

Antibacterial Effect (In Vitro) of Clove Bud Essential Oil Steam Distillation (*Syzygium Aromaticum L.*) Against Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus* (Mrsa) Bacteria

¹Firdausy Ayunda Rahman, ²H. Sadeli Masria, ³RB. Soeherman Herdiningrat

¹*Prodi Sarjana Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Bandung,*

²*Bagian Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Bandung,*

³*Bagian Biologi Medik, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Bandung*

Abstract. Nosocomial infection that occur in Indonesia are mostly caused by bacteria that are resistant to the most of antibiotics, one of them is Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). This MRSA bacteria cause complicated treatment and has potential to cause an increase number of morbidity and mortality in the hospital. Clove plant is often used as traditional medicine in Indonesia due to the content of essential oil which have biological activities. The aims of this research are to know the antibacterial effect (in vitro) of clove bud essential oil steam distillation (*Syzygium aromaticum L.*) to Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) bacteria and to assess minimum inhibitory and minimum bactericidal concentrations of clove bud essential oil steam distillation (*Syzygium aromaticum L.*) against Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) bacteria. This research was conducted by laboratory experimental method. Antibacterial test was performed by diffusion and dilution methods with streak confirmation. The research was conducted in Microbiology Laboratory of Biofarma Bandung in September – October 2018. The result of antibacterial test by diffusion method showed the formation of inhibition zone at concentration of 100% clove bud steam distillation essential oil with an average diameter are 26 mm. The result of dilution test showed that KHM and KBM in clove bud essential oil at concentration 12,5%. Active compound contents such as alkaloid, tannin, flavonoid, saponin, and eugenol are estimated acting as an antibacterial agent. This study shows that there is antibacterial effect of clove bud essential oil steam distillation (*Syzygium aromaticum L.*) against Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) bacteria.

Key words: Clove bud essential oil (*Syzygium aromaticum L.*), Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), Nosocomial infection, Steam distillation

Efek Antibakteri Distilasi Uap Minyak Atsiri Bunga Cengkeh (*Syzygium Aromaticum L.*) terhadap Bakteri Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus* Secara In Vitro

Abstrak. Infeksi nosokomial yang terjadi di Indonesia banyak disebabkan oleh bakteri yang resisten terhadap antibiotik, salah satunya Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). Bakteri MRSA ini menyulitkan pengobatan dan berpotensi menyebabkan peningkatan angka morbiditas dan mortalitas di rumah sakit. Tanaman cengkeh sering digunakan sebagai obat tradisional di Indonesia akibat kandungan minyak atsiri didalamnya yang memiliki aktivitas biologi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek antibakteri distilasi uap minyak atsiri bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum L.*) terhadap bakteri Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) dan menilai konsentrasi hambat minimal serta konsentrasi bunuh minimal distilasi uap minyak atsiri bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum L.*) terhadap bakteri Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). Penelitian ini dilakukan dengan metode eksperimental laboratorik. Uji antibakteri dilakukan dengan metode difusi dan dilusi dengan konfirmasi streak. Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Biofarma Bandung pada bulan September – Oktober 2018. Hasil uji antibakteri dengan metode difusi menunjukkan terbentuknya zona hambat pada konsentrasi 100% distilasi uap minyak atsiri bunga cengkeh dengan diameter rata-rata 26 mm. Hasil uji dengan metode dilusi ditemukan KHM dan KBM pada distilasi uap minyak atsiri bunga cengkeh di konsentrasi 12,5%. Kandungan senyawa aktifnya seperti alkaloid, tannin, flavonoid, saponin dan eugenol diperkirakan berperan dalam efek antibakteri. Penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat efek antibakteri distilasi uap minyak atsiri bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum L.*) terhadap bakteri Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA).

Kata Kunci: Distilasi uap, Infeksi nosokomial, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), Minyak Atsiri Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum L.*)

Korespondensi: Firdausy Ayunda Rahman. Fakultas Kedokteran Universitas Islam Bandung , Jalan Hariang Banga No.2 Tamansari, Kota Bandung, Jawa Barat. Telepon: (022) 4321213, E-mail: firdausyayunda5398@gmail.com

Pendahuluan

Infeksi nosokomial mempengaruhi peningkatan morbiditas, mortalitas, lama tinggal di rumah sakit dan biaya perawatan pada pasien yang dirawat di rumah sakit. Diperkirakan 50-60% infeksi nosokomial disebabkan oleh bakteri yang resisten terhadap antibiotik, salah satu bakteri yang sering menyebabkan infeksi nosokomial adalah MRSA (*Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*).^{1,2} Bakteri MRSA yang resisten terhadap antibiotik dapat menyulitkan pengobatan. Sehingga diperlukan upaya penemuan antibiotik baru yang mudah diproduksi secara lokal dan berasal dari sumber yang murah, seperti pengobatan tradisional.³

Di negara Indonesia, minat dalam sistem pengobatan tradisional khususnya obat-obatan yang berasal dari tanaman telah meningkat baik di negara maju maupun negara berkembang selama dua dekade terakhir.⁴ Salah satu tanaman yang sering digunakan adalah cengkeh. Kandungan minyak atsiri yang terdapat dalam bunga cengkeh mencapai 21,3% dengan kadar eugenol antara 78-95%. Telah diketahui bahwa eugenol dan senyawa phenolic dari minyak atsiri cengkeh dapat mengubah sifat protein dan berinteraksi dengan membran sel fosfolipid sehingga terjadi perubahan permeabilitas membran sel bakteri. Sehingga cengkeh diyakini memiliki efek antibakteri, namun masih perlu dilakukan lebih lanjut mengenai efek antibakteri distilasi uap minyak atsiri bunga cengkeh terhadap bakteri MRSA (*Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*).^{5,6}

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek antibakteri distilasi uap minyak atsiri bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum L.*) terhadap bakteri Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) dan

menilai konsentrasi hambat minimal serta konsentrasi bunuh minimal distilasi uap minyak atsiri bunga cengkeh terhadap bakteri Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA).

Metode Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorik, dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Biofarma Bandung pada bulan September – Oktober 2018.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah distilasi uap minyak atsiri bunga cengkeh dengan konsentrasi 100% dan *Cotrimoxazole* Disk 25µg sebagai kontrol positif, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) yang dibiakan di Laboratorium Mikrobiologi Biofarma Bandung, *Mueller-Hinton Agar*, *Blood Agar*, *Trypticase Soy Agar*, etanol 96%, dan standar McFarland 0,5.

Alat-alat yang digunakan yaitu cawan petri, tabung reaksi, ose, inkubator, autoklaf, mikro pipet, *ring aluminium*, *hand gloves* dan masker.

Untuk menilai daya antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi. Konsentrasi distilasi uap minyak atsiri bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum L.*) yang digunakan adalah 100% dan kontrol positif yang digunakan yaitu *Cotrimoxazole*. Bakteri yang telah sesuai dengan kekeruhan McFarland 0,5 diambil dengan ose plastik kemudian di strak diatas *Mueller-Hinton Agar*. Ring aluminium diletakkan diatas agar kemudian ditetaskan distilasi uap minyak atsiri bunga cengkeh kemudian di inkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Pengukuran diameter rata-rata zona hambat bakteri yaitu area bening disekitar cincin menggunakan penggaris.

Uji konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) dilakukan

dengan menggunakan metode dilusi dan kemudian dilakukan konfirmasi streak. Konsentrasi distilasi uap minyak atsiri bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum L.*) yang digunakan adalah 50%, 25%, 12,5%, 6,25% dan 3,125%. Pada masing-masing tabung diberikan 2 mL bakteri dan 2 mL etanol 96% kemudian diinkubasi pada suhu 37°C

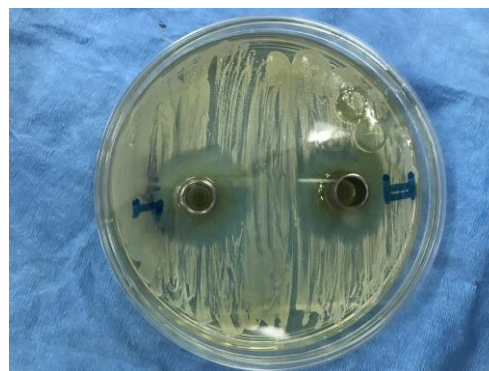
selama 24 jam, kemudian kekeruhan diamati untuk menilai KHM. Tahap selanjutnya dilakukan konfirmasi streak pada Mueller-Hinton agar untuk melihat pertumbuhan bakteri sehingga dapat dinilai KBM nya.

Hasil Penelitian

Tabel 1 Rata-rata Diameter Zona Hambat Distilasi Uap Minyak Atsiri Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum L.*) Terhadap Bakteri Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)

Bahan Penelitian	Rata-Rata Diameter Zona Hambat (mm)
Distilasi Uap Minyak Atsiri Tangkai Cengkeh	26
<i>Cotrimoxazole</i>	29

Pada tabel menunjukkan distilasi uap minyak atsiri bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum L.*) pada konsentrasi 100% terdapat zona hambat yang tampak sebagai suatu area bening di sekeliling cincin dengan diameter sebesar 26 mm.



Gambar 1 Zona Hambat

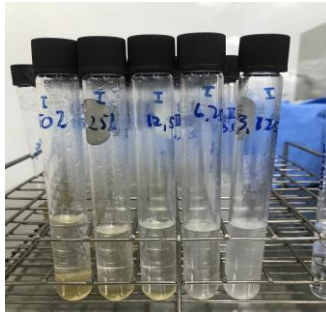
Tabel 2 Hasil Uji Konsentrasi Hambat Minimal dan Konsentrasi Bunuh Minimal Distilasi Uap Minyak Atsiri Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) Terhadap Bakteri Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)

Konsentrasi distilasi uap minyak atsiri bunga cengkeh	Hasil	
	KHM	KBM
50%	Bening	Tidak berkoloni
25%	Bening	Tidak berkoloni
12,5%	Bening	Tidak berkoloni
6,25%	Keruh	-
3,125%	Keruh	-
Kontrol	Keruh	Berkoloni

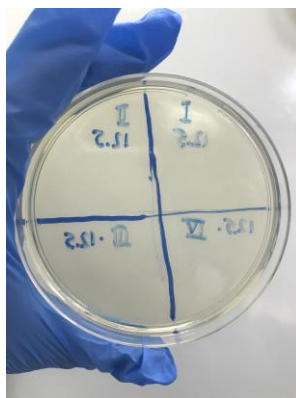
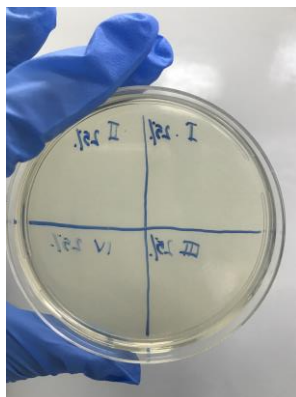
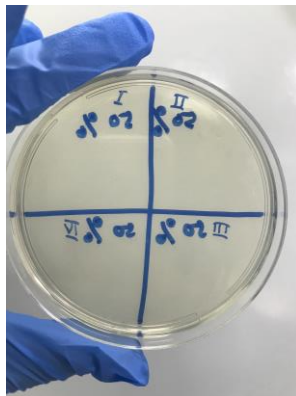
Pada tabel 2 menunjukkan distilasi uap minyak atsiri bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) konsentrasi 6,25% dan 3,125% masih tampak keruh. Hal ini yang menandakan bahwa pada konsentrasi tersebut masih terdapat pertumbuhan bakteri. Pada konsentrasi 12,5%, 25%, dan 50% distilasi uap minyak atsiri bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) tampak bening yang menandakan bahwa pada konsentrasi tersebut pertumbuhan bakteri terhambat. Konsentrasi hambat minimal distilasi uap minyak atsiri bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) terhadap bakteri *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) yaitu pada konsentrasi 12,5%.

Sedangkan pada konsentrasi distilasi uap minyak atsiri bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) 6,25% dan 3,125% tidak ditumbuhkan kembali pada plate agar karena masih terlihat keruh. Pada konsentrasi 12,5%,

25%, dan 50% distilasi uap minyak atsiri bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) ditumbuhkan kembali pada plate agar Mueller-Hinton untuk menilai Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM). Setelah dilakukan inkubasi selama 24 jam pada distilasi uap minyak atsiri bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) konsentrasi 12,5%, 25%, dan 50% tampak tidak terdapat koloni bakteri. Konsentrasi bunuh minimal distilasi uap minyak atsiri bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) terhadap terhadap bakteri *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) yaitu pada konsentrasi 12,5%.



Gambar 2 Hasil KHM



Gambar 3 Hasil KBM

Pembahasan

Pada penelitian ini terbentuk zona hambat bakteri Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) pada pemberian distilasi uap minyak atsiri bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum L.*) dengan konsentrasi 100%, dengan diameter rata-rata sebesar 26 mm. Hal ini menunjukkan bahwa distilasi uap minyak atsiri bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum L.*) memiliki efek antibakteri. Bila dibandingkan dengan kriteria sensitif yang tertera pada CLSI (*Clinical and Laboratory Standard Institute*) maka distilasi uap minyak atsiri bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum L.*) dapat dikategorikan memiliki daya hambat sensitif terhadap bakteri Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). Efek antibakteri juga dibuktikan melalui metode difusi yang menunjukkan bahwa distilasi uap minyak atsiri bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum L.*) memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) dan juga membunuh bakteri Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). Konsentrasi minimal distilasi uap minyak atsiri bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum L.*) untuk menghambat pertumbuhan serta membunuh bakteri *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) adalah pada konsentrasi 12,5%.

Penelitian ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Asmaa Al. Alharbi pada tahun 2017 yang menunjukkan bahwa minyak atsiri cengkeh merupakan agen antimikroba yang paling *potent* dalam membunuh beberapa bakteri termasuk MRSA.⁷ Penelitian lain yang telah dilakukan oleh Nurul R dkk, pada tahun 2015 juga menunjukkan hasil yang serupa mengenai efek antibakteri ekstrak etanol bunga cengkeh (*Syzygium*

aromaticum) terhadap bakteri *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Penelitian tersebut juga membandingkan efek antibakteri ekstrak etanol bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) terhadap bakteri *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dengan konsentrasi 10%, 30%, 50% dan 70% masing-masing memiliki diameter zona hambat rata-rata 10,01 mm, 12,12 mm, 14,13 mm, dan 16,5 mm.⁸ Selain itu penelitian lain yang telah dilakukan oleh Afaf Azizah dkk, pada tahun 2017 yang menunjukkan bahwa ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) memiliki efek anti bakteri terhadap bakteri *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).⁹

Efek antibakteri distilasi uap minyak atsiri bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) terdapat pada zat aktif yang terkandung dalam bunga cengkeh. Kandungan senyawa alkaloid, saponin, flavonoid, serta tannin dan eugenol. Alkaloid digunakan sebagai senyawa antimikroba akibat kemampuannya untuk merusak membran sel dari bakteri serta dapat berinterkalasi dengan DNA dan mentargetkan RNA, asam nukleat, dan girase. Selain itu terdapat juga senyawa saponin yang dapat melisiskan membran bakteri akibat sifat deterjen yang dimilikinya sehingga dapat melewati membran lipid bilayer dan merusak permeabilitas membran sel. Lalu terdapat senyawa flavonoid yang dapat merusak membran sitoplasma dengan cara perforasi serta menurunkan fluiditas membran, menghambat metabolisme energi, dan menghambat sintesis asam nukleat. Dan juga terdapat senyawa tannin yang dapat menghambat pembentukan DNA pada bakteri serta menginaktivkan adhesi sel mikroba, menginaktivkan enzim dan mengganggu transport protein pada lapisan sel. Serta terdapat senyawa eugenol yang merupakan senyawa

hidrofobik yang dapat dengan mudah melewati dan merusak dinding sel bakteri gram negatif yang memiliki kandungan lipid yang tinggi.⁹

KESIMPULAN

Simpulan penelitian ini adalah:

Distilasi uap minyak atsiri bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) memiliki efek antibakteri terhadap bakteri *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) pada konsentrasi 100%.

Konsentrasi hambat minimal (KHM) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) adalah 12,5%.

Konsentrasi bunuh minimal (KBM) yang dapat membunuh bakteri *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) adalah 12,5%.

Saran

Berdasarkan hasil penelitian dan simpulan yang diperoleh, maka saran yang diperlukan untuk penelitian lanjutan ialah sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan uji fitokimia secara kuantitatif, dan dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan zat aktif yang terkandung dalam distilasi uap minyak atsiri bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.).
2. Perlu dilakukan penelitian terhadap bakteri patogen lainnya yang sering menyebabkan infeksi nosokomial terutama bakteri yang resisten terhadap antibiotik.

Ucapan Terimakasih

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada institusi, dosen serta staf Fakultas Kedokteran Universitas Islam Bandung, serta seluruh pihak yang turut membantu dalam penelitian ini.

Pertimbangan**Masalah Etik**

Penelitian ini sudah mendapat persetujuan etik oleh Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Bandung dengan nomor : 121/Komite Etik.FK/III 2018

Daftar Pustaka

1. Soedarto. Hospital Nosocomial Infections. 1st ed. Jakarta; 2016.
2. Soltani R, Khalili H, Abdollahi A, Rasoolinejad M. Nosocomial Gram-positive antimicrobial susceptibility pattern at a referral teaching hospital in Tehran, Iran. 2012;7(March 2009):903–10.
3. Léguillier T, Lecsö-Bornet M, Lémus C, Rousseau-Ralliard D, Lebouvier N, Hnawia E, et al. The wound healing and antibacterial activity of five ethnomedical *Calophyllum inophyllum* oils: An alternative therapeutic strategy to treat infected wounds. PLoS One. 2015;10(9):1–20.
4. Herman MJ, Sufi-5581-1-SM.pdfparadi S, Handayani RS. Policy on Herbal Traditional Medicines Therapy in Three Provinces in Indonesia. Bul Penelit Kesehat. 2013;41(2):111–9.
5. Hadi S. (Clove Oil) MENGGUNAKAN PELARUT n-HEKSANA DAN BENZENA. J Bahan Alam Terbarukan. 2012;1(2):25–30.
6. Gunawan PN, Supit A, Manado SR. Uji Efek Anti Bakteri Ekstrak Bunga Cengkeh terhadap Bakteri *Streptococcus Mutans* Secara In Vitro. J e-GiGi. 2014;2(2):8 hal.
7. Alharbi AA. Antibacterial Activities of *Syzygium aromaticum* oil Against Local Clinical Pathogenic Bacteria. 2017;4863(October).
8. Nurul R, Hijra N, Yulia R. UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL BUNGA CENGKEH (*Syzygium aromaticum*) TERHADAP PERTUMBUHAN METISILIN-RESISTEN *Staphylococcus aureus*. Univ Syiah Kuala Banda Aceh. 2015;
9. Azizah A, Suswati I, Agustin SM, Kedokteran F, Malang UM. EFEK ANTI MIKROBA EKSTRAK BUNGA CENGKEH (*SYZYGIUM AROMATICUM*) TERHADAP METHICILLIN-RESISTANT *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* (MRSA) SECARA IN VITRO . 0:31–5.