

## Efek Antibakteri dari Kombinasi Minyak Atsiri Masoyi dan Kayu Manis

### Antibacterial Effect of Massoia and Cinnamon Essential Oil

*Rollando Rollando\**, *Rehmadanta Sitepu*

*Program Studi Farmasi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Ma Chung, Malang, Indonesia*

*\*E-mail: ro.llando@machung.ac.id*

Diterima: 28 September 2017

Direvisi: 5 Januari 2018

Disetujui: 5 Februari 2018

#### Abstrak

Minyak atsiri telah digunakan secara luas dalam pengobatan dan industri sebagai antibakteri, antifungi, antivirus, antioksidan, dan insektisida. Peningkatan pemanfaatan minyak atsiri sebagai alternatif pengobatan mendorong bertambahnya penelitian minyak atsiri secara *in vitro* dan *in vivo*. Tanaman kayu manis dengan kandungan utama sinamaldehyd serta masoyi dengan kandungan utama massoia lakton dapat berperan sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri pada kombinasi minyak atsiri masoyi dan kayu manis pada bakteri *E. coli*, *S. aureus*, dan *P. aeruginosa*. Penelitian mencakup penapisan aktivitas antibakteri dan uji antibakteri. Penapisan aktivitas antibakteri menggunakan metode Kirby-Bauer bertujuan untuk menemukan konsentrasi uji dari kombinasi minyak atsiri masoyi dan kayu manis sebagai antibakteri. Aktivitas antibakteri dilakukan dengan penentuan konsentrasi KHM<sub>50</sub>, KHM<sub>90</sub>, dan KBM menggunakan metode mikrodilusi. Hasil uji Kirby-Bauer menunjukkan kombinasi minyak atsiri dengan konsentrasi 5% masoyi dan 10% kayu manis memiliki aktivitas antibakteri tertinggi pada bakteri *E. coli*, *S. aureus*, dan *P. aeruginosa* dan memiliki sifat bakterisidal.

**Kata kunci:** Minyak atsiri; Masoyi; Kayu manis; Antibakteri.

#### Abstract

Essential oils had been used as antibacterial, antifungal, antiviral, antioxidant and insecticidal in medicine and industry. Increasing the usage of essential oils as an alternative medication also lead more research of essential oils in vivo and in vitro. Cinnamon with cynamaldehyde as a main active substance and masoyi with massoia lacton as a main active substance have antibacterial activity. This study aimed to determine the activity of masoyi and cinnamon essentials oils combination in *E.coli*, *S.aureus*, and *P. aeruginosa* bacteria. The research encompasses antibacterial activity screening and antibacterial evaluation. The aims of essential oil activity screening using Kirby-Bauer method is to find the optimum concentration of masoyi and cinnamon essentials oils combination. Determination of MIC<sub>50</sub>, MIC<sub>90</sub>, and MBC concentration is using microdilution method. Kirby-Bauer test results showed the highest inhibitory concentration that had bactericidal effect to *E.coli*, *S.aureus*, and *P.aeruginosa* were the combination of 5% masoyi and 10% cinnamon.

**Keywords:** Essential oil; Masoyi; Cinnamon; Antibacteria.

## PENDAHULUAN

Tumbuhan menghasilkan beragam metabolit sekunder yang digunakan dalam mekanisme pertahanan terhadap predator dan mikroorganisme patogen.<sup>1</sup> Terdapat sekitar 100.000 metabolit sekunder yang telah diketahui strukturnya terlibat dalam sistem pertahanan tumbuhan dan merupakan reaksi tanaman terhadap predator sepanjang jutaan tahun dalam proses evolusi. Tiga kelompok utama dari metabolit sekunder yaitu terpen, fenilpropenoida, dan senyawa yang memiliki atom N dan S.<sup>2</sup> Diantara metabolit sekunder tersebut diperkirakan lebih dari 3.000 jenis minyak atsiri telah diketahui dan sekitar 300 jenis minyak atsiri telah diproduksi secara komersial dan digunakan oleh industri makanan dan parfum.<sup>2</sup>

Minyak atsiri adalah zat yang mudah menguap dengan konsistensi berminyak yang diproduksi oleh tanaman.<sup>3</sup> Minyak atsiri bisa berbentuk cair pada suhu kamar meskipun beberapa diantaranya padat dan menunjukkan warna yang berbeda mulai dari kuning pucat hingga hijau zamrud dan biru sampai merah kecoklatan gelap.<sup>3</sup> Minyak atsiri disintesis oleh semua organ tanaman yaitu kuncup, bunga, daun, batang, ranting, biji, buah, akar, dan kayu atau kulit kayu untuk disimpan di sel sekretori, rongga, kanal, sel epidermis, atau kelenjar trikoma.<sup>3</sup> Beberapa teknik dapat digunakan untuk mengekstrak minyak atsiri dari berbagai bagian tanaman seperti distilasi air atau uap, ekstraksi menggunakan pelarut, cairan superkritis, dan ekstraksi air subkritis.<sup>4</sup>

Sebagian besar aktivitas antimikroba minyak atsiri ditemukan pada terpenoid yang teroksidasi seperti alkohol dan terpen fenolik serta beberapa hidrokarbon.<sup>5</sup> Interaksi antar komponen tersebut dapat menyebabkan efek antagonis, aditif, atau sinergis. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa minyak atsiri secara keseluruhan memiliki aktivitas antibakteri yang lebih tinggi daripada campuran komponen utama mereka, sehingga komponen minor sangat penting untuk aktivitas sinergis, meskipun efek antagonis dan aditif juga telah diteliti.<sup>6</sup>

Salah satu tanaman yang digunakan

sebagai antibakteri adalah tanaman kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) dan masoyi (*Massoia aromaticum*). Kandungan kayu manis antara lain sinamaldehyd 60-70%, *p-cimene* 0,6-1,2%, *α-pinene* 0,2-0,6%, eugenol 0,8%, sinamilasetat 5%, kariofilen 1,4-3,3%, benzilbenzoat 0,7-1,0%, sedangkan masoyi mengandung massoia lakton. Kandungan minyak atsiri kayu manis dan masoyi seperti sinamaldehyd, eugenol, dan massoia lakton dapat berperan sebagai senyawa antibakteri.<sup>7</sup>

Kombinasi minyak atsiri, baik tunggal atau campuran dari komponen utama yang dimurnikan dapat memengaruhi beberapa proses biokimia pada bakteri yang menghasilkan efek antibakteri interaktif. Dalam beberapa tahun terakhir, telah terjadi peningkatan minat penggunaan agen antimikroba alami baik secara tunggal atau kombinasi untuk mengendalikan bakteri. Mengingat temuan tersebut, tujuan penelitian ini untuk meninjau aktivitas antimikroba dari kombinasi minyak atsiri dengan parameter aktivitas antibakteri yaitu Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM).

Penelitian ini merupakan penelitian yang bersifat eksploratif dalam mencari efek kombinasi minyak atsiri masoyi dan kayu manis sebagai antibakteri sehingga dapat digunakan sebagai salah satu alternatif sumber antibiotik dari alam.

## METODE

Desain penelitian ini adalah eksperimental laboratorium dengan rancangan penelitian acak lengkap. Kegiatan yang dilakukan adalah pembuatan seri konsentrasi uji, penapisan aktivitas antibakteri, dan uji antibakteri.

## Alat dan bahan

Peralatan yang digunakan adalah vial, tabung ependorf, autoklaf (AC-300AE, Tiyoda Manufacturing Co. Ltd.), kotak aseptik, cawan petri, ose, *plug*, lampu Bunsen, *shaking incubator*, *paper disc*, *microtiter plate 96-well*, pinset, mikropipet, *blue tip* dan *yellow tip*, inkubator (Sakura, Jepang),

*Laminar Air Flow cabinet* (FARRco).

Bahan yang digunakan adalah minyak atsiri masoyi, minyak atsiri kayu manis, Muller Hinton, *Nutrient Agar* (NA), dan *Nutrient Broth* (NB). Mikroba uji berupa *Escherichia coli* ATCC 2736, *Staphylococcus aureus* ATCC 6676, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 78633, dan streptomisin sebagai kontrol positif.

### **Prosedur kerja**

#### **Pembuatan kultur bakteri**

Pada tahap persiapan kultur bakteri uji dilakukan perhitungan total mikroba menggunakan metode hitungan cawan. Persiapan kultur ini perlu dilakukan untuk mengetahui jumlah total mikroba sehingga dapat dihitung pengenceran yang diperlukan agar saat kultur digunakan pada uji difusi sumur total mikroba pada cawan adalah  $1 \times 10^5$  hingga  $1 \times 10^6$  dan jumlah ini stabil di setiap cawan.<sup>7</sup>

Kultur murni yang berupa padatan diambil satu ose, kemudian dilarutkan secara aseptik dalam media pertumbuhan NB 10 ml. Media NB yang telah berisi mikroba kemudian diinkubasi pada suhu ruang ( $37^\circ\text{C}$ ) selama 24 jam. Setelah itu, dari NB 10 ml diambil 1 ml dan dimasukkan ke dalam NB 9 ml, kemudian diinkubasi pada suhu  $37^\circ\text{C}$  selama 24 jam. Diambil 1 ml dari NB 10 ml dan diencerkan pada pengencer (larutan fisiologis 0,85%) sampai pengenceran ke-8. Kemudian diberi media pertumbuhan agar dengan metode tuang. Cawan kemudian diinkubasi pada suhu  $37^\circ\text{C}$  selama 48 jam. Setelah dilakukan tahapan persiapan kultur dan telah didapat jumlah total mikroba, maka selanjutnya dihitung pengenceran yang diperlukan saat mengerjakan uji difusi sumur.

#### **Penapisan aktivitas antibakteri**

Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode *disc diffusion* (*Kirby-Bauer Test*). Mikroba uji yang digunakan *E. coli*, *S. aureus*, dan *P. aeruginosa*. Seri konsentrasi uji minyak atsiri masoyi dan kayu manis dibuat konsentrasi tunggal masing-masing 5% dan 10% dan konsentrasi kombinasi minyak atsiri masoyi dan kayu manis

masing-masing (5% dan 5%; 10% dan 5%; 5% dan 10%).

Senyawa uji dengan berbagai konsentrasi tersebut diteteskan ke *paper disc* sebanyak 0,2  $\mu\text{L}$ . Sebelum ditempelkan pada media berisi bakteri uji, *paper disc* yang berisi senyawa dibiarkan sampai kering, yang menandakan pelarut sudah menguap. Streptomisin 10 mg/mL digunakan sebagai kontrol positif dan DMSO 0,1% sebagai kontrol pelarut. Kultur bakteri uji diinkubasi pada suhu  $37^\circ\text{C}$  selama 18-24 jam lalu diamati zona hambatan di sekeliling *paper disc*.

#### **Penentuan KHM<sub>50</sub>, KHM<sub>90</sub>, dan KBM**

KHM ditentukan dengan metode mikrodilusi. Ke dalam *microtiter plate 96-well* dimasukkan media Muller Hinton, suspensi mikroba uji yang telah disesuaikan kekeruhannya dengan standar McFarland 0,5 dan diencerkan (1:10) dan 100  $\mu\text{L}$  minyak atsiri dengan seri konsentrasi 40; 20; 10; 5; 2,5; 1,25; 0,63; dan 0,31  $\mu\text{g/mL}$  sehingga konsentrasi akhir larutan adalah 20; 10; 5; 2,5; 1,25; 0,63; 0,31; dan 0,16  $\mu\text{g/mL}$ . Sebagai kontrol, minyak atsiri dimasukkan ke sumuran dengan mencampurkan 100  $\mu\text{L}$  minyak atsiri setiap konsentrasi dan 100  $\mu\text{L}$  media tanpa bakteri, kontrol bakteri uji digunakan sebanyak 200  $\mu\text{L}$  bakteri uji, dan kontrol positif digunakan larutan streptomisin 10 mg/mL sebanyak 100  $\mu\text{L}$  dan bakteri uji sebanyak 100  $\mu\text{L}$ .

Pengamatan dilakukan setelah inkubasi pada suhu  $37^\circ\text{C}$  selama 18-24 jam. Densitas sel dihitung menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 595 nm untuk mendapatkan absorbansi dari sel bakteri. KHM ditetapkan sebagai konsentrasi terkecil yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba uji ditandai dengan larutan yang jernih. Nilai KHM yang ditentukan adalah nilai KHM<sub>50</sub> dan KHM<sub>90</sub>. KHM<sub>50</sub> dan KHM<sub>90</sub> adalah konsentrasi minimal bahan coba yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri sebanyak 50% dan 90% setelah diinkubasi 24 jam. Nilai KHM<sub>50</sub> dan KHM<sub>90</sub> diperoleh dari grafik antara kadar minyak atsiri dengan persen penghambatan pertumbuhan bakteri

dan dianalisis menggunakan analisis probit.

Penentuan nilai KBM dilakukan dengan menggoreskan cairan dari tiap *microtiter plate 96-well* pada media NA steril tanpa penambahan mikroba dan senyawa uji. Goresan pada media NA yang terlihat jernih setelah inkubasi pada suhu 37 °C selama 18-24 jam ditetapkan sebagai nilai KBM.

**Analisis data**

Senyawa dikatakan memiliki aktivitas antimikroba jika pada kadar yang diberikan dapat menghambat pertumbuhan mikroba uji pada media yang ditandai dengan adanya zona hambatan di sekitar zat tersebut.

Analisis prosentase penghambatan pertumbuhan bakteri uji dihitung dengan persamaan sebagai berikut:

$$\% \text{ Penghambatan} = \frac{(\text{OD kontrol bakteri} - (\text{OD minyak atsiri} - \text{OD kontrol minyak atsiri}))}{\text{OD kontrol bakteri}} \times 100\%$$

Keterangan: OD = *Optical Density* yang diamati pada panjang gelombang 595 nm, kemudian dianalisis menggunakan metode Litchfield dan Wilcoxon (analisis probit). Nilai KBM dinyatakan sebagai konsentrasi terkecil pada bekas goresan larutan uji yang tidak menunjukkan adanya pertumbuhan mikroba uji setelah inkubasi.

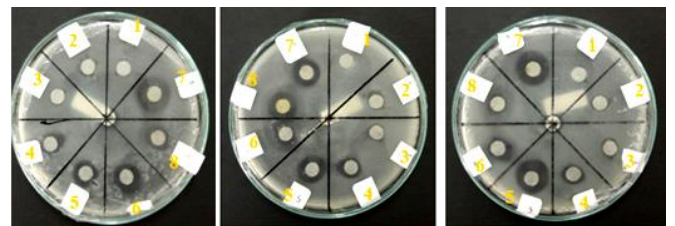
**HASIL DAN PEMBAHASAN**

Uji Kirby-Bauer merupakan uji untuk menentukan aktivitas agen antimikroba menggunakan cakram kertas.<sup>9</sup> Variabel kontrol pada uji Kirby-Bauer yang diterapkan adalah volume bakteri 500 µL, volume media agar 10 mL dan volume minyak atsiri uji 1 µL. Bakteri yang digunakan dalam uji Kirby-Bauer adalah *E. coli*, *P. aeruginosa*, dan *S. aureus*.

Berdasarkan tabel 1, zona jernih pada kontrol positif sebesar 0,8 ± 0,04 cm. Streptomisin sebagai kontrol positif merupakan antibiotik golongan aminoglikosida yang bekerja dengan cara menghentikan produksi protein penting yang dibutuhkan bakteri untuk bertahan hidup.<sup>10</sup> Pada kontrol negatif tidak ada zona jernih karena hanya terdapat pelarut.

**Tabel 1. Penapisan aktivitas antibakteri minyak atsiri**

Perlakuan	Rata-rata zona jernih (cm)		
	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>
Kontrol positif	0,8±0,04	0,78±0,08	0,87±0,08
Kontrol negatif	0	0	0
5% Masoyi	0,7±0,11	0,77±0,05	0,73±0,09
10% Masoyi	0,7±0,02	0,75±0,03	0,76±0,10
5% Kayu manis	0,67±0,24	0,86±0,05	0,78±0,08
10% Kayu manis	0,89±0,24	1,26±0,26	0,95±0,07
Kombinasi 5% Masoyi dan 5% Kayu manis	0,82±0,36	0,98±0,08	0,98±0,08
Kombinasi 5% Masoyi dan 10% Kayu manis	1,06±0,15	1,32±0,06	1,07±0,07
Kombinasi 10% Masoyi dan 5% Kayu manis	0,98±0,36	0,99±0,16	0,97±0,08



**Gambar 1. Hasil uji disc diffusion fraksi terhadap bakteri E. coli**

Uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli* dilakukan dengan pemberian minyak atsiri tunggal dan kombinasi (Tabel 1). Pada pemberian minyak atsiri tunggal konsentrasi 5%, masoyi memiliki zona jernih lebih besar dibandingkan dengan kayu manis yaitu 0,7 ± 0,11 cm dan 0,67 ± 0,24 cm. Sedangkan pemberian konsentrasi 10%, zona jernih kayu manis lebih besar dibanding masoyi yaitu 0,89 ± 0,24 cm dan 0,7 ± 0,02 cm. Pemberian kombinasi menunjukkan hasil zona jernih yang lebih besar dibanding pemberian tunggal. Urutan zona jernih dari diameter paling kecil yaitu kombinasi minyak atsiri masoyi 5% dan kayu manis 5%, minyak atsiri masoyi 10% dan kayu manis 5%, dan minyak atsiri masoyi 5% dan kayu manis 10% yaitu sebesar 0,82 ± 0,36 cm, 0,98 ± 0,36 cm, dan 1,06 ± 0,15 cm (Gambar 1).

Penapisan aktivitas antibakteri pada bakteri *P. aeruginosa*, zona jernih pada kontrol positif sebesar 0,78 ± 0,08 cm sedangkan kontrol negatif menunjukkan tidak ada zona jernih karena hanya terdapat basis. Pemberian tunggal minyak atsiri masoyi dan kayu manis konsentrasi 5% dan 10% menunjukkan masoyi memiliki zona

jernih lebih kecil dibandingkan dengan kayu manis. Pemberian kombinasi menunjukkan hasil zona jernih yang lebih besar dibanding pemberian tunggal. Urutan zona jernih dari diameter paling kecil yaitu kombinasi minyak atsiri masoyi 5% dan kayu manis 5%, minyak atsiri masoyi 10% dan kayu manis 5%, dan minyak atsiri masoyi 5% dan kayu manis 10% yaitu sebesar  $0,98 \pm 0,08$  cm,  $0,99 \pm 0,16$  cm, dan  $1,32 \pm 0,06$  cm.

Penapisan aktivitas antibakteri pada bakteri *S.aureus*, zona jernih pada kontrol positif sebesar  $0,87 \pm 0,08$  cm sedangkan kontrol negatif tidak ada zona jernih. Pemberian minyak atsiri tunggal dengan konsentrasi 5% dan 10% masoyi memiliki zona jernih lebih kecil dibandingkan dengan kayu manis. Pemberian kombinasi menunjukkan hasil zona jernih yang lebih besar dibanding pemberian tunggal. Urutan zona jernih dari diameter paling kecil yaitu kombinasi minyak atsiri masoyi 10% dan kayu manis 5%, minyak atsiri masoyi 5% dan kayu manis 5%, dan minyak atsiri masoyi 5% dan kayu manis 10%.

Berdasarkan uraian diatas, kombinasi minyak atsiri masoyi 5% dan kayu manis 10% memiliki aktivitas paling baik dalam menghambat bakteri uji *E. coli*, *P. aeruginosa*, dan *S. aureus*. Setelah itu dilakukan uji statistik untuk mengetahui hubungan yang terjadi dari setiap perlakuan. Hasil uji statistik dengan *Shapiro test* pada ketiga bakteri memperoleh nilai *p-value* semua perlakuan lebih besar dari 0,05 yang menunjukkan bahwa data bersifat normal. Uji tukey dilakukan sebagai uji lanjutan sehingga diperoleh *boxplot* yang menunjukkan hubungan dari setiap perlakuan.

*Boxplot* dan hasil uji statistik pada bakteri *E. coli*, menunjukkan semua perlakuan tidak berbeda signifikan, sehingga aktivitas dari setiap perlakuan tidak berbeda bermakna dengan kontrol positif. Hasil uji statistik pada bakteri *P. aeruginosa* dan dari parameter *boxplot* diketahui bahwa perlakuan 10% kayu manis serta kombinasi 5% masoyi dan 10% kayu manis terhadap kontrol positif memiliki hasil berbeda signifikan dimana aktivitas 10% kayu manis dan kombinasi 5%

masoyi dan 10% kayu manis lebih besar daripada kontrol positif.

Hasil uji statistik pada bakteri *S. aureus* pada setiap perlakuan menunjukkan hasil tidak berbeda signifikan dengan kontrol positif. Hasil perbandingan aktivitas antara kombinasi 5% masoyi dan 10% kayu manis dengan 5% masoyi menunjukkan hasil yang berbeda dimana kombinasi 5% masoyi dan 10% kayu manis memiliki aktivitas lebih besar daripada 5% masoyi. Berdasarkan hasil uji statistik dari ketiga bakteri dapat ditentukan bahwa kombinasi minyak atsiri 5% masoyi dan 10% kayu manis memiliki aktivitas paling baik dibandingkan dengan perlakuan lain.

Uji antibakteri dilakukan menggunakan metode mikrodilusi. Metode mikrodilusi merupakan pengembangan dari metode dilusi cair yang menggunakan media, bakteri uji, dan senyawa dalam jumlah sedikit serta menggunakan alat *microplate 96 wells*. Kekeruhan yang diamati merupakan nilai kerapatan optik hasil pembacaan *microplate 96 wells* menggunakan *microplate reader* yang diaplikasikan dalam nilai absorbansi.

Kombinasi 5% masoyi dan 10% kayu manis mempunyai kemampuan membunuh bakteri atau nilai KBM yang lebih aktif daripada perlakuan yang lain terhadap bakteri *E. coli*, *S. aureus*, dan *P. aeruginosa* (Tabel 2).

Rasio KBM:KHM dapat digunakan sebagai tolok ukur penentuan sifat bakteriostatik dan bakterisidal dari suatu senyawa. Bakteriostatik digunakan untuk menyebut agen antibakteri yang mampu mencegah pertumbuhan bakteri. Bakterisidal merupakan konsentrasi minimum antibakteri yang mampu membunuh  $\geq 99,9\%$  ( $3 \log_{10}$ ) pertumbuhan bakteri setelah inkubasi selama 18-24 jam dalam media cair.<sup>11</sup>

Uji antibakteri secara garis besar menunjukkan bahwa kombinasi 5% masoyi dan 10% kayu manis lebih aktif dibandingkan dengan perlakuan yang lain. Hal tersebut ditunjukkan dengan menganalisis nilai KHM<sub>50</sub> dan KHM<sub>90</sub> dari perlakuan. Kombinasi 5% masoyi dan 10% kayu manis mempunyai nilai KHM<sub>50</sub> dan

**Tabel 2 Nilai KHM<sub>50</sub>, KHM<sub>90</sub>, dan KBM**

Perlakuan	Bakteri Uji								
	<i>E. coli</i>			<i>P. aeruginosa</i>			<i>S. aureus</i>		
	KHM <sub>50</sub> (µg/mL)	KHM <sub>90</sub> (µg/mL)	KBM (µg/mL)	KHM <sub>50</sub> (µg/mL)	KHM <sub>90</sub> (µg/mL)	KBM (µg/mL)	KHM <sub>50</sub> (µg/mL)	KHM <sub>90</sub> (µg/mL)	KBM (µg/mL)
Kontrol positif	1,34	8,98	20,00	1,23	9,87	40,00	2,87	9,88	40,00
5% Masoyi	3,87	37,84	40,00	2,83	26,99	40,00	1,78	18,92	40,00
10% Masoyi	3,98	39,77	40,00	2,07	21,93	40,00	1,99	19,23	40,00
5% Kayu Manis	3,34	28,98	40,00	2,83	27,93	40,00	1,92	18,92	40,00
10% Kayu Manis	1,82	19,92	40,00	2,34	21,23	40,00	1,88	19,28	40,00
Kombinasi 5% Masoyi dan 5% Kayu Manis	1,56	9,87	20,00	1,87	10,87	20,00	1,82	9,73	20,00
Kombinasi 5% Masoyi dan 10% Kayu Manis	2,87	18,98	40,00	2,12	20,22	40,00	2,93	20,87	40,00
Kombinasi 10% Masoyi dan 5% Kayu Manis									

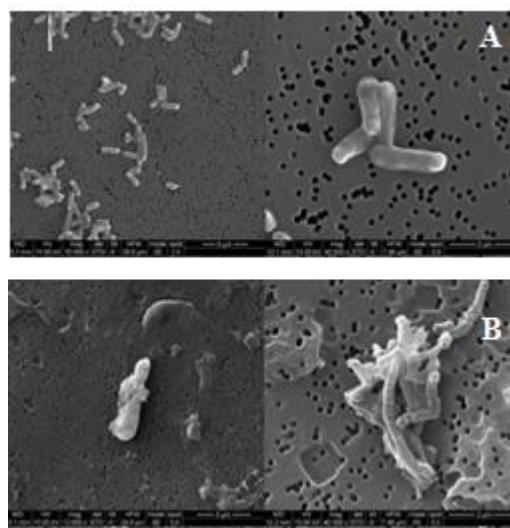
KHM<sub>90</sub> yang lebih kecil dibandingkan dengan perlakuan yang lain (Tabel 2).

Senyawa bersifat bakterisidal jika memiliki rasio KBM:KHM<sub>90</sub> ≤ 4, bersifat bakteriostatik jika memiliki rasio KBM:KHM<sub>90</sub> ≥ 16, dan dikatakan toleran jika memiliki rasio KBM:KHM<sub>90</sub> sebesar 32.<sup>11,12</sup> Rasio KBM:KHM<sub>90</sub> yang cukup besar menunjukkan sifat toleran dari bakteri uji terhadap gen antibakteri yang diujikan. Rasio KBM:KHM ≤ 4 menunjukkan bahwa semua konsentrasi perlakuan mempunyai sifat bakterisidal terhadap bakteri *E. coli*, *S. aureus*, dan *P. aeruginosa*.

Pengamatan mikrofotograph (Gambar 2) pada bakteri *E. coli* dengan pemberian kombinasi 5% masoyi dan 10% kayu manis pada konsentrasi KHM<sub>90</sub> menunjukkan perubahan struktur pada badan bakteri menjadi tidak beraturan dan terjadi agregasi dinding sel bakteri. Hal tersebut dapat disebabkan oleh rusaknya dinding sel bakteri sehingga tidak mampu untuk menahan tekanan osmotik dari lingkungan. Selain itu, agregasi pada bakteri *E. coli* dapat disebabkan overekspresi antigen 43.<sup>13</sup>

Berdasarkan penelitian, minyak atsiri memiliki potensi sebagai antibakteri yang mampu melawan bakteri nonresisten dan resisten. Pada umumnya, minyak atsiri bekerja dengan mengganggu integritas membran sel bakteri seperti menyebabkan kebocoran elektrolit dan komponen utama penyusun sel seperti protein, penurunan kadar gula dan ATP pada sel sehingga

menghambat pembentukan ATP. Senyawa bioaktif pada minyak atsiri menempel pada permukaan sel bakteri dan berpenetrasi melalui fosfolipid bilayer pada membran sel sehingga mengganggu integritas sel dan akan memengaruhi metabolisme sel tersebut.<sup>14</sup>



**Gambar 2 Hasil pengamatan bakteri *E. coli* tanpa perlakuan minyak atsiri (A) dan bakteri *E. coli* dengan perlakuan 5% masoyi dan 10% kayu manis (B)**

Minyak atsiri dapat bekerja lebih baik pada bakteri gram positif dibandingkan bakteri gram negatif karena bakteri gram negatif memiliki dinding sel yang lebih tebal dan kompleks. Dinding sel pada bakteri gram negatif seperti *E. coli* mengandung banyak polisakarida sehingga dinding lebih keras dan membatasi kemampuan difusi dari senyawa hidrofobik minyak atsiri. Sedangkan pada

bakteri gram positif seperti *S. aureus* memiliki dinding sel yang tipis karena mengandung lebih sedikit liposakarida sehingga memudahkan senyawa hidrofobik dari minyak atsiri berdifusi ke membran sel bakteri.<sup>15</sup>

Komponen utama dari kayu manis adalah sinamaldehyd (92,0%),  $\alpha$ -Copaene (4,10%), dan 3-fenil-2-propenilasetat (2,07%) sedangkan pada masoyi adalah massoia lakton (92,1%) dan benzilbenzoat (2,67%).<sup>7</sup>

Sinamaldehyd merupakan golongan fenilpropen yang memiliki gugus fenolik. Aktivitas sinamaldehyd lebih baik dibandingkan dengan eugenol sebagai antibakteri. Sinamaldehyd mampu masuk ke dalam fosfolipid bilayer pada sel bakteri sehingga dapat berikatan dengan protein yang mampu mengganggu fungsi normal sel tersebut. Sinamaldehyd juga dapat menghambat pertumbuhan bakteri tanpa menghancurkan membran luar atau mendepleksi ATP intraselular dan mampu masuk ke dalam periplasma hingga bagian dalam sel. Berdasarkan jumlah konsentrasinya, sinamaldehyd memiliki tiga mekanisme kerja yaitu konsentrasi rendah dapat menghambat enzim yang terlibat dalam interaksi sitokin, konsentrasi tinggi dapat menjadi penghambat ATPase, dan konsentrasi letal dapat mengganggu membran sel dimana sinamaldehyd mampu mengubah susunan sel membran bakteri.<sup>16</sup>

Eugenol dapat mengubah susunan membran, memengaruhi transport ion dan ATP, serta mengganti susunan asam lemak. Senyawa eugenol juga mampu mengganggu enzim bakteri seperti ATPase, histidin karboksilase, amilase, dan protease. Eugenol memiliki aktivitas lebih baik melawan bakteri gram negatif dibanding gram positif. Pada struktur asam lemak, eugenol akan memberikan efek meningkatkan jumlah asam lemak jenuh serta menurunkan jumlah asam lemak tak jenuh pada membran bakteri sehingga dapat memberikan efek secara langsung pada membran luar dan enzim yang digunakan untuk sintesis asam lemak.<sup>17</sup>

Eugenol dan sinamaldehyd mampu memengaruhi protein dari bakteri yaitu dapat

menghambat pembentukan adenosin trifosfat dari dektrosa sehingga mengubah susunan membran sel, menghambat aktivitas dari ATPase, menghambat aktivitas ATPase yang ada pada membran, termasuk aktivitas transport protein yang bergantung pada ATP. Pada penelitian ini, dapat dibuktikan bahwa ada aktivitas antibakteri pada kombinasi 5% masoyi dan 10% kayu manis dengan menghambat terbentuknya biofilm pada bakteri uji melalui penguraian biofilm yang matang menjadi kurang aktif.<sup>18</sup>

## KESIMPULAN

Hasil uji menunjukkan bahwa kombinasi 5% masoyi dan 10% kayu manis mempunyai aktivitas antibakteri tertinggi terhadap bakteri *E. coli*, *S. aureus*, dan *P. aeruginosa* dan bersifat bakterisidal.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada pengelola laboratorium kimia dan farmasi Universitas Ma Chung yang telah mendukung dalam penelitian ini.

## DAFTAR RUJUKAN

1. Schafer H, Wink M, Medicinally important secondary metabolites in recombinant microorganisms or plants: Progress in alkaloid biosynthesis. *Biotechnol J.* 2009 Dec;4(12):1684-703.
2. Wink M. *Functions of Plant Secondary Metabolites and Their Exploitation in Biotechnology.* UK: Sheffield Academic Press; 1999.
3. Pichersky E, Noel JP, Dudareva N, Biosynthesis of plant volatiles: Nature's diversity and ingenuity. *Science.* 2006 Feb(311): 808–811.
4. Santiesteban LA, Palou E, López-Malo A, Susceptibility of food-borne bacteria to binary combinations of antimicrobials at selected a(w) and pH. *J. Appl. Microbiol.* 2007 Aug (102): 486–497.
5. Ben AA, Combes S, Preziosi-Belloy L, Gontard N, Chalier P. Antimicrobial activity of carvacrol related to its chemical structure. *J. Appl. Microbiol.* 2006 Apr (43): 149–154.
6. Bassolé IHN, Lamien-Meda A, Bayala B, Tirogo S, Franz C, Novak J, Nebié RC, Dicko

- MH. Composition and antimicrobial activities of *Lippia multiflora* Moldenke, *Mentha x piperita* L. and *Ocimum basilicum* L. essential oils and their major monoterpene alcohols alone and in combination. *Molecules*. 2010 Nov (15): 7825–7839.
7. Pratiwi S, Lagendijk E, de Weert S, Hertiani T, Idroes R, Van Den HC. Effect of *Cinnamomum burmannii* Nees ex Bl. and *Massoia aromatica* Becc. Essential Oils on Planktonic Growth and Biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* In Vitro. *International Journal of Applied Research in Natural Products*. 2015 Mar (2): 1-13.
  8. Barros JC, Conceição ML, Gomes NNJ, Costa ACV, Siqueira JJP, Basílio JID. Interference of *Origanum vulgare* L. essential oil on the growth and some physiological characteristics of *Staphylococcus aureus* strains isolated from foods. *LWT Food Sci Technol*. 2009 Jul(42): 1139–1143.
  9. Gutierrez L, Escudero A, Battle R, & Nerin, C. Effect of mixed antimicrobial agents and flavors in active packaging films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2009 Sep, 57(18), 8564–8571.
  10. Lv F, Liang H, Yuan Q, Li C. *In vitro* antimicrobial effects and mechanism of action of selected plant essential oil combinations against four food-related microorganisms. *Food Res Int*. 2011 Nov(44): 3057–3064.
  11. Methods for Determining Bactericidal Activity of Antimicrobial Agents: Approved Guideline. NCCLS. Pennsylvania, USA: 1999.
  12. Bartlett J. Antibiotic Selection for Infections Involving Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*. Medscape: CME and Education; 2014.
  13. Luciano FB dan Holley RA. Enzymatic inhibition by allyl isothiocyanate and factors affecting its antimicrobial action against *Escherichia coli* O157:H7. *International Journal of Food Microbiology*. 2009 May; 31(2–3): 240–245.
  14. Waish. Activity and mechanism of action of selected biocidal agents on gram-positive and negative bacteria. *Journal of Applied Microbiology*. 2003 Jan: 240-247.
  15. Lu XN, Rasco BA, Kang DH, Jabal JMF, Aston DE, Konkel ME. Infrared and Raman spectroscopic studies of the antimicrobial effects of garlic concentrates and diallyl constituents on foodborne pathogens. *Analytical Chemistry*. 2011 Apr;83(11): 4137–4146.
  16. Luciano FB dan Holley RA. Enzymatic inhibition by allyl isothiocyanate and factors affecting its antimicrobial action against *Escherichia coli* O157:H7. *International Journal of Food Microbiology*. 2009 May; 131(2–3): 240–245.
  17. Nagayama H, Sugawara T, Endo R, Ono A, Kato H, Ohtsubo Y, Tsuda M. Isolation of oxygenase genes for indigo-forming activity from an artificially polluted soil metagenome by functional screening using *Pseudomonas putida* strains as hosts. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2015 May;99(10): 4453–4470.
  18. Siahaan, E.A., Pendleton, P., Woo, H.C., Chun, B. S. Brown seaweed (*Saccharina japonica*) as an edible natural delivery matrix for allyl isothiocyanate inhibiting foodborne bacteria. *Food Chemistry*. 2014 Nov(152): 11–17.