

Synergistic Antibacterial Activity Combination of *Syzygium aromaticum* L. and *Myristica aragrans* Houtt. Against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and Their Chemical Consituents

Dewi Winni Fauziah¹, Endang Darmawan²

¹Akademi Farmasi Al-Fatah Bengkulu, Bengkulu

²Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta, Yogyakarta

Artikel info

Diterima : 14 Sep 2017
Direvisi : 19 Sep 2017
Disetujui : 20 Des 2017

Keyword

Sinergism
Syzygium aromaticum L.
Myristica fragrans Houtt.
Volatile oil
Staphylococcus aureus
GC-MS

ABSTRACT

Infection can be caused by bacteria, one of them is *Staphylococcus aureus* which is a gram-positive bacteria. The treatment of bacterial infection was done using antibiotics or essential oils. Both essential oil from *Syzygium aromaticum* L. and *Myristica fragrans* Houtt had antibacterial activities against gram-positive bacteria. The research study aims were to investigate the synergism antibacterial effect of the essential oil from Sys combination with Myr against *S. aureus* ATCC 25923. The synergism test was performed using microdilution checkerboard method by adding MTT as an indicator for the presence of bacterial growth. The effect of combination can be seen from the FIC Index and isobologram, while the essential oil components of each plant were analyzed by GC-MS. The results showed that additive effect caused by the ratio of Myr vs Syz was 2/5 and 8/5 (FIC index was 0.75), and on 2/5 showed the indifferent result (FIC index was 1.5). The best concentration ratio between Myr and Syz was 1.0: 2.5 (mg/mL). The GC-MS analysis results showed that the major essential oil components of Syz was caryophyllene and eugenol, and Myr was α -pinene, β -pinene, sabinene, p-cymene, terpinene-4-ol, safrol, and myristate. In conclusion, we can assume that the combination of the essential oil from Syz and Myr have an additive effect to inhibit *S. aureus* and potent as antimicrobial.

Uji Sinergisme Aktivitas Antibakteri Kombinasi Minyak Atsiri *Syzygium aromaticum* L. dan *Myristica fragrans* Houtt. Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 Serta Profil Kimianya

ABSTRAK

Kata kunci

Sinergisme
Syzygium aromaticum L.
Myristica fragrans Houtt.
Minyak atsiri
Staphylococcus aureus
GC-MS

Infeksi dapat disebabkan oleh bakteri yang salah satunya adalah *Staphylococcus aureus* yang merupakan bakteri gram positif. Pengobatan infeksi bakteri banyak dilakukan dengan menggunakan antibiotika atau minyak dari bahan alam. Minyak atsiri dari *Syzygium aromaticum* L. dan *Myristica fragrans* Houtt memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri gram positif. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui sinergisme aktivitas antibakteri kombinasi minyak atsiri dari Syz dan Myr terhadap bakteri *S. aureus* ATCC 25923. Uji sinergisme aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode mikro dilusi *checkerboard* dengan penambahan MTT sebagai indikator pertumbuhan bakteri. Efek kombinasi dilihat dari indeks FIC dan Isobologram sedangkan komponen kimia minyak atsiri dari kedua tanaman tersebut dianalisis dengan GC-MS. Hasil uji aktivitas sinergisme memperlihatkan efek aditif terlihat pada perbandingan Myr/Syz sebesar 2/5 dan 8/5 dengan indeks FIC sebesar 0,75; akan tetapi pada perbandingan Myr/Syz sebesar 2/5 memperlihatkan hasil *indifferent* dengan indeks FIC sebesar 1,5. Perbandingan konsentrasi terbaik antara Myr dengan Syz adalah 1 : 2,5 (mg/mL). Hasil analisis GC-MS menunjukkan komponen senyawa kimia utama dari minyak atsiri Syz adalah *caryophyllene* dan eugenol; minyak atsiri Myr adalah *alpha pinene*, *beta-pinene*, *sabinene*, *p-cymene*, *terpinene-4-ol*, safrol, dan miristisin. Secara keseluruhan dapat disimpulkan bahwa kombinasi minyak atsiri kedua tanaman tersebut memiliki efek aditif dalam menghambat *S. aureus* ATCC 25923.

Koresponden author

Dewi Winni Fauziah
Akademi Farmasi Al-Fatah Bengkulu, Bengkulu
Email: dewiwinnifauziah@gmail.com

PENDAHULUAN

Kesehatan adalah hal pokok dalam kehidupan. Kesehatan masih menjadi masalah besar di Indonesia, termasuk masalah kesehatan akibat infeksi. Iklim tropis dengan kelembaban udara yang tinggi, penduduk yang padat dan sanitasi yang kurang baik menjadi penyebab perkembangan infeksi bakteri meningkat. Infeksi bakteri masih mendominasi potensi terjadinya infeksi berat, sepsis, shok septik, dan disfungsi multiorgan (Nasronudin, 2007).

Salah satu penyebab infeksi yang banyak ditemui di masyarakat yaitu *Staphylococcus aureus* yang merupakan bakteri patogen penting pada manusia dan dapat menimbulkan berbagai kasus penyakit antara lain infeksi kulit, keracunan makanan, endokarditis, pneumonia, osteomielitis, sepsis artritis dan *encephalitis* (Tseng *et al.*, 2004). Bakteri *S. aureus* dengan strain ATCC 25923 digunakan pada uji karena merupakan bakteri patogen yang mewakili gram positif dan sering digunakan dalam penelitian sehingga dapat dibandingkan dengan penelitian sebelumnya.

Pencegahan infeksi yang disebabkan *S. aureus* dapat dilakukan dengan penggunaan antiseptik. Antiseptik digunakan untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme yang hidup di permukaan tubuh dengan mekanisme merusak lemak pada membran sel bakteri. Mekanisme lain yakni dengan cara menghambat salah satu kerja enzim pada bakteri yang berperan dalam biosintesis asam lemak (Isadiartuti dan Retno, 2005). Zat antimikroba jika digunakan dalam bentuk kombinasi memiliki beberapa keuntungan yaitu melalui efek sinergisme atau adisi (Li dan Tang, 2004).

Minyak atsiri merupakan salah satu zat yang berkhasiat sebagai antimikroba. Penggunaan bahan alam semakin meningkat seiring dengan meningkatnya keinginan masyarakat untuk "back to nature", sebagai bahan untuk perawatan kesehatan, kosmetik, dan pencegahan penyakit. Pala (*Myristica fragrans* Houtt.) dan cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) merupakan hasil alam Indonesia yang berlimpah jumlahnya. Senyawa kimia yang terkandung dalam minyak atsiri Syz antara lain eugenol, *caryophyllene*, eugenol acetat dan *alpha-humelene* (Ayoola, 2008). Kemampuan minyak Syz dalam menghambat pertumbuhan bakteri disebabkan adanya kandungan eugenol yang tinggi (Burt, 2004). Vanit (2010) menyatakan bahwa minyak Syz murni dengan pelarut *dimethyl sulfoxide* (DMSO) dapat menghambat bakteri *S. aureus* dengan konsentrasi hambat minimum (MIC) yakni 2,5%. Komponen utama Myr yakni turunan benzena alkil (miristisin, elemicin, safrol dan lain-lain), terpen, *alpha-pinene*, *beta-pinene*, asam miristat, trimiristin, dan *phenylpropanoids* (eugenol dan turunannya) (Jaiswal *et al.*, 2008). Trimiristin dan miristisin yang disolasi dari Myr memiliki aktivitas yang baik dalam menghambat bakteri gram positif dan gram negatif (Narasimhan dan Dhake, 2006). Hasil penelitian Pillai (2012) menunjukkan bahwa bakteri *S. aureus* rentan terhadap minyak Myr dengan MIC yakni 1 mg/mL. Omoruyi *et al.*, (2012) menyatakan dalam penelitiannya minyak atsiri Myr dapat menghambat bakteri *S. aureus* pada MIC \leq 12.5 mg/mL.

Ketersediaan minyak atsiri Myr dan Syz dalam jumlah berlimpah di Indonesia serta potensi antibakterinya

yang ditandai dengan kecilnya nilai MIC yang dimiliki oleh kedua minyak atsiri tersebut membuat peneliti tertarik untuk menggunakan kombinasi kedua minyak atsiri tersebut.

MATERI DAN METODE

Bahan penelitian

Bakteri uji *S. aureus* ATCC 25923 koleksi dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Gajah Mada; *nutrient broth* (NB), DMSO dan *3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide* (MTT) diperoleh dari Merck Indonesia; antibiotika pembanding amoksisillin diperoleh dari Phapros sedangkan ampisillin dari Meiji.

Penyiapan minyak atsiri

Minyak atsiri Syz dan Myr merupakan koleksi dari Badan Penelitian Tanaman Obat (BPTO) Tawangmangu, Jawa Tengah

Peremajaan biakan murni *S. aureus*

Biakan murni *S. aureus* digoreskan secara aseptis dengan jarum ose pada media padat agar miring dan tabung media ditutup dengan kapas. Selanjutnya biakan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C.

Pembuatan suspensi bakteri *S. aureus*

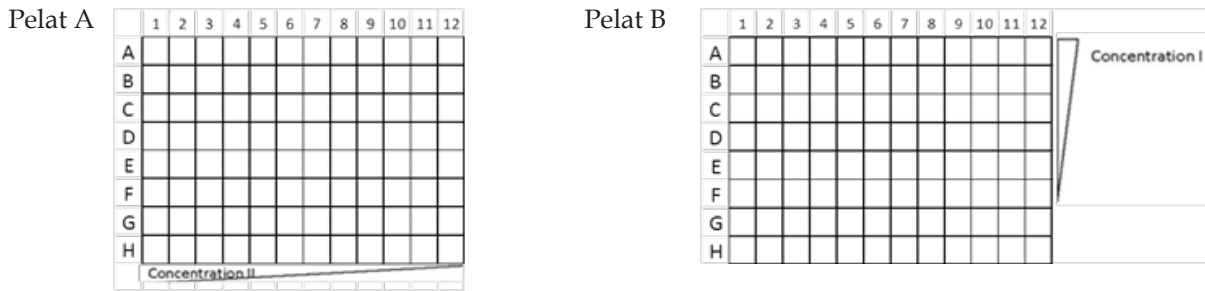
Stok bakteri diambil satu ose dimasukkan ke dalam tabung yang berisi 1 mL media NB, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah diinkubasi, diencerkan dengan NaCl 0,9% sampai konsentrasinya sama dengan standar *Mc. Farland* 10⁸ CFU/mL. Diambil 100 μ L dimasukkan ke dalam tabung, ditambahkan media NB dengan volume akhir 10 mL sehingga didapatkan konsentrasi 10⁶ CFU/mL.

Uji sinergisme aktivitas antibakteri dengan metode checkerboard

Pada pelat A (Gambar 1A): Kolom B1 pelat A diisi 90 μ L media cair NB + 10 μ L minyak atsiri Syz kemudian diaduk sampai homogen. Dilakukan pengenceran bertingkat 2 kalinya ke arah vertikal sampai kolom H1. Kolom A2-H2 pelat A diisi 90 μ L media cair NB + 10 μ L minyak atsiri Myr kemudian diaduk sampai homogen. Kolom A3-H8 di isi 50 μ L media cair NB. Pengenceran bertingkat 2 kalinya arah horizontal sampai kolom 8. Sebanyak 50 μ L kolom B2 dipindahkan ke kolom B3 dan diaduk sampai homogen, kemudian sebanyak 50 μ L kolom B3 dipindahkan ke kolom B4, dan seterusnya secara berurutan sampai kolom B8. Perlakuan sama dilakukan pada baris C sampai H (semakin ke kanan semakin kecil konsentrasinya). Konsentrasi akhir secara berturut-turut 16,0; 8,0; 4,0; 2,0; 1,0; 0,5; dan 0,25 mg/mL.

Pada pelat B (Gambar 1B): Kolom B2-B8 pelat B diisi 90 μ L media cair NB + 10 μ L minyak atsiri Syz kemudian diaduk diaduk sampai homogen. Dilakukan pengenceran bertingkat 2 kalinya ke arah vertikal H1. Sebanyak 50 μ L kolom C2 dipindahkan ke kolom D2 dan diaduk sampai homogen, kemudian sebanyak 50 μ L kolom D2 dipindahkan ke kolom E2, dan seterusnya secara berurutan sampai kolom H2.

Perlakuan sama dilakukan pada kolom 3 sampai 8 (semakin ke bawah semakin kecil konsentrasinya). Konsentrasi akhir secara berturut-turut 10; 5; 2,5; 1,25; 0,625; 0,3125; dan 0,156 mg/L.



Gambar 1 Pola pengisian sampel dalam sumuran serta konsentrasinya

Pindahkan pelat B ke pelat A sesuai posisi baris dan kolom, sehingga baris pada pelat A hanya berisi minyak atsiri Myr dan kolom 1 hanya berisi minyak atsiri Syz. Kolom 9 diisi 90 μL media cair NB + 10 μL kontrol positif I ampisilin dengan konsentrasi akhir 320 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Kolom 10 diisi 90 μL media cair NB + 10 μL kontrol positif II amoksisilin dengan konsentrasi akhir 720 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Kolom 11 diisi 90 μL media cair NB + 10 μL kontrol pelarut (DMSO). Kolom 12 diisi kontrol media (media cair NB 200 μL) dan kontrol bakteri (media cair NB 100 μL + suspensi bakteri 100 μL).

Sebanyak 100 μL suspensi bakteri *S. aureus* (10^6 CFU/mL) ditambahkan ke semua lubang pelat A kecuali kontrol media. Pelat diinkubasi selama 24 jam pada suhu 36°C dan diamati ada tidaknya pertumbuhan mikroba. Pengamatan adanya pertumbuhan bakteri dengan penambahan pereaksi MTT (1 mg/mL) sebanyak 20 μL ke setiap lubang. Adanya perubahan warna ungu menandakan adanya pertumbuhan bakteri.

Penentuan FICI

FICI dihitung sebagai berikut (Hall *et al.*, 1983):

Ket:

$$\begin{aligned} \text{FICI} \leq 0,5 & \quad \text{synergistic effect} \\ 0,5 < \text{FICI} \leq 1,0 & \quad \text{additive effect} \end{aligned}$$

$$\text{FICI} = \frac{[\text{MIC Syz kombinasi}]}{[\text{MIC hanya Syz}]} + \frac{[\text{MIC Myr kombinasi}]}{[\text{MIC hanya Myr}]}$$

$$\begin{aligned} 1,0 < \text{FICI} \leq 4,0 & \quad \text{indifferent effect, dan} \\ \text{FICI} > 4,0 & \quad \text{antagonistic effect} \end{aligned}$$

Identifikasi senyawa pada minyak atsiri dengan GC-MS

Komponen senyawa minyak atsiri dianalisis menggunakan alat GC-MS. Sampel sebanyak 0,1 μL diinjeksikan ke GC-MS menggunakan kolom kaca panjang 30 m, diameter 0,25 mm dengan fasa diam Rastek stabilwak R-DA dengan temperatur oven diprogram antara 60-215°C dengan laju kenaikan temperatur 4°C/menit; gas pembawa helium bertekanan 49,5 kPa; total laju 40,0 mL/menit; dan split ratio sebesar 43,1.

ANALISIS DATA

Penentuan MIC baik minyak atsiri tersendiri maupun kombinasi dapat diketahui setelah dilakukan pengamatan konsentrasi terendah yang ditandai dengan tidak adanya perubahan warna yang terjadi setelah pemberian MTT. Hasil uji sinergisme dilakukan dengan menggunakan perhitungan FICI. Sedangkan spektrum massa yang diperoleh dibandingkan dengan spektrum senyawa standar yang telah diketahui dalam *database* yang telah terprogram pada alat GC-MS.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji organoleptis minyak atsiri

Pemeriksaan visual dilakukan dengan mengamati warna minyak atsiri dan pemeriksaan secara organoleptis dengan memeriksa bau dan rasanya. Hasil pemeriksaan minyak atsiri Syz dan Myr disajikan pada Tabel 1.

Uji sinergisme aktivitas antibakteri

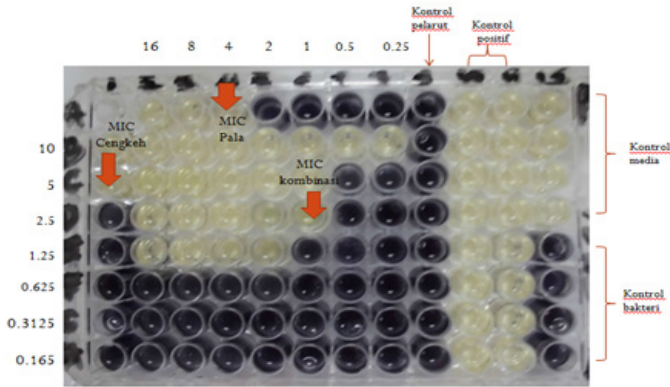
Uji sinergisme dilakukan untuk melihat kemampuan daya hambat kombinasi minyak atsiri dari Syz dan Myr terhadap bakteri *S. aureus* secara *in vitro*. Hasil pengujian berdasarkan nilai MIC yang diinterpretasikan ke dalam nilai FICI. MIC ditentukan sebagai konsentrasi terendah yang menunjukkan tidak ada pertumbuhan bakteri (Ganiswarna *et al.*, 1995) atau ditandai dengan tidak adanya perubahan warna dari penambahan pereaksi MTT (Gambar 2) (Joung *et al.*, 2012).

Isobologram adalah kurva yang menggambarkan hasil dari metode *checkerboard* dan nilai FICI seperti pada Gambar 3. Sumbu x dari isobologram menggambarkan konsentrasi dari minyak atsiri Syz dan sumbu y menggambarkan konsentrasi dari minyak atsiri Myr. Garis putus-putus yang menghubungkan nilai intersep menggambarkan dosis individu zat memiliki efek yang sama dengan dosis dikombinasikan (*indifferent effect*). Area *synergistic* ($\text{FICI} \leq 0,5$) dan *additive* ($0,5 < \text{FICI} \leq 1,0$) ditunjukkan dibawah garis lurus. Nilai diatas garis putus-putus menggambarkan *antagonistic* ($\text{FICI} > 4,0$) (Iten *et al.*, 2009). Garis merah menunjukkan efek *additive* dengan nilai FICI sebesar 0,75. Garis biru menunjukkan nilai FICI sebesar 1,0 yang juga memberikan efek *additive*.

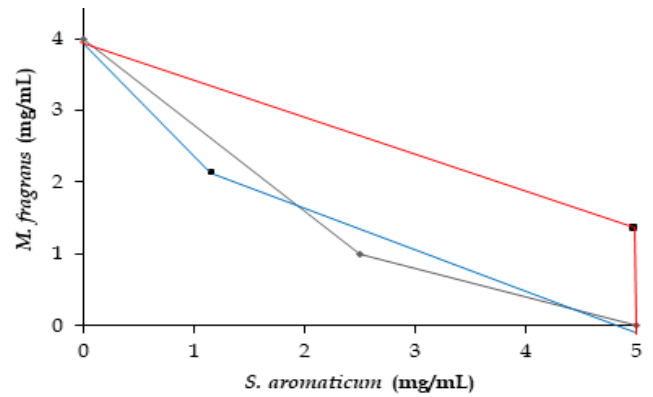
Checkerboard assay dan isobologram terhadap bakteri *S. aureus* memberikan interaksi *additive* ketika minyak atsiri Syz dikombinasikan dengan Myr (Tabel 2). *Additive effect* apabila aktivitas kedua zat dalam kombinasi sama dengan penjumlahan dari kedua aktivitas masing-masing saat diuji secara terpisah (Williamson, 2001). Efek *additive* diamati dengan setidaknya satu pasangan dosis kombinasi terhadap bakteri *S. aureus*, tercatat perbandingan Syz dan Myr sebesar 2,5 : 1,0 dan 1,25 : 2,0 mg/mL.

analisis senyawa kimia minyak atsiri secara GC-MS

Data kromatogram minyak atsiri Syz diperoleh 7 puncak senyawa dengan kelimpahan paling besar ditunjukkan oleh senyawa puncak 3 dan 7 (Gambar 4A). Sedangkan pola kromatogram minyak atsiri Myr diperoleh 37 puncak senyawa dengan kelimpahan paling besar ditunjukkan oleh senyawa puncak 1, 3, 4, 11, 19, 30, dan 37 (Gambar 4B). Hanya puncak dengan



Gambar 2 Hasil uji sinergisme antibakteri kombinasi minyak atsiri Syz dan Myr. Adanya pertumbuhan bakteri ditandai dengan warna ungu.



Gambar 3 Profil isobologram kombinasi minyak atsiri Syz dan Myr

Tabel 1 Hasil uji organoleptis minyak atsiri kedua tanaman tersebut baik tunggal maupun kombinasinya

Parameter uji	Sampel		
	Syz	Myr	Kombinasi
Warna	Keruh kehitaman	Kuning jernih	Kuning terang
Bau	Bau tajam khas aromatis cengkeh	Bau khas aromatis pala	Bau khas aromatis
Rasa	Getir, pedas	Getir	Getir

Tabel 2 Hasil dari checkerboard assay dengan rasio konsentrasi minyak atsiri Syz dan Myr (Syz/Myr), konsentrasi dari Syz dan Myr dalam mg/mL, dan nilai FICI.

(Myr/Syz)	(Myr/Syz)	(Myr/Syz)	FICI	Interpretasi
0/5	0/5	0/5	-	-
2/5	2/5	2/5	0.75	Additive
8/5	8/5	8/5	0.75	Additive
2/5	2/5	2/5	1.5	Indifferent
4/0	4/0	4/0	-	-

kelimpahan terbesar yang akan dianalisis dapat dilihat pada Tabel 4.

Hubungan minyak atsiri dengan aktivitas antibakteri

Tanaman menghasilkan berbagai senyawa dengan aktivitas antimikroba. Senyawa antimikroba yang paling aktif dari minyak atsiri sangat rumit untuk diidentifikasi karena minyak atsiri merupakan campuran kompleks hingga 45 komponen yang berbeda (Espina *et al.*, 2011).

Mayoritas senyawa antimikroba ditemukan dalam minyak atsiri adalah terpenoid dan phenylpropenes dengan paling aktif menjadi fenol, meskipun zat non-fenolik juga memiliki aktivitas antimikroba. Sejumlah komponen minyak atsiri menunjukkan sifat antibakteri yang signifikan bila diuji secara terpisah (Narasimhan dan Dhake, 2006)..

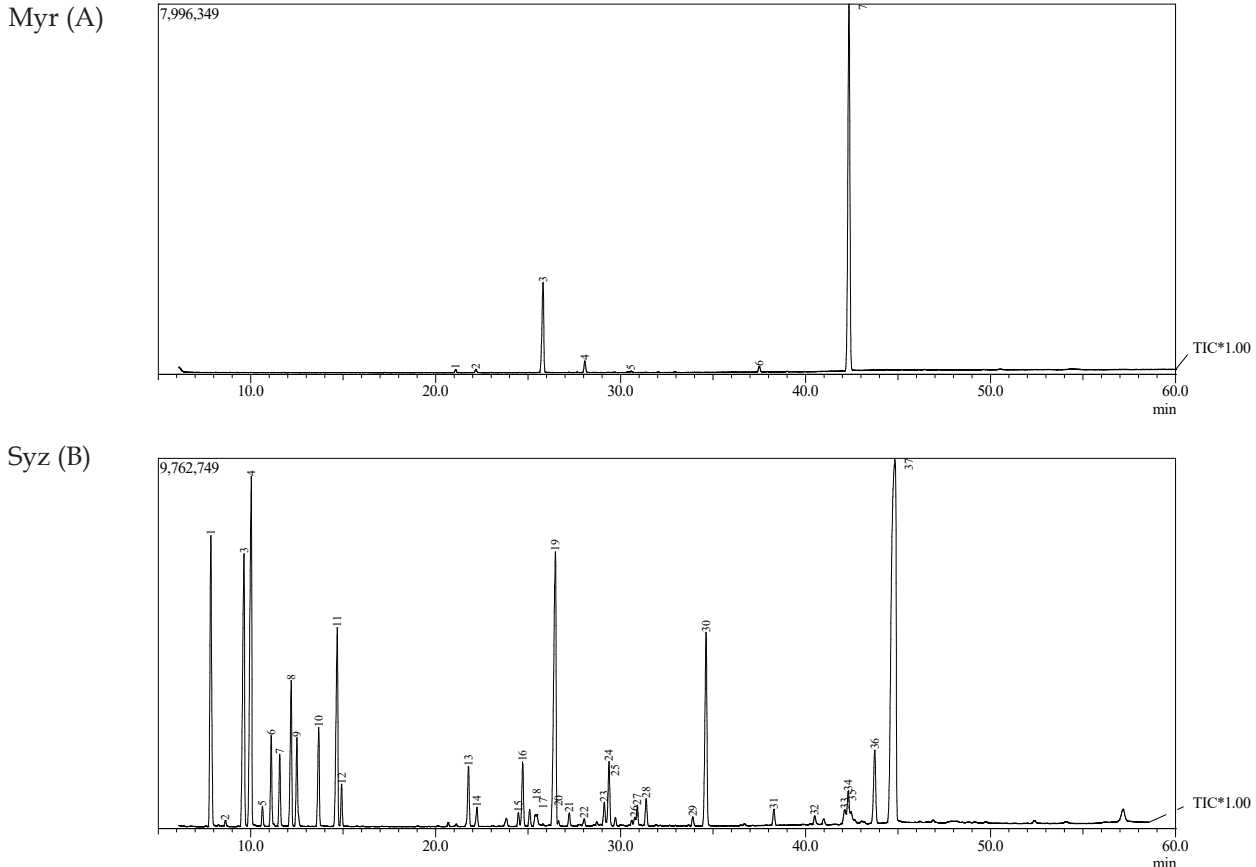
Komponen utama dari minyak atsiri Myr (Gambar 4A) adalah monoterpen hidrokarbon (*alpha pinene*, *beta-pinene*, *sabinene* dan *para cymene*) dan monoterpen teroksigenasi (*terpinene 4-ol*) serta aromatik eter (safrol dan miristin).

Komponen utama dari minyak atsiri Syz (Gambar 4B) adalah eugenol dan *caryophyllene*. Kemampuan

minyak Syz dalam menghambat pertumbuhan bakteri disebabkan adanya kandungan eugenol yang tinggi (Burt, 2004).

Komponen dalam Myr seperti *p-cymene*, *alpha pinene*, *beta-pinene* dilaporkan memiliki aktivitas antimikroba (Sokmen, *et al.*, 2004). Senyawa turunan pinen monoterpen hidrokarbon memiliki aktivitas sedikit terhadap jumlah mikroorganisme (Dorman *et al.*, 2000). Miristin memiliki aktivitas sebagai antimikroba (Gergie *et al.*, 2009) dan miristin golongan fenilpropan memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri gram positif dan gram negatif (Narasimhan dan Dhake, 2006).

Aktivitas dari minyak atsiri sebagai antimikroba nampaknya berpusat dalam kegiatan pada membran sel, namun bukan satu-satunya mekanisme aksi. Menurut Sikkema *et al.* (1995) minyak atsiri pada umumnya lebih sensitif terhadap bakteri gram positif. Hal ini didasarkan pada kandungan monoterpen yang tinggi dari minyak atsiri. Umumnya semua molekul monoterpen bersifat lipofilik, telah dibuktikan lebih cenderung berdifusi (terpartisi) ke fasa struktur membran bakteri dibandingkan fasa air. Terakumulasinya molekul



Gambar 4 Profil kromatogram GC-MS minyak atsiri dari kedua senyawa uji (A) Myr dan (B) Syz

Tabel 4 Profil kromatogram GC-MS minyak atsiri dari kedua senyawa uji

Puncak ke	Watu Retensi (menit)	Area (%)	Senyawa
Syz			
3	25,81	16.84	<i>Caryophyllene</i>
7	42,35	79.19	<i>Eugenol</i>
Myr			
1	7,85	7,71	<i>alpha-Pinene</i>
3	9,64	8,21	<i>beta-Pinene</i>
4	10,03	10,54	<i>Sabinene</i>
11	14,68	5,65	<i>para-Cymene</i>
19	26,48	10,13	<i>Terpinen-4-ol</i>
30	34,62	5,96	<i>Safrole</i>
37	44,83	25,78	<i>Myristicin</i>

monoterpen ke fasa membran akan membuat membran mengalami pengembangan (*swelling*), meningkatkan fluiditas dan permeabilitas membran. Molekul monoterpen teroksidasi, merusak membran yang mengikat protein transport, menghambat respirasi, dan merubah proses transpor ion dalam bakteri gram positif (Sikkema *et al.* 1994; Trombetta *et al.* 2005).

Molekul minyak atsiri juga dapat mengganggu kerja enzim yang terikat pada membran sel bakteri, sehingga mengganggu semua aktivitas pada membran sel. Kematian sel oleh molekul minyak atsiri dapat pula disebabkan oleh melemahnya dinding sel, sehingga

mengganggu kestabilan membran sitoplasma akibat berubahnya tekanan osmosis pada membran tersebut (Carson *et al.* 2002).

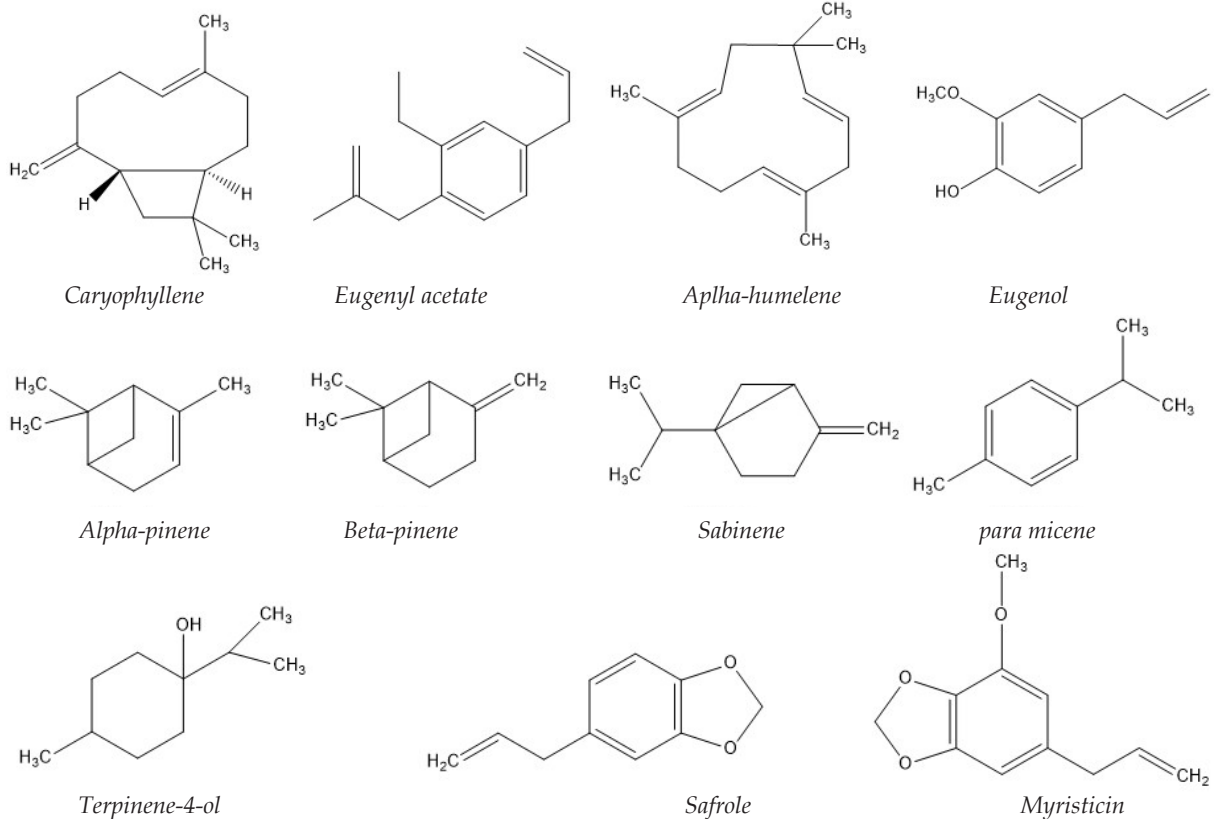
Keragaman komponen minyak atsiri sangat besar dengan berbagai senyawa. Komponen kimia dari masing-masing minyak atsiri tersebut mengandung lebih dari 30 komponen individu. Kemungkinan adanya interaksi yang sangat kompleks dari komponen masing-masing minyak atsiri tersebut. Sifat fungsional minyak atsiri tidak hanya ditentukan oleh komponen mayor yang terdapat didalamnya. Komponen dengan jumlah kecil (minor) dalam minyak atsiri juga memiliki bagian penting dalam aktivitas antibakteri, mungkin dengan menghasilkan efek sinergis antara komponen lainnya (Marino *et al.*, 2001 ; Belletti *et al.* 2004).

Berdasarkan uraian tersebut, kemungkinan terjadi interaksi dari masing-masing komponen minyak atsiri Syz dan Myr melalui efek sinergis antar komponen mayor dan minor, sehingga dimungkinkan akan meningkatkan efektivitas kerja minyak atsiri sebagai zat antibakteri.

KESIMPULAN

Kombinasi minyak atsiri Syz dan Myr yang diujikan pada bakteri *S. aureus* ATCC 25923 menghasilkan profil *additive* yang merupakan penambahan efek dari kedua aktivitas minyak atsiri tersebut. Sedangkan komposisi kimia berdasarkan profil GC-MS; minyak atsiri Syz mengandung *eugenol* dan *caryophyllene*; sedangkan Myr mengandung *alpha-pinene*, *beta-pinene*, *sabinene*, *para-cymene*, *terpinene 4-ol*, safrol dan miristin.

(A) Syz



Gambar 5 Struktur komponen utama minyak atsiri (A) Syz; dan (B) Myr

DAFTAR PUSTAKA

- Ayoola G A, Lawore F M, Adelowotan T, Aibinu I E, Adenipekun E, Coker H A B, Odugbemi T O. Chemical analysis and antimicrobial activity of the essential oil of *Syzygium aromaticum* (clove). *African J of Microbiology Research*. 2008;2(July); 162-166
- Belletti N, Ndagijimana M, Sisto C, Guerzoni M E, Lanciotti R, Gardini F. Evaluation of the antimicrobial activity of citrus essences on *Saccharomyces cerevisiae*. *J of Agricultural and Food Chemistry*. 2004;52(23); 6932-6938
- Burt S. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods - a Review. *Int J Food Microbiol*. 2004; 94(3): 223-253
- Carson C F, Brian J M, Riley T V. Mechanism of action of tea tree oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lyses, leakage, and salt tolerance assays and electron microscopy. *Antimicrobial Agent and Chemotherapy*. 2002;46(6); 1914-1920
- Dorman H J D, A C Figuerido, J G Barroso, Deans S G. *In vitro* evaluation of antioxidant activity of essential oils and their components. *Flavor Fragrance J*. 2000;15(1); 12-15
- Espina L, Somolinos M, Lorán S, Conchello P, García D, Pagán R. Chemical composition of commercial citrus fruit essential oils and evaluation of their antimicrobial activity acting alone or in combined processes. *Food Control*. 2011;22(6); 896-902
- Ganiswarna D R, Setiabudy, R, Suyatna F D. *Farmakologi dan terapi Edisi IV*. EGC. 1995. Jakarta
- Gergie S I, Gergie M K Y, Rao M. GC-MS analysis of *Nigella sativa* seeds and antimicrobial activity of its volatile oil. *Bruz Arch Biol Technol*. 2009;52(5); 1189-1192
- Hall M J, Middleton R F, Westmacott D. The fractional inhibitory concentration (FIC) index as a measure of synergy. *J Antimicrob Chemoter*. 1983;11(5); 427-433
- Isadiartuti D, S Retno. Uji efektifitas sediaan gel antiseptik tangan yang mengandung etanol dan triklosan. *Majalah Farmasi Airlangga*. 2005;5(3); 2-7
- Jaiswal P, P Kumar, V K Singh, D K Singh. Enzyme inhibition by molluscicidal components of *Myristica fragrans* Houtt. in the nervous tissue of snail *Lymnaea acuminata*. *Enzyme Res*. 2010; 2010; 478746
- Joung D K, Kim Y H, Yang D W, So G W, Lee K H, Kwon D Y, Choi J G, An B K, Shin D W. Antibacterial and synergistic effects of *Kochia scofaria* extracts against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *African J of microbiology*. 2012;6(10); 2449-2454
- Iten F, Saller R, Abel G, Reichling J. Additive antimicrobial effects of the active components of the essential oil of *Thymus vulgaris* chemotype carvacrol. *Planta Med*. 2009;75(11); 1231-1236
- Li R C, Tang M C. Post-antibiotic effect induced by an antibiotic combination: Influence of mode, sequence and interval of exposure. *J Antimicrob Chemoter*. 2004;54(5); 904-908
- Marino M, Bersani C, Comi G. Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from Lamiaceae and Compositae. *Int J Food Microbiol*. 2001;67(3); 187-195
- Narasimhan B, Dhake A S. Antibacterial principles from *Myristica fragrans* seeds. *J Med Food*. 2006;9(3); 395-399
- Nasronuddin. *Penyakit infeksi di Indonesia solusi kini dan mendatang*. Airlangga University Press. 2007. Surabaya

- Omoruyi, Matthew I, Emefa O T. *In vitro* evaluation of the antibiogram activities of the seeds of *Myristica fragrans* on food Borne Pathogens. Malaysian Journal of Microbiology. 2012;8(4); 253-258
- Pillai P, Suthagar, Mahmud R, Perumal S. Determination of antibacterial activity of essential oil of *Myristica fragrans* Houtt. using tetrazolium microplate assay and its cytotoxic activity against Vero cell line. International Journal of Pharmacology. 2012;8(6); 572-576
- Sikkema J, Bont J A M, Poolman B. Interaction of cyclic hydrocarbons with biological membranes. J of Biological Chem. 1994;269(11); 8022-8028
- Sikkema J, Bont J A M, Poolman B. Mechanism of membrane toxicity of hydrocarbons. Microbiological Reviews. 1995;59(2); 201-222
- Sokmen A, Gulluce M, Akpulat H A, Daferera D, Tepe B, Polissiou M. The *in vitro* antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic *Thymus spathulifolius*. Food Contry. 2004;15(8); 627-634
- Trombetta D. Mechanisms of antibacterial action of three monoterpenes. Antimicrob Agents Chemother. 2005;49(6); 2474-2478
- Tseng C W, Zhang S, Stewart G C. Accesory gene regulator control of Staphylococcal enterotoxin D gene expression. J Bacteriology. 2004;186(6); 1793-1801
- Vanit S, Suppakul P, Jinkarn T. Antimicrobial effects of coating solution containing clove oil and hydrophobic starch for coating paperboard. As J Food Ag-Ind. 2010;3(2); 204-212
- Williamson E M. Synergy and other interactions in phytomedicine. Phytomedicine. 2001;8(5); 401-409