

PENGARUH MINYAK ATSIRI OREGANO (*Oreganum vulgare*) TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli*

Iyep Komala¹⁾, Masniari Poeloengan²⁾, Susan M Noor²⁾

¹⁾ Fakultas Peternakan IPB

²⁾ Balai Besar Penelitian Veteriner
JL. RE Martadinata, 30 Bogor

ABSTRACT

The invitro antibacterial test of Oregano (Oreganum vulgare) essential oil was done toward the growth of two bacteria (Staphylococcus aureus and Escherichia coli). This study used factorial experiment with first factor essential oil concentration (100%, 50%, 25%, 12.5%, 6.25% and 3.125%) while the second factor was two bacteria isolates. Every treatment had three replications. The results showed that increasing essential oil concentration result in increasing the growth inhibition zone of bacteria. Escherichia coli was the most sensitive bacteria isolated to Oregano essential oil.

PENDAHULUAN

Minyak atsiri atau minyak menguap adalah massa yang berbau khas, yang berasal dari tanaman, mudah menguap pada suhu kamar tanpa mengalami penguraian. Minyak atsiri dikenal dengan nama *volatile oil*, *ethereal oil*, *essensial oil* dan *volatilia*.

Masyarakat telah menyadari bahwa minyak atsiri yang berasal dari berbagai penjuru dunia ini selalu digunakan dalam kehidupan sehari-hari, mulai sejak pagi hingga malam hari. Minyak atsiri sebagai bahan pewangi dan penyedap masakan terutama digunakan oleh bangsa-bangsa yang telah maju dan sudah digunakan sejak beberapa abad yang lalu. Salah satunya adalah minyak atsiri oregano yang merupakan penyedap masakan dan mempunyai sifat antimikroba. Oregano (*Origanum vulgare*) adalah tanaman yang dibuat menjadi rempah-rempah dan minyak atsiri. Minyak atsiri oregano dibuat dari hasil dari penyulingan uap yang diambil dari daun. Merupakan minyak yang mudah menguap dan mempunyai bau harum kuat agak pedas dan rasa pahit. Minyak oregano yang disaring dari daun dan bunga aktif melawan jamur dan bakteri. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Dr. Diane Horne dari Weber University, Utah USA bahwa hasil optimal dari minyak atsiri oregano dapat menghambat pertumbuhan mikroba *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

Berdasarkan pengetahuan tersebut untuk membuktikan aktivitas daya hambat minyak atsiri oregano (*Origanum vulgare*), maka diujikan terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, dengan larutan uji berupa minyak atsiri menggunakan metode difusi cara cakram untuk menentukan zone hambat dan metode dilusi cara penipisan lempeng agar untuk menentukan konsentrasi hambat minimum (KHM).

BAHAN DAN METODE

Uji aktivitas daya hambat minyak atsiri oregano (*Origanum vulgare*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dilakukan dengan menggunakan metode difusi cara cakram untuk menentukan diameter zone hambat yang terbentuk disekeliling cakram dan menggunakan metode dilusi cara penipisan lempeng agar untuk menentukan nilai KHM dari larutan uji.

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode percobaan berdasarkan studi laboratorium, yaitu percobaan mikrobiologi secara invitro yaitu uji aktivitas daya hambat minyak atsiri oregano dilakukan dengan metode difusi dan dilusi. Tahapan penelitian sebagai berikut :

- a. Sterilitas bahan dan alat
- b. Sterilitas media uji
- c. Identifikasi mikroba dengan pewarnaan Gram
- d. Identifikasi bentuk dan warna klori mikroba uji pada media selektif
- e. Identifikasi mikroba dengan uji aktivitas biokimia
- f. Metode difusi menggunakan cara cakram
- g. Metode dilusi menggunakan cara penipisan lempeng agar

Untuk uji daya hambat antimikroba dengan metode difusi cara cakram, pengukuran diameter zone hambat (zone bening) yang terbentuk di sekeliling cakram dilakukan dengan menggunakan jangka sorong. Data diperoleh berdasarkan pengulangan sebanyak 3 kali dengan cara menjumlahkan zone hambat yang terbentuk di sekeliling cakram lalu dibagi dengan banyaknya pengulangan yang dilakukan untuk masing-masing mikroba uji.

Untuk metode dilusi cara lempeng agar, nilai KHM dari larutan uji ditentukan berdasarkan konsentrasi dari larutan uji yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba dimana pada nilai tersebut tidak ada lagi pertumbuhan mikroba.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Bakteri uji yang digunakan dalam pengujian ini diidentifikasi terlebih dahulu dengan tujuan memastikan spesies bakteri uji secara benar dan jelas serta untuk menghindari penggunaan bakteri yang terkontaminasi. Identifikasi bakteri uji meliputi pewarnaan Gram, pengamatan bentuk dan warna koloni pada media selektif serta uji aktivitas biokimia.

Hasil uji berdasarkan pewarnaan Gram, *Staphylococcus* termasuk dalam bakteri Gram positif yang berwarna ungu biru dan berbentuk kokus atau bulat dengan kelompok yang tidak teratur, bergerombol mirip susunan buah anggur dilihat dibawah mikroskop. Hal ini terjadi karena bakteri Gram positif dapat mempertahankan warna karbol kristal ungu sehingga pada saat pencucian dengan larutan pemucat atau etanol 96% warna karbol kristal ungu tidak hilang⁽¹³⁾ berbentuk kokus atau bulat dengan kelompok yang tidak teratur, merupakan bakteri Gram Positif. Sedangkan *Escherichia coli* termasuk dalam bakteri Gram negatif yang berwarna merah dan berbentuk basil atau batang seperti rantai dilihat di bawah mikroskop. Hal ini terjadi karena bakteri Gram Negatif tidak dapat

mempertahankan zat warna karbol kristal ungu sehingga pada saat pencucian dengan larutan pemucat atau etanol 96% warna karbol kristal ungu akan hilang dan dengan penambahan air fukhsin maka bakteri tersebut akan menyerap warna dari air fukhsin sehingga bakteri akan berwarna merah ⁽¹³⁾ berbentuk basil atau batang merupakan bakteri Gram Negatif.

Hasil uji berdasarkan bentuk dan warna koloni kuman pada media selektif, bentuk koloni *Staphylococcus aureus* pada media *blood* agar adalah kokus/bulat dengan warna koloni putih kekuningan dan mampu menghemolisis *blood* agar (hemolisi beta). Sedangkan *Escherichia coli* pada media *Eosin Methylen Blue* (EMB) berbentuk bulat halus dengan warna koloni hijau metalik dan bertepi jelas.

Hasil uji aktivitas biokimia meliputi uji katalase, uji indol, uji Metil Red, uji *vuges proskauere*. Pada uji katalase terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* terbentuk gelembung gas di sekitar koloni, menunjukkan reaksi positif. Pada uji indol terhadap *Staphylococcus aureus* terbentuk warna merah, menunjukkan reaksi indol positif. Sedangkan terhadap *Escherichia coli* terbentuk warna jingga/kuning, menunjukkan reaksi negatif. Pada uji Metil Red terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* terbentuk warna merah menunjukkan reaksi positif yaitu karena adanya pembentukan asam, sedangkan warna kuning menunjukkan reaksi negatif. Pada uji *Voges Proskauer* terhadap *Staphylococcus aureus* terbentuk warna merah menunjukkan reaksi positif yaitu terjadi pembentukan *acethyl methyl carbinol*. Sedangkan terhadap *Escherichia coli* tidak terjadi perubahan warna, menunjukkan reaksi negatif. Hasil uji untuk semua pengujian yang dilakukan terhadap bakteri uji berdasarkan pewarnaan Gram, bentuk dan warna koloni bakteri pada media selektif dan uji aktivitas biokimia dibandingkan dengan literatur dan memberikan hasil yang sama dengan literatur.

Tabel 1. Hasil identifikasi bentuk dan warna koloni bakteri uji pada media selektif serta identifikasi bakteri dengan uji aktivitas biokimia

No.	Jenis bakteri	Media, bentuk, dan warna bakteri	Uji katalase	Uji indol	Uji Metil Red	Uji Vuges Proskauer	Pewarnaan gram	Bentuk bakteri	Warna bakteri
1	<i>Staphylococcus aureus</i>	Blood Agar, bulat, dan berwarna putih kekuningan	+	-	+	+	Positif	Kokus/bulat	Ungu/biru
2	<i>Escherichia coli</i>	Eosin Methylen Blue Agar, bulat dan berwarna hijau metalik	+	+	+	-	Negatif	Basil/batang	merah

Keterangan :

1. Uji Katalase : + : Terbentuk gelembung udara di sekitar koloni
- : Tidak terbentuk gelembung udara di sekitar koloni
2. Uji Indol : + : Terbentuk warna merah pada media setelah diberi reaksi
- : Tidak terbentuk warna merah pada media setelah diberi reaksi
3. Uji Metil Red : + : Terbentuk warna merah pada media setelah diberi reaksi
- : Tidak terbentuk warna merah pada media setelah diberi reaksi
4. Uji Voges Proskauer : + : Terbentuk warna merah tembaga pada media setelah diberi reaksi
- : Tidak terbentuk warna merah tembaga pada media setelah diberi reaksi

Tabel 2. Hasil pengukuran diameter zone hambat minyak atsiri oregano terhadap *Staphylococcus aureus*

Konsentrasi (%) Ulangan	Diameter zone hambat (mm)					
	100	50	25	12,5	6,25	3,125
1	18	14	13	11	9	8
2	17	13	12	12	10	9
3	15	13	11	11	10	9
Jumlah	50	40	36	34	29	26
Rata-rata	16,7	13.3	12	11.3	9.7	8.6

Tabel 3. Hasil pengukuran diameter zone hambat minyak atsiri oregano terhadap *Escherichia coli*

Konsentrasi (%) Ulangan	Diameter zone hambat (mm)					
	100	50	25	12,5	6,25	3,125
1	20	18	16	14	12	10
2	18	17	16	13	12	11
3	18	17	15	13	12	10
Jumlah	56	52	47	40	36	31
Rata-rata	18.7	17.3	15.7	13.3	12	10.3

Tabel 4. Hasil penentuan konsentrasi hambat minimum (KHM) minyak atsiri oregano terhadap *Staphylococcus aureus*

Konsentrasi (%) Ulangan	Pertumbuhan bakteri	
	1	2
3	-	-
2.5	-	-
2	+	+
1.5	+	+
1	+	+
Kontrol Bakteri	+	+
Kontrol Media	-	-

Keterangan : (-) : Tidak ada pertumbuhan bakteri
(+) : Ada pertumbuhan bakteri

Tabel 5. Hasil penentuan konsentrasi hambat minimum (KHM) minyak atsiri oregano terhadap *Escherichia coli*

Konsentrasi (%) \ Ulangan	Pertumbuhan bakteri	
	1	2
3	-	-
2.5	-	-
2	+	+
1.5	+	+
1	+	+
Kontrol Bakteri	+	+
Kontrol Media	-	-

Keterangan : (-) : Tidak ada pertumbuhan bakteri
(+) : Ada pertumbuhan bakteri

Pengujian daya hambat minyak atsiri oregano terhadap pertumbuhan bakteri uji Gram positif dan Gram negatif, yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* menggunakan metode difusi cara cakram. Karena larutan uji yang diserap oleh kertas cakram dapat diatur sesuai dengan konsentrasi yang digunakan.

Hasil pengujian daya hambat minyak atsiri oregano memberikan hasil positif terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. hasil positif dalam penelitian ini mempunyai arti bahwa uji mempunyai daya hambat dengan melihat terbentuknya zona hambat bakteri di sekeliling cakram dan mempunyai nilai konsentrasi hambat minimum. Diameter rata-rata zone hambat pada konsentrasi 100% sebesar 16,7 mm, konsentrasi 50% sebesar 13,3 mm, konsentrasi 25% sebesar 12 mm, konsentrasi 12,5% sebesar 11,3 mm, konsentrasi 6,25% sebesar 9,7 mm, konsentrasi 3,125 sebesar 8,6 mm, sedangkan diameter rata-rata zone hambat *Escherichia coli* 25922 pada konsentrasi 100% sebesar 18,7 mm, konsentrasi 50% sebesar 17,3 mm, konsentrasi 25% sebesar 15,7 mm, konsentrasi 12,5% sebesar 13,3 mm, konsentrasi 6,25 sebesar 12mm, konsentrasi 3,125% sebesar 10,3 mm.

Pengujian Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) minyak atsiri oregano menggunakan metode dilusi cara penipisan lempeng agar terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dapat menghambat pertumbuhan bakteri pada konsentrasi 2,5%.

KESIMPULAN

Minyak atsiri oregano (*Origanum vulgare*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri pada konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25% dan 3,125% menghasilkan zone hambat total terhadap *Staphylococcus aureus* dengan diameter rata-rata sebesar 16,7mm; 13,3mm; 12mm; 11,3mm; 9,7mm; 8,6mm, sedangkan diameter rata-rata *Escherichia coli* sebesar 18,7mm; 17,3mm; 15,7mm; 13,3mm; 12mm dan 10,3mm.

Minyak atsiri oregano (*Origanum vulgare*) menunjukkan nilai Kadar Hambat Minimum (KHM) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* pada konsentrasi 2,5%.

DAFTAR PUSTAKA

- Ditjen POM., Farmakope Indonesia, Edisi IV, Departemen Kesehatan RI, Jakarta, 1995, hal 7.
- Ketaren, S., Pengantar Teknologi Minyak Atsiri, P.N. Balai Pustaka, Jakarta, 1985, hal 19-21.
- Guenther, E., Minyak Atsiri, Jilid I, terjemahan ketaren, S., Universitas Indonesia Press, Jakarta, 1987, hal 447-448.
- De Guzman, C.C and Siemonsma, J.S., Plants Resources of South – East Asia, Backhuys Publisher, Leiden, Bogor, 1999, hal 156-161.
- <http://www.oregano.yahoo.com>, 21 September 2005 Jam 10.00.
- Guenther, E., The Essential Oils, Robert E Krieger Publishing Company, Huntington, New York, 1972, hal 131-134.
- Ganiswara, S. G. et al., Farmakologi dan Terapi, Edisi 4, Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, 1995, hal. 571-583.
- Mutschler, E., Dinamika Obat, Edisi 5, terjemahan Widiyanto, M.B. dan Ranti, A.S., Penerbit ITB, Bandung, 1991, hal.623.
- DitJen POM., Cara Pembuatan Simplisia. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 1985, hal. 1-4.
- Buchanan, R. E. (Ed.), Bergey's Manual of Determinative bacteriology, 8th ed, The William and Wilkins Co, Baltimore, 1974, hal. 290-293.
- Basic Laboratory Procedures in Clinical Bacteriology, World Health Organization, Geneva, 1991, hal. 77-95.
- Lorian, V., Antibiotics In Laboratory Medicine, 2nd ed, The William and Wilkins Co, Baltimore, London, 1980, hal. 1-53.
- Syahrurachman, A. et.al., Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran, edisi revisi, Binarupa Aksara, Jakarta, 1993, hal. 103-111, 154-173.
- Bonang, G. dan Koeswardono, E., Mikrobiologi Kedokteran untuk Laboratorium dan Klinik, P.T. Gramedia, Jakarta, 1979, hal. 8-9, 63, 73-75, 176-190.
- Cowan, S.T., Manual for the Identification of Medical bacteria, 2nd ed., Cambridge University Press London, 1974, hal. 48-50, 107-109, 113-114, 140-155, 161-162, 166-167.