UJI DAYA HAMBAT FRAKSI SISA DARI DESTILASI FRAKSIONASI MINYAK ATSIRI DAUN UJUNG ATAP (*Baeckea frutescens* L.) TERHADAP BAKTERI *Streptococcus mutans*

Kartika Wardhani Purwaningtyas[1]*, Muhamad Agus Wibowo[1], dan Warsidah[1]
[1]Program Studi Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Tanjungpura,
Jl. Prof. Dr. H. Hadari Nawawi, Pontianak
*e-mail: kartikawp97@gmail.com

ABSTRAK

Baeckea frutescens L. atau ujung atap adalah tanaman tropis yang sering dijadikan sebagai tanaman hias dan dapat digunakan sebagai obat terhadap beberapa penyakit. Di Indonesia tanaman ini dapat dijumpai di pulau Kalimantan, Sumatera, Jawa, dan Sulawesi. Pemisahan komponen minyak atsiri Baeckea frutecens L. telah dilakukan dengan metode destilasi fraksionasi. Hasil pemisahan diperoleh fraksi D (sisa proses fraksionasi) berwarna kuning kecoklatan dengan % rendemen sebesar 31,51% (v/v) dan densitas 0,901 g/mL. Komponen kimia fraksi D minyak atsiri Baeckea frutescens L. dianalisis menggunakan GC-MS menunjukkan ada 3 macam komponen utama fraksi D yaitu terdiri dari 1,8-Sineol (21,04%), p-Simena (14,55%), dan α-Humulena (8,64%). Hasil uji daya hambat fraksi D (sisa) terhadap bakteri Streptococcus mutans diperoleh konsentrasi hambat minimum (KHM) sebesar 0,625% (v/v) dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 1,77 mm bersifat bakteriostatik.

Kata Kunci: *Baeckea frutescens L., destilasi fraksionasi, Streptococcus mutans*

PENDAHULUAN

Tumbuhan ujung atap (*Baeckea frutescens* L.) adalah semak atau pohon kecil yang tumbuh di pantai berpasir, bukit hingga pegunungan wilayah tropis. Tumbuhan ini memiliki daun halus seperti jarum dan mempunyai ciri aromanya yang khas, sehingga digolongkan sebagai tumbuhan aromatik (Chooi, 2008). Di Indonesia tumbuhan ini dapat dijumpai di pulau Kalimantan, Sumatera, Jawa, dan Sulawesi. Selain di Indonesia tumbuhan ini juga dapat ditemukan di negara lain, seperti China bagian selatan, Vietnam, Thailand, Hong Kong, semenanjung Malaysia, New Guinea dan Australia dengan nama daerah berbeda-beda (Murningsih, 2010).

Menurut Jantan, dkk. (1998), hasil identifikasi komponen minyak atsiri pada daun ujung atap asal Malaysia didominasi komponen Pinen (39,9%−55,5%) dengan pengecualian satu sampel yang mengandung γ-Terpinen (34,1%) yang lebih dominan. Di Indonesia komponen yang lebih dominan yaitu 1,8-Sineol (22,08-22,67%) dan p-Pinen (17,98-29,22%) (Murningsih, 2009). Sedangkan menurut Dai, dkk. (2015), komponen minyak atsiri daun ujung atap asal Vietnam didominasi senyawa *α*-Humulena (19.2%) dan β-Kariofillena (17.3%). Beberapa laporan hasil penelitian tersebut memperlihatkan bahwa komponen utama penyusun minyak atsiri daun ujung atap sama, yaitu merupakan senyawa metabolit sekunder golongan terpenoid yang memiliki potensi sebagai anti-inflamasi, antioksidan, antibakteri, anti-leukemia, dan anti-jamur (Hwang, dkk., 2004; Chakraborthy, 2009; Ahmad, dkk., 2012; Jemi, dkk., 2017).

Minyak atsiri atau minyak terbang merupakan minyak yang mudah menguap dan diperoleh dari tanaman (Sastrohamidjojo, 2004). Minyak atsiri terdiri dari campuran beberapa komponen senyawa alam. Kualitas minyak atsiri dapat meningkat apabila komponen minyak atsiri semakin murni. Pemisahan dan pemurnian minyak atsiri dapat dilakukan dengan dua cara yaitu secara kimia dan secara fisika. Secara kimia pemisahan dan pemurnian dilakukan dengan penambahan bahan-bahan kimia sepeti zat pengkelat (asam sitrat, asam malat, asam tartarat, dan EDTA) atau adsorben (arang aktif, silika dan alumina). Sedangkan secara fisika, pemisahan dan pemurnian dapat dilakukan dengan proses redestilasi dan destilasi fraksionasi (Setyaningsih, 2013). Destilasi fraksionasi dilakukan seperti metode destilasi namun adanya penambahan *vigreux colomn* sebelum minyak mengembun di kondensor. Melalui *vigreux colomn* komponen minyak

dapat dipisahkan berdasarkan perbedaan titik didih setiap komponen penyusunnya. Komponen penyusun yang memiliki titik didih lebih rendah akan menguap terlebih dahulu melalui *vigreux colomn* (kolom destilasi fraksionasi) baru kemudian disusul oleh komponen yang memiliki titik didih yang lebih tinggi (Arman, dkk., 2014).

Berdasarkan penelitian Hwang, dkk. (2004), ekstrak metanol daun ujung atap memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus mutans,* yang merupakan bakteri utama penyebab karies gigi. Karies gigi ditandai dengan adanya demineralisasi pada jaringan keras gigi, diikuti dengan kerusakan bahan organik dan anorganik penyusun gigi, sehingga membentuk gigi berlubang (Fatmawati, 2011). Karies gigi merupakan salah satu penyakit infeksi di rongga mulut yang prevalensinya di Indonesia masih cukup tinggi. Berdasarkan Survei Kesehatan Rumah Tangga Tahun 2004, jumlah penderita karies di Indonesia mencapai 90,05% dan ini tergolong lebih tinggi dibandingkan dengan negara berkembang lainnya (Depkes, 2004).

Streptococcus mutans mampu menghasilkan laktat, format, asetat, dan etanol sebagai hasil fermentasi karbohidrat melalui suatu jalur glikolitik yang kompleks. Hasil fermentasi tersebut menyebabkan lingkungan mulut berada pada pH yang rendah atau lebih asam. Ketika pH di bawah 5,5, terjadi proses demineralisasi pada jaringan keras permukaan gigi (Marks, dkk., 1996). Hal ini menyebabkan banyak mineral gigi yang luluh dan terbentuk lubang pada gigi (Fatmawati, 2011). Pencegahan karies gigi dapat dilakukan dengan cara menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Oleh karena itu, pada penelitian ini akan dilakukan uji daya hambat fraksi D minyak atsiri *Baeckea frutescens* L. terhadap bakteri *Streptococcus mutans*.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah cawan petri, bunsen, jarum ose, *cotton bud*, erlenmeyer, *beaker glass*, jangka sorong, pipet mikro, vortex, *hot plate*, pengaduk magnet, neraca analitik, *laminar air flow* (LAF), inkubator 37ºC, seperangkat alat destilasi fraksionasi dan GCMS-QP2010S-Shimadzu.

Bahan yang digunakan untuk penelitian ini akuades, biakan murni *Streptococcus mutans,* minyak atsiri *Baeckea frutescens* L., darah domba steril 5% (tanpa fibrinogen dan protein faktor koagulasi), media *Blood Agar Base* merk HIMEDIA® M073-500G, etil asetat p.a., media *Nutrient Broth* (NB).

Prosedur Kerja

Preparasi sampel

Daun ujung atap (*Baeckea frutescens* L.) kering yang diperoleh dari kebun masyarakat di Desa Sungai Nanjung, Kecamatan Matan Hilir Selatan, Kabupaten Ketapang, Kalimantan Barat sebanyak 4 kg ditimbang kemudian dihidrodestilasi selama 3-4 jam menghasilkan minyak atsiri daun ujung atap berwarna kuning pucat dengan kadar minyak atsiri sebesar 0,857% (b/b) dan densitas 0,876 g/mL. Minyak atsiri daun ujung atap yang diperoleh kemudian dipisahkan menggunakan metode destilasi fraksionasi menghasilkan minyak atsiri fraksi A (100−148^{0}C), fraksi B (136−150^{0}C), fraksi C (168−170^{0}C) dan fraksi D yang terdapat dalam labu destilasi fraksionasi (>170^{0}C). Fraksi D dianalisis komponennya menggunakan GCMS dan digunakan untuk uji daya hambat terhadap bakteri *Streptococcus mutans.*

Peremajaan kultur murni bakteri

Media *Nutrient Broth* (NB) 0,08 gram dilarutkan dengan akuades 10 mL. Kemudian dipanaskan menggunakan *hot plate* dengan suhu 70^{0}C sambil dilakukan pengadukkan menggunakan *magnetik stirrer* hingga larut. Setelah itu, media NB dimasukan kedalam tabung reaksi dan disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121^{0}C, tekanan 1 atm selama 15 menit. Setelah steril, tabung didiamkan sampai media dingin. Kultur murni *S. mutans* diinokulasi sebanyak satu ose pada media NB dalam tabung reaksi secara aseptik, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37^{0}C.

Pembuatan media *blood agar plate* (BAP)

Media *Blood Agar Base* (BAB) ditimbang sebanyak 4 gram dan ditambahkan 100 mL akuades. Media BAB dipanaskan menggunakan *hot plate* pada suhu 70^{0}C sambil dilakukan pengadukkan menggunakan pengaduk magnet hingga larut. Setelah larut, media BAB disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121^{0}C, tekanan 1 atm selama 15 menit. Setelah steril, media didiamkan hingga suhu ±45^{0}C dan ditambahkan 5 mL sel darah domba steril (bebas fibrinogen) sambil diaduk menggunakan pengaduk magnet. Kemudian media *Blood Agar Plate* (BAP) dituang ke dalam cawan petri ±25 mL dan ditutup lalu dibiarkan sampai memadat di suhu ruangan.

Pembuatan variasi konsentrasi

Pembuatan konsentrasi fraksi D minyak atsiri *Baeckea frutescens* L. menggunakan variasi 5%; 2,5%; 1,25% dan 0,625% $^{v}/_{v}$. Pertama-tama dibuat larutan stok konsentrasi 10% dibuat dengan memasukan 0,3 mL fraksi residu minyak atsiri daun ujung atap ke dalam tabung reaksi kemudian disuspensikan dalam 2,7 mL etil asetat p.a., lalu divortex hingga homogen. Kemudian diencerkan secara bertingkat hingga konsentrasi paling kecil yaitu 0,625% (Pengenceran untuk larutan stok konsentrasi 5% dilakukan dengan mengambil 1,5 mL larutan stok fraksi residu minyak atsiri konsentrasi 10% dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 1,5 mL etil asetat p.a. kemudian divortex, dst.).

Uji daya hambat

Uji daya hambat dilakukan berdasarkan metode difusi secara sumuran. Sumur dibuat dengan ukuran diameter ±6 mm sebanyak 4 sumur pada media BAP padat. Biakan *S. mutans* berumur sekitar 24-39 jam digores merata menggunakan *cotton bud* steril secara silang pada permukaan media BAP padat. Kemudian pada masing masing sumur diisi sebanyak 20 µL fraksi D minyak atsiri *Baeckea frutescens* L. dengan variasi konsentrasi 0,625%; 1,25%; 2,5%; 5% ($^{v}/_{v}$) dengan ulangan sebanyak 4 kali. Jarak sumur (*well*) satu dengan yang lainnya sebesar 4 cm dan dari tepi media sebesar 2 cm. Kemudian media uji diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37^{0}C. Luas zona hambat yang ditandai dengan daerah bening diukur menggunakan jangka sorong. Selanjutnya zona bening digores menggunakan jarum ose steril sebanyak 1 ose, dan digoreskan ke media uji yang baru. Kemudian diinkubasi kembali selama 24 jam pada suhu 37^{0}C dan diamati media yang tumbuh bakteri uji menunjukkan aktivitas antibakteri bersifat bakteriostatik, sedangkan media yang tidak ditumbuhi bakteri uji menunjukkan aktivitas antibakteri bersifat bakterisidal (Syamsir, dkk., 2001).

HASIL DAN PEMBAHASAN

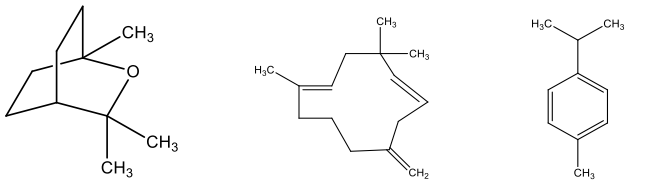
Analisis fraksi sisa menggunakan GC-MS

Analisis kandungan senyawa pada fraksi D minyak atsiri *Baeckea frutescens* L. pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan GCMS-QP2010S-Shimadzu. Identifikasi komponen dari kromatogram GC-MS dilakukan dengan analisis spektra massa yang didasarkan pada "*base peak*" (puncak dasar), *Similarity Index* (SI), dan *trend* pecahan spektra yang kemudian dibandingkan dengan spektra pembanding dari *Library* Wiley 229 LIB. *Base Peak* merupakan puncak paling besar kelimpahannya dalam spektrum dan diberi harga 100%. Jika nilai SI mendekati 100% maka senyawa yang terdeteksi memiliki kemiripan dengan data pembanding (Handayani, dkk., 2017).

Hasil identifikasi komponen fraksi D minyak atsiri *Baeckea frutescens* L, terdiri dari 3 macam komponen yang termasuk dalam golongan senyawa monoterpena dan sesquiterpena. Hasil identifikasi komposisi dari 3 komponen tersebut diduga berasal dari komponen yang tidak dapat menguap pada temperatur di bawah 170^{0}C. Adapun tiga macam komponen utama yang teridentifikasi dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Komponen Utama Fraksi Sisa Fraksionasi Minyak Atsiri *Baeckea frutescens* L.

No.	SI	Waktu Retensi	% Area	Senyawa	Rumus Kimia
1.	96	13,2	14,55	p-Simena	$C_{10}H_{14}$
2.	98	13,5	21,04	1,8-Sineol	$C_{10}H_{18}O$
3.	95	26,8	8,64	α-Humulena	$C_{15}H_{24}$



1,8-Sineol α-Humulena p-Simena

Gambar 1. Struktur kimia komponen utama fraksi sisa

Uji daya hambat

Berdasarkan penelitian yang dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi UPT. PMHP Provinsi Kalimantan Barat, hasil uji daya hambat fraksi D minyak atsiri *Baeckea frutescens* L. terhadap bakteri *Streptococcus mutans* menggunakan media *blood agar plate* (BAP) ditunjukkan pada Gambar 3, serta hasil pengukuran diameter zona hambatnya ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Diameter Zona Hambat Fraksi D Minyak Atsiri *Baeckea frutescens* L. Terhadap Bakteri *S. mutans* Menggunakan Media BAP

Variasi Konsentrasi	Rata-rata Diameter Zona Hambat (mm) ± STD
5%	$7,41 \pm 1,32^{a}$
2,5%	$4,65 \pm 0,15^{b}$
1,25%	$4,45 \pm 1,23^{b}$
0,625%	$1,77 \pm 0,60^{c}$

Keterangan: Superskrip dengan huruf berbeda menunjukkan berbeda nyata (P<0,05), STD merupakan standar deviasi data dari 4 ulangan

Berdasarkan uji sidik ragam menunjukkan variasi konsentrasi memberikan pengaruh nyata dengan nilai probabilitas signifikansi < 0,05 (pada taraf kepercayaan 95%) terhadap diameter zona hambat bakteri *Streptococcus mutans.* Hasil yang paling optimum adalah pada konsentrasi 5% dari fraksi D sebesar 7,41 mm. Kemudian dilakukan uji lanjutan untuk melihat perbedaan signifikan antara masing-masing kelompok variasi konsentrasi dan fraksionasi. Uji lanjutan pada penelitian ini menggunakan uji lanjutan *Least Significant Differences Test* (LSD) atau Beda Nyata Terkecil (BNT). Uji ini dinilai lebih efektif atau lebih teliti (Siregar, 2015).

Tabel 2. menunjukkan beda nyata antar tiap kelompok variasi konsentrasi. Daya hambat terhadap bakteri *Streptococcus mutans* pada konsentrasi 2,5% tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 1,25%, sedangkan konsentrasi 5% dan 0,625% berbeda nyata. Berdasarkan analisis data uji LSD tersebut diketahui bahwa fraksi sisa konsentrasi 2,5% dan 1,25% memiliki tingkat kemampuan aktivitas antibakteri yang sama. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ada pada konsentrasi 0,625% karena dalam jumlah yang sedikit sudah mampu menghambat bakteri *S. mutans.* Berdasarkan uji bakteriostatik/bakterisidal diketahui bahwa fraksi D minyak atsiri daun ujung atap bersifat bakteriostatik terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. Menurut Madigan, dkk. (2000) bakteriostatik hanya memberikan efek mengambat pertumbuhan bakteri saja dan tidak bersifat membunuh bakteri.

Berbagai metabolit sekunder yang terdapat pada fraksi D minyak atsiri dari tanaman ujung atap memiliki aktivitas antibakteri dengan berbagai mekanisme kerja yang bekerja secara sinergis. Fraksi D minyak atsiri menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* karena

mempunyai kandungan senyawa bioaktif golongan terpenoid yang bekerja secara sinergis. Selain senyawa terpenoid pada minyak ini juga terdapat senyawa fenolik dan terpenoid alkohol.

Menurut Rahman, dkk. (2017) senyawa terpenoid mempunyai mekanisme kerja antibakteri yang dapat menyebabkan kerusakan pada membran sel bakteri. Kerusakan membran sel bakteri terjadi ketika senyawa aktif antibakteri bereaksi dengan sisi aktif dari membran sel. Membran sel terdiri dari fospolipid dan molekul protein. Menurut Rijayanti (2014), mekanisme antibakteri senyawa fenolik dalam membunuh mikroorganisme yaitu dengan mendenaturasi protein sel. Ikatan hidrogen yang terbentuk antara fenol dan protein mengakibatkan struktur protein menjadi rusak. Ikatan hidrogen tersebut akan mempengaruhi permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma sebab keduanya tersusun atas protein. Permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma yang terganggu dapat menyebabkan ketidakseimbangan makromolekul dan ion dalam sel bakteri.

Menurut Afrina, dkk. (2016) *Streptococcus mutans* merupakan bakteri gram positif yang mempunyai dinding sel bakteri dengan lapisan peptidoglikan yang tebal. Adanya senyawa oksida serta adanya senyawa fenolik pada fraksi D minyak atsiri menyebabkan fraksi ini berpotensi sebagai antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus mutans* karena dapat mempengaruhi permeabilitas dinding sel dan membran sel bakteri gram positif.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil uji daya hambat yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa fraksi D minyak atsiri mempunyai kemampuan menghambat bakteri *S. mutans* dengan nilai KHM 0,625% (v/v) besifat bakteriostatik.

DAFTAR PUSTAKA

Afrina; Santi, C. dan Cut, R. P. A., 2016, Konsentrasi Hambat dan Bunuh Minimum Ekstrak Buah Kapulaga (*Amomum compactum*) terhadap *Aggregatibacter actimycetemcomitans*, *Journal Syiah Kuala Dent Soc.*, 1(2):192-200.

Ahmad, N.S.; Mohd N.A.G.; Abdul, M.A.; Syed, A.T.T.J. and Mohd, H.H., 2012, High Performance Liquid Chromatography (HPLC) Profiling Analysis and Bioactivity of Baeckea frutescens L. (Myrtaceae), *Journal of Plant Studies,* 1(2):101-108.

Arman, M.; Agus, P. dan Sihana, 2014, Desain Sistem Instrumentasi Proses Destilasi Fraksinasi Batch Berbasis Kendali Suhu, *ASEAN Journal of Systems Engineering,* 2(2):71-79.

Chakraborthy, G.S., 2009, Evaluation of Immunomodulatory Activity of *Aesculus indica*, *International Journal of PharmTech Research,* 1(2):132-134.

Chooi, O.H., 2008, *Tumbuhan Liar Khasiat Ubatan dan Kegunaan Lain*, PRIND-AD SDN. BHD., Kuala Lumpur.

Dai, D.N.; Tran, D.T.; Tajudeen O.O. and Isiaka, A.O., 2015, Chemical Compotition of Essential Oil of *Baeckea frutescens* L., *International Research Journal of Pure and Applied Chemistry*, 8(1):26-32.

Departemen Kesehatan RI, 2004, *Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) 2004*, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Jakarta.

Fatmawati, D.W.A., 2011, Hubungan Biofilm *Streptococcus mutans* Terhadap Resiko Terjadinya Karies Gigi, *Stomatognatic (J.K.G Unej),* 8(3):127-130

Handayani, F.; Reksi, S. dan Ria, M.S., 2017, Formulasi dan Uji Aktivitas Antibakteri *Streptococcus mutans* dari Sediaan *Mouthwash* Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.), *Jurnal Sains & Kesehatan,* 1(8):422-433.

Hwang, J.K.; Jae-Soek, S. *and* Jae-Youn, C., 2004, Anticariogenic Activity of some Tropical Medicinal Plants Against *Streptococcus mutans, Fitoterapia,* 75(6):596-598.

Jantan, I.; Abu, S.A.; Siti, A.A.B.; Abdul, R.A.; M. Trockenbreodt *and* C.V. Chak, 1998, Constituents of the Essential Oil of *Baeckea frutescens* L. from Malaysia, *Flavour Fragr. J.,* 4(13):345-347.

Jemi, R.; Ade, I.B.; Nuwa; Sarinah *and* Gimson, L., 2017, Anti-Fungal Activity of Essential Oil from *Baeckea frutescens* L. against *Pleuratus ostreatus, Proceedings of the 3rd International Symposium on Applied Chemistry.*

Madigan, M. T.; Martinko, J. M. *and* Parker, J., 2000, *Brock Biology of Microorganisms*, Ninth Edition, Prentice-Hall, London.

Marks, B D; A. D. Marks dan C. M. Smith., 1996, *Biokimia Kedokteran Dasar :Sebuah Pendekatan Klinis*, Alih Bahasa Brahm U., Pandit, Penerbit Buku kedokteran EGC, Jakarta.

Murningsih, T., 2009, Studi Fitokimia *Baeckea frutescens* L.: Pengaruh Faktor Lingkungan Terhadap Komposisi Kimia Minyak Atsiri, *Berita Biologi*, 9(5):569-576.

Murningsih, T., 2010, Aktivitas Antioksidan dan Analisis Kimia Ekstrak Daun Jungrahab (*Baeckea frutescens* L.), *Berita Biologi,* 10(1):129-134.

Rahman, F.A.; Tetiana, H. dan Trianna, W.U., 2017, Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) pada *Streptococcus mutans* ATCC 35668, *Artikel Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*, 3(1):1-7.

Rijayanti, R.P., 2014, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang (*Mangifera foetida* L.) Terhadap *Staphylococcus aureus* Secara *in Vitro*, Naskah Publikasi, Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura, Pontianak.

Sastrohamidjojo, H., 2004, *Kimia Minyak Atsiri*, UGM Press, Yogyakarta.

Setyaningsih, D., 2013, *Buku Penuntun Praktikum Teknologi Minyak Atsiri, Rempah dan Fitofarmaka*, Departemen Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, IPB, Bogor.

Siregar, S., 2015, *Metode penelitian kuantitatif: dilengkapi perbandingan perhitungan manual dan SPSS*, Prenadamedia Group, Jakarta.

Syamsir, E., 2001, Mempelajari Stabilitas Aktivitas Antimikroba Ekstrak Biji Atung (Parinoriunr Glaberimum Hassk) Selama Penyimpanan Terhadap *Staphylococus Aureus*, lnstitut Pertanian Bogor, Bogor,(Tesis).