

**UJI DAYA HAMBAT RAMUAN HERBAL (BAWANG PUTIH, DAUN SIRIH,
DAN KAYU MANIS) TERHADAP PERTUMBUHAN
Bacillus subtilis DAN *Escherichia coli***

Muh. Nur Hidayat, Amriana Hifiza, Ismawati Asmar

Jurusan Ilmu Peternakan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Alauddin Makassar
Email : hidayat.peteruin@gmail.com

ABSTRACT

This study aims to determine the inhibitory activity of garlic, betel leaf and cinnamon herbal remedy made to the growth of *B. subtilis* and *E. coli*, and to know the long fermentation of the best herbs to inhibit the growth of *B. subtilis* and *E. coli*. This research was conducted in the Laboratory of Microbiology and Animal Health High School Agricultural Extension (HSAE/) Gowa. The treatment is given as follows: The herb is fermented for 0 days without EM4 (control) P0; herb fermented for 0 days without EM4 P1; herb that is fermented for 7 days with EM4 P2; herb that is fermented for 14 days with EM4 P3; herb fermented for 21 days at EM4 P4. The data obtained were processed using Completely Randomized Design (CRD) and what if the test significant, then continued with the smallest Significant Difference Test (SDT). Results of analysis of variance showed that the treatment significantly ($P < 0.05$) against on the growth of *B. subtilis* and *E. coli*. The conclusion of this study is, materials that are made of herbal ingredients (garlic, betel leaf and cinnamon) has a diameter of inhibition zones on treatment significantly ($P < 0.05$) on the growth of *B. subtilis* and *E. coli*. and long fermentation excellent for growth resistor *B. subtilis* and *E. coli* is at P3 treatment 14 days fermentation.

Keywords: Herbal Remedy (Garlic, Betel Leaf and Cinnamon), *B. subtilis*, *E. coli*.

PENDAHULUAN

Tanaman obat merupakan salah satu tanaman yang tumbuh secara alamiah di alam terbuka, dan untuk saat ini tanaman obat cukup banyak dikembangkan melihat dari segi manfaat tanaman tersebut. Secara tradisional tanaman obat cukup berkhasiat menyembuhkan penyakit, lebih tepatnya apa bila diaplikasikan pada ternak unggas akan memperoleh ternak yang organik, seperti menghilangkan bau kotoran ternak, meningkatkan nafsu makan, dan meningkatkan daya tahan tubuh.

Ramuan tanaman obat pada umumnya dikonsumsi oleh manusia yang tujuan menjaga kesehatan atau sebagai pengobatan beberapa penyakit tertentu. Ramuan tanaman obat yang diolah secara tradisional adalah obat dari bahan alami terutama tumbuh-tumbuhan yang memiliki kadungan tertentu guna penyembuhan. Ramuan tanaman obat merupakan

warisan budaya bangsa yang telah digunakan turun temurun untuk penyembuhan dan menjaga kesehatan.

Sebagaimana diketahui ramuan tanaman obat (jamu) dapat meningkatkan kebugaran dan ketahanan tubuh manusia yang menggunakannya, demikian pula apabila diberikan pada ternak. Ramuan beberapa tanaman obat yang diberikan pada ternak dapat meningkatkan nafsu makan dan peningkatan produktifitas ternak.

Menurut Sumardi (2006), peternak yang secara rutin memberikan ramuan obat tradisional pada ternaknya baik melalui air minum atau dicampur dalam pakan, dan ternaknya terhindar dari serangan penyakit, karena obat pabrik mahal maka para peternak skala kecil mencari alternatif lain dengan menggunakan jamu hewan. Secara umum didalam tanaman obat (rimpang, daun, batang, akar, bunga dan buah) terdapat senyawa aktif seperti alkaloid, fenolik, tripenoid, minyak atsiri glikosida dan sebagainya yang bersifat sebagai antiviral, anti bakteri serta imunomodulator. Komponen senyawa aktif tersebut berguna untuk menjaga kesegaran tubuh serta memperlancar peredaran darah. Bahan ramuan tanaman obat (empon-empon) dibuat sesuai kepentingan dan fungsinya yang bisa dipilih dari satu jenis atau beberapa jenis tanaman obat antara lain kunyit, lengkuas, jahe, temulawak, kencur dan lainnya dibuat menjadi ramuan yang biasa disebut jamu hewan.

Berdasarkan hal tersebut diatas, penggunaan jamu herbal ini dapat lebih baik maka perlu dilakukan penelitian dengan uji aktifitas ramuan herbal (bawang putih, daun sirih dan kayu manis) terhadap pertumbuhan mikroba *B. subtilis* dan *E. coli*.

METODE PENELITIAN

A. Waktu dan tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni – Juli 2013. Lokasi penelitian bertempat di Laboratorium Mikrobiologi dan Kesehatan Hewan Sekolah Tinggi Penyuluh Pertanian (STPP) Gowa.

B. Materi Penelitian

1. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini, adalah sebagai berikut;

Tabel 1. Komposisi Bahan Untuk Ramuan Herbal

Jenis bahan	Jumlah
Bawang putih	62.5gr
Daun sirih	62.5gr
Kayu manis	62.5gr
Molases	250 ml
EM 4	250 ml

Bahan lain yang digunakan untuk penelitian ini adalah: NA (Nutrien Agar) 4 gr, alkohol, dan biakan bakteri *B. subtilis* dan *E. coli*.

2. Alat

Peralatan yang digunakan adalah autoklaf, lemari asam, incubator, cawan petri, ose bulat, neraca analitik, oven, pipet mikro, blender, pisau, tempat penampung, kertas disk, gelas kimia, labu erlemeyer, aluminium foil, ring sumuran, pinset, karet gelang.

C. Parameter Penelitian

Parameter yang diukur dalam penelitian ini adalah zona daya hambat ramuan herbal terhadap bakteri Gram positif (*B. subtilis*) dan Gram negatif (*E. coli*).

D. Desain Penelitian

Percobaan dilaksanakan berdasarkan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Susunan setiap perlakuan terdiri dari 3 ulangan.

P0 : Ramuan herbal yang difermentasi selama 0 hari tanpa EM4

P1 : Ramuan herbal yang difermentasi selama 0 hari dengan EM4

P2 : Ramuan herbal yang difermentasi selama 7 hari dengan EM4

P3 : Ramuan herbal yang difermentasi selama 14 hari dengan EM4

P4 : Ramuan herbal yang difermentasi selama 21 hari dengan EM4

Jenis Mikroba ,

B : Bakteri *B. subtilis*

E : Bakteri *E.coli*

Masing-masing jenis mikroba diberikan kode B untuk bakteri *B. subtilis* dan E untuk *E. coli*.

E. Metode Kerja

1. Tahap Persiapan

a. Pembuatan ramuan herbal

Masing – masing bahan (bawang putih, dauh sirih, dan kayu manis) ditimbang menggunakan neraca analitik seberat 62,5 gram dicuci dan dihaluskan menggunakan blender, kecuali kayu manis ditumbuk sampai halus dan dicampur menjadi satu. Secara terpisah dicampur juga molases dan EM4 dengan takaran masing–masing 250 ml. Selanjutnya semua dicampur dan ditambahkan air (sumur), kemudian diaduk hingga homogen.

Dalam penelitian ini ramuan herbal yang dibuat hanya menggunakan larutan saja (tampa ampas), hal ini dilakukan untuk mengetahui sejauh mana pertumbuhan dari mikroba tersebut apabila media tersebut hanya berupa larutan (tanpa ampas),

b. Pembuatan medium NA (Nutrien Agar)

Masing–masing bahan (ekstrak beef 1,5 gram, pepton 2,5 gram, bacto agar 7,5 gram) ditimbang dengan teliti, lalu dilarutkan ke dalam aquadest 500 ml, kemudian dipanaskan sambil diaduk hingga homogen, selanjutnya wadah ditutup dengan baik, kemudian disterilkan dalam otoklaf pada tekanan 2 atm, suhu 121o C selama 15 menit.

c. Sterilisasi alat bahan

1) Sterilisasi menggunakan oven

Alat– alat yang tahan panas tinggi misalnya labu erlemeyer, cawan petri, dan tabung reaksi, di sterilkan dengan menggunakan oven biasa pada suhu 180oc, tetapi terlebih dahulu dicuci bersih dan disterilkan dengan menggunakan alkohol kemudian dibungkus dengan kertas.

2) Sterilisasi menggunakan autoklaf

Media dan bahan disterilkan dengan tekanan tinggi menggunakan autoklaf pada tekana 2 ATM (atmosfer) dengan suhu 121oC selama 15–30 menit. Biasanya bergantung pada jenis dan banyaknya bahan. Medium yang disterilkan adalah medium NA (Nutrien Agar) dan Aquadest.

3) Sterilisasi menggunakan bunsen

Alat yang terbuat dari kawat platina seperti kawat ose, disterilkan menggunakan bunsen dengan cara membakar alat tersebut di atas api sampai pijar.

Disamping itu, juga digunakan dalam pengerjaan secara aseptis untuk menghindari terjadinya kontaminasi.

4) Sterilisasi menggunakan aquadest

Aquadest dimasukkan kedalam labu erlenmeyer kemudian ditutup dengan menggunakan kapas dan aluminium foil kemudian disterilkan ke dalam autoklaf pada tekanan 2 ATM dengan suhu 121°C selama 20 menit.

2. Tahap Pelaksanaan

a. Peremajaan Mikroba uji

Biakan *B. subtilis* dan *E. coli* masing-masing 1 kawat ose diinokulasikan ke dalam medium NA Miring, kemudian diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37 °C.

b. Pembuatan suspensi mikroba

Biakan *B. subtilis* dan *E. coli* yang telah diremajakan diambil dalam beberapa ose lalu diinokulasikan ke dalam 10 ml aquadest steril kemudian digoyangkan

c. Pengujian daya hambat

Pengujian zona hambatan pada media padat digunakan untuk penentuan efek antibakteri dan fermentasi terhadap bakteri uji *B. subtilis* dan *E. coli*.

- 1) Cawanpetri diisi dengan medium NA teknis 1,6% (w/v) ± 8 ml dan dibiarkan memadat.
- 2) Ring sumuran (*well*) steril diameter 10 cm dimasukkan kedalam cawan petri. Natrium agar yang masih dalam keadaan cair (suhu 40-45 °C) diinkubasi dengan biakan bakteri patogen. Kemudian masukkan ke dalam cawanpetri yang berisi ring steril dan dibiarkan memadat.
- 3) Setelah memadat ring diangkat dengan menggunakan pinset. Sampel dimasukkan ke dalam lubang sumuran sebanyak 0,5 ml selanjutnya diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24-48 jam

d. Pengamatan pengolahan data

Pengamatan dan pengolahan data dilakukan setelah masa inkubasi yang dilakukan selama 24-48 jam pada suhu 37 °C. Diameter zona bening yang terbentuk diukur dengan *Calliper*. Area dari keseluruhan zona dihitung kemudian dikurangi area sumuran dan hasilnya dilaporkan sebagai zona hambatan

F. Pengolahan Data

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan dianalisis dengan analisis varians berdasarkan Rancangan Acak Lengkap (RAL), 5x4 dengan 5 perlakuan dan 4 ulangan, pada taraf kepercayaan $\alpha = 0,005$ dan apabila dalam pengujian perlakuan berpengaruh nyata, dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) (Gasperz, 1991).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil penelitian yang dilakukan pada uji daya hambat ramuan herbal (bawang putih, daun sirih dan kayu manis) terhadap pertumbuhan *B. subtilis* dan *E. coli* dapat dilihat pada Tabel 2:

Tabel 2. Data zona hambatan ramuan herbal (bawang putih, daun sirih dan kayumanis) terhadap pertumbuhan *B. subtilis* dan *E. coli*.

Jenis Bakteri	Perlakuan (mm)				
	P0	P1	P2	P3	P4
<i>B. subtilis</i>	18.4 ^a ±0.05	19.5 ^{ab} ±0.29	22.8 ^{bc} ±0.01	25.9 ^c ± 0.00	21.8 ^{bc} ± 0.00
<i>E. coli</i>	11.9 ^a ±0.00	11.5 ^a ±0.00	20.2 ^b ±0.19	25.7 ^c ± 0.00	21.9 ^b ± 0.00

Superscrip yang berbeda pada baris yang sama berbeda nyata ($P < 0,05$)

Hasil analisis ragam pada Tabel 2, menunjukkan bahwa perlakuan berpengaruh ($P < 0,05$) terhadap pertumbuhan *B. subtilis* dan *E. coli*. Berdasarkan Uji BNT terhadap *B. subtilis* menunjukkan perlakuan P0 (18,4 mm) dan P1(19,5 mm) tidak berbeda nyata, demikian juga perlakuan P2(22,8 mm) dan P4(21,8 mm) tidak berbeda nyata, sedangkan P3 (25,9 mm) berbeda nyata dengan semua perlakuan pada Uji daya hambat ramuan herbal. Berdasarkan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) terhadap *E. coli* menunjukkan perlakuan P0(11,9 mm) dan P1(11.5 mm) tidak berbeda nyata, demikian juga pada perlakuan P2 (20,2 mm) dan P4 (21,9 mm) tidak berbeda nyata, sedangkan P3 (25,7 mm) berbeda nyata dengan semua perlakuan pada Uji daya hambat ramuan herbal.

A. Uji Daya Hambat Ramuan Herbal (Bawang Putih, Daun Sirih Dan Kayu Manis) Terhadap Pertumbuhan *B. Subtilis*.

Berdasarkan hasil analisis sidik ragam pada Tabel. 2 menunjukkan bahwa perlakuan berpengaruh nyata ($P < 0.05$) terhadap pertumbuhan *B. subtilis*. Diperoleh hasil pengukuran

tertinggi berada pada perlakuan P3 (25.9 mm) yang berbeda nyata dengan perlakuan P1, P2 dan P4 dengan diameter zona hambatan masing - masing perlakuan P1 (19,5 mm), P2 (22,8 mm) dan P4 (21,8 mm), namun pada perlakuan P0 diperoleh diameter zona hambatan terendah yakni sebesar P0 (18,4 mm). Hal ini disebabkan perlakuan P0 merupakan kontrol dari semua perlakuan.

Kemampuan daya hambat ramuan herbal (bawang putih, daun sirih dan kayu manis) terhadap pertumbuhan bakteri *B. subtilis* berpengaruh nyata ($P < 0.05$). Hasil penelitian pada Tabel. 2, menunjukkan bahwa lama waktu fermentasi diperoleh zona daya hambat semakin luas terutama pada perlakuan P3 (25,9 mm). Hal ini mungkin disebabkan pada perlakuan P3, senyawa bahan aktif yang terkandung didalam ramuan herbal tersebut meningkat pada lama waktu fermentasi 14 hari. Namun selanjutnya zona daya hambat mengalami penurunan dengan bertambahnya lama waktu fermentasi, seperti terlihat pada perlakuan P4 yang difermentasi selama 21 hari. Diameter zona daya hambat yang diperoleh pada perlakuan P4, yaitu 21,8 mm. Penurunan zona daya hambat pada perlakuan P4 kemungkinan disebabkan kandungan bahan aktif yang terkandung didalam ramuan herbal mengalami penurunan sehingga zona daya hambat yang diperoleh sangat kecil.

Ramuan herbal yang digunakan pada penelitian ini diantaranya adalah bawang putih, daun sirih dan kayu manis untuk menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan Gram negatif. Kemampuan menghambat dari ramuan herbal (bawang putih, daun sirih dan kayu manis) terhadap pertumbuhan bakteri *B. subtilis* dan *E. coli* tampak berpengaruh nyata. Hasil penelitian pada Tabel 4 menunjukkan bahwa dengan bertambahnya lama waktu fermentasi, maka ada kecenderungan bertambah luas daya hambat ramuan herbal terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *B. Subtilis*.

Melalui uji beda nyata terkecil (BNT) dapat diketahui bahwa zona daya hambat tertinggi pada ramuan herbal terhadap pertumbuhan *B. subtilis* dan *E. coli* berada pada perlakuan P3 dengan lama fermentasi 14 hari dengan masa inkubasi 24-48 jam. Penggunaan daya hambat paling efektif digunakan untuk menghambat pertumbuhan *B. subtilis* dan *E. coli* adalah pada hari ke-14. Mengacu pada standar yang ditetapkan oleh Departemen Kesehatan (1988) disebutkan bahwa mikroba dinyatakan peka terhadap antimikroba asal tanaman apabila mempunyai ukuran diameter daya hambatannya 12-24 mm. hasil pengamatan tersebut menunjukkan bahwa ramuan herbal (bawang putih, daun sirih dan kayu manis) berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *B. subtilis* dan *E. coli* dengan diameter yang dihasilkan lebih dari standart yang ditentukan oleh Departemen Kesehatan yaitu 12 - 24 mm.

Pada Tabel 2 di atas perlakuan paling berpengaruh berada pada perlakuan P3 terhadap bakteri *B. subtilis* dan *E. coli* dengan luas zona hambatan yang terbentuk pada masing –masing bakteri yakni : pada bakteri *B. subtilis* sebesar 2,59 mm dan pada bakteri *E. coli* sebesar 25.7 mm dengan lama fermentasi 14 hari. Perbedaan diameter daya hambat yang ditunjukkan pada tabel 4 pada ramuan herbal terhadap bakteri *B. subtilis* dan *E. coli*, disebabkan karena adanya perbedaan struktur dinding sel yang dimiliki oleh masing–masing bakteri. Diameter daya hambat ramuan herbal pada *E. coli* lebih kecil dari pada *B. subtilis*. Menurut Jawetz (1986), dinding sel *E. coli* terdiri dari beberapa lapis peptidoglikan dengan tiga polimer pembungkus yang terletak diluar lapisan peptidoglikan yaitu lipoprotein, selaput luar dan lipopolisakarida, *E. coli* memiliki lapisan peptidoglikan dengan tiga polimer maka selnya akan tidak mudah terdenaturasi oleh zat antimikroba yang terkandung dalam ramuan jamu herbal sehingga diameter daya hambatnya lebih kecil dibandingkan dengan zona hambatan pada *B. subtilis* yang memiliki zona hambatan yang lebih besar.

Luas zona hambatan tertinggi dari Tabel 2 berada pada bakteri *B. subtilis* dengan perlakuan P3 (25,9 mm) yang tidak berbeda nyata dengan ke-4 perlakuan lainnya, dibandingkan dengan luas zona hambatan yang dimiliki oleh bakteri *E. coli* yang memiliki perlakuan tertinggi berada pada P3 (25,7 mm) yang berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Menurut Ribonson (1995), beberapa faktor yang dapat mempengaruhi kerja zat antibakteri diantaranya: umur bakteri, konsentrasi zat antimikroba, kandungan bahan aktif zat antimikroba, dan sebagainya. Hal ini akan mempengaruhi populasi mikroba (peningkatan laju kematian mikroba) yang erat kaitannya dengan umur mikroba. Pada umumnya umur mikroba yang masih muda memiliki daya tahan yang lebih rendah dibandingkan dengan mikroba yang sudah tua (fase stasioner) yang memiliki daya tahan yang lebih tinggi, dan hal ini didukung oleh kemampuan suatu bahan dalam menghambat suatu mikroba yang tergantung pada tinggi rendahnya suatu konsentrasi dan bahan aktif zat antimikroba. Kematian mikroba berhubungan langsung dengan bahan aktif zat antimikroba. Hal ini berarti semakin tinggi kandungan zat antimikroba yang dimiliki oleh suatu ramuan herbal maka tingkat daya hambat yang diperoleh akan semakin luas dan kematian mikroba akan semakin cepat.

Terbentuknya zona hambatan disebabkan oleh adanya zat-zat yang bersifat antibakteri yang terkandung dalam bahan yang digunakan pada ramuan herbal (bawang putih, daun sirih, dan kayu manis) sebagaimana diketahui bahan untuk pembuatan ramuan herbal memiliki beberapa kandungan kimia; seperti senyawa alkali, tannin, minyak atsiri,

senyawa folifenol dan sebagainya. Pada ramuan herbal yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan *B. subtilis* dan *E.coli* memiliki kandungan kimia diantaranya senyawa *Alkaloid* dari bawang putih mengandung racun yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *B. subtilis* dan *E. coli* dan dapat menyebabkan sel bakteri menjadi lisis lebih terpapar oleh zat tersebut dan akan mengganggu sel bakteri dalam penyerapan protein oleh cairan sel sedangkan alicin yang terdapat pada bawang putih sebagai penghambat pertumbuhan bakteri (Clifton, 1958).

Daun sirih dapat digunakan sebagai antibakteri karena mengandung 2,5% minyak atsiri yang sebagian besar terdiri dari *betephenol* yang merupakan isomer *Euganol allypyrocatechine*, *Cineol methil euganol*, *Caryophyllen* (siskuiterpen), *kavikol*, *kavibekol*, *estragol* dan *terpinen* yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. kayu manis memiliki bahan aktif yang merupakan senyawa fenol, dan aldehida yang merupakan senyawa utama dari minyak atsiri kayu manis (Rahmat, 2000).

Bahan-bahan (herbal) yang yang digunakan dalam penelitian untuk pembuatan ramuan herbal memiliki potensi sebagai antimikroba. Hal ini disebabkan kandunga kimia yang dimiliki oleh semua bahan lebih tinggi. Pada daun sirih memiliki kandungan minyak atsiri sekitar 1,8-4,2% dan bersifat antimikroba yang sangat kuat yaitu 5 kali dari fenol yang dikandung oleh kayu manis, sedangkan bawang putih memiliki senyawa *alkaloid* yang bersifat racun yang mampu menghambat pertumbuhan *B. subtilis* dan *E. coli* dan dapat menyebabkan sel bakteri menjadi lisis lebih terpapar oleh zat tersebut (Zainuddin, 2010).

Berdasarkan hasil zona hambatan yang diperoleh pada Tabel 2 dapat diketahui bahwa terjadi penurunan pada perlakuan P4 terhadap zona hambatan pada bakteri *B. subtilis* dan *E. coli*, hal ini disebabkan area zona hambatan yang terbentuk perlahan-lahan akan ditumbuhi kembali oleh bakteri dan juga dapat dipengaruhi oleh kandungan bahan aktif antimikroba yang terdapat didalam ramuan herbal mulai berkurang selain itu juga dipengaruhi oleh lamanya fermentasi dan beberapa faktor yang mempengaruhi menurunnya daya kerja dari zat anti bakteri diantaranya umur bakteri yang digunakan sudah tua dan sudah mengalami beberapa kali peremajaan bakteri .

Penurunan daya hambat yang terjadi pada hari ke-21 pada perlakuan P4 ini Sebagaimana diketahui ramuan herbal yang digunakan pada penelitian ini hanya menggunakan larutan tanpa ampas dan tidak menutup kemungkinan bahan-bahan yang digunakan jumlahnya sangat sedikit yakni sekitar 62,5 gr sehingga area zona hambatan yang diperoleh pada Tabel 2 pada perlakuan P4 lebih kecil. Menurut Sumardi (2006),

bahwa sifat antimikroba yang terdapat pada ramuan herbal adalah sebagai zat bakteriostatik, yang berarti hanya dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif, hal ini disebabkan karena area zona hambatan yang terbentuk, secara perlahan-lahan akan ditumbuhi kembali oleh bakteri tersebut. Sehingga sifat antimikroba dari ramuan herbal ini tidak dapat digolongkan kedalam bakteriostatik karena tidak dapat membunuh

Berdasarkan uraian di atas, membuktikan bahwa ramuan herbal mempunyai dasar kuat digunakan sebagai bahan obat karena mengandung bahan aktif zat antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *B. subtilis* dan *Es. coli* dengan komponen bahan aktif yang terkandung didalam ramuan herbal yakni minyak atsiri, *fenol*, *alkeolid*, *tannin*, *eguenol* yang dapat memengaruhi pertumbuhan bakteri *B. subtilis* dan *E.coli*.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil analisis sidik ragam dan pembahasan maka dapat disimpulkan bahwa :

1. Bahan-bahan yang dibuat ramuan herbal (bawang putih, daun sirih dan kayu manis) memiliki zona daya hambat yang berpengaruh nyata pada perlakuan ($P < 0.05$) terhadap pertumbuhan *B. subtilis* dan *E. coli*.
2. Lama waktu fermentasi yang terbaik untuk menghambat pertumbuhan *B. subtilis* dan *E. coli* berada pada perlakuan P3 dengan lama waktu fermentasi 14 hari.

DAFTAR PUSTAKA

- Clifton C. E. 1958. *Introduction to the Bacteria*. Second Edition. MC.
- Departemen Kesehatan. 1988. *Inventaris Obat Indonesia Jilid I. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Jawetz. E., J.L. Melnick and E.A. Adelberg. 1986. Edisi XVI. *Microbiology Untuk Kesehatan*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Rahmat. 2000. *Khasiat dan Manfaat Daun Sirih, Obat Mujarab dari Masa Kemasa*. Agromedia Pustaka, Jakarta.

Robinson, T. 1995. *Kandungan Senyawa Organik Tumbuhan Tinggi*. Diterjemahkan oleh Prof. Dr. Kosasih Padmawinata, Bandung: ITB.

Sumardi. 2006. *Jamu Tahan Flu Burung*. (Harian Kompas tanggal 17 Juli 2006. Jakarta).

Zainuddin, D. 2010. *Tanaman Obat-Obatan* (Online). <http://toni.komara.blogspot.com/2010/01>. (Diakses 13 April 2013).