

**EFEK ANTIBAKTERI UAP MINYAK ATSIRI BUNGA
CENGKEH (*Syzygium aromaticum* L.) TERHADAP
PERTUMBUHAN *Escherichia coli* DAN *Staphylococcus aureus*
DENGAN METODE *GASEOUS CONTACT***

SKRIPSI



Oleh:

WIDYA CITRA LESTARI

12613282

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
MARET 2017**

**EFEK ANTIBAKTERI UAP MINYAK ATSIRI BUNGA
CENGKEH (*Syzygium aromaticum* L.) TERHADAP
PERTUMBUHAN *Escherichia coli* DAN *Staphylococcus aureus*
DENGAN METODE *GASEOUS CONTACT***

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)

Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Islam Indonesia



Oleh:

WIDYA CITRA LESTARI

12613282

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
MARET 2017**

SKRIPSI

**EFEK ANTIBAKTERI UAP MINYAK ATSIRI BUNGA
CENGKEH (*Syzygium aromaticum* L.) TERHADAP
PERTUMBUHAN *Escherichia coli* DAN *Staphylococcus aureus*
DENGAN METODE *GASEOUS CONTACT***



Pembimbing Utama,

Hady Anshory T., M.Sc., Apt

Pembimbing Pendamping,

Arde Toga Nugraha, S.Farm, M.Sc., Apt

SKRIPSI

**EFEK ANTIBAKTERI UAP MINYAK ATSIRI BUNGA
CENGKEH (*Syzygium aromaticum* L.) TERHADAP
PERTUMBUHAN *Escherichia coli* DAN *Staphylococcus aureus*
DENGAN METODE *GASEOUS CONTACT***

Oleh:

WIDYA CITRA LESTARI

12613282

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia

Tanggal:

Ketua Penguji : Hady Anshory T., M.Sc., Apt (.....)
Anggota Penguji : 1. Arde Toga N., S.Farm., M.Sc., Apt (.....)
2. Dr. Dwiwarso Rubiyanto, M.Si (.....)
3. Annisa Fitria, M.Sc., Apt (.....)

Mengetahui,

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Islam Indonesia



Drs. Alwar, M.Sc., Ph.D

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan diterbitkan dalam daftar pustaka.

Yogyakarta, Maret 2017

Penulis,



Widya
Widya Citra Lestari

KATA PENGANTAR



Assalamu'alaikum Wr.Wb

Alhamdulillahirabbil'aalamiin, segala puji hanya bagi Allah SWT yang telah melimpahkan rahmah, petunjuk dan kemudahan sehingga atas ridho-Nya sehingga penulisan skripsi ini dapat terselesaikan.

Shalawat serta salam senantiasa tercurahkan kepada baginda Nabi Agung Muhammad SAW beserta seluruh keluarga dan sahabatnya yang selalu membantu perjuangan beliau dalam menegakkan kebenaran-Nya di dunia yang fana' ini.

Skripsi yang berjudul "EFEK ANTIBAKTERI UAP MINYAK ATSIRI BUNGA CENGKEH (*Syzygium aromaticum* L.) TERHADAP PERTUMBUHAN *Escherichia coli* DAN *Staphylococcus aureus* DENGAN METODE *GASEOUS CONTACT*" ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi (S.Farm.) Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa tanpa bantuan dan motivasi yang diberikan dari berbagai pihak, penulisan skripsi ini tidak dapat terselesaikan. Terima kasih penulis sampaikan kepada:

1. Bapak Hady Anshory T., M.Sc., Apt dan Bapak Arde Toga Nugraha, S.Farm, M.Sc., Apt, selaku dosen pembimbing atas segala waktu, saran, bimbingan, dan motivasi sejak awal hingga akhir penelitian ini.
2. Bapak Drs. Allwar, M.Sc., Ph.D selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.
3. Bapak Pinus Jumaryanto, M.Si., Ph.D., Apt selaku ketua program studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.
4. Bapak Bambang Hernawan Nugroho, M.Sc., Apt selaku dosen pembimbing akademik saya.

5. Seluruh staf laboran yang telah bersedia membantu penulis mengerjakan penelitian.
6. Keluarga besar saya yang tak hentinya memberikan semangat dan doa agar skripsi ini dapat berjalan dengan lancar.
7. Teman-teman seperjuangan saya yang tak hentinya memberikan semangat, dukungan, dan doa dalam kelancaran skripsi ini.
8. Serta semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu, terima kasih atas segala bantuan, motivasi dan doa tulus kalian.

Semoga Allah membalas kebaikan mereka dengan segala anugrah dan ridho-Nya. Penulis menyadari bahwa penyusunan karya tulis ini masih belum sempurna, namun penulis berusaha maksimal dalam penulisan skripsi ini. Oleh karena itu, saran dan kritik yang membangun sangat penting bagi penulis dalam memperbaikinya. Semoga skripsi ini dapat memberikan kontribusi terhadap ilmu pengetahuan, khususnya dalam bidang kefarmasian.

Wassalamu'alaikum Wr.Wb

Yogyakarta, Maret 2016

Penulis,

Widya Citra Lestari

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
INTISARI	xii
<i>ABSTRACT</i>	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang Masalah	1
1.2. Rumusan Masalah	4
1.3. Tujuan Penelitian	4
1.4. Manfaat Penelitian	4
BAB II STUDI PUSTAKA	5
2.1. Tinjauan Pustaka	5
2.1.1. Cengkeh (<i>Syzygium aromaticum</i> L.)	5

2.1.1.1	Sinonim	5
2.1.1.2	Nama Lokal	5
2.1.1.3	Taksonomi	5
2.1.1.4	Morfologi	5
2.1.1.5	Kandungan Kimia	6
2.1.1.6	Manfaat	7
2.1.1.7	Mekanisme Aktivitas Antibakteri	7
2.1.2.	Minyak Atsiri	8
2.1.2.1	Definisi.....	8
2.1.2.2	Isolasi Minyak Atsiri	8
2.1.3.	Bakteri	9
2.1.3.1	Definisi	9
2.1.3.2	<i>Staphylococcus aureus</i>	9
2.1.3.3	<i>Eschericia coli</i>	10
2.2.	Landasan Teori	11
2.3.	Hipotesis	13
BAB III METODE PENELITIAN		14
3.1.	Alat dan Bahan	14
3.1.1.	Alat	14
3.1.2.	Bahan	14

3.2. Cara Penelitian	15
3.2.1. Pengumpulan Bahan	15
3.2.2. Identifikasi Simplisia Bunga Cengkeh (<i>S. aromaticum</i> L.)	15
3.2.3. Isolasi Minyak Atsiri Kayu Manis	15
3.2.4. Identifikasi Kandungan Senyawa dengan GC-MS	15
3.2.5. Persiapan Uji Antibakteri.....	16
3.2.6. Uji Efek Antibakteri dengan Metode <i>Gaseous Contact</i>	17
3.3. Analisis Hasil	18
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	19
4.1. Hasil Identifikasi Simplisia Bunga Cengkeh	19
4.2. Hasil Destilasi Minyak Atsiri	21
4.3. Hasil Identifikasi Kandungan Senyawa dengan GC-MS	22
4.4. Hasil Uji Efek Antibakteri dengan Metode <i>Gaseous Contact</i>	23
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	29
5.1. Kesimpulan	29
5.2. Saran	29
DAFTAR PUSTAKA	30
LAMPIRAN	35

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1.	Hasil analisis komponen kimia minyak atsiri Bunga Cengkeh	23
Tabel 4.2.	Aktivitas antibakteri minyak atsiri uap Bunga Cengkeh pada <i>E. coli</i>	25
Tabel 4.3.	Aktivitas antibakteri minyak atsiri uap Bunga Cengkeh pada <i>S. aureus</i> ...	26

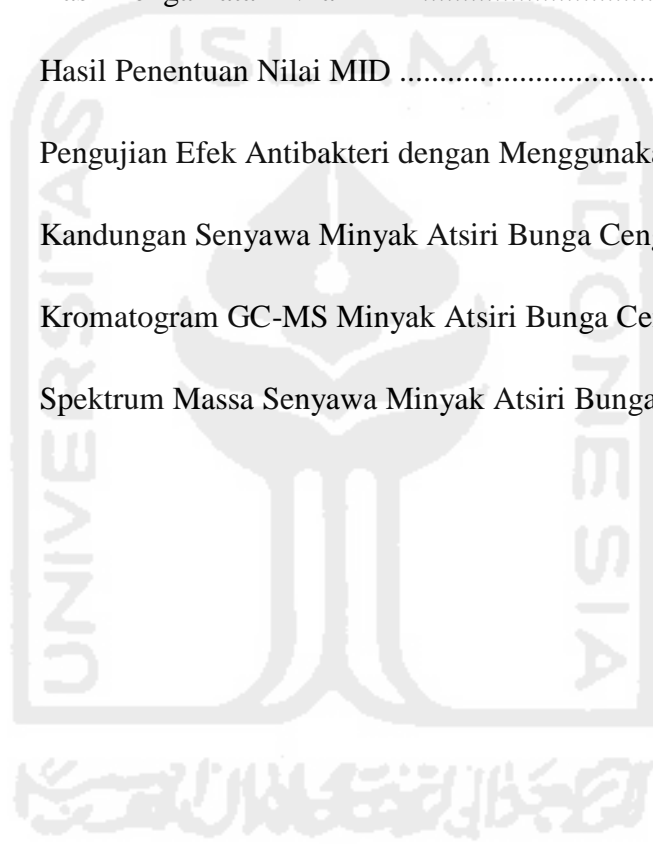


DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Bunga Cengkeh (<i>Syzygium aromaticum</i> L.)	6
Gambar 2.2.	Struktur senyawa eugenol	7
Gambar 4.1.	Simplisia Bunga Cengkeh	19
Gambar 4.2.	Hasil pemeriksaan mikroskopik simplisia Bunga Cengkeh	20
Gambar 4.3.	Minyak atsiri Bunga Cengkeh	22
Gambar 4.4.	Kromatogram GC-MS minyak atsiri Bunga Cengkeh	22
Gambar 4.5.	Perbandingan pertumbuhan koloni bakteri <i>E. coli</i> pada konsentrasi DMSO 100%, minyak atsiri bunga cengkeh 12,5% dan minyak atsiri bunga cengkeh 25%	25
Gambar 4.6.	Perbandingan pertumbuhan koloni bakteri <i>S aureus</i> pada konsentrasi DMSO 100%, minyak atsiri bunga cengkeh 6,25% dan minyak atsiri bunga cengkeh 12,5%	26

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Surat Keterangan Simplisia	34
Lampiran 2.	Surat Keterangan Pembelian Isolat Bakteri	35
Lampiran 3.	Perhitungan Rendemen	36
Lampiran 4.	Hasil Pengamatan Nilai MID	37
Lampiran 5.	Hasil Penentuan Nilai MID	44
Lampiran 6.	Pengujian Efek Antibakteri dengan Menggunakan <i>Airtight Box</i>	45
Lampiran 7.	Kandungan Senyawa Minyak Atsiri Bunga Cengkeh.....	46
Lampiran 8.	Kromatogram GC-MS Minyak Atsiri Bunga Cengkeh	47
Lampiran 9.	Spektrum Massa Senyawa Minyak Atsiri Bunga Cengkeh.....	48



Efek Antibakteri Uap Minyak Atsiri Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan Metode *Gaseous Contact*

Widya Citra Lestari
Program Studi Farmasi

INTISARI

Resistensi antibiotik dan penyakit infeksi pada zaman sekarang ini dianggap sebagai penyebab utama morbiditas dan mortalitas global, terutama pada negara-negara berkembang seperti Indonesia. Sehingga sumber agen antibakteri dari sumber lain dapat menjadi alternatif yang sangat menjanjikan. Minyak esensial dari tanaman Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) banyak dimanfaatkan sebagai bahan pengawet makanan dan untuk pengobatan, serta memiliki aktivitas antibakteri. Senyawa marker dalam minyak cengkeh yang memiliki khasiat antibakteri adalah eugenol. Minyak atsiri cengkeh mudah menguap pada suhu ruang, sehingga memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai terapi inhalasi. Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan nilai *Minimal Inhibitory Dose* (MID), mengetahui perbandingan efek uap minyak atsiri bunga cengkeh terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, serta untuk mengetahui kandungan senyawa utama dalam minyak atsiri bunga cengkeh (*S. aromaticum*). Penelitian ini menggunakan metode *gaseous contact*. Minyak atsiri dibuat seri kadar 25, 12,5; 6,25; 3,13, dan 1,56%, diteteskan ke kertas saring dan dimasukkan ke dalam *airtightbox* terpisah dengan inokulat bakteri. Daya hambat bakteri ditunjukkan oleh nilai MID yang dinyatakan sebagai volume per unit volume udara ($\mu\text{L} / \text{L}$ udara). MID ditentukan sebagai dosis terendah dari minyak atsiri yang memperlihatkan penghambatan maksimal pertumbuhan bakteri secara visual. Hasil penelitian menunjukkan minyak atsiri bunga cengkeh dalam bentuk uap lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* (bakteri gram positif) dengan MID = 25 $\mu\text{L}/\text{L}$ daripada bakteri *E. coli* (bakteri gram negatif) dengan MID = 50 $\mu\text{L}/\text{L}$. Hasil analisis dengan GC-MS menunjukkan senyawa yang paling banyak terkandung dalam minyak atsiri bunga cengkeh adalah eugenol.

Kata kunci : Uap, Minyak Atsiri Cengkeh, *Syzygium aromaticum* L., Antibakteri, *Gaseous Contact*

**Antibacterial Activity of Clove Bud Oil Vapour (*Syzygium aromaticum* L.)
Against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* Growth By Gaseous
Contact Method**

**Widya Citra Lestari
Department of Pharmacy**

ABSTRACT

Clove (*Syzygium aromaticum* L.) is one of the most valuable spices from Indonesia that has been used as food preservative and for many medicinal purpose. Clove oil has antibacterial activity due to high level of eugenol. Clove oil is highly volatile at room temperature and has a potential to be developed as inhalation therapy. The aims of this study are to determine Minimal Inhibitory Dose (MID) of clove oil in vapour phase against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, to compare antibacterial effect of clove oil on the growth of *E. coli* and *S. aureus*, and to determine the main compound of clove oil. The method used in this study is gaseous contact, in which the various concentration of volatile oil 25, 12,5; 6,25; 3,13, and 1,56%, dripped homogenously on filter paper is exposed to the agar medium plate inoculated with test strains, placed in airtight box. A Minimal Inhibitory Dose (MID) is introduced as a measure of the vapour activity expressed as volume per unit volume ($\mu\text{L}/\text{L}$ air). Results showed that the MID of clove oil was 50 $\mu\text{L}/\text{L}$ for *E. coli* and 25 $\mu\text{L}/\text{L}$ for *S. aureus*. Thus, clove oil in vapour phase is more effective in inhibiting the growth of gram-positive bacteria than gram-negative bacteria. In this work, 10 components of the clove oil were identified. Eugenol was the major component (87,92%).

Keywords: Clove Oil, *Syzygium aromaticum* L., vapour, Antibacterial Activity, Gaseous Contact

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Penyakit infeksius dan resistensi antibiotik pada zaman sekarang ini dianggap sebagai penyebab utama morbiditas dan mortalitas global, terutama pada negara-negara berkembang seperti Indonesia⁽¹⁾. Selain itu, juga banyak terjadi masalah *multidrug resistance* (MDR). Salah satu bakteri yang telah mengalami *multidrug resistance* adalah methicillin-resistant *S. Aureus* (MRSA)⁽²⁾. Pada sisi lain, pembuatan antibiotik baru membutuhkan biaya yang sangat mahal dan meskipun biaya untuk pembuatan antibiotik tersebut dapat terjangkau, waktu untuk pengembangan dan implementasinya sangat lambat dibandingkan dengan perkembangan patogen *multidrug resistance*⁽³⁾.

Selain masalah resistensi, infeksi nosokomial juga sedang menjadi masalah global, dengan prevalensi pada negara-negara berkembang terjadi infeksi pada 15,5 pasien dari 100 pasien, dimana kejadian paling sering adalah pada pasien yang berada dalam perawatan intensif. Terapi farmakologi untuk infeksi nosokomial semakin sulit dilakukan karena adanya patogen-patogen yang resisten terhadap antibiotik⁽⁴⁾. Penggunaan biosida (antiseptik dan disinfektan) dapat mengurangi jumlah bakteri di lingkungan kesehatan seperti rumah sakit⁽⁵⁾. Salah satu strategi yang dikembangkan untuk mengurangi mikroba dalam ruangan adalah dengan dekontaminasi uap, yaitu pengaplikasian agen dekontaminan dalam bentuk gas⁽⁶⁾. Salah satu biosida yang telah dikembangkan dengan metode ini adalah *formaldehyde*, namun penggunaannya sangat berbahaya karena bersifat karsinogen sehingga penggunaannya telah dilarang⁽⁷⁾. Sehingga, untuk mengatasi masalah-masalah ini, sekarang banyak penelitian dilakukan pada tanaman yang mengandung minyak atsiri sebagai sumber agen antimikroba yang baru.

Minyak atsiri mengandung senyawa-senyawa volatil dengan aktivitas antimikroba yang dianggap sebagai alternatif sebagai antibiotik dan biosida yang sangat menjanjikan⁽⁷⁾. Selain itu, beberapa penelitian menunjukkan bahwa minyak atsiri yang digunakan dalam bentuk gas memiliki aktivitas antibakteri yang lebih

poten daripada dalam bentuk cair⁽⁷⁾. Hal itu disebabkan karena pada pengujian aktivitas antibakteri dengan minyak atsiri dalam bentuk gas, senyawa menguap yang dilepaskan di udara adalah yang bersifat hidrofilik dan hidrofobik. Sedangkan apabila menggunakan minyak atsiri dalam bentuk cair yang kontak langsung dengan bakteri, senyawa yang aktif adalah hanya senyawa yang bersifat hidrofilik⁽⁸⁾. Beberapa minyak atsiri tersebut antara lain berasal dari *Thymus vulgaris*, *Eucalyptus globulus*, *Melaleuca alternifolia*, minyak citrus, dan minyak tanaman sereh⁽⁹⁾⁽¹⁰⁾⁽¹¹⁾. Indonesia yang memiliki keanekaragaman tanaman tradisional yang cukup melimpah dapat menjadi sumber minyak atsiri. Salah satu contoh tanaman tradisional yang minyak atsirinya memiliki sifat antibakteri yaitu cengkeh (*Syzygium aromaticum*)⁽¹²⁾.

Cengkeh termasuk suku Myrtaceae yang banyak ditanam di beberapa negara termasuk Indonesia. Minyak cengkeh dapat diperoleh dari bunga, tangkai bunga, dan dari daun. Cengkeh merupakan sumber senyawa fenolat seperti flavonoid, asam hidroksibenzoat, asam hidroksinamat, dan propen hidroksifenil. Eugenol merupakan senyawa aktif utama dari cengkeh, dimana dalam 100 gram cengkeh segar mengandung sekitar 9.381,70-14.650 mg eugenol⁽¹²⁾. Bunga cengkeh mengandung sekitar 18% minyak atsiri. Sekitar 89% kandungan minyak atsiri berupa eugenol dan 5%-15% berupa eugenol asetat dan β -*caryophyllene*. Senyawa menguap lain yang ditemukan pada minyak atsiri cengkeh adalah β -pinen, limonen, farnesol, benzaldehid, 2-heptanon dan etil heksanoat⁽¹³⁾.

Dari penelitian yang dilakukan oleh Dorman dan Deans yang menguji aktivitas antibakteri cengkeh dan tanaman obat lainnya terhadap 25 jenis bakteri patogen, menunjukkan bahwa minyak atsiri cengkeh memiliki aktivitas antibakteri yang baik, karena semua bakteri tersebut sensitif terhadap cengkeh⁽¹⁴⁾. Sofia et al. juga menguji aktivitas ekstrak cengkeh terhadap bakteri patogen *Eschericia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Bascillus cereus*. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa ekstrak air dari cengkeh pada konsentrasi 3% menunjukkan efek penghambatan yang sangat baik⁽¹⁵⁾. Sementara penelitian mengenai aktivitas antibakteri beberapa minyak atsiri tumbuhan dalam bentuk uap telah dilakukan oleh Inouye et al., tetapi belum ada penelitian yang menguji uji efek antibakteri

dari uap minyak atsiri cengkeh⁽¹⁶⁾. Namun, menurut Matan et al (2006), eugenol yang merupakan senyawa utama dari minyak atsiri bunga cengkeh memiliki aktivitas antibakteri dan antijamur dalam bentuk gas⁽⁸⁾. Hal tersebut memberi peneliti gagasan untuk mengetahui efek antibakteri dari uap minyak atsiri cengkeh (*S. aromaticum*) dalam bentuk uap terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

1.2 Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah yang telah dipaparkan, hal-hal yang akan dikaji dalam penelitian ini adalah:

- 1) Berapakah nilai MID (*Minimal Inhibitory Dose*) dari uap minyak atsiri bunga cengkeh (*S. aromaticum* L.) sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan *E. coli* dan *S. aureus*?
- 2) Bagaimana perbandingan efek antibakteri dari uap minyak atsiri cengkeh (*S. aromaticum* L.) terhadap pertumbuhan *E. coli* dan *S. aureus* dengan metode *gaseous contact*?
- 3) Apa senyawa utama yang terkandung dalam minyak atsiri bunga cengkeh (*S. aromaticum* L.)?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang masalah dan rumusan masalah yang diuraikan, tujuan dilakukan penelitian ini adalah:

- 1) Mengetahui nilai *Minimal Inhibitory Dose* (MID) dari uap minyak atsiri cengkeh (*S. aromaticum* L.) dalam menghambat pertumbuhan *E. coli* dan *S. aureus*.
- 2) Mengetahui perbandingan efek antibakteri dari uap minyak atsiri cengkeh (*S. aromaticum* L.) terhadap pertumbuhan *E. coli* dan *S. aureus*.
- 3) Mengetahui senyawa utama yang terkandung dalam minyak atsiri bunga cengkeh (*S. aromaticum* L.).

1.4 Manfaat Penelitian

- 1) Membuat inovasi dalam pemanfaatan cengkeh (*S. aromaticum* L.) dan minyak atsirinya.
- 2) Meberikan alternatif pengobatan baru untuk terapi infeksi karena bakteri dengan menggunakan bahan alam yang sering ditemui.
- 3) Dapat menjadi acuan dalam pengembangan penelitian selanjutnya.



BAB II STUDI PUSTAKA

2.1 Tinjauan Pustaka

2.1.1 Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.)

2.1.1.1 Sinonim

Syzygium aromaticum L., *Eugenia caryophyllata*, *Eugenia aromatica*, *Caryophyllus aromaticus*, *Jambos carryhophyllu*⁽¹⁷⁾.

2.1.1.2 Nama lokal

Clove (Inggris); Cengkeh (Indonesia, Jawa dan Sunda); Wunga Lawang (Bali); Bungeu lawang (Gayo); Sake (Nias); Cangkih (Lampung); Hungolawa (Gorontalo); Canke (Ujung Pandang); Cengke (Bugis); Sinke (Flores); Pualawane (Ambon); Gomode (Halmahera dan Tidore)⁽¹⁷⁾.

2.1.1.3 Taksonomi

Divisio Spermatophyta; Sub-Divisio Angiospermae; Kelas Dicotyledoneae; Sub-Kelas Choripetalae; Ordo Myrtales; Famili Myrtaceae; Genus *Syzygium*; Spesies *Syzygium aromaticum* L.⁽¹⁷⁾.

2.1.1.4 Morfologi Cengkeh

Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) termasuk jenis tumbuhan perdu yang dapat memiliki batang pohon besar dan berkayu keras. Cengkeh mampu bertahan hidup puluhan bahkan sampai ratusan tahun, tingginya dapat mencapai 20-30 meter dan cabang-cabangnya cukup lebat⁽¹²⁾. Daun tunggal, bertangkai, tebal, kaku, bentuk bulat telur sampai lanset memanjang, ujung runcing, pangkal meruncing, tepi rata, tulang daun menyirip, permukaan atas mengkilap, panjang 6-13,5 cm, lebar 2,5-5 cm, warna hijau muda atau coklat muda saat masih muda dan hijau tua ketika tua⁽¹²⁾. Bunga dan buah cengkeh akan muncul pada ujung ranting daun dengan tangkai pendek serta bertandan. Pada saat masih muda bunga cengkeh berwarna keungu-unguan, kemudian berubah menjadi kuning kehijauan dan berubah lagi menjadi merah muda apabila sudah tua. Sedang bunga cengkeh

kering akan berwarna coklat kehitaman dan berasa pedas sebab mengandung minyak atsiri⁽¹³⁾. Perbanyakkan tanaman dapat dilakukan secara vegetatif dan generatif. Tanaman ini tumbuh baik di daerah tropis di ketinggian 600-1.100 meter di atas permukaan laut (dpl) di tanah yang berdrainase baik⁽¹⁷⁾.



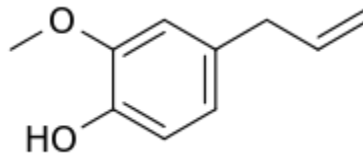
Gambar 2.1. Bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.)⁽⁸⁾

2.1.1.5 Kandungan Kimia Tanaman Cengkeh

Semua bagian tanaman cengkeh mengandung minyak atsiri tetapi kandungan tertinggi terdapat pada bunganya⁽¹³⁾. Letak minyak atsiri pada bunga cengkeh yaitu pada sel epidermis atas dan bawah dari daun mahkota dan daun kelopak. Pada sel epidermis tersebut terdapat kelenjar minyak skizolisigen yang mengandung minyak atsiri⁽¹²⁾. Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) mempunyai kandungan eugenol dalam jumlah besar 70%-96% dan beberapa komponen lainnya seperti eugenol asetat dan β -carophyllen⁽¹⁸⁾.

Kadar eugenol dalam minyak atsiri daun cengkeh umumnya antara 80-88%. Eugenol ($C_{10}H_{12}O_2$), merupakan turunan guaiakol yang mendapat tambahan rantai alil, dikenal dengan nama IUPAC 2-metoksi-4-(2-propenil) fenol. Eugenol dapat dikelompokkan dalam keluarga alilbenzena dari senyawa-senyawa fenol. Berat molekul 164,20 dan titik didih 250 -255°C. Warnanya bening hingga kuning pucat, kental seperti minyak. Eugenol sedikit larut dalam air namun mudah larut pada pelarut organik (alkohol, eter dan kloroform). Eugenol memberikan bau dan aroma yang khas pada minyak cengkeh, berbau keras, dan

mempunyai rasa pedas. Eugenol mudah berubah menjadi kecoklatan apabila dibiarkan di udara terbuka⁽¹⁸⁾⁽¹⁹⁾.



Gambar 2.2. Struktur molekul eugenol

Dalam bidang industri pemanfaatan eugenol masih terbatas pada industri parfum. Dalam kesehatan digunakan sebagai antiseptik dan anastesi lokal⁽²⁰⁾. Eugenol juga digunakan dalam memproduksi isoeugenol untuk pembuatan vanilin⁽¹⁾. Jika eugenol dikombinasikan dengan zinc oxide dapat berfungsi sebagai material semen yang digunakan oleh dokter gigi untuk menambal karies gigi sementara. Eugenol mempunyai potensi iritasi terhadap jaringan tetapi disamping itu juga memiliki keunggulan dengan daya antibakterinya⁽²²⁾. Selain itu, menurut Thompson et al (1989), eugenol juga mempunyai sifat neurotoksik⁽²³⁾.

2.1.1.6 Manfaat

Cengkeh dapat digunakan untuk menghangatkan, menghilangkan rasa sakit setempat, membantu mengeluarkan angin, antibakteri dan menghilangkan kejang perut⁽²⁴⁾. Bunga cengkeh yang sudah kering dapat digunakan sebagai obat kolera dan mempercepat denyut jantung. Minyak cengkeh sering digunakan sebagai pengharum mulut, mengobati bisul, sakit gigi, memperkuat lendir usus dan lambung serta menambah jumlah sel darah putih⁽²⁵⁾⁽²⁶⁾.

2.1.1.7 Mekanisme Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Cengkeh

Senyawa utama yang terkandung dalam minyak atsiri bunga cengkeh adalah eugenol. Eugenol adalah senyawa phenol dan merupakan unsur yang sangat penting dalam industri farmasi⁽²⁶⁾. Eugenol mempunyai efek antiseptik dan bekerja dengan merusak membran sel, mengganggu lapisan fosfolipid dari membran sel yang mengakibatkan peningkatan permeabilitas sehingga makromolekul dan ion dalam sel akan keluar, menyebabkan kerusakan ataupun kematian dari sel tersebut⁽²⁶⁾.

2.1.2 Minyak Atsiri

2.1.2.1 Definisi

Minyak atsiri merupakan metabolit sekunder yang dihasilkan tumbuhan sebagai pertahanan diri terhadap serangan dari luar seperti serangga atau mikroorganisme. Minyak atsiri merupakan senyawa organik, bersifat mudah menguap. Terkait dengan sifat mudah menguapnya, minyak atsiri yang dihasilkan tumbuhan akan menyebarkan aroma-aroma tertentu yang mempengaruhi perilaku organisme di sekitar tumbuhan tersebut⁽³⁾. Perilaku tersebut dapat bersifat negatif bagi tumbuhan, artinya organisme tertentu akan menyukai hidup pada tumbuhan tersebut atau bersifat positif yang menyebabkan organisme tertentu tidak menyukai atau hidup di sekitar tumbuhan tersebut. Hanya tumbuhan yang memiliki sel glandula saja yang mampu menghasilkan minyak atsiri. Famili tumbuhan Lauraceae, Myrtaceae, Rutaceae, Myristicaceae, Astereaceae, Apocynaceae, Umbeliferae, Pinaceae, Rosaceae, dan Labiateae dikenal sebagai kelompok tumbuhan penghasil minyak atsiri⁽¹⁵⁾.

Minyak atsiri dari tanaman cengkeh dibagi menjadi 3 bagian berdasarkan sumbernya, yaitu minyak daun cengkeh (*clove leave oil*), minyak tangkai cengkeh (*clove stem oil*), minyak bunga cengkeh (*clove bud oil*). Minyak daun cengkeh berupa cairan berwarna bening sampai kekuning-kuningan, mempunyai rasa yang pedas, dan berbau aroma cengkeh. Warnanya akan berubah menjadi cokelat atau berwarna ungu jika terjadi kontak dengan besi atau akibat penyimpanan⁽²⁷⁾⁽²⁸⁾.

2.1.2.2 Isolasi Minyak Atsiri

Isolasi minyak atsiri dapat dilakukan dengan distilasi (penyulingan). Ada tiga macam cara penyulingan, yaitu penyulingan dengan air (hidrodestilasi), penyulingan dengan uap, serta penyulingan dengan air dan uap⁽²⁷⁾.

Cara penyulingan minyak atsiri, pertama-tama adalah memasukkan bahan baku dari tanaman yang mengandung minyak ke dalam ketel pendidih atau ke dalam ketel penyulingan dan dialiri uap. Air yang panas dan uap, akan mempengaruhi bahan tersebut sehingga di dalam ketel terdapat dua cairan, yaitu air panas dan minyak atsiri. Kedua cairan tersebut dididihkan perlahan-lahan

hingga terbentuk campuran uap yang terdiri dari uap air dan uap minyak. Campuran uap ini akan mengalir melalui pipa-pipa pendingin dan terjadilah proses pengembunan sehingga uap tadi kembali mencair. Dari pipa pendingin, cairan tersebut dialirkan ke alat pemisah yang akan memisahkan minyak atsiri dari air berdasarkan berat jenisnya⁽²⁹⁾.

2.1.3 Bakteri

2.1.3.1 Definisi

Bakteri adalah salah satu golongan organisme prokariotik (tidak memiliki selubung inti). Bakteri sebagai makhluk hidup tentu memiliki informasi genetik berupa DNA, tapi tidak terlokalisasi dalam tempat khusus (nukleus) dan tidak ada membran inti. Bentuk DNA bakteri adalah sirkuler, panjang dan biasa disebut nukleoi. Pada DNA bakteri tidak mempunyai intron dan hanya tersusun atas akson saja. Bakteri juga memiliki DNA ekstrakromosomal yang tergabung menjadi plasmid yang berbentuk kecil dan sirkuler⁽³⁰⁾.

Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri adalah:

- a. Sumber energi, yang diperlukan untuk reaksi – reaksi sintesis yang membutuhkan energi dalam pertumbuhan dan restorasi, pemeliharaan keseimbangan cairan, gerak dan sebagainya.
- b. Sumber karbon
- c. Sumber nitrogen, sebagian besar untuk sintesis protein dan asam-asam nukleat.
- d. Sumber garam-garam anorganik, khususnya folat dan sulfat sebagai anion ; dan potasium, sodium magnesium, kalsium, besi, mangan sebagai kation.
- e. Bakteri-bakteri tertentu membutuhkan faktor-faktor tumbuh tambahan, disebut juga vitamin bakteri, dalam jumlah sedikit untuk sintesis metabolik esensial⁽³¹⁾.

2.1.3.2 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus adalah bakteri gram positif berbentuk bulat, biasanya tersusun dalam rangkaian tak beraturan seperti anggur. Jenis bakteri ini

dapat menimbulkan penyakit infeksi pada manusia. Setiap jaringan ataupun alat tubuh dapat diinfeksi olehnya dan menyebabkan timbulnya penyakit dengan tanda-tanda yang khas, yaitu peradangan, nekrosis, dan pembentukan abses. Ciri-ciri bakteri *S. aureus* yaitu berbentuk bulat dengan diameter sekitar 1 μm , tersusun dalam kelompok-kelompok tak beraturan, dan tidak membentuk spora, mudah tumbuh pada kebanyakan pembenihan bakteri dalam keadaan aerobik atau mikroaerifilik. Bakteri ini tumbuh paling cepat pada suhu 37°C dan meragikan banyak karbohidrat dengan lambat, menghasilkan asam laktat, tetapi tidak menghilangkan gas. Staphylococcus relatif resisten terhadap pengeringan, panas (bakteri ini tahan terhadap suhu 50°C selama 30 menit), dan tahan terhadap natrium klorida 9%⁽²⁾⁽³²⁾.

Klasifikasi *S. aureus* yaitu Kingdom Prokaryotae; Divisi Protozoa; Kelas Pchizomycetes; Bangsa Eubacteriales; Familia Microokoccaceae; Marga Staphylococcus; Jenis *Staphylococcus aureus*⁽²⁾.

2.1.3.3 *Eschericia coli*

E. coli berbentuk batang pendek, gram negatif, berukuran 0,4-0,7 μm serta dapat membentuk koloni rantai panjang. *E. coli* membentuk koloni bulat konveks, halus dengan pinggir-pinggir yang nyata. Dinding sel bakteri ini terdiri dari lapiram murein, lipoprotein, fosfolipid, protein, dan lipopolisakarida. Lapisan murein, lipoprotein membentuk 20% dari total dinding sel. Lapisan fosfolipid protein dan lipopolisakarida membentuk 80% dari dinding sel. Komponen utama yang terpenting dari dinding sel adalah lapisan lipopolisakarida, yang terdiri dari rantai polisakarida spesifik. Rantai tersebut menentukan sifat antigenik dan aktivitas endotoksin. *E. coli* adalah bakteri yang ditemukan di usus besar manusia sebagai flora normal. Sifatnya unik karena dapat menyebabkan infeksi primer pada usus, misalnya diare pada anak di dalam usus. Namun, organisme ini menjadi patogen hanya bila jumlahnya terlalu banyak dan mencapai jaringan di luar saluran pencernaan khususnya saluran air kemih, saluran empedu, paru-paru, peritoneum, atau selaput otak, dan menyebabkan peradangan pada tempat-tersebut⁽³⁰⁾.

Klasifikasi *E. coli* yaitu Kingdom Prokaryotae; Divisi Protophyta; Kelas Schizomycetea; Bangsa Eubacteriales; Familia Enterobacteriaceae; Marga Eschericia; Jenis *Eschericia coli*⁽³¹⁾.

2.2 Landasan Teori

Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) merupakan salah satu tanaman rempah yang banyak dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia. Bagian tanaman cengkeh yang sering digunakan adalah bagian daun, bunga, dan tangkai bunga yang kemudian sering diolah menjadi minyak cengkeh. Minyak cengkeh memiliki aktivitas antibakteri. Senyawa utama dalam minyak cengkeh yang memiliki khasiat sebagai antibakteri adalah eugenol⁽³³⁾. Eugenol dapat menghambat pertumbuhan bakteri karena sifat hidrofobiknya, yang memungkinkan eugenol dapat memecah lipid pada membran sel bakteri yang kemudian dapat merusak struktur sel dan menyebabkan sel menjadi lebih permeabel. Terganggunya permeabilitas sel dapat mengakibatkan kebocoran sel sehingga konstituen intraseluler seperti elektrolit, asam nukleat, dan protein akan keluar dari sel yang pada akhirnya mengakibatkan kematian sel⁽³⁴⁾. Pada sebagian besar literatur disebutkan bahwa bakteri gram negatif lebih resisten terhadap eugenol dibandingkan dengan bakteri gram positif⁽¹⁶⁾. Hal ini dikarenakan adanya perbedaan struktur bakteri gram positif dan gram negatif⁽³⁰⁾. Pada bakteri gram negatif terdapat membran luar yang memiliki rantai polisakarida hidrofilik yang berfungsi sebagai penghalang masuknya minyak atsiri hidrofobik ke dalam sel⁽³⁵⁾⁽³⁶⁾. Belum ditemukan penelitian yang menunjukkan aktivitas antibakteri dari uap minyak cengkeh terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dengan metode *gaseous contact*.. Namun pada penelitian yang dilakukan oleh Dorman dan Deans, menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri dari minyak atsiri cengkeh terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* dengan metode difusi agar cukup baik, ditunjukkan dengan zona hambat sebesar 14,9±0,1mm pada *S. aureus* dan sebesar 13,6±0,3 mm pada *E. coli*⁽¹⁴⁾. Selain penelitian tersebut, penelitian yang dilakukan oleh Sofia et al. juga menguji aktivitas antimikroba dari berbagai macam tanaman

seperti kayu manis, daun mint, jahe, bawang putih, dan cengkeh. Tanaman yang menunjukkan efek antimikroba yang paling baik terhadap bakteri patogen *E. coli*, *S. aureus*, dan *Bascillus cereus* adalah ekstrak air dari cengkeh pada konsentrasi 3%. Pada konsenstrasi 1% ekstrak cengkeh juga telah menunjukkan efek penghambatan bakteri yang baik⁽¹⁵⁾. Julio Cesar et al (2015) juga menyebutkan bahwa nilai *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) minyak atsiri bunga cengkeh dalam menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan negatif berkisar antara 0,062% hingga 0,5%⁽³⁴⁾. Menurut Juan Bueno (2015), minyak atsiri memiliki potensi mikrobisida yang lebih tinggi dalam bentuk uapnya dibandingkan dalam bentuk cair⁽⁷⁾. Aktivitas antimikroba dari berbagai macam minyak atsiri dalam bentuk gas, seperti minyak atsiri *Eucalyptus*⁽¹⁰⁾⁽³⁵⁾, *Melaleuca alternifolia*⁽³⁶⁾, dan *Thymus vulgaris*⁽³⁷⁾ lebih baik daripada dalam bentuk cair, karena gugus fungsional minyak atsiri tersebut terdispersi ke udara, serta adanya tekanan uap menyebabkan gugus fungsional dari senyawa aktif tersebut mampu melintasi membran sel bakteri⁽³⁸⁾. Menurut Matan et al (2006), eugenol yang merupakan senyawa utama dari minyak atsiri bunga cengkeh memiliki aktivitas antibakteri dan antijamur dalam bentuk gas⁽⁸⁾. Hasil penelitian Reichling et al (2009), menunjukkan konsentrasi minyak atsiri yang kecil (1,56-6,25 µg/mL) dalam bentuk uap sangat aktif dalam menghambat pertumbuhan bakteri⁽³⁹⁾. Berdasarkan penelitian-penelitian tersebut, diketahui bahwa cengkeh memiliki potensi sebagai agen antibakteri, dan besar kemungkinan bahwa minyak atsiri bunga cengkeh dalam bentuk uap juga memiliki aktivitas antibakteri. Sehingga, peneliti tertarik untuk mengembangkan minyak atsiri cengkeh dalam bentuk uap sebagai antibakteri melawan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

2.3 Hipotesis

Uap dari minyak atsiri cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) memiliki efek antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli*. Namun aktivitasnya lebih besar dalam menghambat bakteri *S. aureus* dibandingkan dengan *E. coli*. Kandungan senyawa utama dalam minyak atsiri cengkeh adalah eugenol, eugenil asetat, dan β -caryophyllene.

BAB III

METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan dengan menggunakan metode eksperimental di laboratorium. Isolasi minyak atsiri bunga cengkeh dilakukan dengan metode destilasi uap dan air. Identifikasi komponen senyawa kimia yang terdapat pada minyak atsiri bunga cengkeh dilakukan dengan metode GC-MS. Uji aktivitas antibakteri minyak atsiri dilakukan dengan metode *gaseous contact* menggunakan *airtight box*.

3.1 Bahan dan Alat

3.1.1. Bahan

- a. Bahan utama: simplisia bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) yang diperoleh dari Merapi Farma, Yogyakarta.
- b. Bahan untuk identifikasi simplisia bunga cengkeh: kaca preparat, kloralhidrat.
- c. Bahan untuk proses destilasi: aquades, Na₂SO₄.
- d. Bahan untuk uji aktivitas antibakteri: aluminium foil, *Escherichia coli* strain, *Staphylococcus aureus* strain, DMSO, *double tape*, kapas, kertas payung, kertas saring (diameter = 9 cm), larutan standar McFarland, lilin (malam), *Mueller-Hinton agar* (MHA), dan *Mueller-Hinton broth* (MHB).

3.1.2. Alat

- a. Alat untuk identifikasi simplisia bunga cengkeh: mikroskop.
- b. Alat untuk destilasi : seperangkat alat destilasi uap dan air, peralatan gelas.
- c. Alat untuk identifikasi kandungan senyawa kimia minyak atsiri: GC-MS Shimadzu QP2010 SE.

- d. Alat untuk uji aktivitas antibakteri: *airtight box*, autoklaf, bunsen, cawan petri, inkubator, *Laminar Air Flow* (LAF), lemari pendingin, *microwave*, mikropipet, ose, dan perangkat gelas.

3.2 Cara Penelitian

3.2.1 Pengumpulan Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah simplisia bunga cengkeh (*S. aromaticum* L.) yang diperoleh dari Merapi Farma, Yogyakarta.

3.2.2 Identifikasi Simplisia Bunga cengkeh

Identifikasi simplisia bunga cengkeh dilakukan secara makroskopik dan mikroskopik di Laboraturum Biologi Farmasi Fakultas MIPA Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta dengan mengacu pada Materi Medika Indonesia Jilid IV untuk memastikan bahwa simplisia yang digunakan benar-benar bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.).

3.2.3 Isolasi Minyak Atsiri Bunga Cengkeh

Proses isolasi dilakukan dengan metode destilasi uap-air. Sebanyak 1 kg bahan didestilasi selama 4 jam, diukur mulai dari tetesan kondensat pertama. Destilat yang diperoleh ditambahkan natrium sulfat anhidrat (Na_2SO_4) untuk memisahkan minyak dan air kemudian disimpan dalam wadah tertutup rapat dan dimasukkan ke dalam lemari pendingin hingga siap digunakan. Minyak atsiri yang diperoleh digunakan sebagai sampel untuk proses selanjutnya.

3.2.4 Identifikasi kandungan senyawa dengan GC-MS

Analisis kandungan senyawa dalam minyak atsiri dilakukan dengan menggunakan alat GC-MS. Minyak atsiri bunga cengkeh bersifat volatil sehingga menurut *National Chemistry Instrumentation Center* (NCIC) dilakukan analisis senyawa kimia menggunakan GC-MS. Analisis dilakukan dengan parameter identifikasi sebagai berikut:

- a. Volume injeksi : 0,1 μL

- b. Fase gerak : Helium
- c. Fase diam : RTX-5MS
- d. Suhu injektor : 250°C
- e. Suhu detector MS : 200°C
- f. Suhu kolom : 60-300°C dengan kecepatan 10⁰/menit
- g. Laju alir : 0,75 ml/menit
- h. Bank data : Willey

3.2.5 Persiapan untuk Uji Antibakteri

a. Sterilisasi Alat

Alat dan media yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri disterilkan dalam autoklaf dengan suhu 121°C selama ±15 menit dan *airtight box* disterilkan dengan *swab* alkohol kemudian dilapisi dengan aluminium foil dan diletakkan di bawah sinar UV selama 30 menit.

b. Pembuatan Seri Konsentrasi Minyak Atsiri

Minyak atsiri bunga cengkeh hasil isolasi dilarutkan dengan DMSO sehingga didapat konsentrasi 25; 12,5; 6,25; 3,13; dan 1,56% dengan volume akhir 1 mL.

c. Pembuatan Media Agar Miring

Sebanyak 0,95 gram MHA dilarutkan dalam 25 mL aquades, kemudian dipanaskan dengan *microwave* sampai warna kuning bening. Masukkan ke dalam tabung reaksi masing-masing sebanyak 5 ml. Tutup tabung reaksi dengan kapas dan aluminium foil. Sterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Tempatkan ditempat yang miring dan diamkan sampai padat pada suhu kamar.

d. Pembuatan Biakan Bakteri

Sebanyak 1 ose isolat bakteri *E. coli* dan *S. aureus* dibiakkan pada media agar miring MHA dengan pola zig-zag, masing-masing bakteri dibuat 2 biakan bakteri. Lakukan dalam keadaan steril pada ruang isolasi dengan sinar UV atau di dalam LAF. Kemudian inkubasi biakan pada suhu 37°C selama 24 jam.

e. Pembuatan Media *Broth*

Sebanyak 0,63 gram MHB dilarutkan dalam 30 mL aquades, kemudian dipanaskan dengan *microwave* sampai warna kuning bening. Masukkan ke dalam tabung reaksi masing-masing sebanyak 5 ml. Tutup tabung reaksi dengan kapas dan aluminium foil. Sterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit.

f. Pembuatan suspensi bakteri

Koloni *E. coli* dan *S. aureus* hasil biakan diambil dengan ose steril dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi 5 mL MHB. Inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, kemudian setarakan kekeruhannya dengan standar *McFarland*. Jumlah bakteri yang memenuhi syarat untuk uji kepekaan yaitu: 10^5 - 10^8 CFU/ml.

g. Pembuatan media agar untuk cawan petri

Sebanyak 24,7 gram MHA dilarutkan dalam 650 mL aquades. Larutan MHA dipanaskan dengan *microwave* dan disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Dituang 20 mL media MHA steril pada cawan petri dan didiamkan hingga memadat.

3.2.6 Uji Efek Antibakteri dengan Metode *Gaseous Contact*

Disiapkan *airtight box* dengan volume 1,3 L yang telah dilapisi dengan aluminium foil untuk melindungi dinding *airtight box* dari paparan minyak atsiri yang sulit dibersihkan. Lilin (malam) ditempelkan di tepi bagian atas *airtight box* untuk mencegah kebocoran udara.

Cawan petri yang berisi masing-masing 20 mL media MHA yang telah memadat, disebarkan di permukaannya dengan 10 μ L suspensi bakteri dengan menggunakan *spreader*, kemudian dimasukkan ke dalam *airtight box*. Kertas saring dimasukkan ke dalam *airtight box* dan ditempelkan ke dinding *airtight box* dengan menggunakan *double tape*, kemudian diteteskan minyak atsiri sebanyak 260 μ L dari masing-masing seri konsentrasi minyak atsiri dengan menggunakan mikropipet. Masing-masing konsentrasi dibuat 3 kali replikasi. Kontrol disiapkan dengan meneteskan 260 μ L DMSO ke kertas saring. Kontrol digunakan untuk

melihat ada atau tidaknya efek dari pelarut. *Airtight box* kemudian ditutup dan bagian tutupnya dilapisi lagi dengan selotip untuk mencegah kebocoran udara. Semua *airtight box* di inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Didapat nilai MID yang menunjukkan konsentrasi terkecil dalam menghambat pertumbuhan bakteri pada sistem tertutup.

3.3 Analisis Hasil

Pengujian efek antibakteri dengan menggunakan metode *gaseous contact* terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* akan didapat nilai *Minimal Inhibitory Dose* (MID). MID merupakan dosis minimal untuk menekan pertumbuhan mikroorganisme dalam sistem tertutup. MID dari minyak atsiri bunga cengkeh tercatat dengan tidak adanya pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus* secara visual. Nilai MID dinyatakan dengan satuan volume per unit volume ($\mu\text{L/L}$ udara). Analisis kandungan senyawa dalam minyak atsiri bunga cengkeh yang dilakukan dengan menggunakan GC-MS akan diperoleh dua data yaitu kromatogram dan spektra massa, kemudian dibandingkan dengan literatur.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil Identifikasi Simplisia Bunga Cengkeh

Bunga cengkeh yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Merapi Farma, Yogyakarta, berupa simplisia kering. Kebenaran simplisia dibuktikan dengan identifikasi simplisia secara makroskopik dan mikroskopik yang mengacu pada ketentuan persyaratan simplisia dalam Materia Medika Indonesia jilid VI. Pengamatan makroskopik bertujuan untuk mengetahui morfologi, ukuran, dan warna dari simplisia yang diteliti, sedangkan pengamatan mikroskopik bertujuan untuk mengetahui unsur-unsur anatomi jaringan yang khas pada simplisia dengan mengamati fragmen-fragmen pengenal dari simplisia tersebut.

Hasil pengamatan makroskopik pada simplisia bunga cengkeh kering adalah bunga berwarna coklat kehitaman, kelopak bunga berjumlah 4 helai, tidak mekar, tetapi menutup, berbentuk bulat telur, hipantium berbentuk seperti tabung dan mengerucut pada ujungnya.

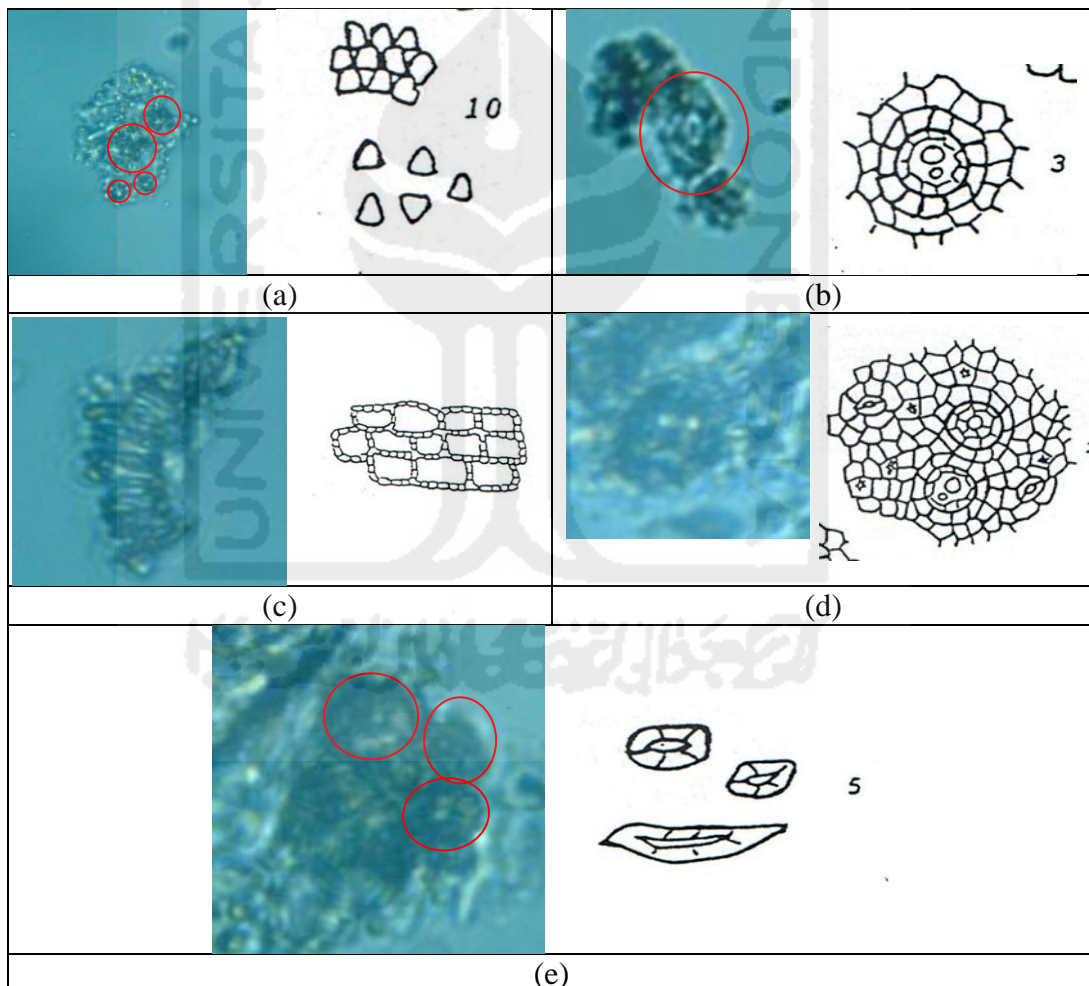


Gambar 4.1. Simplisia bunga cengkeh

Dalam Materia Medika Indonesia Jilid VI disebutkan bahwa ciri-ciri makroskopik bunga cengkeh adalah bunga panjangnya 10 mm sampai 17,5 mm; dasar bunga berisi 4, agak pipih, bagian atas meliputi bakal buah yang tenggelam, berongga 2 berisi banyak bakal buah melekat pada sumbu plasenta. Daun kelopak 4 helai tebal bentuk bundar telur atau segitiga, runcing, lepas. Daun mahkota 4 helai warna lebih muda dari warna kelopak, tidak mekar tipis seperti selaput,

saling menutup seperti susunan genting. Benang sari banyak berbentuk melengkung ke dalam; tangkai agak silinder segi empat panjangnya 2,5 mm sampai 4 mm⁽⁴⁰⁾. Hasil menunjukkan bahwa simplisia yang diteliti memiliki morfologi yang sesuai dengan ketentuan makroskopik bunga cengkeh pada *Materia Medika Indonesia Jilid VI*.

Hasil pemeriksaan mikroskopik fragmen pengenal dari simplisia bunga cengkeh dalam penelitian ini antara lain serbuk sari lepas, kelenjar minyak skizolisigen, berkas pembuluh dan serabut sklerenkim, epidermis dasar bunga, dan fragmen dasar bunga.



Gambar 4.2. Hasil pemeriksaan mikroskopik simplisia bunga cengkeh
 (a) serbuk sari lepas, (b) kelenjar minyak skizolisigen, (c) berkas pembuluh dan serabut sklerenkim, (d) epidermis dasar bunga, (e) sel batu dan sklereida

Dalam *Materia Medika Indonesia* Jilid VI disebutkan bahwa fragmen pengenal yang dimiliki oleh kulit bunga cengkeh antara lain; fragmen dasar bunga (hipantium), sel epidermis, stomata, kelenjar minyak skizolisigen, kepala sari dan serbuk sari berkelompok atau lepas, fragmen berkas pembuluh, fragmen serabut sklerenkim⁽⁴⁰⁾. Hasil menunjukkan bahwa simplisia bunga cengkeh yang diteliti memiliki fragmen pengenal yang sesuai dengan ketentuan mikroskopik bunga cengkeh pada *Materia Medika Indonesia* Jilid VI .

4.2. Hasil Destilasi Minyak Atsiri

Metode yang digunakan dalam isolasi minyak atsiri dari simplisia bunga cengkeh adalah dengan destilasi uap air. Metode ini digunakan karena minyak atsiri sangat mudah menguap dan tidak tahan pada pemanasan dengan suhu tinggi. Harris (1987) dalam Zulnely (2008) mengemukakan bahwa persentase senyawa yang terdapat dalam minyak hasil destilasi uap-air mempunyai nilai yang lebih besar dari pada minyak hasil destilasi air. Sehingga pada minyak hasil destilasi uap-air memiliki randemen yang lebih tinggi karena senyawa-senyawa yang terekstrak lebih banyak⁽⁴¹⁾. Dibandingkan dengan destilasi air, destilasi dengan uap-air lebih unggul karena proses dekomposisi minyak lebih kecil (hidrolisa ester, polimerisasi, resinifikasi, dan lain-lain). Pada destilasi air, beberapa jenis ester akan terhidrolisa sebagian, senyawa-senyawa yang peka seperti aldehid, mengalami polimerisasi karena pengaruh air mendidih⁽²⁸⁾.

Pada destilasi uap air, antara air dan minyak atsiri dalam bunga cengkeh tidak menguap secara bersama-sama. Pada awalnya air akan menguap setelah proses pemanasan dilakukan, setelah mencapai suatu keseimbangan tekanan tertentu, maka uap air akan masuk ke dalam jaringan dalam bunga cengkeh dan mendesak minyak atsiri ke permukaan. Kemudian minyak atsiri akan ikut menguap bersama uap air menuju kondensor jatuh masuk ke dalam labu penampung. Pada labu penampung, fase air dan fase minyak akan terpisah karena perbedaan berat jenis kedua fase tersebut. Fase air berada di bawah dan fase minyak berada di atas karena berat jenis air lebih besar daripada minyak. Minyak atsiri cengkeh yang dihasilkan masih berwarna kuning keruh, karena masih

mengandung sedikit air yang terdispersi dalam minyak tersebut. Untuk mengatasi hal ini, minyak bunga cengkeh dimasukkan ke dalam flakon dan ditambahkan Na_2SO_4 untuk memisahkan air dari minyak.

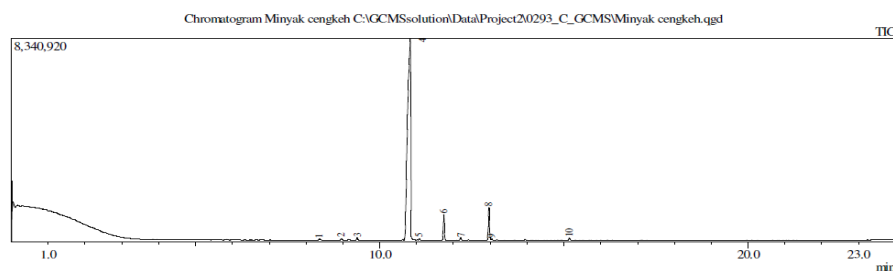


Gambar 4.3. Minyak atsiri bunga cengkeh

Perolehan volume minyak atsiri dari destilasi 1 kg simplisia bunga cengkeh selama 4 jam adalah 8,6 mL. Minyak atsiri yang dihasilkan berwarna kuning pucat dan berbau aromatis kuat. Perhitungan rendemen dilakukan untuk mengetahui perbandingan bobot simplisia yang digunakan dengan hasil minyak atsiri yang diperoleh. Hasil rendemen yang didapat pada minyak atsiri bunga cengkeh yaitu 0,86%.

4.3. Hasil Identifikasi Kandungan Senyawa dengan GC-MS

Identifikasi kandungan senyawa minyak atsiri dengan menggunakan GC-MS bertujuan untuk mengetahui persentase kandungan senyawa minyak bunga cengkeh. Analisis dengan GC-MS menghasilkan 2 macam data, yaitu hasil analisis GC berupa kromatogram dan hasil analisis MS berupa spektra massa. Hasil kromatogram GC minyak atsiri bunga cengkeh menunjukkan adanya 10 puncak.



Gambar 4.4. Kromatogram GC-MS minyak atsiri kulit bunga cengkeh

Hasil analisis menunjukkan bahwa terdapat 10 kandungan senyawa dalam minyak atsiri bunga cengkeh dengan komponen senyawa utama antara lain eugenol (87,92%), β -caryophyllene (4,16%), dan eugenyl asetat (5,50%). Menurut Nassar *et al.* (2007), minyak atsiri bunga cengkeh memiliki 16 kandungan senyawa dengan kandungan utama antara lain eugenol (71,56%), β -caryophyllene (1,67%), dan eugenyl asetat (8,99%)⁽⁴²⁾. Sedangkan menurut Alma *et al.* (2007), minyak atsiri bunga cengkeh memiliki 18 kandungan senyawa dengan kandungan utama eugenol (87%), β -caryophyllene (3,56%), dan eugenyl asetat (8,01%)⁽⁴³⁾. Pada penelitian Memmou dan Mahboub (2012), bunga cengkeh segar didistilasi dan dihasilkan minyak cengkeh dengan kandungan terbesar adalah eugenol (47,57%), β -caryophyllene (35,42%), serta eugenyl asetat (13,42%)⁽⁴⁴⁾. Perbedaan kadar senyawa-senyawa dalam minyak atsiri bunga cengkeh tersebut disebabkan oleh daerah tempat tumbuh, kondisi iklim, umur panen, preparasi bunga cengkeh sebelum distilasi, perbedaan lama waktu distilasi, perbedaan metode isolasi, serta cara penyimpanan minyak⁽⁴⁵⁾.

Tabel 4.1. Hasil analisis komponen kimia minyak atsiri bunga cengkeh

No.	R.Time	% Area	Nama Senyawa
1.	10,830	87,92	eugenol
2.	11,738	4,16	β -caryophyllene
3.	12,962	5,50	eugenyl asetat

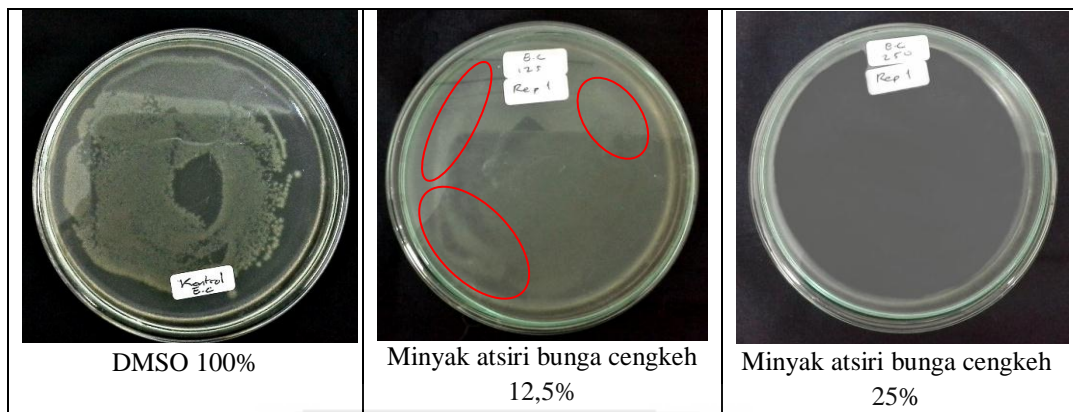
Dari hasil pengamatan menggunakan GC-MS, diketahui bahwa kandungan senyawa yang tertinggi dari minyak cengkeh adalah eugenol, sebesar 87,92%. Dalam persyaratan mutu minyak cengkeh, standar kandungan minimal senyawa eugenol adalah 78%, sehingga minyak cengkeh yang digunakan dalam penelitian ini sudah memenuhi standar⁽⁴⁶⁾.

4.4. Hasil Uji Efek Antibakteri dengan Metode Gaseous Contact

Minyak atsiri bunga cengkeh dapat larut dalam *dimethylsulphoxide* (DMSO). Pelarut DMSO dipilih karena dapat melarutkan minyak atsiri bunga cengkeh serta tidak memiliki sifat menghambat bakteri *S. aureus* dan *E. coli*, sehingga tidak mengganggu hasil penelitian. Hal ini dapat terlihat dari permukaan

media yang terlihat keruh setelah dipaparkan dengan DMSO, yang menunjukkan masih terjadinya pertumbuhan koloni bakteri. Minyak atsiri cengkeh dibuat seri kadar dengan menggunakan pelarut DMSO, sehingga didapat konsentrasi 25; 12,5; 6,25; 3,13; dan 1,56%. Pada pembuatan seri kadar, pelarut DMSO digunakan dengan tujuan untuk mempermudah pengambilan minyak atsiri dengan mikropipet dan agar hasil pipetasi lebih akurat karena konsentrasi minyak atsiri yang digunakan sangat kecil. Penentuan MID dilakukan untuk mengetahui konsentrasi terkecil minyak atsiri yang dapat menekan pertumbuhan bakteri, yang ditandai dengan tidak terlihatnya pertumbuhan koloni bakteri pada permukaan agar. Nilai MID didapat dengan membandingkan jumlah bakteri yang terlihat pada setiap konsentrasi minyak atsiri dan DMSO sebagai kontrol.

Berdasarkan hasil pengamatan, diketahui bahwa konsentrasi terkecil minyak atsiri bunga cengkeh yang telah menunjukkan penghambatan pertumbuhan bakteri *E. coli* adalah 25% dan pada bakteri *S. aureus* adalah 12,5%. Hal ini dapat disebabkan karena pada konsentrasi tersebut, uap minyak atsiri bunga cengkeh berdifusi ke dalam sel bakteri dan mulai menghasilkan efek penghambatan pertumbuhan bakteri, sehingga *E. coli* dan *S. aureus* tidak dapat membentuk koloni. Menurut Pelczar (1986), setelah masa inkubasi, bakteri yang telah diinokulasikan ke media akan memperbanyak diri dengan cepat selama 18-24 jam, kemudian terbentuk koloni yang dapat terlihat secara visual⁽⁴⁷⁾. Koloni tersebut ada yang berbentuk lingkaran dan ada pula yang memiliki bentuk tidak teratur. Perbedaannya adalah koloni bakteri *S. aureus* yang terbentuk berwarna agak kuning kecoklatan, sedangkan koloni bakteri *E. coli* berwarna putih atau putih kekuningan. Pada percobaan ini tidak dilakukan penghitungan jumlah koloni, karena aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri sudah dapat terlihat dengan jelas berdasarkan tingkat kekeruhan permukaan media. Semakin keruh media agar, menunjukkan semakin banyaknya koloni bakteri yang terbentuk.



Gambar 4.5. Perbandingan pertumbuhan koloni bakteri *E. coli* pada konsentrasi DMSO 100%, minyak atsiri bunga cengkeh 12,5% dan minyak atsiri bunga cengkeh 25%

Tabel 4.2. Aktivitas antibakteri minyak atsiri bunga cengkeh dalam bentuk uap pada *E. coli*

Replikasi	MID ($\mu\text{L/L}$ udara)				
	50	25	12,5	6,26	3,12
1	-	+	+	+	+
2	-	+	+	+	+
3	-	+	+	+	+

Keterangan: (-) tidak ada pertumbuhan; (+) ada pertumbuhan

Pada gambar 4.5, terlihat adanya pertumbuhan bakteri pada media yang diberi uap DMSO 100% (kontrol negatif) dan minyak atsiri bunga cengkeh 12,5%. Masing-masing replikasi pada konsentrasi 15,6%; 31,3%; 62,5%; dan 12,5% masih menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri. Hal ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor, salah satunya adalah pada konsentrasi tersebut, jumlah senyawa aktif dari minyak atsiri bunga cengkeh yang terdispersi ke udara masih terlalu sedikit untuk dapat merusak struktur sel bakteri. Pada media yang diberi uap minyak atsiri bunga cengkeh 25% sudah terlihat jernih. Ketiga replikasi konsentrasi 25% menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri *E. coli*. Nilai MID yang diperoleh untuk bakteri *E. coli* pada konsentrasi 25% adalah 50 $\mu\text{L/L}$.

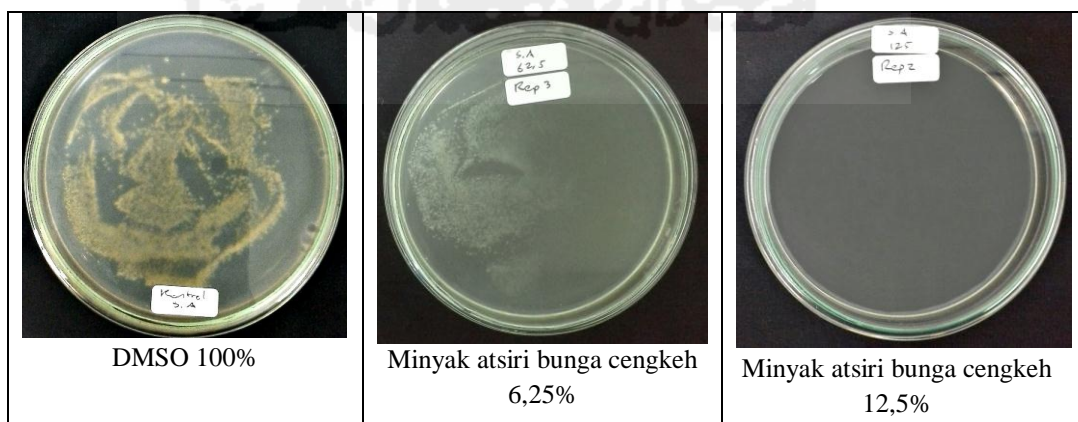
Pada pengujian dengan bakteri *S. aureus*, masing-masing replikasi pada konsentrasi 15,6%; 3,13%, dan 6,25% masih terlihat keruh, yang menandakan adanya pertumbuhan bakteri *S. aureus*. Aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri mulai terlihat pada konsentrasi 12,5%. Nilai MID yang diperoleh untuk bakteri *S. aureus* pada konsentrasi 12,5% adalah 25 $\mu\text{L/L}$.

Tabel 4.3. Aktivitas antibakteri minyak atsiri bunga cengkeh dalam bentuk uap pada *S. aureus*

Replikasi	MID ($\mu\text{L/L}$ udara)				
	50	25	12,5	6,26	3,12
1	-	+	+	+	+
2	-	-	+	+	+
3	-	-	+	+	+

Keterangan: (-) tidak ada pertumbuhan; (+) ada pertumbuhan

Aktivitas penghambatan ini ditandai dengan tidak adanya koloni bakteri yang terbentuk pada replikasi 2 dan 3, tetapi pada replikasi 1 masih ada koloni bakteri yang terbentuk, namun jumlahnya lebih sedikit dibandingkan jumlah koloni yang terbentuk pada konsentrasi 6,25%. Adanya pertumbuhan *S. aureus* pada replikasi 1 ini disebabkan karena pada saat *airtightbox* yang telah diinkubasi dibuka, kertas saring yang telah ditetesi minyak atsiri sudah terlepas dari dinding *airtightbox* sehingga menyentuh sebagian permukaan media. Namun pada bagian media yang bersentuhan dengan kertas saring tersebut tidak terdapat pertumbuhan bakteri. Sedangkan pada bagian yang tidak bersentuhan dengan kertas saring terdapat pertumbuhan bakteri. Hal tersebut dimungkinkan terjadi karena minyak atsiri yang menyentuh permukaan media langsung menghambat pertumbuhan bakteri, sedangkan pada bagian yang tidak tersentuh oleh minyak atsiri tidak terjadi penghambatan karena minyak atsiri tertahan pada permukaan media sehingga minyak atsiri yang menguap jumlahnya terlalu sedikit. Pada konsentrasi 25%, ketiga media replikasi terlihat jernih, yang berarti sudah tidak ada koloni bakteri yang terbentuk.



Gambar 4.6. Perbandingan pertumbuhan koloni bakteri *S. aureus* pada konsentrasi DMSO 100%, minyak atsiri bunga cengkeh 6,25% dan minyak atsiri bunga cengkeh 12,5%

Dari hasil pengamatan tersebut, dapat disimpulkan bahwa semakin besar konsentrasi minyak atsiri, menunjukkan adanya peningkatan penghambatan pertumbuhan bakteri. Hal ini disebabkan karena semakin besar konsentrasi minyak atsiri bunga cengkeh yang terdispersi di udara, maka semakin besar pula jumlah minyak atsiri yang berdifusi ke dalam sel bakteri yang kemudian dapat menghambat pertumbuhan atau bahkan menyebabkan kematian bakteri. Nilai MID yang didapat adalah 50 $\mu\text{L/L}$ untuk *E. coli* dan 25 $\mu\text{L/L}$ untuk *S. aureus* (Lampiran 5).

Nilai MID yang dibutuhkan minyak atsiri bunga cengkeh untuk menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* lebih kecil daripada *E. coli*. Semakin rendah nilai MID, menunjukkan aktivitas antibakterinya yang semakin kuat, yang berarti minyak atsiri bunga cengkeh memiliki aktivitas antibakteri yang lebih besar terhadap bakteri gram positif dibandingkan bakteri gram negatif⁽⁴⁸⁾. Pada sebagian besar literatur disebutkan bahwa bakteri gram negatif lebih resisten terhadap minyak atsiri dibandingkan dengan bakteri gram positif⁽¹⁶⁾⁽⁴⁹⁾. Hal ini dikarenakan adanya perbedaan struktur bakteri gram positif dan gram negatif. Bakteri gram negatif memiliki struktur dinding selnya lebih kompleks⁽³⁴⁾. Dinding sel bakteri gram negatif terdiri dari lapisan peptidoglikan yang tipis dan terhubung ke membran sitoplasma dan membran luar⁽¹⁶⁾. Penghubung lapisan peptidoglikan dengan membran luar ini memiliki kanal-kanal hidrofilik yang disebut porin. Porin tersebut dapat menghalangi masuknya senyawa-senyawa hidrofobik seperti minyak atsiri⁽³⁴⁾⁽⁴⁸⁾. Namun penghambatan masih dapat terjadi, karena eugenol memiliki gugus fenolik yang memiliki potensi untuk merusak membran luar⁽³⁴⁾. Sedangkan pada bakteri gram positif, dinding selnya tersusun dari 90-95% lapisan peptidoglikan dan tidak memiliki membran luar⁽³⁴⁾⁽⁵⁰⁾. Menurut Jian-Guo Xu (2016), penghambatan pertumbuhan *S. aureus* oleh minyak atsiri bunga cengkeh tidak hanya sebatas menyebabkan kerusakan fisik seperti merusak bentuk dan struktur sel, namun juga dapat merusak pada tingkat molekuler. Minyak atsiri bunga cengkeh merusak dinding dan membran sel, yang kemudian menyebabkan bakteri kehilangan komponen-komponen intraselular yang berujung pada kematian sel. Di samping itu, minyak atsiri juga berpenetrasi ke dalam sel,

kemudian menghambat sintesis DNA dan protein yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri⁽⁵¹⁾. Julio Cesar (2015), menyebutkan bahwa minyak atsiri dapat menyebabkan keluarnya komponen sel bakteri, termasuk ion K^+ . Pada bakteri *S. aureus* yang dipaparkan dengan senyawa-senyawa fenolik termasuk eugenol, ditemukan banyak ion K^+ di luar sel. Sedangkan pada bakteri *E. coli* yang diberi perlakuan serupa, tidak ditemukan ion K^+ di luar sel. Hal ini disebabkan karena adanya retensi pada lapisan tipis dinding sel *E. coli*⁽³⁴⁾. Dari beberapa penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa minyak atsiri bunga cengkeh dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* karena dapat menyebabkan lisis dan menyebabkan kerusakan hingga tingkat molekuler. Sedangkan kerusakan yang terjadi pada bakteri *E. coli* hanya sebatas mengubah struktur dan bentuk membran sel, namun perubahan ini juga sudah dapat menyebabkan kematian sel, karena membran sel berfungsi sebagai *barrier* yang sangat diperlukan untuk berbagai macam aktivitas seluler yang terjadi di dalam sel⁽³⁴⁾⁽⁵⁰⁾.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

1. Nilai MID yang didapat adalah 25 $\mu\text{L/L}$ untuk *E. coli* dan 12,5 $\mu\text{L/L}$ untuk *S. aureus*.
2. Minyak atsiri bunga cengkeh dalam bentuk uap menunjukkan kemampuan menghambat pertumbuhan *E. coli* dan *S. aureus*. Uap minyak atsiri bunga cengkeh lebih poten dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus* (bakteri gram positif) dibandingkan dengan *E. coli* (bakteri gram negatif).
3. Kandungan senyawa utama dalam minyak atsiri bunga cengkeh adalah eugenol, β -caryophyllene, dan eugenyl asetat.

5.2. Saran

1. Penelitian lebih lanjut dapat dilakukan untuk mengetahui efek sinergisme uap minyak atsiri bunga cengkeh dengan antibiotik konvensional.
2. Penelitian lebih lanjut dapat dilakukan untuk mengembangkan minyak atsiri bunga cengkeh menjadi suatu bentuk sediaan aromaterapi yang lebih praktis untuk digunakan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Aumeeruddy-Elalfi, Z., Gurib-Fakim, A., Mahomoodally, F. Chemical Composition, Antimicrobial and Antibiotic Potentiating Activity of Essential Oils From 10 Tropical Medicinal Plants from Mauritius. *Journal of Herbal Medicine*. 2016. Diambil dari: <http://dx.doi.org/10.1016/j.hermed.2016.02.002>. Diakses pada 20 April 2016
2. Warsa, U.C. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Penerbit Binarupa Aksara. 1994. 103.
3. Edward-Jones V. *Alternative Antimicrobial Approaches to Fighting Multidrug-Resistant Infections*. In: *Fighting Multidrug Resistance With Herbal Extracts, Essential Oils and Their Components*. Rai M, Kon K, (Eds.), Amsterdam: Academic Press. 2013;1:1-8.
4. Warnke, P. H., Becker, S. T., Podschun, R., Sivananthan, S., Springer, I. N., Russo, P.A., Wiltfang, J., Fickenscher, H., Sherry, E. The Battle Against Multi-Resistant Strains: Renaissance of Antimicrobial Essential Oils as a Promising Force to Fight Hospital-Acquired Infections. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*. 2009;37(7):392-7.
5. Hall, L., Otter, J.A., Chewins, J. & Wengenack, N. L. Decontamination of the Environment and Medical Equipment in Hospitals. *Journal of Clinical Microbiology*. 2007;45:810-815.
6. Borkow, G.& Monk, A. Fighting Nosocomial Infections with Biocidal Non-intrusive Surfaces. *World Journal of Clinical Infectious Diseases*. 2012;2:77-90.
7. Bueno, Juan. Models of Evaluation of Antimicrobial Activity of Essential Oils in Vapour Phase: a Promising Use in Healthcare Decontamination. *Natural Volatiles & Essential Oils*. 2015;2(2):16-29.
8. Matan, N., Rimkeeree, H., Mawson, A. J., Chompreeda, P., Haruthaithanasan, V., & Parker, M. Antimicrobial Activity of Cinnamon and Clove Oils Under Modified Atmosphere Conditions. *International Journal of Food Microbiology*. 2006;107(2):180–185.
9. Laird, K., Armitage, D., & Phillips, C. Reduction of Surface Contamination and Biofilms of Enterococcus sp. and Staphylococcus aureus Using a Citrus-based Vapour. *Journal of Hospital Infection*. 2012;80:61-66.
10. Nadjib, B. M., Amine, F. M., Abdelkrim, K., Fairouz, S. & Mammam, M. Liquid and Vapour Phase Antibacterial Activity of Eucalyptus globulus Essential Oil- Susceptibility of Selected Respiratory Tract Pathogens. *American Journal of Infectious Diseases*. 2014;10:105-117.

11. Rahman, H. Bioaktivitas Minyak Atsiri Sereh (*Cymbopogon citratus* DC.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Medika Planta*. 2013;1(1):2.
12. Diego F. C., Claudia, R.F., Wanderley, P.O. Clove (*Syzygium aromaticum*): a precious spice. *Asian Pac J Trop Biomed*. 2014;4(2):91-92.
13. Prianto, H., Retnowati, R., Juswono, U.P. Isolasi dan Karakterisasi dari Minyak Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) Kering Hasil Distilasi Uap. *Kimia Student Journal*. 2013;1(2):271.
14. Dorman, H.G.D, Deans, S.G. Antimicrobial Agents from Plants: Antibacterial Activity of Plant Volatile Oils. *J Appl Microbiol*. 2000;88:308–316.
15. Sofia, P.K., Prasad, R., Vijay, V.K., Srivastava, A.K. Evaluation of Antibacterial Activity of Indian Spices Against Common Foodborne Pathogens. *Int J Food Sci Technol*. 2007;42(8):910-915.
16. Inouye, S., Takizawa, T., Yamaguchi, H. Antibacterial Activity of Essential Oils and Their Major Constituents Against Respiratory Tract Pathogens by Gaseous Contact. *J Antimicrob Chemother*. 2001;47(5):565-73.
17. Thomas, A.N.S. *Tanaman Obat Tradisional*. Yogyakarta: Kanisus. 2007.2-24.
18. Bulan, R. *Reaksi Asetilasi Eugenol dan Oksidasi Metil Iso Eugenol*. 2004. Diambil dari <http://library.usu.ac.id/download/fmipa/kimia-rumondang.pdf>. Diakses pada 5 April 2016.
19. Kardinan, A. *Tanaman Pengusir dan Pembasmi Nyamuk*. Jakarta: Agro Media Pustaka. 2007.22-23.
20. Towaha, J. 2012. *Manfaat Eugenol Cengkeh dalam Berbagai Industri di Indonesia*. Sukabumi: Balai Penelitian Tanaman Industri dan Penyegar. 11(2):79-90.
21. Amin et al. 2013. Phytochemical Screening and Isolation of Eugenol from *Syzygium aromaticum* by Gas Chromatography. *Int. J. Res. Phytochem. Pharmacol*. 3(1): 74-77.
22. Wahyudi T. *Biokompatibilitas Semen Zinc Oxide Eugenol*. 2008. Diambil dari: http://library.usu.ac.id/index.php/component/journals/index.php?option=com_journal_review&id=4649&task=view. Diakses 4 April 2016.
23. Thompson D., Norbeck K., Olsson L.I., Teodosius D.C., Zee J.V., Mold P. *Peroxidase-catalyzed Oxidation of Eugenol: Formation of a Cytotoxic Metabolite*. 1989. Diambil dari: <http://www.jbc.org>. Diakses 8 April 2016

24. Puradinata, M. *Cengkeh Sebagai Tanaman Obat*. 1992. Diambil dari: <http://id.shvoong.com/medicine-and-health/alternative-medicine>, Diakses pada 9 April 2016.
25. Waluyo, S. *Aneka Tip Obat Alami dalam Buah dan Sayuran*. Jakarta: Elex Media, 2004.51-52.
26. Prakash, P., Gupta, N. Therapeutic Uses of *Ocimum sanctum Linn* (Tulsi) with A Note On Eugenol and its Pharmacological Actions : Short Review. *Indian Journal Physiol Pharmacol*. 2005;49(2):125 – 131.
27. Zulchi T.P.H., Nurul A.R. *Pengaruh Berbagai Organ Tanaman dan Lama Penyulingan terhadap Kuantitas dan Kualitas Minyak Atsiri Cengkeh (Caryophyllus aromaticus)*. 2006. Diambil dari: <http://digilib.itb.ac.id/gdl.php?mod=browse&op=read&id=jiptumm-gdlres-2002-try-5372-atsiri&q=Minyak>. Diakses pada 9 April 2016.
28. Hargono, D., Farouq, Sutarno, S. & Ratih, T. *Sediaan Galenik*. Jakarta : Departemen Kesehatan RI. 1986. 562-572.
29. Sinar Tani. *Penyulingan Minyak Atsiri*. 2008. Diambil dari: <http://www.sinartani.com/mimbarpenyuluh/penyulingan-minyak-atsiri-1229308546.htm>. Diakses pada 8 April 2016.
30. Jawetz, Melnick, dan Adelberg, S. *Mikrobiologi Kedokteran Ed 23*, Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. 2004.178.
31. Koes, Irianto. *Mikrobiologi Menguak Dunia Mikroorganisme. Jilid 2*. Jakarta: Yrama Widya. 2006. 98.
32. Anonim. *Resistensi Bakteri Terhadap Antibiotik: Masalah Klasik yang Tak Kunjung Selesai*. 2012. Diambil dari: <http://lpp.fk.ui.ac.id/resistensi-bakteri-terhadap-antibiotik-masalah-klasik-yang-tak-kunjung-selesai/>. Diakses tanggal 9 April 2016.
33. Oyedemi, S. O. Et al. The Proposed Mechanism of Bacterial Action of Eugenol, α -terpineol and γ -terpinene Against *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus pyogenes*, *Proteus vulgaris* and *Escherichia coli*. *African Journal of Biotechnology*. 2009;8(7):1286.
34. Julio Cesar Lopez-Romero et al. Antibacterial Effects and Mode of Action of Selected Essential Oils Components against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2015;1(1):6-7.
35. Tyagi, A. K., Bukvicki, D., Gottardi, D., Tabanelli, G., Montanari, C., Malik, A. & Guerzoni, M.E. *Eucalyptus* Essential Oil as a Natural Food Preservative: *In vivo* and *In vitro* Antiyeast Potential. *BioMed Research International*, 2014;ID 969143.

36. Carson, C., Hammer, K. & Riley, T. *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) Oil: a Review of Antimicrobial and Other Medicinal Properties. *Clinical Microbiology Reviews*. 2006;19:50-62.
37. Tullio, V., Nostro, A., Mandras, N., Dugo, P., Banche, G., Cannatelli, M., Cuffini, A., Alonzo, V., & Carlone, N. Antimicrobial Activity of Essential Oils Determined by Broth Microdilution and Vapour Contact Methods. *Journal of Applied Microbiology*. 2007;102:1544-1550.
38. Balletti, N., Kamdem, S. S., Patrignani, F., Lanciotti, R., Covelli, A., & Gardini, F., Antimicrobial Activity of Aroma Compounds Against *Saccharomyces cerevisiae* and Improvement of Microbiological Stability of Soft Drinks as Assessed by Logistic Regression. *Applied and Environmental Microbiology*. 2007;73:5580-5586.
39. Reichling, J., Schnitzler, P., Suschke, U. & Saller, R., Essential Oils of Aromatic Plants with Antibacterial, Antifungal, Antiviral, and Cytotoxic Properties - an Overview. *Research Complementary Medicine*. 2009;16: 79-90.
40. Depkes RI. *Materia Medika Indonesia Jilid VI*. Cetakan Pertama. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. 1995. 55-61.
41. Zulnely, Pengaruh Cara Penyulingan terhadap Sifat Minyak Pohon Wangi. *Jurnal Penelitian Hasil Hutan*. 2008;1:26.
42. Nassar, I.M. Chemical Constituents of Clove (*Syzygium aromaticum*, Fam. Myrtaceae) and their Antioxidant Activity. *The Revista Latinoamericana de Química*. 2007;3(35):49.
43. Alma et al. Chemical Composition and Content of Essential Oil from the Bud of Cultivated Turkish Clove (*Syzygium aromaticum* L.). *BioResources*. 2007;2(2):265-269.
44. Memmou, F., R. Mahboub. Composition of Essential Oil from Fresh Flower of Clove. *Jour. Of Sci. Res. In Phar*. 2012;1(2):33-35.
45. Nurdjannah, N., Hidayat, T. *Pengaruh Cara dan Waktu Distilasi terhadap Mutu Minyak Bunga Cengkeh*. Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat. 1994. 9.
46. Badan Standar Nasional Indonesia. *SNI 06-4267-1996 tentang Minyak Bunga Cengkeh*. 1996. ICS 71.100.60.
47. Pelczar MJ, Chan ECS. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: UI-Press. 1986. 156-158
48. Fagere, Z., O. Antibacterial Activity of Clove Oil Against Some Microorganisms at Khartoum State, Sudan. *Netjournals*. 2016;4(4):122-128.

49. Nazzaro.F., et al. Effect of Essential Oils on Pathogenic Bacteria. *Pharmaceuticals*. 2013;6:1453.
50. Sharma,S., et al. Evaluation of Antibacterial Properties of Essential Oils from Clove and Eucalyptus. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2014;7(5): 293.
51. Xu, Jian-Guo et al. Chemical Composition, Antibacterial Properties and Mechanism of Action of Essential Oil from Clove Buds against *Staphylococcus aureus*. *Molecules*. 2016;13(2): 13.





LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Keterangan Simplisia



SURAT KETERANGAN

Kami yang bertanda tangan di bawah ini, menerangkan bahwa bahan yang diambil dari CV. Merapi Farma Herbal oleh :

Nama : Widya Citra Lestari

Adalah benar simplisia dari tanaman :

Nama Tanaman : Cengkeh (*Eugenia aromatica O.K.*)

Bahan yang Diambil : Bunga

Demikian surat keterangan ini kami buat sesuai dengan sebenarnya, semoga dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Yogyakarta, 03 Mei 2016

Management,



MERAPI FARMA HERBAL

Pembibitan, Penjualan Tanaman Obat, Outlet Jamu dan Wisata Agro

Jl. Kaliurang Km.21.5 Hargobinangun, Pakem Sleman Yogyakarta Telp.0274-896111, Fax: 0274-4478639

Outlet jamu

Jl. Palagan Tentara Pelajar Km. 8.8, Kamdanan, Sariharjo, Ngaglik, Sleman Yogyakarta Telp: 0274-866928

Website : www.merapifarmaherbal.com

e-mail : merapifarmaherbal@gmail.com

Lampiran 2. Surat Keterangan Pembelian Isolat Bakteri



BAGIAN MIKROBIOLOGI FARMASI PRODI FARMASI FMIPA UII
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
Jl. Kaliurang KM 14.5 Yogyakarta 55584

SURAT KETERANGAN

Nomor : 040/ UII/ Far/ Lab. Mikro/ VIII / 2016

Dengan ini kami beritahukan bahwa :

Nama : WIDYA CITRA LESTARI
NIM : 12613282
Fakultas : FARMASI UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
Judul Skripsi : Efek Aromaterapi Minyak Atsiri Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) Sebagai Antibakteri terhadap Pertumbuhan *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan Metode *Gaseous Contact*

Menerangkan bahwa :

Mahasiswa tersebut diatas benar-benar telah membeli isolat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli* ,

Demikian Surat Keterangan ini kami buat agar dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Yogyakarta, 3 Agustus 2016
Bagian Mikrobiologi Farmasi
Kepala,


Hady Anshory T. M. Sc., Apt.
NIP.056130703

Lampiran 3. Perhitungan Rendemen

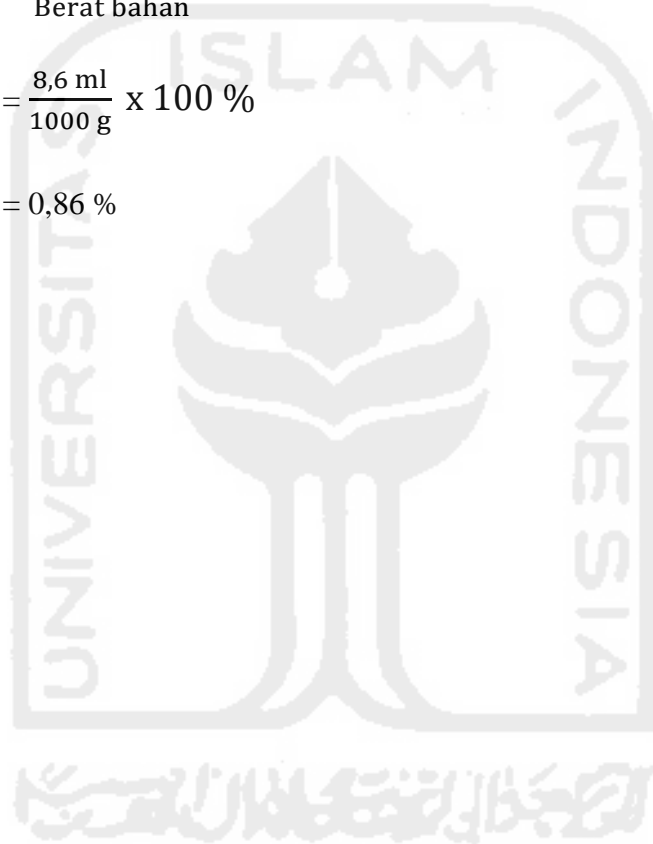
Berat bahan: 1 kg = 1.000 g

Volume minyak atsiri yang dihasilkan: 8,6 mL

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Volume hasil}}{\text{Berat bahan}} \times 100\%$$

$$= \frac{8,6 \text{ ml}}{1000 \text{ g}} \times 100 \%$$

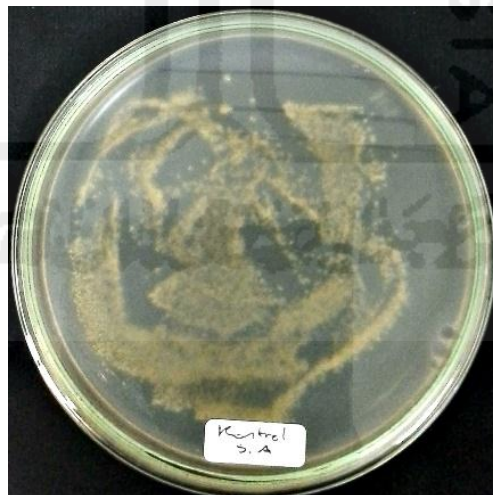
$$= 0,86 \%$$



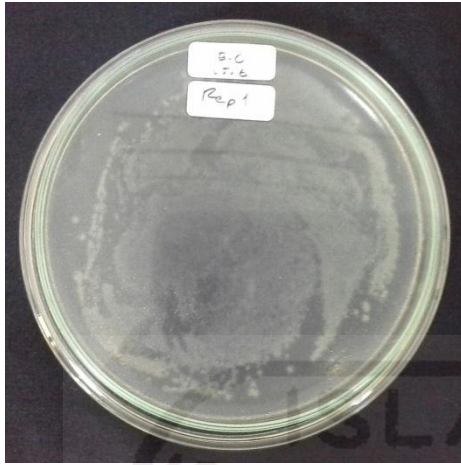
Lampiran 4. Hasil Pengamatan Nilai MID



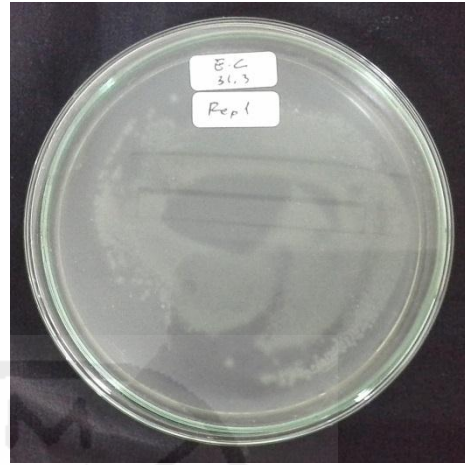
Kontrol *E. coli*



Kontrol *S. aureus*



1,56%



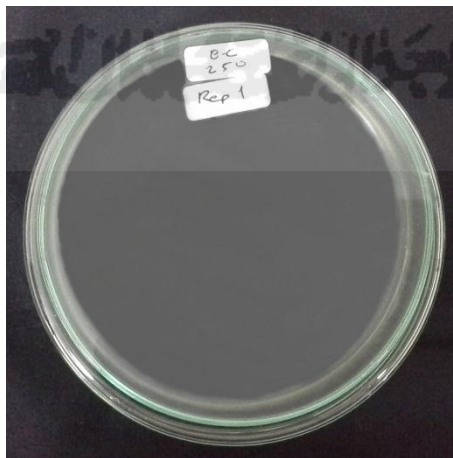
31,3%



6,25%

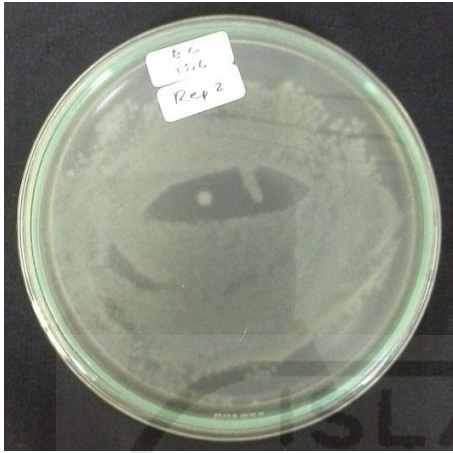


12,5%

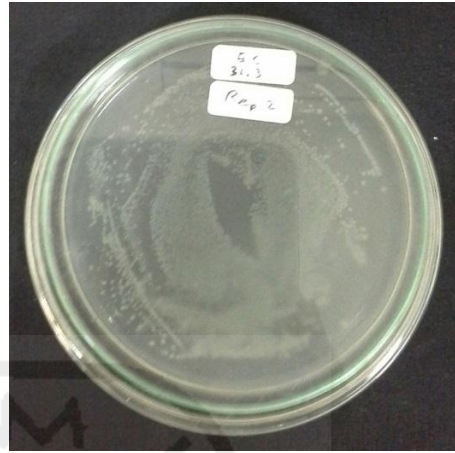


25%

Replikasi 1 *E. coli*



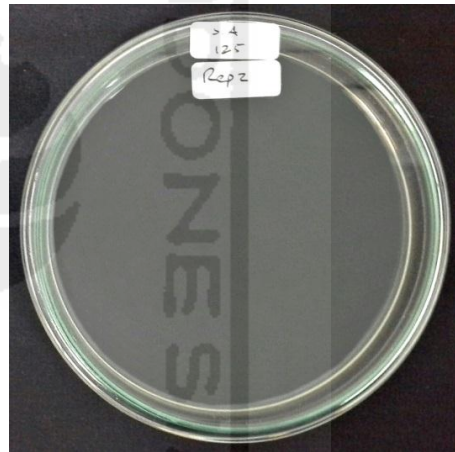
1,56%



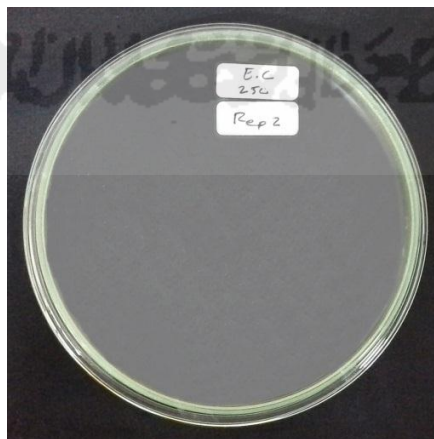
31,3%



6,25%

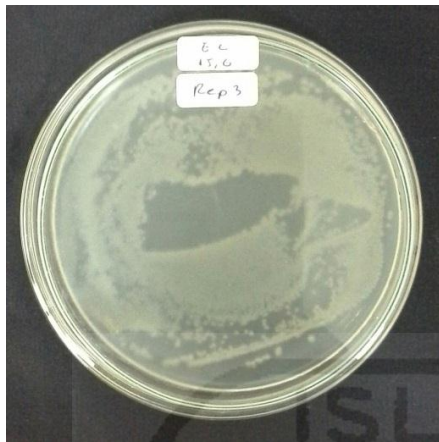


12,5%

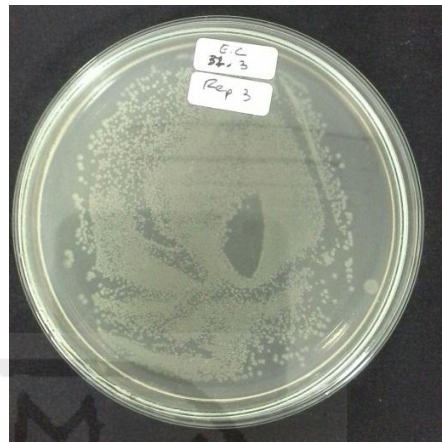


25%

Replikasi 2 *E. coli*



1,56%



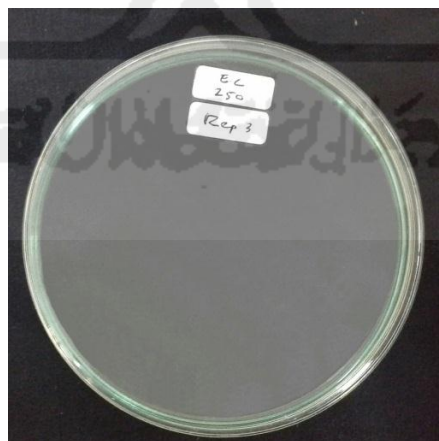
31,3%



6,25%

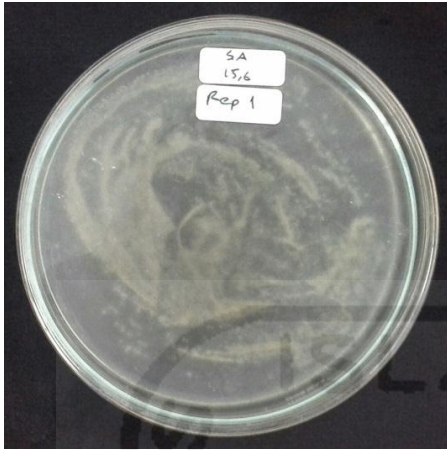


12,5%

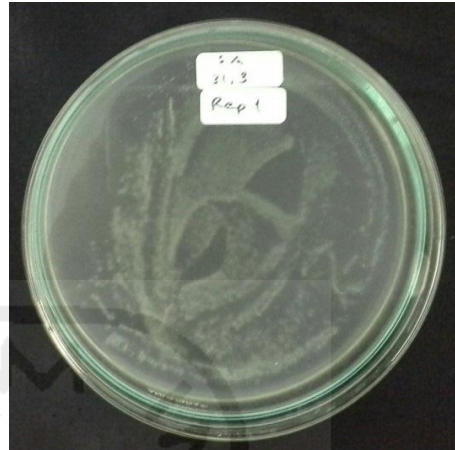


25%

Replikasi 3 *E. coli*



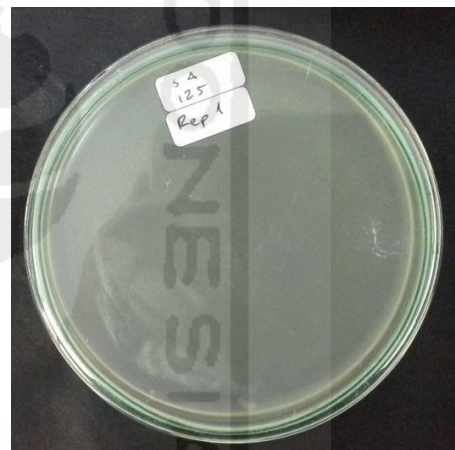
1,56%



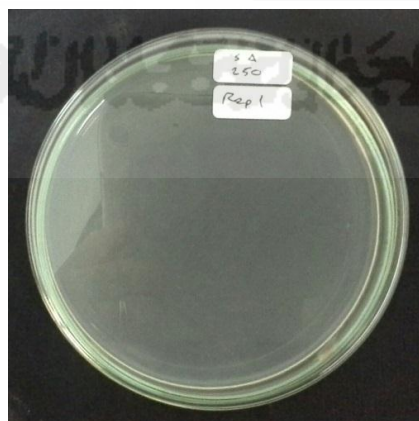
31,3%



6,25%



12,5%



25%

Replikasi 1 *S. aureus*



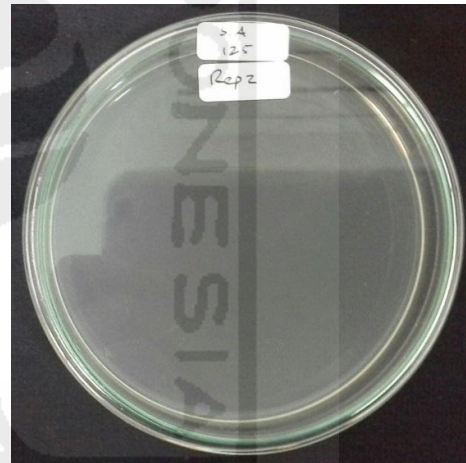
1,56%



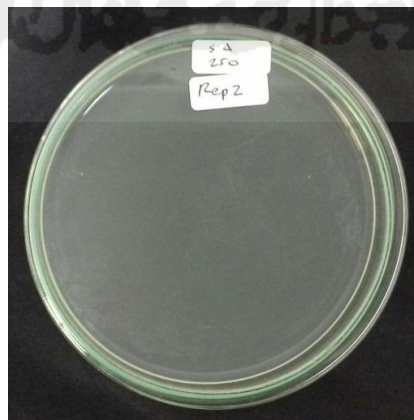
31,3%



6,25%


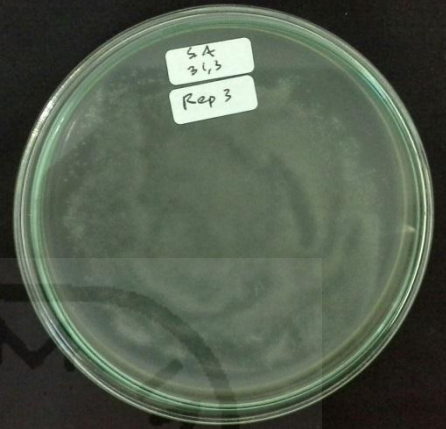
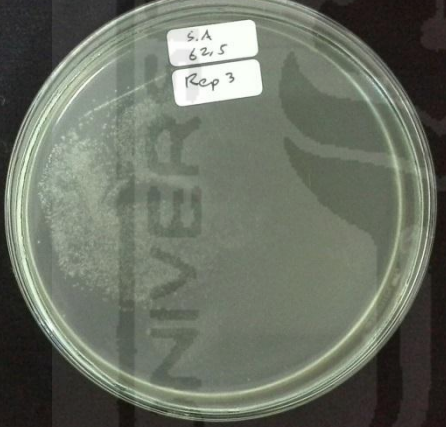
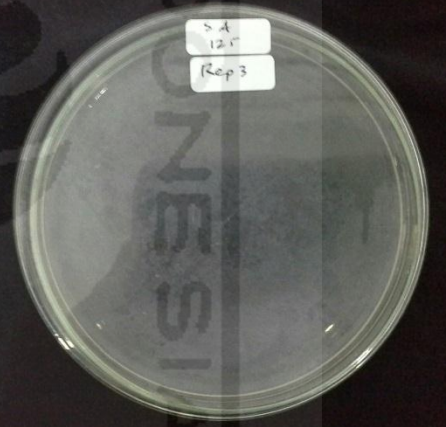
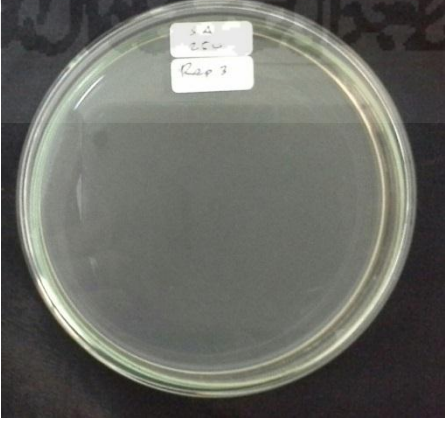


12,5%



25%

Replikasi 2 *S. aureus*

	
1,56%	31,3%
	
6,25%	12,5%
	
<p style="text-align: center;">25% Replikasi 3 <i>S. aureus</i></p>	

Lampiran 5. Hasil Penentuan Nilai MID

$$\begin{aligned} \text{MID pada konsentrasi 25\%} &: \frac{250 \mu\text{L}}{1.000 \mu\text{L}} = \frac{X}{260 \mu\text{L}} \\ X &= \frac{250 \mu\text{L} \times 250 \mu\text{L}}{1.000 \mu\text{L}} \\ &= 65 \mu\text{L} \\ \frac{65 \mu\text{L}}{1,3 \text{ L}} &= \frac{X}{1 \text{ L}} \\ X &= \frac{65 \mu\text{L} \times 1 \text{ L}}{1,3 \text{ L}} \\ &= 50 \mu\text{L/L} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{MID pada konsentrasi 12,5\%} &: \frac{125 \mu\text{L}}{1.000 \mu\text{L}} = \frac{X}{260 \mu\text{L}} \\ X &= \frac{125 \mu\text{L} \times 250 \mu\text{L}}{1.000 \mu\text{L}} \\ &= 32,5 \mu\text{L} \\ \frac{32,5 \mu\text{L}}{1,3 \text{ L}} &= \frac{X}{1 \text{ L}} \\ X &= \frac{32,5 \mu\text{L} \times 1 \text{ L}}{1,3 \text{ L}} \\ &= 25 \mu\text{L/L} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{MID pada konsentrasi 6,25\%} &: \frac{62,5 \mu\text{L}}{1.000 \mu\text{L}} = \frac{X}{260 \mu\text{L}} \\ X &= \frac{62,5 \mu\text{L} \times 250 \mu\text{L}}{1.000 \mu\text{L}} \\ &= 16,25 \mu\text{L} \\ \frac{16,25 \mu\text{L}}{1,3 \text{ L}} &= \frac{X}{1 \text{ L}} \\ X &= \frac{16,25 \mu\text{L} \times 1 \text{ L}}{1,3 \text{ L}} \\ &= 12,5 \mu\text{L/L} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{MID pada konsentrasi 3,13\% : } \frac{31,3 \mu\text{L}}{1.000 \mu\text{L}} &= \frac{X}{260 \mu\text{L}} \\
 X &= \frac{31,3 \mu\text{L} \times 250 \mu\text{L}}{1.000 \mu\text{L}} \\
 &= 8,138 \mu\text{L} \\
 \frac{8,138 \mu\text{L}}{1,3 \text{ L}} &= \frac{X}{1 \text{ L}} \\
 X &= \frac{8,138 \mu\text{L} \times 1 \text{ L}}{1,3 \text{ L}} \\
 &= 6,26 \mu\text{L/L}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{MID pada konsentrasi 1,56\% : } \frac{15,6 \mu\text{L}}{1.000 \mu\text{L}} &= \frac{X}{260 \mu\text{L}} \\
 X &= \frac{15,6 \mu\text{L} \times 250 \mu\text{L}}{1.000 \mu\text{L}} \\
 &= 4,056 \mu\text{L} \\
 \frac{4,056 \mu\text{L}}{1,3 \text{ L}} &= \frac{X}{1 \text{ L}} \\
 X &= \frac{4,056 \mu\text{L} \times 1 \text{ L}}{1,3 \text{ L}} \\
 &= 3,12 \mu\text{L/L}
 \end{aligned}$$

Lampiran 6. Pengujian Efek Antibakteri dengan Menggunakan *Airtight Box*



(a)

(b)



(c)

Keterangan:

- (a) *airtight box* sebelum dilapisi dengan aluminium foil
- (b) *airtight box* setelah dilapisi dengan aluminium foil dan diletakkan kertas saring dan cawan petri di dalamnya
- (c) *airtight box* setelah ditutup dan dilapisi dengan selotip

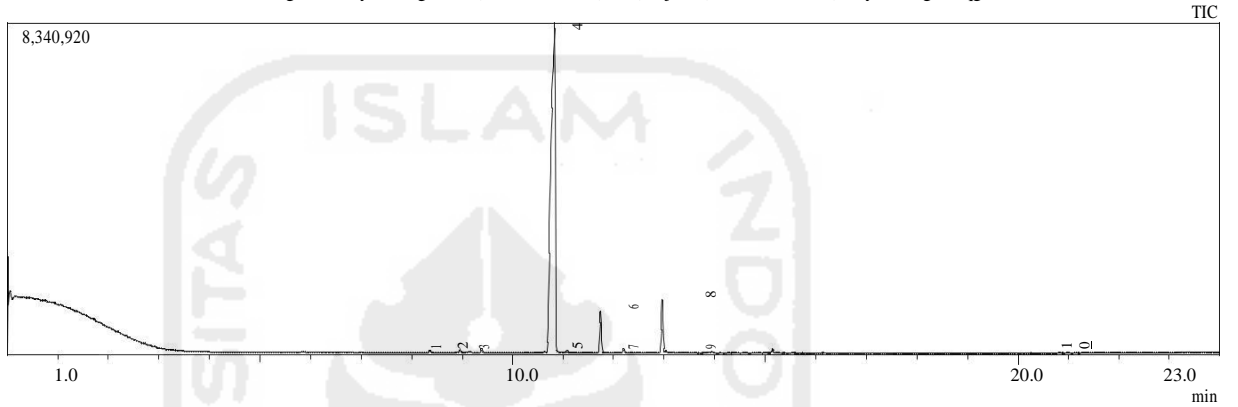
Lampiran 7. Kandungan Senyawa pada Minyak Atsiri Bunga Cengkeh

No.	R.Time	Area (%)	Nama Senyawa
1.	8,356	0,23	methyl salicylate
2.	8,960	0,24	neral
3.	9,383	0,45	geranial
4.	10,830	87,92	eugenol
5.	11,077	0,35	α -copaene
6.	11,738	4,16	caryophyllene
7.	12,198	0,47	α -humulene
8.	12,962	5,50	eugenyl asetat
9.	13,031	0,28	Δ -cadinene
10.	15,143	0,40	trimethoxyacetophenone
Total		100	

Sample Information

Analyzed by : Admin
 Analyzed : 5/30/2016 10:30:34 AM
 Sample Name : Minyak cengkeh
 Sample ID : 1
 Injection Volume : 0.10
 Data File : C:\GCMSsolution\Data\Project2\0293_C_GCMS\Minyak cengkeh.qgd
 Tuning File : C:\GCMSsolution\System\Tune1\Tuning 10052016.qgt

Chromatogram Minyak cengkeh C:\GCMSsolution\Data\Project2\0293_C_GCMS\Minyak cengkeh.qgd



Peak#	R.Time	I.Time	F.Time	Area	Area%	Height
1	8.356	8.317	8.433	126138	0.23	49390
2	8.960	8.917	9.008	131446	0.24	62480
3	9.383	9.233	9.467	245804	0.45	107700
4	10.830	10.667	10.933	47830508	87.92	8267933
5	11.077	10.933	11.125	187840	0.35	68452
6	11.738	11.675	11.808	2263511	4.16	1039732
7	12.198	12.150	12.250	253255	0.47	122814
8	12.962	12.892	13.008	2994045	5.50	1351481
9	13.031	13.008	13.083	154850	0.28	59905
10	15.143	15.092	15.208	216104	0.40	97348
				54403501	100.00	11227235