

**Kapasitas Daya Hambat Antibakteri Minyak Atsiri Nilam Aceh
(*Pogostemon cablin* Benth.) terhadap Methicillin-Resistant
Staphylococcus aureus (MRSA)**

**Antibacterial Inhibitory Capacity of Aceh Patchouli (*Pogostemon cablin* Benth.)
Essential Oil against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)**

Layli Adhayani^{1,2*}, Rasistia Ramadhani¹, Rima Ristanti¹

¹Microbiology Laboratory, Faculty of Medicine, Universitas Syiah Kuala
Darussalam, Banda Aceh 23111, Indonesia

²ARC-PUIPT Nilam Aceh Universitas Syiah Kuala
Darussalam, Banda Aceh 23111, Indonesia

*Corresponding author email: layli_ad@yahoo.com.au

Received 29-10-2020

Accepted 03-07-2021

Available online 04-10-2021

ABSTRAK

Minyak nilam Aceh mengandung senyawa yang aktif sebagai antibakteri seperti *patchouli alcohol*, *eugenol*, *beta-caryophyllene*, *seychellene*, *gurjunene*, *alpha-guaiene*, *beta-patchoulene*, *bulnesene*, dan *gamma-guaiene*. Kajian ini akan menguraikan daya hambat minyak nilam Aceh yang telah didistilasi di Atsiri Research Center (ARC) Universitas Syiah Kuala. Minyak atsiri nilam diambil dari Kabupaten Aceh Jaya dan diuji daya hambatnya terhadap bakteri *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Bahan yang digunakan adalah isolat bakteri MRSA, minyak nilam dengan berbagai konsentrasi. Pembuatan konsentrasi minyak nilam dilakukan dengan mencampurkan minyak nilam dengan larutan etanol. Konsentrasi minyak nilam yang diuji dalam penelitian ini adalah 80, 40, 20, dan 10%. Pengujian antimikroba dilakukan berdasarkan metode difusi cakram Kirby-Bauer, masing-masing tiga ulangan setiap perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi nilam terbaik untuk daya hambat bakteri adalah 80% dengan diameter zona hambat terhadap MRSA sebesar 11,78 mm. Penelitian ini juga membuktikan bahwa semakin tinggi konsentrasi minyak nilam maka semakin besar daya hambat bakterinya.

Kata kunci: antimikroba, kapasitas daya hambat, minyak nilam Aceh, MRSA

ABSTRACT

Aceh patchouli oil contains unique characteristic antibacterial compounds such as patchouli alcohol, eugenol, beta-caryophyllene, seychellene, gurjunene, alpha-guaiene, beta-patchoulene, bulnesene, and gamma-guaiene. This study elaborated the inhibitory capacity of redistilled Aceh patchouli oil. The patchouli crude oil was taken from Aceh

Jaya Regency and redistilled in Atsiri Research Center (ARC), Syiah Kuala University. The materials used in this study were Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolates and various concentrations of patchouli oil. The patchouli oil samples were prepared by mixing patchouli oil with ethanol. The tested concentrations of patchouli oil in this study were 80, 40, 20, and 10%. Antimicrobial testing was carried out by the Kirby Bauer disc diffusion method with three replications. The result showed that the best patchouli concentration for bacterial inhibitory was 80% with an inhibitory capacity of 11.78 mm, respectively. The higher patchouli oil concentration showed the better MRSA inhibitory capacity.

Keywords: Aceh patchouli oil, antimicrobial, inhibitory capacity, MRSA

Pendahuluan

Methicillin - resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) adalah prototipe dari bakteri patogen multi-resisten dan merupakan penyebab utama infeksi nosokomial di seluruh dunia. Bakteri MRSA memiliki spektrum infeksi yang luas berkat faktor virulensinya. Infeksi kulit umum yang disebabkan oleh MRSA antara lain furunculosis, impetigo, hingga infeksi pada aliran darah (Pantosti et al., 2009). Hingga saat ini, MRSA masih merupakan ancaman klinis yang berat dengan tingkat morbiditas dan mortalitas yang tinggi (Nicholas et al., 2019).

Kasus resistensi antibiotik saat ini, memicu para peneliti untuk dapat menemukan berbagai *herbal medicine* sebagai salah satu obat alternatif yang memiliki aktivitas antimikroba. Produk-produk alam berperan besar sebagai sumber utama dalam komponen penyusun obat baru. Beberapa produk-produk alam dapat berasal dari bakteri prokariotik, mikroorganisme eukariotik, hewan, maupun tumbuhan. Produk tumbuhan menempati urutan utama dalam hal kandungan senyawa

antimikroba yang ditemukan saat ini (Berdy, 2005).

Minyak atsiri nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) merupakan minyak esensial dunia yang menjadi salah satu bahan mentah utama dalam industri farmasi (Huang et al., 2016). Minyak atsiri nilam memegang peran sangat besar di berbagai sektor industri dan sulit untuk menemukan alternatif substitusinya. Keunggulan yang terdapat pada minyak atsiri nilam adalah kandungan zat fiksatif yakni zat yang dapat mengikat wangi dan mencengahnya menguap sehingga efek wangi akan tahan lebih lama (Idris et al., 2014).

Menurut penelitian-penelitian sebelumnya, senyawa kimia minyak atsiri dari tumbuhan nilam memiliki kemampuan sebagai antimikroba dan antijamur yang baik dalam menghambat pertumbuhan beberapa jenis bakteri dan jamur (Xian et al., 2013). Minyak atsiri tumbuhan nilam mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, MRSA, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Candida albicans*

(Dechayont *et al.*, 2017). Kandungan senyawa kimia bersifat antibakteria dari tumbuhan nilam yaitu *patchoulol*, δ -*guaiano*, *gurjunene- α* , α -*guaiene*, *aromadendren*, β -*Patchoulene* (Swamy dan Sinniah, 2016).

Indonesia memiliki 3 spesies tumbuhan nilam yakni nilam Aceh (*P. cablin*), nilam Jawa (*P. heyneatus*), dan nilam sabun (*P. hortensis*). Nilam Aceh memiliki keunggulan dibandingkan dengan jenis nilam lainnya (Nuryani *et al.*, 2006). Berdasarkan latar belakang yang dipaparkan, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi terhadap kapasitas daya hambat antibakteri minyak atsiri nilam Aceh dalam menghambat bakteri MRSA.

Metode Penelitian

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah inkubator Memmert INB 500, *autoclave* Tommy SX-700, oven Jouan, *biosafety cabinet* Safe Fast elite 212 SD, timbangan analitik digital Kern ABS, mikropipet Eppendorf (Vol. 10-100 μ l), mikropipet Pipetteman P1000 F12356 (Vol. 200-1000 μ l), mikropipet Pipetteman P10 F144562 (Vol. 0,5-10 μ l), vorteks Heidolph, spektrofotometer Biochrom WPA Lightwave II, Rotary Vacuum Evaporator Heidolph Base Hei-vap Expert/Ultimate HL, dan Mikroskop binokuler Olympus CX 21/Nikon.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat bakteri MRSA berasal dari sampel pus RJ-1

Laboratorium Mikrobiologi Rumah Sakit Umum Zainoel Abidin Banda Aceh, minyak atsiri nilam (*crude oil*) hasil redistilasi di Atsiri Research Center (ARC), media *Nutrient Agar* (NA), media *Mueller Hinton Agar* (MHA), *ethanol*, *saline* steril, *cotton swab* steril, antibiotik disk Gentamicin, Nistatin disk, blank disk, mikrotip 1000 μ L dan 200 μ L, kuvet, dan kertas lensa

Jalannya Penelitian

1. Pengambilan minyak atsiri nilam

Minyak atsiri nilam yang digunakan merupakan varietas nilam Lhokseumawe, dari Kabupaten Aceh Jaya yang telah diidentifikasi oleh ARC-PUIPT Nilam Aceh Universitas Syiah Kuala berdasarkan morfologi daun dan batang nilam seperti pangkal batangnya berwarna ungu, memiliki daun yang tipis dan ujung daunnya berbentuk agak runcing. Nilam ini tidak berbunga, dan kandungan *patchouli alcohol* berkisar antara 29.11 - 34.49%. Minyak atsiri nilam tersebut, disuling dari daun dan batang nilam yang telah dikeringkan, dengan komposisi 70% daun dan 30% batang. Minyak atsiri kemudian dipurifikasi secara destilasi vakum. Minyak nilam yang diperoleh dari penyulingan juga dikarakterisasi instrument GCMS sehingga diperoleh komposisi kimianya dengan *patchouli alcohol* sebagai komponen utama.

2. Sterilisasi alat dan bahan

Peralatan yang terbuat dari bahan kaca dibungkus kertas, kemudian disterilkan dalam oven hingga mencapai suhu 160 °C selama

1-2 jam. Sterilisasi bahan media NA, NB, MHA, microtips, dan *saline* menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C tekanan 1,5-2 atm selama 15 menit

3. Analisa fitokimia minyak atsiri nilam

Analisa fitokimia minyak atsiri nilam dilakukan di Laboratorium uji Kimia Organik, Fakultas MIPA Universitas Syiah Kuala. Minyak atsiri nilam dianalisis fitokimia dengan metode kaulitatif untuk mendeteksi adanya senyawa alkaloid, steroid, terpenoid, saponin, flavonoid, fenolik, tanin, dan glikosida.

Pengujian alkaloid menggunakan reagen Wagner dan Dragendorf. Hasil positif (+) alkaloid untuk pereaksi Wagner ditunjukkan endapan coklat dan dengan pereaksi Dragendorff menunjukkan endapan jingga.

Pengujian senyawa steroid dan terpenoid menggunakan pereaksi Liebermann-Burchard. Reaksi positif (+) mengandung senyawa steroid dan terpenoid ditunjukkan pada perubahan warna merah pada larutan pertama kali kemudian berubah menjadi biru dan hijau.

Pengujian senyawa saponin dilakukan dengan melarutkan minyak atsiri dengan air dan dipanaskan selama 5 menit. Filtrat larutan kemudian di kocok-kocok. Uji positif (+) adanya saponin pada larutan ditandai dengan terbentuknya busa/buih.

Uji flavonoid menggunakan larutan HCl dan logam Mg, keberadaan flavonoid ditandai

dengan terbentuknya warna hitam kemerahan, kuning atau jingga.

Uji fenolik dan tanin menggunakan FeCl₃. Uji positif (+) senyawa fenolik ditunjukkan dengan perubahan warna hijau/hijau biru dan positif tanin ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi biru tua.

Pengujian senyawa glikosida menggunakan pereaksi Molish dan Libermann-Burchard. Pada reaksi Libermann-Burchard, apabila terjadi perubahan warna biru atau hijau menunjukkan adanya glikosida. Pada reaksi Molish, bila terbentuk cincin berwarna ungu pada batas cairan menunjukkan adanya ikatan gula.

4. Pembuatan konsentrasi larutan uji

Konsentrasi minyak atsiri nilam yang diuji pada penelitian ini adalah 80, 40, 20, dan 10%. Pengenceran minyak atsiri Nilam menggunakan ethanol.

5. Persiapan bakteri uji MRSA

Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat klinis MRSA koleksi kultur laboratorium mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Universitas Syiah Kuala. Isolat bakteri diidentifikasi menggunakan Vitec 2 Compact System Version 08.01 Biomerieux di Laboratorium Mikrobiologi Rumah Sakit Umum Zainoel Abidin Banda Aceh. Selanjutnya, isolat MRSA disubkultur ke media NA dengan menggunakan ose steril dan diinkubasi pada suhu 34-37 °C selama 18- 24 jam.

6. Pengujian aktivitas antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri minyak atsiri nilam dilakukan dengan metode difusi cakram *Kirby Bauer* sesuai dengan standar *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI). Kultur bakteri diambil menggunakan ose steril, kemudian dimasukkan ke dalam tabung berisi *saline* steril dan dihomogenkan dengan vorteks. Suspensi bakteri diukur kerapatannya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang (λ) 625 nm dengan rentang nilai absorbansi 0,08-0,13 untuk mendapatkan nilai kerapatan sesuai dengan Standar McFarland 0,5 atau setara dengan suspensi bakteri yang mengandung antara 1×10^8 dan 2×10^8 CFU / ml bakteri uji (Hudzicki, 2009).

Suspensi bakteri kemudian inokulasikan pada permukaan media MHA menggunakan *cotton swab* steril. Kertas cakram yang direndam dalam larutan minyak atsiri Nilam berbagai konsentrasi (80, 40, 20 dan 10%) sebagai bahan uji dan ethanol sebagai kontrol negatif. Kemudian Kertas cakram bahan uji, kontrol negatif (ethanol), dan kontrol positif Gentamicin *disc* diletakkan pada media MHA yang telah diinokulasikan suspensi bakteri menggunakan pinset steril. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 34-37 °C selama 18- 24 jam. Parameter yang akan diamati adalah *clear zone* (zona bening) yang dapat dilihat di daerah sekitar kertas cakram masing-masing perlakuan pada

permukaan media MHA yang ditumbuhi koloni bakteri. Pengukuran zona hambat dilakukan menggunakan jangka sorong dengan satuan milimeter (mm).

Hasil dan Pembahasan

Berdasarkan hasil analisa fitomikimia yang telah dilakukan menunjukkan bahwa minyak atsiri nilam positif (+) mengandung senyawa terpenoid dan glikosida, namun negatif (-) mengandung senyawa golongan alkaloid, steroid, saponin, flavonoid, fenolik, dan tanin yang ditunjukkan pada Tabel 1. Menurut Perangin-angin dan Lubis (2017), Secara kimiawi, minyak atsiri tersusun dari berbagai senyawa kimia yang rumit, sebagian besar minyak atsiri tergolong dalam senyawa organik terpena dan terpenoid yang larut dalam minyak.

Namun, kandungan senyawa kimia pada minyak nilam yang dikoleksi dari berbagai lokasi geografis yang berbeda dapat menghasilkan perbedaan pula dalam komposisi minyak atsiri tersebut (Swamy dan Sinniah, 2015).

Pengujian aktivitas antibakteri minyak atsiri nilam terhadap bakteri MRSA menunjukkan adanya pembentukan zona bening (*clear zone*) yang berada disekeliling kertas cakram masing-masing konsentrasi, hal ini dapat dilihat pada Gambar 1.

Tabel 1. Hasil analisa fitokimia minyak atsiri nilam

Kandungan metabolit	Pereaksi	Hasil
Alkaloid	Mayer/Wagner/Dragendorff	-
Steroid	Uji Liebermann-Burchard	-
Terpenoid	Uji Liebermann-Burchard	+
Saponin	Aquadest	-
Flavonoid	HCl dan Logam Mg	-
Fenolik	FeCl ₃	-
Tanin	FeCl ₃	-
Glikosida	Molish dan H ₂ SO ₄	+

Keterangan: + = mengandung senyawa yang uji, - = senyawa uji tidak terdeteksi

Berdasarkan Gambar 1., zona bening paling besar ditunjukkan oleh kontrol positif (Gentamicin), diikuti dengan minyak atsiri nilam dengan konsentrasi 80%. Zona bening yang terbentuk diukur luas diameternya dalam satuan milimeter menggunakan jangka sorong untuk menentukan besar zona hambat yang dihasilkan. Hasil pengukuran dapat dilihat pada Tabel 2.

Berdasarkan Tabel 2, dapat dilihat rata-rata diameter zona hambat yang terbentuk pada setiap konsentrasi adalah konsentrasi 10% (8,53 mm), 20% (9,31 mm), 40% (10,39 mm), dan 80% (11,78 mm). Hal ini menunjukkan semakin besar konsentrasi minyak atsiri nilam maka semakin besar kapasitas daya hambat antibakteri yang dihasilkan minyak atsiri nilam terhadap bakteri MRSA. Hasil penelitian ini membuktikan bahwa komponen bioaktif yang terkandung dalam minyak atsiri nilam yaitu *patchouli alcohol* memiliki kemampuan sebagai antibakteri. *Patchouli alcohol* yang berasal dari minyak nilam merupakan senyawa sesquiterpen alkohol *tersier trisiklik* yang mempunyai gugus -OH dan 4 buah gugus metil (Bulan *et al.*, 2000).



Gambar 1. Zona hambat minyak atsiri nilam dengan variasi konsentrasi 80, 40, 20, dan 10%; kontrol positif Gentamicin; dan kontrol negatif (ethanol)

Hasil penelitian Xian *et al.* (2013), menunjukkan bahwa terdapat 3 senyawa pada minyak nilam yang memiliki efek antibakteri yang sedikit lebih tinggi dari benzylpenicillin antara lain *patchouli alcohol*, α -*guaiene*, β -*farnesene*. Ketiga senyawa menyebabkan kerusakan dinding sel bakteri sama halnya dengan benzylpenicillin.

Tabel 2. Diameter zona hambat minyak atsiri nilam terhadap MRSA

Konsentrasi (%)	Zona hambat (mm)
10	8,53 ± 0,18
20	9,31 ± 0,05
40	10,39 ± 0,25
80	11,78 ± 0,15
Kontrol +	20,66 ± 0,49
Kontrol -	0

Adapun, senyawa bioaktif lain dalam minyak nilam yang berkemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri diantaranya pogostone, pogostol, Trans-trans-farnesol, Trans- β -caryophyllene, germacrene D, β -ylangene, dan α -humulene dapat menghambat metabolisme asam folat bakteri; senyawa α -selinene, eremophilene yang menghambat biosintesis protein pada bakteri; dan juga senyawa α -farnesene dan nerolidol masing-masing dapat menghambat replikasi DNA pada bakteri.

Kesimpulan

Penelitian ini telah berhasil melakukan purifikasi minyak nilam secara redistilasi vakum yang kemudian digunakan dalam pengujian daya hambat bakteri MRSA. Penelitian ini menunjukkan bahwa minyak atsiri tanaman nilam memiliki aktivitas antibakteri terhadap MRSA. Konsentrasi minyak atsiri tanaman nilam yang memiliki aktivitas antibakteri adalah pada konsentrasi 10%, 20%, 40% dan 80%. Aktivitas antibakteri terbaik berada pada konsentrasi 80% dengan diameter zona bening sebesar 11,78 mm. Semakin tinggi konsentrasi minyak atsiri nilam,

maka semakin besar kapasitas daya hambat dalam menghambat pertumbuhan bakteri MRSA.

Daftar Pustaka

- Berdy, J. 2005. Bioactive Microbial Metabolites. The Journal of Antibiotic, 58(1): 1-26.
- Bulan, R., Sastrohamidjojo, H., Soelistyowati, R.D. 2000. Isolasi, Identifikasi dan Sintesis turunan Patchouli Alkohol dari Minyak Nilam. Thesis. Yogyakarta: Gadjah Mada University.
- Dechayont, B., Ruamdee, P., Poonnaimuang, S., Mokmued, K., Chunthorn-orn, J. 2017. Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth. Journal of Botany, Article ID 8310275.
- Huang, H.R., Wu, W., Zhang, J.X., Wang, L.J., Yuan, Y.M., Ge, X.J. 2016. A Genetic Delineation of Patchouli (*Pogostemon cablin*) Revealed by Specific-Locus Amplified Fragment Sequencing. Journal of Systematics and Evolution, 54(5): 491-501.
- Hudzicki, J. 2009. Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol. American Society For Microbiology.
- Idris, A., Jura, M.R., Said, I. 2014. Analisis Kualitas Minyak Nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) Produksi Kabupaten Buol. Jurnal Akademika Kimia, 3(2): 79-85.
- Nicholas, A.T., Batu K, S-K., Stacey, A.M., Emily, M.E., Pratik, P.S.,

- Manuela, C. Thomas, L.H., Vance G.F.Jr. 2019. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an overview of basic and clinical research. Antimicrobial Resistance, 17:203-218.
- Nuryani, Y., Emmyzar., Wiranto. 2005. Budidaya Tanaman Nilam. *Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatika*. Sirkuler.
- Pantosti, A., Venditti, M. 2009. Series: MRSA and The Pulmonologist. *European Respiratory Journal*, 34 (5): 1190-1196.
- Parangin-angin, B., Lubis, A.M. 2017. Identifikasi Kemurnian Minyak Nilam dengan Metode Pengamatan Spektrum Fluoresensi. *Agrium*, 21 (1) : 20-25.
- Swamy, M.K., Sinniah, U.R. 2015. A Comprehensive Review on The Phytochemical Constituents and Pharmacological Activities of *Pogostemon cablin* Benth: An Aromatic Medicinal Plant of Industrial Importance. *Molecules*, 20(5): 8521-8547.
- Swamy, M.K., Sinniah, U.R. 2016. Patchouli (*Pogostemon cablin* Benth.): Botany, agrotechnology, and biotechnological aspects. *Industrial Crops and Products*, 87: 161-176.
- Xian, Y., Xue, Z., Sui-Ping, Y., Wei-Qi, L. 2013. Evaluation of Antibacterial Activity of Patchouli Oil. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 12 (3): 307-316.