didapatkan hasil bahwa minyak atsiri daun jeruk nipis mampu mengurangi kandungan bakteri yang terdapat pada udara ruangan, dan penelitian yang dilakukan oleh Dongmo (2009) mengenai aktivitas antifungi minyak atsiri daun jeruk nipis terhadap *Phaeoramularia angolensis* menggunakan metode dilusi tabung dan didapatkan hasil bahwa minyak atsiri daun jeruk nipis memiliki aktivitas antifungi.

## BAB VII

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 7.1 Kesimpulan

Pada penelitian ini, dapat diambil kesimpulan :

1. Minyak atsiri dari daun jeruk nipis 100% mempunyai daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan rata-rata diameter zona hambat adalah 24,69 mm.
2. Minyak atsiri dari daun jeruk nipis 50% mempunyai daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan rata-rata diameter zona hambat adalah 13,76 mm.
3. Minyak atsiri dari daun jeruk nipis 25% mempunyai daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan rata-rata diameter zona hambat adalah 11,88 mm.
4. Minyak atsiri dari daun jeruk nipis 12,5% mempunyai daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan rata-rata diameter zona hambat adalah 9,82 mm.
5. Minyak atsiri dari daun jeruk nipis 6,25% mempunyai daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan rata-rata diameter zona hambat adalah 3,89 mm.
6. Konsentrasi paling baik dari minyak atsiri daun jeruk nipis dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* adalah konsentrasi 100%.

## 7.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini, maka penulis menyampaikan saran bahwa:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap minyak atsiri daun jeruk nipis sebagai antimikroba terhadap bakteri dan jamur penyebab masalah kesehatan mulut yang lain.
2. Perlu dilakukan penelitian selanjutnya untuk menentukan konsentrasi minyak atsiri daun jeruk nipis yang dapat digunakan sebagai obat kumur.
3. Pemerintah dapat mensosialisasikan kepada masyarakat tentang manfaat minyak atsiri daun jeruk nipis sebagai salah satu tanaman obat yang dapat digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* penyebab infeksi rongga mulut.
4. Hasil penelitian ini dapat dijadikan sebagai bahan pembandingan untuk penelitian lebih lanjut mengenai daya hambat minyak atsiri daun jeruk nipis terhadap bakteri lain.

## KEPUSTAKAAN

- Arniputri RB, Sakya AT, Rahayu M. Identifikasi Komponen Utama Minyak Atsiri Temu Kunci Pada Ketinggian Tempat Yang Berbeda. 2007;8.
- Astarini NPF, Burhan RYP, Zetra Y. Minyak Atsiri dari Kulit Buah *Citrus grandis*, *Citrus arantium*, dan *Citrus aurantifolia* sebagai senyawa antibakteri dan insektisida. 2009.
- Badan POM RI. Pedoman Tekonologi Formulasi Sediaan Berbasis Ekstrak Volume 2. Direktorat Obat Asli Indonesia. 2013:4-11.
- Batubara FY. Prevalensi *Denture Stomatitis* yang Disebabkan *Stafilokokus aureus* pada Pemakai Gigi Tiruan Sebagian Lepas Rahang Atas. Skripsi. USU. 2007.
- Brown S, Jr JPSM, Walker S. Wall Teichoic Acid of Gram-Positive Bacteria. *National Institutes of Health Public Access*. 2013.
- Cia.S.Loberto J, Santos SSFd, Cortelli JR, Jorge AOC. Staphylococcus Spp in The Oral Cavity and Periodontal Pockets Of Chronic Periodontitis Patients. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2004;35: 64-68.
- Dalimarta setiawan. 2000. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Bogor:Trubus Agriwidya
- Dalimarta setiawan. 2006. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Jilid 4. Bogor:Trubus Agriwidya
- Darjaz B. Comparison of Peel Volatile Component of Citron and Pumelo. *International Research Journal of Applied and Basic Sciences*. 2013;5 (6), 682-689.
- Djamal R. Kimia Bahan Alam "Prinsip-Prinsip Dasar Isolasi dan Identifikasi". Univ Baiturrahmah, Padang, Sumbar. 2010.
- Dongmo PMJ, L.N.Tatsadjieu, Sonwa ET, J.Kuate, Zollo PHA, C.Menut. Essential Oils of *Citrus aurantifolia* from Cameroon and their antifungal acitivity against *Phaeoramularia angolensis*. *African Journal of Agricultural Research*. 2009;4:354-8.
- Effendi VP, Widjanarko SB. Distilasi dan Karakterisasi Minyak Atsiri Rimpang Jeringau. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 2014;2.

- Fischetti, A.V., R.P. Novick, J.J. Ferreti, D.A. Portnoy, and J.I. Rood. 2000. *Gram Positive Pathogens*. Washington DC: ASM Press. p.315
- Franklin D. Lowy MD. *Staphylococcus aureus* Infection. *The New England Journal of Medicine*. 1998;339: 520-532.
- Gordon W. Pedersen DDS, M.S.D. Buku Ajar Praktis Bedah Mulut. *EGC*. 1996:192.
- Hariana A. *Tumbuhan obat dan khasiatnya*. Jakarta: Penebar Swadaya; 2006.
- Hayati K. Efek Anti Bakteri Ekstrak Lidah Buaya (*Aloe Vera*) Terhadap *Staphylococcus aureus* yang Diisolasi Dari Denture Stomatitis (Penelitian *In Vitro*). Skripsi USU, Medan. 2009.
- Hertiani T, Pratiwi SUT, Irianto IDK, Adityaningrum D, Pranoto B. Effect Of Indonesian Medicinal Plants Essential Oil on *Streptococcus mutans* biofilm. *Majalah Farmasi Indonesia*. 2011;22:174-81.
- Karkala, shalini, dkk. Antimicrobial Activity of Essential Oils of Four Lemongrass Varietis. *Medical and Aromatic Plant Science and Biotechnology*. 2009;3:107-109.
- Jawetz, E., J.L. Melnick., E.A. Adelberg., G.F. Brooks., J.S. Butel., dan L.N. Ornston. 1995. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi ke-20 (Alih bahasa : Nugroho & R.F. Maulany). Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC. hal. 211,213,215.
- Lota M-L, Serra D R, Tomi F, dkk. Volatile Components of Peel and Leaf Oils of Lemon and Lime Species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2002;Vol 50:796-805.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M., Stahl, D.A & Clark, D.P. 2012. *Brock Biology of Microorganisms*, 8th ed. Prentice Hall, Inc. USA.
- Mikusanti. Kajian Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Temu Kunci dan Aplikasinya Dalam Film Edibel Antibakteri. Skripsi. IPB. 2008.
- Monroy TB, Maldonado VM, martinez FF, Barios BA, Quindos G, Vargas LOS. *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus mutans* colonization in patients wearing Dental Prosthesis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2005;10.
- Najah A. Mohammed PD. Effect Of *Nigella Sativa L.* extract against *Streptococcus mutans* and *Streptococcus mitis* *In Vitro*. *Journal Bagh College Dentistry*. 2012;24.

- Neal, M. J. 2002. *Medical Pharmacology at a Glance*. United Kingdom : Blackwell Science Ltd.
- Noer SF. Pengaruh Kadar Etanol dalam Sediaan Gel Antiseptika Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Salmonella Thyposa*. *Iltek*. 2011;Vol 6 (12):887-891.
- Pathan RK, Gali PR, Pathan P, Gowtham T, Pasupuleti S. In Vitro Antimicrobial Activity of Citrus aurantifolia and its Phytochemical Scceening. *Asian Pacific Journal f Tropical Disease*. 2012.
- Prasetyawati AE. *Potensi Minyak Atsiri Mawar*. Amikom Yogyakarta. 2011.
- Radji M, Suryadi H, Ariyanti D. Uji Efektifitas Antimikroba Beberapa Merk Dagang Pembersih Tangan Antiseptik. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 2007;4.
- Razak A, Djamal A, Revilla G. Uji Daya Hambat Air Perasan Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 2013;2.
- Reddy L.Joji, Jalli RD, Jose B, Gopu S. Evaluation of aantibacterial & Antioxidant Activities of The Leaf Essential Oil & Leaf Extract of Citrus Aurantifolia. *Asian Journal of Biochemical and Pharmaceutical Research*. 2012;Vol 2(2).
- Regianto. Minyak Atsiri Rimpang Kencur (*Kaempferia galangal l.*) Karakterisasi Simplisia, Isolasi, dan Analisis Komponen Minyak Atsiri secara GC-MS. Skripsi. Farmasi USU. 2009.
- Riset Teknologi Pertanian. Budidaya Pertanian (Jeruk). 2000. Diakses 10 Oktober 2014; <http://www.ristek.go.id>.
- Robertson D, Smith AJ. The Microbiology Of The Acute Dental Abscess. *Journal of Medical Microbiology*. 2009;58, 155-162.
- Rokhman F. Aktivitas Antibakteri Filtrat Bunga Teleng (*Clitoria Ternatea L.*) Terhadap Bakteri Penyebab Konjungtivitis. Skripsi. IPB. 2007.
- Roslizawaty, Ramadani NY, Fakhurrrazi, Herrialfian. Aktivitas Antibakterial Ekstrak Etanol dan Rebusan Sarang Semut (*Myrmecodia sp.*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Medika Veterinaria*. 2013;Vol 7 (2):91-4.
- Rusli, M.S. 2010. *Sukses Memproduksi Minyak Atsiri*. Agromedia Pustaka. Jakarta.

- S.Gomes M, G.Cardoso Md, J.Soares M, dkk. Use Of Essential Oils Of The Genus Citrus as Biocidal Agents. *American Journal of Plant Sciences*. 2014;Vol 5.
- Shweta, Prakash K. Dental Abscess : A Microbiological Review. *Dental Research Journal* 2013;10 (5) : 585-591.
- Sri Agung Fitri Kusuma MS, Apt. *Staphylococcus aureus*. Makalah Fakultas Farmasi UNPAD. 2009.
- Sudaryani,T dan Sugiharti,E. 1999. *Budidaya dan Penyulingan Nilam*. P.T. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Warbung YY, Wowor VNS, Posangi J. Daya Hambat Ekstrak Spons Laut *Calluspongia* sp terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylooccus aureus*. *Jurnal Kesehatan Universitas Sam Ratulangi*. 2013.
- Wertheim HFL, Melles DC, Vos MC, Leeuwen WV, Belkum AV, Verbrugh HA, et al. The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *The Lancet Infection Disease Review*. 2005;5:751-762.
- Yuliani R, Indrayudha P, Rahmi SS. Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*. 2011;12.
- Y.Ohara-Nemoto, H.Haraga, S.Kimura, T.K.Nemoto. Occurence of *Staphylococci* in the oral cavities of healthy adults and nasal oral trafficking of the bacteria. *Journal of Medical Microbiology*. 2008;57:95-9.



KEMENTERIAN PENDIDIKAN TINGGI, RISET DAN TEKNOLOGI  
*Universitas Andalas*  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
Jalan Perintis Kemerdekaan No.77 Padang (0751) 38450

No : 1266 /UN16.14/PP/2014  
Hal : Permohonan Izin Penelitian

23 Desember 2014

Kepada Yth,  
Sdr. Dekan Fak. MIPA  
Universitas Andalas  
Padang

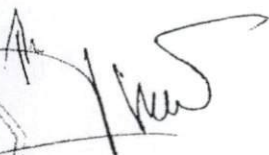
Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan bahwa mahasiswa Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Andalas yang tertera di bawah ini sedang melaksanakan penulisan Proposal Skripsi yaitu ;

Nama Mahasiswa	BP	Judul Proposal Skripsi
<b>Agmelia Ulfa</b>	1110342013	Uji Daya Hambat Minyak Atsiri dari Daun Jeruk Nipis ( <i>Citrus aurantifolia</i> ) Terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Staphylooccus aureus</i> .

Untuk kelancaran kegiatan penelitian tersebut kami mohon agar Saudara dapat mengizinkan dan membantu mahasiswa tersebut dalam mendapatkan data yang dibutuhkan.

Demikianlah disampaikan atas perhatian dan kerjasamanya diucapkan terimakasih.

Dekan.   
Dr. dr. Afriwardi, SpKO, MA  
NIP. 19670421199702.1.001

Tembusan;

1. Ketua Jurusan Kimia, Fak MIPA Unand
2. Ka. Laboratorium Jurs. Kimia, Fak MIPA Unand
3. Yang Bersangkutan
4. Arsip



KEMENTERIAN PENDIDIKAN TINGGI, RISET DAN TEKNOLOGI  
*Universitas Andalas*  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
Jalan Perintis Kemerdekaan No.77 Padang (0751) 38450

No : 1266/UN16.14/PP/2014  
Hal : Permohonan Izin Penelitian

23 Desember 2014

Kepada Yth,  
Kepada Yth,  
Sdr. Direktur RSUP DR. M. Djamil  
Padang

Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan bahwa mahasiswa Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Andalas yang tertera di bawah ini sedang melaksanakan penulisan Proposal Skripsi yaitu ;

Nama Mahasiswa	BP	Judul Proposal Skripsi
Agmelia Ulfa	1110342013	Uji Daya Hambat Minyak Atsiri dari Daun Jeruk Nipis ( <i>Citrus aurantifolia</i> ) Terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Staphylooccus aureus</i> .

Untuk kelancaran kegiatan penelitian tersebut kami mohon agar Saudara dapat mengizinkan dan membantu mahasiswa tersebut dalam mendapatkan data yang dibutuhkan.

Demikianlah disampaikan atas perhatian dan kerjasamanya diaturkan terimakasih.

Dekan,  
  
Dr. dr. Alriwardi, SpKO, MA  
NIP. 19670421199702.1.001  


Tembusan;

1. Ka. Laboratorium Mikrobiologi RSUP DR. M. Djamil
2. Yang Bersangkutan
3. Arsip



**KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN  
UNIVERSITAS ANDALAS  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
JURUSAN KIMIA**

Kampus Universitas Andalas Limau Manis Padang, 25163  
Telp/Fax. (0751)71681 email: kimiaua@yahoo.com

**SURAT KETERANGAN**

Nomor: *07* /UN 16.03.5.1/PP/2015

Yang bertanda tangan dibawah ini, menerangkan bahwa mahasiswa yang tersebut dibawah ini:

1. Nama : Agmelia Ulfa  
BP : 1110342013
2. Nama : Fauzan Adi Putra  
BP : 1110343007
3. Nama : Lisa Desriani  
BP : 1110343018

telah menyelesaikan penelitiannya di Laboratorium Kimia Organik Bahan Alam Jurusan Kimia FMIPA Unand dan telah menyelesaikan seluruh administrasi yang berlaku di Jurusan Kimia FMIPA Unand.

Demikianlah Surat Keterangan ini dibuat, untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Padang, 15 Januari 2015  
Sekretaris,

Dr. Mai Efdi  
NIP. 197205301999031003



# KEMENTERIAN KESEHATAN RI

DIREKTORAT JENDERAL BINA UPAYA KESEHATAN

RSUP DR. M. DJAMIL PADANG

JLN PERINTIS KEMERDEKAAN PADANG – 25127

Telepon (0751) 32371, 810253,810254 Faximile. (0751) 32371

## SURAT KETERANGAN

Yang bertanda tangan dibawah ini SMF Laboratorium Mikrobiologi RSUP DR. M. DJAMIL Padang menerangkan bahwa:

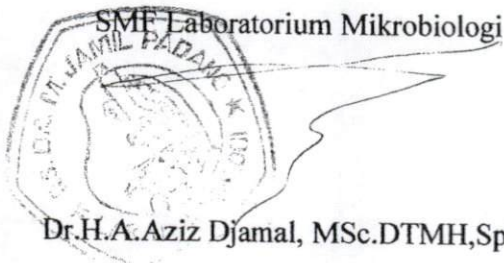
Nama : **Agmelia Ulfa**  
No.BP/NIM : 1110342013  
Mahasiswa : S1 Kedokteran Gigi UNAND

Telah selesai melakukan penelitian di Laboratorium Mikrobiologi RSUP Dr. M. Djamil Padang dimulai tanggal 13 Januari s/d 16 Januari 2015, guna keperluan penyusunan karya tulis yang berjudul:

“ Uji Daya Hambat Minyak Atsiri dari Daun Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*”

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat digunakan seperlunya.

18 Januari 2015



Dr.H.A.Aziz Djamil, MSc.DTMH,SpMK(K)

## MASTER TABEL

No	Kelompok perlakuan	Konsentrasi minyak atsiri daun jeruk nipis	Diameter zona bening <i>Staphylococcus aureus</i>
1	1	100%	29.3
2	1	100%	25.85
3	1	100%	24
4	1	100%	22.3
5	1	100%	22
6	2	50%	16
7	2	50%	14.2
8	2	50%	13.6
9	2	50%	13
10	2	50%	12
11	3	25%	14
12	3	25%	13
13	3	25%	12.4
14	3	25%	10
15	3	25%	10
16	4	12,5%	11
17	4	12,5%	10.3
18	4	12,5%	9.8
19	4	12,5%	9
20	4	12,5%	9
21	5	6,25%	4.25
22	5	6,25%	4.2
23	5	6,25%	4
24	5	6,25%	3.5
25	5	6,25%	3.5
26	6	Kontrol etanol 96%	0
27	6	Kontrol etanol 96%	0
28	6	Kontrol etanol 96%	0
29	6	Kontrol etanol 96%	0
30	6	Kontrol etanol 96%	0

Tertanda,

Penanggung Jawab Lab. Mikrobiologi  
DR. M. Djamil Padang



Daslina, S.SiT

## LAMPIRAN 4

## MASTER TABEL

No	Kelompok perlakuan	Konsentrasi minyak atsiri daun jeruk nipis	Diameter zona bening <i>Staphylococcus aureus</i>
1	1	100%	29.3
2	1	100%	25.85
3	1	100%	24
4	1	100%	22.3
5	1	100%	22
6	2	50%	16
7	2	50%	14.2
8	2	50%	13.6
9	2	50%	13
10	2	50%	12
11	3	25%	14
12	3	25%	13
13	3	25%	12.4
14	3	25%	10
15	3	25%	10
16	4	12,5%	11
17	4	12,5%	10.3
18	4	12,5%	9.8
19	4	12,5%	9
20	4	12,5%	9
21	5	6,25%	4.25
22	5	6,25%	4.2
23	5	6,25%	4
24	5	6,25%	3.5
25	5	6,25%	3.5
26	6	Kontrol etanol 96%	0
27	6	Kontrol etanol 96%	0
28	6	Kontrol etanol 96%	0
29	6	Kontrol etanol 96%	0
30	6	Kontrol etanol 96%	0

## HASIL SPSS

### konsentrasi minyak atsiri

#### Case Processing Summary

	Cases						
	Valid		Missing		Total		
	N	Percent	N	Percent	N	Percent	
diameter zona hamba	100%	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%
	50%	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%
	25%	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%
	12,5%	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%
	6,25%	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%
	kontrol etanol 96%	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%

#### Tests of Normality<sup>b</sup>

	konsentrasi minyak atsiri	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
diameter zona hambat	100%	.191	5	.200*	.905	5	.436
	50%	.184	5	.200*	.975	5	.908
	25%	.251	5	.200*	.874	5	.284
	12,5%	.229	5	.200*	.910	5	.465
	6,25%	.255	5	.200*	.822	5	.121

\*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

b. diameter zona hambat is constant when konsentrasi minyak atsiri = kontrol etanol 96%. It has been omitted.

### Oneway

#### Descriptives

diameter zona hambat

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
100%	5	24.6900	3.00092	1.34205	20.9639	28.4161	22.00	29.30
50%	5	13.7600	1.49265	.66753	11.9066	15.6134	12.00	16.00
25%	5	11.8800	1.80887	.80895	9.6340	14.1260	10.00	14.00
12,5%	5	9.8200	.86139	.38523	8.7504	10.8896	9.00	11.00
6,25%	5	3.8900	.36810	.16462	3.4329	4.3471	3.50	4.25
kontrol etanol 96%	5	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
Total	30	10.6733	8.09873	1.47862	7.6492	13.6974	.00	29.30

#### Test of Homogeneity of Variances

diameter zona hambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
5.628	5	24	.001

ANOVA

diameter zona hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1840.562	5	368.112	143.579	.000
Within Groups	61.532	24	2.564		
Total	1902.094	29			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: diameter zona hambat

LSD

(I) konsentrasi minyak atsiri	(J) konsentrasi minyak atsiri	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
100%	50%	10.93000*	1.01269	.000	8.8399	13.0201
	25%	12.81000*	1.01269	.000	10.7199	14.9001
	12,5%	14.87000*	1.01269	.000	12.7799	16.9601
	6,25%	20.80000*	1.01269	.000	18.7099	22.8901
	kontrol etanol 96%	24.69000*	1.01269	.000	22.5999	26.7801
50%	100%	-10.93000*	1.01269	.000	-13.0201	-8.8399
	25%	1.88000	1.01269	.076	-.2101	3.9701
	12,5%	3.94000*	1.01269	.001	1.8499	6.0301
	6,25%	9.87000*	1.01269	.000	7.7799	11.9601
	kontrol etanol 96%	13.76000*	1.01269	.000	11.6699	15.8501
25%	100%	-12.81000*	1.01269	.000	-14.9001	-10.7199
	50%	-1.88000	1.01269	.076	-3.9701	.2101
	12,5%	2.06000	1.01269	.053	-.0301	4.1501
	6,25%	7.99000*	1.01269	.000	5.8999	10.0801
	kontrol etanol 96%	11.88000*	1.01269	.000	9.7899	13.9701
12,5%	100%	-14.87000*	1.01269	.000	-16.9601	-12.7799
	50%	-3.94000*	1.01269	.001	-6.0301	-1.8499
	25%	-2.06000	1.01269	.053	-4.1501	.0301
	6,25%	5.93000*	1.01269	.000	3.8399	8.0201
	kontrol etanol 96%	9.82000*	1.01269	.000	7.7299	11.9101
6,25%	100%	-20.80000*	1.01269	.000	-22.8901	-18.7099
	50%	-9.87000*	1.01269	.000	-11.9601	-7.7799
	25%	-7.99000*	1.01269	.000	-10.0801	-5.8999
	12,5%	-5.93000*	1.01269	.000	-8.0201	-3.8399
	kontrol etanol 96%	3.89000*	1.01269	.001	1.7999	5.9801
kontrol etanol 96%	100%	-24.69000*	1.01269	.000	-26.7801	-22.5999
	50%	-13.76000*	1.01269	.000	-15.8501	-11.6699
	25%	-11.88000*	1.01269	.000	-13.9701	-9.7899
	12,5%	-9.82000*	1.01269	.000	-11.9101	-7.7299
	6,25%	-3.89000*	1.01269	.001	-5.9801	-1.7999

\*. The mean difference is significant at the .05 level.

## Frequencies

kategori zona hambatan

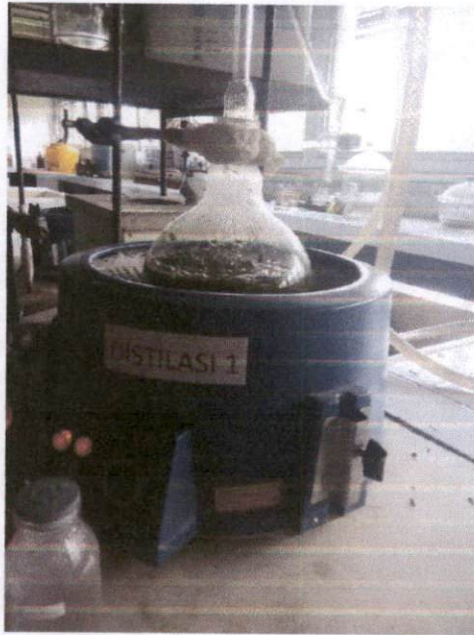
		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	sangat kuat	5	16.7	16.7	16.7
	kuat	12	40.0	40.0	56.7
	sedang	3	10.0	10.0	66.7
	lemah	10	33.3	33.3	100.0
	Total	30	100.0	100.0	

LAMPIRAN 5

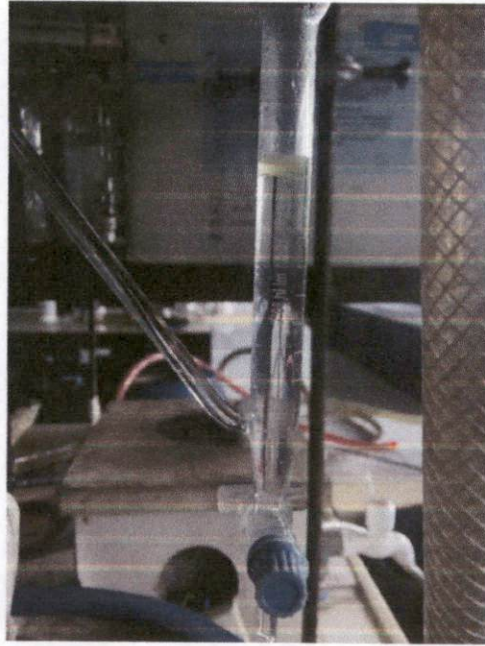
DOKUMENTASI PENELITIAN



Daun jeruk nipis yang telah dipotong



Proses destilasi daun jeruk nipis



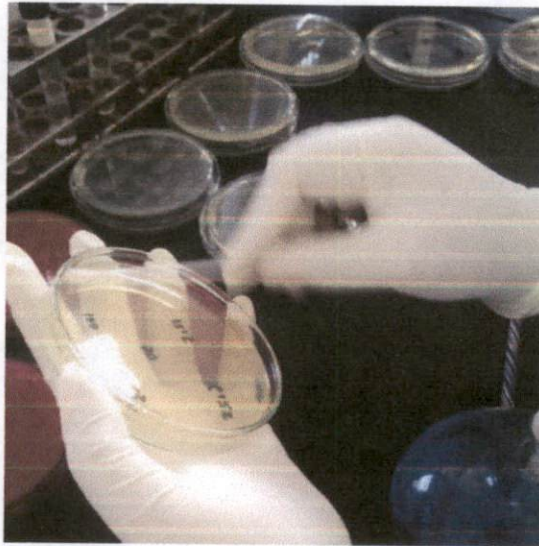
Minyak atsiri yang dihasilkan dari proses destilasi



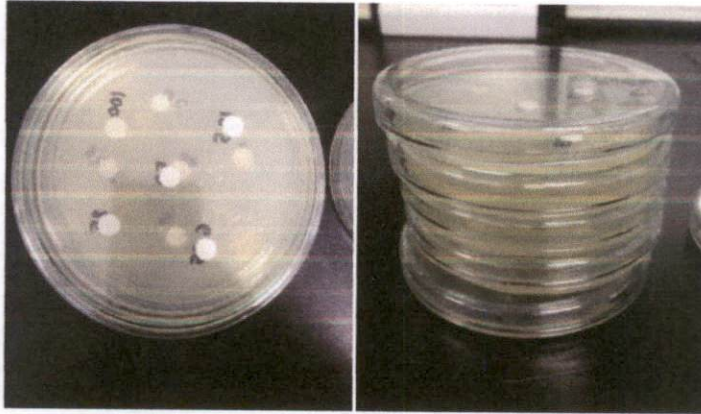
Hasil destilasi minyak atsiri daun jeruk nipis dengan pengenceran menjadi beberapa konsentrasi



Hasil peremajaan bakteri uji *Staphylococcus aureus*



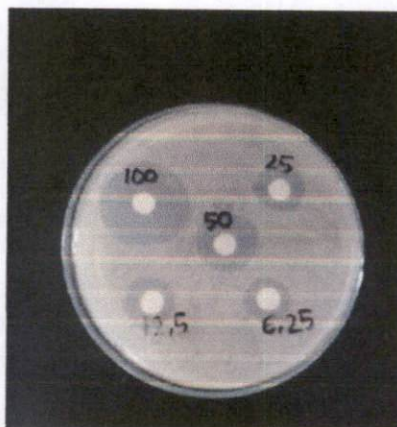
Proses pengusapan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ke media *Mueller Hinton Agar (MHA)*



Cakram yang telah direndam bahan uji diletakkan pada masing-masing cawan petri.



Cawan petri di dalam inkubator untuk dilakukan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C



Media uji bakteri yang terdapat cakram minyak atsiri daun jeruk nipis setelah diinkubasi selama 24 jam