

UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI *INHALANT OIL* TERHADAP *Streptococcus pneumoniae* DENGAN *VAPOUR PHASE TEST*

Noviana Vanawati, Nur Fauziyyah, Isti Sofia Insani, Dani Mahmud

Program Studi D-III Analis Kesehatan Sekolah Tinggi Analis Bakti Asih, Jalan Padasuka Atas No. 233, Bandung 40192, Indonesia

E-mail: nurfauziyyah739@gmail.com

ABSTRAK

Salah satu pencegahan infeksi saluran pernafasan akibat *Streptococcus pneumoniae* adalah menggunakan *Inhalant oil* saat terjadi gejala infeksi. *Inhalant oil* merk enviel adalah minyak atsiri yang telah diketahui memiliki kandungan *cajuput oil* dan *mint oil* dan diduga sebagai antibakteri. Namun, metode penelitian antibakteri dengan metode difusi cakram kurang sesuai karena sifat *inhalant oil* yang mudah menguap, sulit dilarutkan serta aplikasi penggunaan *inhalant oil* yang biasanya dihirup langsung ataupun diuapkan. Sehingga, harus dilakukan modifikasi menggunakan metode *Vapour Phase Test* (VPT) yaitu penguapan *inhalant oil* langsung pada media pertumbuhan *Streptococcus pneumoniae*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri *inhalant oil* merk enviel terhadap *Streptococcus pneumoniae* yang dilakukan dengan metode VPT. Digunakan kontrol positif cakram optochin dan kontrol negatif akuades. Data yang diperoleh berupa ada tidaknya pertumbuhan koloni pada media *mueller hinton* agar darah yang kemudian dilakukan analisis statistik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Inhalant oil* merk enviel dapat menurunkan pertumbuhan koloni *Streptococcus pneumoniae* secara signifikan dibandingkan dengan kontrol. Dapat disimpulkan *inhalant oil* memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus pneumoniae* dengan metode VPT.

Kata Kunci: Aktivitas antibakteri, Minyak inhalasi, *Streptococcus pneumoniae*, Uji fase uap

ABSTRACT

One of the ways to prevent respiratory tract infections due to *Streptococcus pneumoniae* is to use *inhalant oil* when symptoms of infection occur. *Inhalant oil* is an essential oil that is known to contain *cajuput oil* and *mint oil* and is suspected of being antibacterial. However, the antibacterial research method using the disc diffusion method is not suitable because of volatile *inhalant oil*, which is usually inhaled directly or evaporated. So, modifications must be made using the vapor phase test (VPT) method, namely, direct evaporation of *inhalant oil* on the growth medium of *Streptococcus pneumoniae*. This study aims to determine the antibacterial activity of inhaled oil against *Streptococcus pneumoniae* using the VPT method. Optochin disc positive control and aquadest negative control were used. The data obtained was the presence or absence of colony growth on Mueller Hinton blood agar, which was then carried out in statistical analysis. The results showed that *inhalant oil* could significantly reduce the growth of *Streptococcus pneumoniae* compared to controls. It can be concluded *inhalant oil* has antibacterial activity against *Streptococcus pneumoniae* using VPT method.

Keywords: Antibacterial activity, *Inhalant oil*, *Streptococcus pneumoniae*, *Vapour phase test*

1. Pendahuluan

Pneumonia adalah infeksi akut pada jaringan paru (*alveoli*) yang dapat disebabkan oleh berbagai mikroorganisme seperti virus, jamur dan bakteri (Kemenkes RI, 2021). Salah satu bakteri yang paling umum ditemukan pada infeksi saluran pernapasan manusia adalah *Streptococcus pneumoniae*, yakni flora normal saluran pernapasan bagian atas. Apabila pertumbuhannya tidak normal pada manusia akan

menyebabkan infeksi seperti pneumonia, otitis, sinusitis, bronkitis, dan meningitis (Agustin, 2019).

Di Indonesia, peningkatan pneumonia saat ini juga yang diakibatkan penyebaran SARS-CoV2 (*Severe Acute Respiratory Syndrome Corona Virus 2*) yang terjadi sejak tahun 2020. Saat ini, banyak metode pengobatan alternatif dengan menggunakan bahan herbal untuk mencegah terjadinya pneumonia. Salah satunya adalah *inhalant oil* berbahan dasar *cajuput oil* dan *mint oil*.

Dalam penggunaan bahan herbal yaitu *inhalant oil* dibutuhkan konfirmasi secara saintifik dan validasi untuk

mengetahui efektifitas bahan herbal tersebut dalam mengontrol serta mengurangi bakteri. Namun, penelitian yang menguji aktivitas antibakteri banyak yang menggunakan metode difusi cakram. Sedangkan penggunaan metode difusi cakram pada pengujian minyak atsiri kurang sesuai karena sifat minyak atsiri yang mudah menguap dan tidak larut membuat metode difusi cakram tidak cocok untuk pengujian antibakteri. Sehingga, metode difusi cakram memberikan hasil yang meragukan karena hanya komponen yang lebih larut dalam air yang berdifusi ke dalam media agar (Horváth, G., & Ács, K, 2015).

Aplikasi minyak atsiri melalui *inhalasi* tampaknya menjadi metode pengujian antibakteri yang paling efektif, karena minyak atsiri bersifat mudah menguap dan dapat menjangkau area yang membutuhkan perawatan yaitu dengan menggunakan metode *Vapour Phase Test* (VPT). Penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Nadjib dkk (2014) mengenai aktivitas antibakteri fase cair dan uap minyak atsiri *eucalyptus globulus* menjelaskan bahwa aktivitas antibakteri lebih tinggi pada fase uap yaitu dengan konsentrasi kecil pada pemberian minyak atsiri 20 µl ternyata sudah dapat menghambat pertumbuhan bakteri dibandingkan dengan metode difusi. Hingga saat ini belum pernah dilakukan penelitian mengenai efektifitas *inhalant oil* merk *enviel* terhadap bakteri *Streptococcus pneumoniae* dengan metode VPT, maka perlu dilakukan penelitian aktivitas antibakteri dengan pemberian *inhalant oil* menggunakan metode VPT melalui kontak gas. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antibakteri *inhalant oil* merk *enviel* terhadap *Streptococcus pneumoniae*.

2. Metode Penelitian

Jenis penelitian ini adalah *true eksperimental*. Dalam penelitian ini digunakan *Inhalant Oil* merek *Enviel* berbahan dasar minyak atsiri dari PT. Indosains Niaga Sejahtera yang akan diuji untuk mengetahui efektifitas *inhalant oil* dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus pneumoniae*. Kontrol positif yang digunakan yaitu cakram *optochin* dan kontrol negatif digunakan akuades. Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Streptococcus pneumoniae* (ATCC 49619) dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran.

Desain penelitian ini menggunakan *Post-Test Only Control Group Design*, yaitu tahap pengukuran awal (*pretest*) tidak dilakukan karena semua unit populasi diasumsikan homogen, sehingga pengukuran dilakukan pada tahap akhir (*posttest*) setelah diberi perlakuan dengan pemberian *inhalant oil* dalam cawan petri yang sudah diinokulasikan bakteri *Streptococcus pneumoniae*.

2.1 Pembuatan Media

2.1.1 Media Agar Darah

Sebanyak 2 gram bubuk media *nutrient agar* (Merck) dilarutkan dengan 100 ml akuades kemudian dilakukan sterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Ditunggu suhu sampai hangat kuku (45-50°C). Ditambahkan 5% darah, aduk perlahan hingga tercampur rata. Dituang media kedalam cawan petri steril (Wahyudi, 2015).

2.1.2 Media *Mueller Hinton* Agar Darah

Sebanyak 19 gram bubuk media *mueller hinton* agar (Oxoid) dilarutkan dengan 500 ml akuades, kemudian dilakukan sterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Ditunggu suhu sampai hangat kuku (45-50°C). Ditambahkan 5% darah, aduk perlahan hingga tercampur rata. Dituang media kedalam cawan petri steril (Wahyudi, 2015).

2.1.3 Pembuatan Standar Mc Farland 0,5

Standar Mc Farland 0,5 dibuat berdasarkan Dalynn (2014), dengan mencampurkan 0,05 ml BaCl₂ 1% dan 9,95 ml H₂SO₄ 1%, kemudian dihomogenisasi dan dibandingkan dengan larutan suspensi bakteri yang akan diuji.

2.1.4 Pembuatan Suspensi Uji

Sebanyak 10 ml NaCl 0,9% dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan bakteri yang akan diuji hingga didapati kekeruhan yang sama dengan tabung standar Mc Farland 0,5 (Arditya, 2020).

2.2 Identifikasi *Streptococcus pneumoniae*

2.2.1 Kultur Bakteri pada Media Agar Darah

Bakteri *Streptococcus pneumoniae* diinokulasikan pada media agar darah dengan cara *streak plate*, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil pertumbuhan bakteri diamati setelah diinkubasi.

2.2.2 Uji *Optochin*

Bakteri *Streptococcus pneumoniae* diinokulasikan dengan cara *streak* pada media *mueller hinton*, lalu cakram *optochin* diletakan pada area yang sudah di *streak*. Bakteri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

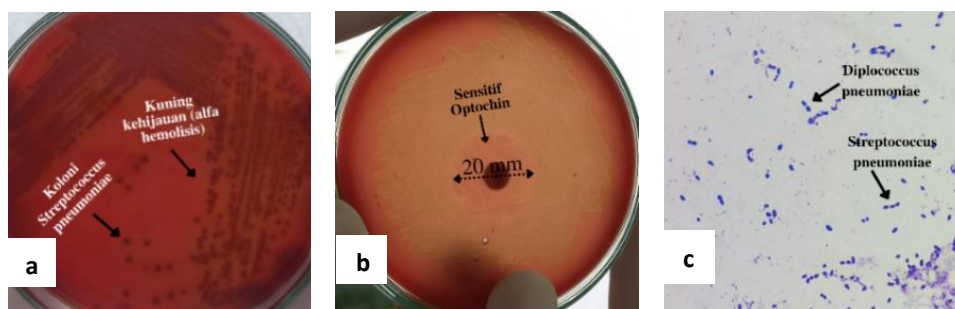
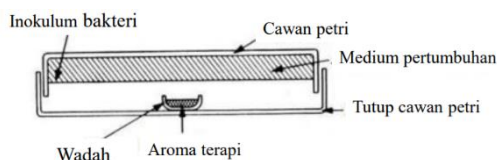
2.2.3 Uji Pewarnaan Gram

Dibuat apusan preparat kultur *Streptococcus pneumoniae* dengan metode *smear*. Hasil *smear* dikeringkan dengan cara diangin-anginkan, kemudian difiksasi diatas lampu spiritus. Ditetaskan Larutan kristal violet secara merata dan biarkan selama 1 menit, lalu dibilas. Ditetesi lugol secara merata dan biarkan selama 1 menit, lalu dibilas. Kemudian dilakukan dekolonisasi menggunakan alkohol 95% hingga warna ungu hilang, lalu dibilas. Selanjutnya ditetaskan larutan *carbol fuchsin*

secara merata dan biarkan selama 1 menit, lalu dibilas. Hasil pewarnaan serta morfologi bakteri diamati menggunakan mikroskop cahaya.

2.3 Uji Pengamatan Aktivitas Antibakteri

Metode pengujian aktifitas antibakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode *Vapour phase test* (Gambar 1). Bakteri yang sudah sesuai dengan standar Mc Farland 0,5 diambil menggunakan *cotton swab* steril. Diinokulasikan pada media *mueller hinton* agar darah secara *streak* hingga merata pada permukaan agar dan dilakukan juga pada arah lain hingga tidak ada zona yang kosong. Kontrol negatif diberi cakram kosong yang sudah direndam dengan akuades, sedangkan untuk kontrol positif diberi cakram optochin. Perlakuan diberi cakram kosong yang sudah direndam dengan *inhalant oil* selama 10 menit. Lalu cakram diletakkan pada permukaan bagian dalam atas tutup cawan petri. Bagian samping cawan petri disegel menggunakan parafilm untuk mencegah kebocoran uap. Cawan petri diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Cawan petri diinkubasi dalam kondisi terbalik. Setelah diinkubasi, diamati ada tidaknya penghambatan pertumbuhan bakteri pada plat agar.



Gambar 2. Hasil Identifikasi Bakteri *Streptococcus pneumoniae*., (a) Kultur pada Media Agar Darah, (b) Uji Optochin, (c) Uji Pewarnaan Gram dengan Pembesaran 100×

Identifikasi makroskopis dilakukan dengan menanamkan bakteri pada media agar darah. Inokulasi pada media agar darah bertujuan untuk membedakan bakteri berdasarkan sifat hemolisisnya (Saputro dkk, 2013). *Streptococcus pneumoniae* dalam media agar darah akan membentuk koloni bulat kecil, bersifat *hemodigesti* yaitu bakteri dapat melisis sel darah merah sebagian, berwarna keabuan, dengan sifat α -hemolisis pada agar darah dan dikelilingi zona kehijauan yang identik dengan *Streptococcus viridans* (Agustin, 2019). Hasil inokulasi bakteri pada penelitian ini

Gambar 1. Cara Pengujian *Vapour Phase Test* (VPT) (Nadjib dkk, 2014)

2.4 Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan uji statistik *One Way ANOVA* atau *Kruskal-Wallis* menggunakan *software Statistical Product and Service Solutions* (SPSS) versi 26.

3. Hasil Penelitian dan Pembahasan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri *inhalant oil* merek *enviel* terhadap *Streptococcus pneumoniae* dengan metode *vapour phase test* (VPT). Penggunaan metode VPT ini didasari sifat *inhalant oil* yang mudah menguap, sehingga metode VPT ini cocok untuk pengujian aktivitas antibakteri dengan cara penguapan *inhalant oil*. Penggunaan sampel *Streptococcus pneumoniae* diteliti sebanyak 9x pengulangan pada perlakuan, kontrol positif, dan kontrol negatif.

3.1 Analisis Identifikasi *Streptococcus pneumoniae*

Proses identifikasi dilakukan secara makroskopis yaitu kultur pada media agar darah dan uji optochin, lalu mikroskopis dengan uji pewarnaan gram (Gambar 2)

ditunjukkan pada Gambar 2a didapatkan koloni bulat kecil dengan zona kehijauan yang termasuk α -hemolisis.

Identifikasi makroskopis selanjutnya yaitu uji cakram optochin. Menurut Saputro dkk (2013) Uji optochin bertujuan untuk membedakan *Streptococcus pneumoniae* dengan *Streptococcus viridans*. Optochin diyakini sensitif terhadap bakteri *Streptococcus pneumoniae*. Optochin dapat mendeteksi mikroorganisme seperti *Streptococcus pneumoniae* yang sensitif terhadap etilhidrokuprein hidroklorida yang terdapat di dalam cakram. Etilhidrokuprein hidroklorida bekerja dengan melisis membran sel *Streptococcus*

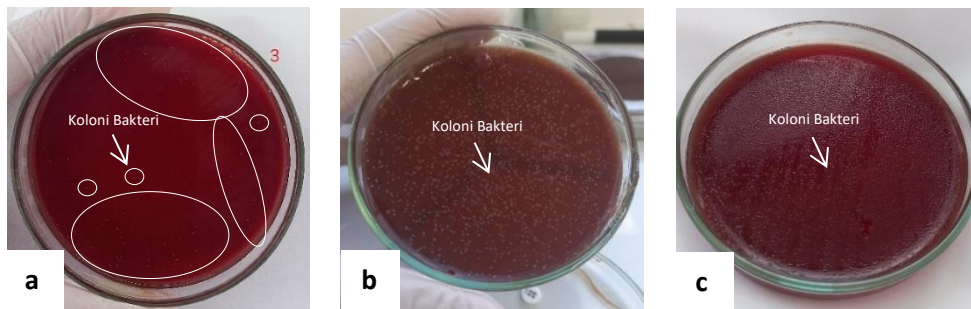
pneumoniae karena adanya perubahan tegangan permukaan, sehingga menciptakan zona inhibisi berdiameter ≥ 14 mm yang menunjukkan *Streptococcus pneumoniae* tidak tumbuh. Hasil uji cakram optochin menunjukkan bahwa bakteri tersebut menghasilkan zona inhibisi dengan diameter 20 mm (Gambar 2b) yang mengkonfirmasi bahwa bakteri tersebut adalah *Streptococcus pneumoniae*.

Identifikasi mikroskopis dilakukan dengan uji pewarnaan Gram dan diamati menggunakan mikroskop. Uji pewarnaan gram dilakukan untuk mengetahui karakteristik mikroskopis *Streptococcus pneumoniae*. Uji pewarnaan gram juga digunakan untuk menentukan golongan *major* suatu bakteri (Gram-positif atau Gram-negatif) (Wahyuni, 2020). *Streptococcus pneumoniae* adalah bakteri Gram-positif berbentuk bulat

(Kuswiyanto, 2017). Bakteri Gram-positif akan mempertahankan zat warna kristal violet pada proses pewarnaan gram sehingga bakteri berwarna ungu (Yusmaniar & Nida, 2017). Hasil identifikasi mikroskopis yaitu didapatkan bakteri berbentuk bulat berwarna ungu yang menandakan sifat bakteri Gram positif (Kuswiyanto, 2017) yang ditunjukkan pada Gambar 2c, sehingga bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Streptococcus pneumoniae*.

3.2 Hasil Pengamatan Aktivitas Antibakteri

Metode *Vapour Phase Test* (VPT) dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari penguapan *inhalant oil* pada media *Mueller Hinton* agar darah yang diinokulasikan dengan *Streptococcus pneumoniae*.



Gambar 3. Pertumbuhan Koloni *Streptococcus pneumoniae* pada Media *Mueller Hinton* Agar Darah., (a) Perlakuan dengan *Inhalant Oil*, (b) Kontrol Positif dengan Cakram *Optochin*, (c) Kontrol Negatif dengan *Akuadest*

Pengamatan aktivitas antibakteri pada perlakuan dan kontrol dilakukan secara kuantitatif dengan mengamati dan mengitung ada tidaknya pertumbuhan koloni bakteri sesuai dengan penelitian Garzoli dkk (2019). Pertumbuhan koloni bakteri tersebut dibuat skoring 1-4 yang ditunjukkan pada Tabel 1. Perhitungan koloni bakteri digunakan *Standart Plate Count* yaitu 30-300. Kriteria *skoring* penialain pertumbuhan koloni bakteri secara visual yaitu:

- 1 = Tidak ada (0 Koloni Bakteri)
- 2 = Sedikit (<30 Koloni Bakteri)
- 3 = Banyak (30-300 Koloni Bakteri)
- 4 = Sangat Banyak (>300 Koloni Bakteri)

Tabel 1. Skoring Hasil Pertumbuhan Koloni Bakteri

Pengulangan Ke-	Pertumbuhan Koloni Bakteri <i>Streptococcus pneumoniae</i>	Kontrol	
	Perlakuan	(+)	(-)
1	2	4	4
2	2	4	4
3	3	4	4
4	1	4	4
5	1	4	4
6	2	4	4

7	2	4	4
8	1	4	4
9	1	4	4

Tabel skoring hasil pengamatan koloni bakteri dilakukan analisis datanya menggunakan uji statistik *One Way ANOVA* atau *Kruskal-Wallis* untuk mengetahui perbandingan yang signifikan antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. *One Way ANOVA* digunakan jika data memenuhi dua asumsi klasik yaitu Uji Normalitas dan Uji Homogenitas. Namun, jika salah satu atau keduanya tidak cocok, maka akan digunakan *Kruskal Wallis*.

Tabel 2. Uji Normalitas

	Test of Normality		
	Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.
Perlakuan	,805	9	,024
Kontrol (+)	,390	9	,000
Kontrol (-)	,390	9	,000

Tabel 2 merupakan hasil uji normalitas *Shapiro-Wilk* yang menunjukkan bahwa data pada variabel perlakuan, kontrol positif, dan kontrol variabel memiliki nilai

Sig < 0,05. Dari sini kita dapat menyimpulkan bahwa variabel tersebut tidak berdistribusi normal.

Tabel 3. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances					
		Levene	df1	df2	Sig.
		Statisti			
		c			
Pertumbuhan Bakteri	Based on Mean	30,118	2	24	,000
	Based on Media	10,000	2	24	,001
	Based on Median and with adjusted df	10,000	2	8,000	,007
	Based on trimmed mean	31,736	2	24	,000

Tabel 3 merupakan hasil uji homogenitas yang menunjukkan bahwa data memiliki nilai Sig sebesar 0,00 < 0,05. Oleh karena itu, diperoleh keputusan tolak H_0 dengan kesimpulan bahwa variasi dari setiap perlakuan adalah tidak homogen.

Uji normalitas dan uji homogenitas menunjukkan hasil yang tidak normal dan juga tidak homogen, maka selanjutnya akan dilakukan uji non parametrik dengan uji *Kruskal Wallis*.

Tabel 4. Uji Kruskal Wallis

Test Statistics ^{a,b}	
Pertumbuhan Bakteri	
Kruskal-Wallis H	24,863
df	2
Asymp. Sig.	,000
Kruskal Wallis Test	
Grouping Variable: Perlakuan	

Tabel 4 menunjukkan bahwa uji *kruskal wallis* terhadap kelompok perlakuan yang diberikan penguapan *inhalant oil* memiliki nilai Asymp. Sig 0,00 < 0,05. Maka dari itu diperoleh keputusan tolak H_0 didasarkan pada kesimpulan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pertumbuhan koloni *Streptococcus pneumoniae* pada media *mueller hinton* agar darah antara perlakuan, kontrol positif dan kontrol negatif. Hal ini berarti kelompok perlakuan yang diberi *inhalant oil* menyebabkan penurunan pertumbuhan *Streptococcus pneumoniae* dibandingkan dengan kelompok kontrol.

Berdasarkan hasil analisis statistika, maka menunjukkan terdapat aktivitas antibakteri pada perlakuan dengan terbentuknya koloni yang lebih sedikit pada kelompok perlakuan dibandingkan kelompok kontrol (Tabel 1). Berdasarkan pengamatan visual, pertumbuhan koloni bakteri *Streptococcus pneumoniae* yang terlihat paling banyak adalah pada kontrol positif dan negatif (Gambar 3). Penggunaan cakram optochin sebagai kontrol positif dalam penelitian ini tidak menghasilkan penghambatan (Gambar 3b). Hal tersebut dikarenakan untuk menggunakan cakram optochin sebaiknya dilakukan dengan prinsip difusi cakram, berbeda halnya dengan penelitian ini yang menggunakan prinsip penguapan metode VPT. Hal inilah yang menjadi kekurangan saat menggunakan metode VPT, karena kontrol positif yang digunakan memiliki karakteristik yang berbeda dengan *inhalant oil* yang sifatnya mudah menguap seperti perlakuan dengan minyak atsiri, sehingga tidak didapatkan penghambatan bakteri. Sedangkan pada kontrol negatif akuades (Gambar 3c) didapatkan hasil pertumbuhan bakteri dikarenakan tidak adanya zat yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri pada akuades.

Adanya penghambatan pertumbuhan ini menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dari *inhalant oil* terhadap pertumbuhan *Streptococcus pneumoniae*. Penghambatan pertumbuhan bakteri yang terjadi diduga karena kandungan dalam *inhalant oil* yaitu *cajuput oil* dan *mint oil*. *Cajuput oil* memiliki kandungan bahan aktif 1,8 sineol yang termasuk golongan senyawa turunan terpen dan bersifat volatil (Sembiring, 2019). *Mint oil* memiliki kandungan bahan aktif menthol yang merupakan senyawa golongan alkohol, termasuk senyawa monoterpen siklik dan bersifat mudah menguap (NCBI, 2022). Kedua senyawa ini bersifat mudah menguap dan termasuk golongan senyawa turunan terpenoid, maka ketika senyawa terpenoid digunakan sebagai zat antibakteri akan menyebabkan kerusakan membran sel oleh senyawa lipofilik. Terpenoid dapat bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat dan merusak porin. Kerusakan porin yang merupakan pintu keluar masuknya zat antibakteri akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri yang akan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga menghambat pertumbuhan bakteri atau mati (Wulansari dkk, 2020).

Hasil penelitian ini didukung oleh penelitian yang sudah dilakukan oleh Nadjib dkk (2014) mengenai aktivitas antibakteri fase cair dan uap minyak esensial *eucalyptus globulus* yang membuktikan bahwa aktivitas antibakteri lebih tinggi pada fase uap yaitu dengan konsentrasi kecil pada penetesan minyak atsiri 20 µl ternyata dapat menghambat pertumbuhan bakteri dibandingkan metode difusi. Selain itu, penelitian Garzoli dkk (2019) mengenai fase cair dan uap minyak esensial lavender dan aktivitas antimikroba menjelaskan bahwa *A.bohemicus* sensitif terhadap minyak lavender

dengan MIC (*Minimum inhibitory concentration*) lebih rendah dari konsentrasi minimum yang digunakan untuk pengujian. *B. cereus*, *E. coli*, dan *K. marina* menunjukkan MIC yang sama, hasil VPT ini sedikit berbeda dari data yang diperoleh dalam fase cair.

Berdasarkan hasil pengamatan pada penelitian ini, perlakuan menggunakan *inhalant oil* terdapat penghambatan bakteri yang terjadi pada 9 kali pengulangan. Namun, harus dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai penghambatan *inhalant oil* dengan metode pengujian secara kuantitatif. Sehingga dapat diketahui berapa konsentrasi maksimal dan minimal yang digunakan serta perbandingan nilai antara kontrol dan perlakuan, serta dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mencari kontrol positif dan negatif yang sifatnya mudah menguap.

4. Kesimpulan

Inhalant oil merek enviel memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Streptococcus pneumoniae* yang diuji menggunakan metode *vapour phase test* dengan penguapan *inhalant oil*. Hasil pertumbuhan bakteri pada kelompok perlakuan menunjukkan penurunan jumlah koloni bakteri yang signifikan dibandingkan kelompok kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa *inhalant oil* memiliki aktivitas antibakteri.

5. Manfaat dan Pengembangan Penelitian

Pemanfaatan bahan herbal salah satunya *inhalant oil*, sebagai alternatif pengobatan untuk mencegah terjadinya pneumonia. Penggunaan metode *vapour phase test* untuk menguji efektivitas *inhalant oil* dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus pneumoniae* memiliki manfaat sebagai pengembangan *inhalant oil* menjadi pengobatan herbal yang terstandar.

Seperti yang sudah diketahui, dalam penggunaan bahan herbal yaitu *inhalant oil* dibutuhkan konfirmasi secara saintifik dan validasi untuk mengetahui efektifitas bahan herbal tersebut dalam mengontrol serta mengurangi bakteri. Penelitian ini dapat membuka jalan untuk pemeriksaan produk *inhalant oil* berbahan dasar alami yang memiliki sifat mudah menguap. Selain itu, dapat digunakan untuk membantu para industri yang terlibat dalam pembuatan *inhalant oil* untuk analisis dan memvalidasi sifat antibakteri suatu produk yang sudah jadi sesuai aplikasi penggunaannya yaitu melalui penguapan.

Daftar Pustaka

1. Agustin, A. M. (2019). Uji aktivitas antibakteri ekstrak metanol buah dan daun Tin (*Ficus carica* L.) terhadap bakteri patogen *Streptococcus pneumoniae* (Doctoral dissertation, UIN Sunan Ampel Surabaya).
2. Arditya, P. F. (2020). Uji Aktivitas Anti Bakteri Ekstrak Etanol Daun Sawo Kecil (*Manilkara kauki*) Terhadap Bakteri *Klebsiella pneumoniae* (Doctoral dissertation, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Nasional).
3. Dalynn, B. (2014). McFarland Standard. Canada: *Dalynn Biological*.
4. Garzoli, S., Turchetti, G., Giacomello, P., Tiezzi, A., Laghezza Masci, V., & Ovidi, E. (2019). Liquid and vapour phase of lavandin (*Lavandula× intermedia*) essential oil: Chemical composition and antimicrobial activity. *Molecules*, 24(15), 2701.
5. Horváth, G., & Ács, K. (2015). Essential oils in the treatment of respiratory tract diseases highlighting their role in bacterial infections and their anti-inflammatory action: a review. *Flavour and Fragrance Journal*, 30(5), 331-341.
6. Kemenkes RI. (2021). Data dan Informasi: Profil Kesehatan Indonesia 2020. Pusat Data dan Informasi. Jakarta.
7. Kuswiyanto. (2017). Bakteriologi 2 Buku Ajar Analisis Kesehatan. Jakarta: EGC.
8. Nadjib, B. M., Amine, F. M., Abdelkrim, K., Fairouz, S., & Maamar, M. (2014). Liquid and vapour phase antibacterial activity of Eucalyptus globulus essential oil= susceptibility of selected respiratory tract pathogens. *American Journal of Infectious Diseases*, 10(3), 105.
9. Saputro, A., Farida, H., & Firmanti, S. C. (2013). Perbedaan Pola Kepekaan Terhadap Antibiotik pada *Streptococcus pneumoniae* yang Mengkolonisasi Nasofaring Balita (Penelitian belah lintang pada balita yang tinggal di daerah tengah dan pinggiran kota Semarang) (Doctoral dissertation, Diponegoro University).
10. Wahyudi, G. (2015). Uji Aktivitas Antibakteri Infusa Daun Mangga Bacang (*Mangifera foetida* L.) Terhadap *Streptococcus pneumoniae* Secara in Vitro. *Jurnal Mahasiswa PSPD FK Universitas Tanjungpura*, 3(1).
11. Wulansari, E. D., Lestari, D., & Khoirunissa, M. A. (2020). Kandungan Terpenoid dalam Daun Ara (*Ficus carica* L.) sebagai Agen Antibakteri terhadap Bakteri Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Pharmakon*, 9(2), 219-225.
12. Yusmaniar, W., & Nida, K. (2017). Mikrobiologi dan Parasitologi. Jakarta: Pusdik SDM Kesehatan. Hal, 24, 61.