

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Resistensi bakteri terhadap antibiotik telah berkembang menjadi masalah kesehatan global yang akan sulit untuk ditangani karena efektivitas antibiotik yang menurun (Widiani *et al.*, 2020). Hal ini dapat disebabkan oleh pemberian antibiotik dengan diagnosis yang salah, tidak tepat dosis dan sasaran yang tidak tepat terhadap bakteri penyebabnya (Azzami *et al.*, 2022). *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu bakteri yang telah mengalami resistansi dan paling sering menyebabkan penyakit infeksi di seluruh dunia (Panuluh, 2019). *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) adalah strain dari *Staphylococcus aureus* yang telah mengalami resistansi terhadap antibiotik metisilin dan golongan beta laktam (I. W. Rahman *et al.*, 2023). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) tahun 2014, sebanyak 90% infeksi *Staphylococcus aureus* dapat berkembang menjadi MRSA pada 21 rumah sakit dan laboratorium di Amerika Serikat. Selain itu, seperempat kasus infeksi *Staphylococcus aureus* di Asia Tenggara dapat berkembang menjadi MRSA. Pasien dengan infeksi MRSA memiliki risiko kematian 64% lebih tinggi dibandingkan dengan infeksi bakteri yang tidak resistan (Widiani *et al.*, 2020). MRSA adalah salah satu bakteri yang tahan terhadap antibiotik karena genotipenya tahan terhadap berbagai obat, seperti antibiotik golongan beta laktam, fluorokuinolon, aminoglikosida, dan makrolida. Hal ini karena bakteri memperoleh gen *mecA* yang mampu mengkode protein *Penicilin-Binding Protein 2a* (PBP2a) menyebabkan penurunan afinitas terhadap antibiotik sehingga bakteri kurang sensitif terhadap antibiotik (Tamhid *et al.*, 2017).

WHO mengeluarkan daftar *Global Priority Pathogens* (GPP) pada tahun 2017 berdasarkan tingkat kebutuhan antibiotik baru yang dibagi menjadi tiga yaitu kritis, tinggi, dan sedang. Salah satu bakteri yang masuk kedalam kategori dengan prioritas tinggi adalah MRSA, sehingga perlu dilakukan penelitian yang

lebih lanjut untuk mendapatkan suatu agen antibakteri baru dan efektif (Fadlilah *et al.*, 2021). Selama ini, antibiotik vankomisin atau linezolid merupakan terapi farmakologis untuk mengobati infeksi MRSA. Namun, dengan seringnya penggunaan yang tidak rasional terhadap antibiotik, tidak menutup kemungkinan dapat terjadi resistansi terhadap antibiotik tersebut di masa mendatang (Insanitaqwa *et al.*, 2021). Berdasarkan data literatur, penelitian mengenai interaksi antara antibiotik dan senyawa lain misalnya yang berasal dari bahan alam dapat mewakili era baru fitofarmaka dan merupakan strategi yang menjanjikan dalam pengobatan dan pengendalian infeksi yang disebabkan oleh bakteri yang resistan terhadap banyak obat (Kwiatkowski *et al.*, 2020). Salah satu cara untuk mengobati infeksi yang disebabkan oleh bakteri adalah dengan mengkombinasikan senyawa bahan alam dan antibiotik dengan harapan kombinasi ini dapat menghambat bakteri secara lebih poten dan dengan efek samping yang lebih rendah (A'lana *et al.*, 2017).

Salah satu bahan alam yang berpotensi sebagai antibakteri adalah minyak cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr & Perry). Minyak cengkeh mengandung *eugenol* sebagai komponen utama dan beberapa komponen lain seperti *eugenol* asetat dan β -*caryophyllene* (Utami *et al.*, 2019). *Eugenol* adalah struktur fenolik yang sangat aktif melawan berbagai mikroorganisme. Dalam memberikan aktivitas antibakteri, *eugenol* dapat dengan mudah melewati dinding sel bakteri gram positif dan menyebabkan degradasi dinding sel, kemudian merusak membran sitoplasma sehingga menyebabkan rusaknya protein membran sel bakteri, gangguan sistem enzim bakteri, peningkatan permeabilitas dinding sel bakteri sehingga menyebabkan kebocoran isi sel, dan akhirnya lisis sel (Wongsawan *et al.*, 2020). Selain itu, *eugenol* memiliki sifat hidrofobik yang memudahkannya masuk ke bagian lipopolisakarida membran sel bakteri dengan mengubah struktur dinding sel, menyebabkan kebocoran pada intra sel sehingga menyebabkan kematian sel (Nurliana *et al.*, 2020). Kandungan *eugenol* dalam minyak cengkeh dapat membunuh beberapa bakteri termasuk bakteri yang resistan terhadap antibiotik salah satunya MRSA (Utami *et al.*, 2019).

Antibiotik fluorokuinolon seperti *ciprofloxacin* digunakan untuk pengobatan infeksi MRSA, terutama infeksi mulut. Namun, setelah pemberian *ciprofloxacin* pada pengobatan strain MRSA, bakteri ini dengan cepat menjadi resistan terhadap *ciprofloxacin*. Strain *Staphylococcus aureus* yang resistan terhadap *ciprofloxacin* semakin meningkat, dan penelitian menunjukkan bahwa lebih dari 89% strain MRSA resistan terhadap *ciprofloxacin* (Mirzaie *et al.*, 2020). Meningkatnya infeksi yang disebabkan oleh bakteri resistan terhadap *ciprofloxacin* dan penemuan antibiotik baru yang membutuhkan waktu lama menunjukkan bahwa diperlukan sinergisme farmakologis dan turunan baru. *Ciprofloxacin* mungkin lebih efektif terhadap bakteri yang resistan terhadap berbagai obat bila dikombinasikan dengan berbagai agen antibakteri, seperti antibiotik dari berbagai kelas, nanopartikel, bahan alami, bakteriofag, dan terapi fotodinamik. Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa kombinasi antibiotik dan minyak atsiri dapat meningkatkan kembali aktivitas dari antibiotik yang telah resistan. Oleh karena itu, mengkombinasikan *ciprofloxacin* dengan minyak atsiri dapat menghasilkan beberapa keuntungan seperti peningkatan potensi, pengurangan dosis obat yang diperlukan dan meminimalkan toksisitas, yang pada akhirnya membantu menghambat bakteri yang telah resistan terhadap banyak obat. Meskipun demikian, mekanisme pasti bagaimana bahan alam bersinergi dengan *ciprofloxacin* belum diteliti dalam penelitian yang telah disebutkan di atas. Selain itu, penggunaan kombinasi *ciprofloxacin* dengan berbagai senyawa alami yang memiliki sifat antimikroba salah satunya *eugenol* perlu dipertimbangkan (Aljaafari *et al.*, 2019; Kwiatkowski *et al.*, 2020; Shariati *et al.*, 2022).

Berdasarkan hasil penelitian Alanazi *et al.* (2022), minyak cengkeh memiliki aktivitas antibakteri yang baik terhadap MRSA secara *in vitro* dengan nilai MIC 1,25 µl/ml, meskipun tidak ada interaksi yang diamati dengan kombinasi *imipenem*. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Sreepian *et al.* (2022), kombinasi minyak atsiri *Citrus reticula* dan *gentamicin* memberikan interaksi sinergis dengan nilai FICI 0,012–0,258 di antara sebagian besar isolat MRSA (3/5, 60,0%). Kemudian, kombinasi minyak atsiri *Citrus aurantifolia* dan *gentamicin* menunjukkan interaksi sinergis dengan nilai FICI 0,012-0,016 hanya pada 2 isolat MRSA (2/5, 40,0%).

Selanjutnya, hasil penelitian yang dilakukan oleh El-Kalek & Mohamed (2012) menunjukkan aktivitas antimikroba dari kombinasi minyak sereh dan antibiotik *amoxicillin* memberikan efek sinergis terhadap semua MRSA yang diteliti dengan nilai FICI 0,82-0,86. Penelitian lainnya dilakukan oleh Özkanca dan Döşler (2022) menunjukkan bahwa kombinasi minyak atsiri cengkeh dengan *meropenem* dan *ciprofloxacin* memberikan efek sinergis terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan nilai FICI sebesar 0,375. Dari hasil beberapa penelitian tersebut telah memberikan pembuktian mengenai prinsip kemampuan senyawa alami dalam meningkatkan aktivitas antibiotik sintesis, sehingga berpotensi mengatasi resistansi bakteri (Sartini *et al.*, 2020).

Berdasarkan data tersebut, penulis bermaksud untuk melakukan penelitian mengenai pengujian aktivitas antibakteri kombinasi minyak atsiri cengkeh dan *ciprofloxacin* terhadap bakteri MRSA untuk dibandingkan dengan penggunaan secara tunggal minyak atsiri cengkeh dan *ciprofloxacin*. Penelitian dilakukan dengan metode dilusi cair (*broth dilution*) untuk mengetahui nilai *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dari seri kombinasi maupun tunggal minyak atsiri cengkeh dan *ciprofloxacin*. Setelah nilai MIC ditentukan melalui pengujian, kemudian menentukan interaksi penggunaan kombinasi antara minyak atsiri cengkeh dan *ciprofloxacin* berdasarkan nilai *Fractional Inhibitory Concentration Index* (FICI).

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang di atas maka dapat dirumuskan suatu permasalahan dalam penelitian ini yaitu:

1. Apakah kandungan pada minyak atsiri cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr & Perry) berdasarkan analisis dengan GC-MS?
2. Apakah kombinasi minyak cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr & Perry) dan antibiotik *ciprofloxacin* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)?
3. Bagaimana interaksi minyak cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr & Perry) dan antibiotik *ciprofloxacin* terhadap penghambatan pertumbuhan

bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) yang dievaluasi berdasarkan nilai FICI (*Fractional Inhibitory Concentration Index*)?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas, maka tujuan dari penelitian ini yaitu:

1. Mengetahui kandungan kimia minyak atsiri cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr & Perry) berdasarkan analisis GC-MS.
2. Mengetahui pengaruh kombinasi minyak cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr & Perry) dan antibiotik *ciprofloxacin* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).
3. Mengetahui interaksi minyak cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr & Perry) dan antibiotik *ciprofloxacin* terhadap penghambatan pertumbuhan bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) yang dievaluasi berdasarkan nilai FICI (*Fractional Inhibitory Concentration Index*).

1.4 Manfaat

1.4.1 Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat berkontribusi dalam mengembangkan ilmu pengetahuan di bidang farmasi bahan alam mengenai senyawa kimia yang terkandung dalam minyak cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) Merr & Perry), serta interaksi dari kombinasi minyak cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) Merr & Perry) dan antibiotik *ciprofloxacin* dalam menghambat pertumbuhan bakteri MRSA (*Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*).

1.4.2 Manfaat Praktis

Penelitian ini diharapkan dapat berguna bagi masyarakat dan peneliti terapi MRSA selanjutnya dalam menambah pengetahuan pemanfaatan kombinasi minyak cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) Merr & Perry) dan *ciprofloxacin* sebagai penghambat pertumbuhan bakteri MRSA (*Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Cengkeh

2.1.1 Klasifikasi Tanaman Cengkeh

Klasifikasi ilmiah dari tanaman cengkeh menurut Suwanto *et al.* (2014) adalah sebagai berikut :

Divisi : Spermatophyta

Subdivisi : Angiospermae

Kelas : Dicotyledoneae

Ordo : Myrtales

Famili : Myrtaceae

Genus : *Syzygium*

Spesies : *Syzygium aromaticum* L.



Sumber: Dokumentasi pribadi (2023, Gambar 2.1)

Gambar 2.1 Tanaman Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) Merr. & Perry.)

2.1.2 Morfologi Tanaman Cengkeh

Cengkeh adalah jenis tumbuhan perdu dengan batang yang besar dan berkayu keras. Cengkeh memiliki cabang yang lebar dan tinggi hingga 20-30 meter, dan dapat hidup puluhan bahkan ratusan tahun. Daun cengkeh berwarna hijau atau coklat muda saat masih muda dan hijau tua ketika tua yang memiliki ciri-ciri daun tunggal dengan tangkai tebal dan bentuk bulat telur sampai lanset memanjang, pangkal dan ujungnya menyudut, tepi rata, dan permukaan atasnya mengkilap

dengan panjang 6-13,5 cm dan lebar 2,5-5 cm. Bunga cengkeh tersusun dalam tendon yang keluar dari ketiak atau ujung cabang daun dan berwarna merah jambu yang berbilangan 4. Kelopaknya berwarna hijau kuning dan kemerahan, tingginya sekitar 1-1,5 cm, sedikit memanjang di atas bakal buah, pinggir taju kelopaknya bulat telur sampai segitiga, dan tingginya 4 cm. Buahnya berbentuk seperti bulat telur berbalik. Pada awalnya, kuncup bunga berwarna pucat, tetapi kemudian berubah menjadi hijau dan akhirnya berubah menjadi merah terang (Mustapa, 2020).

2.2 Aktivitas Antibakteri Minyak Cengkeh

Tanaman cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) Merr & Perry) memiliki kemampuan untuk menghasilkan minyak atsiri. Minyak cengkeh dapat berasal dari berbagai bagian tanaman cengkeh seperti bunga cengkeh (*Clove Bud Oil*), tangkai atau gagang (*Clove Stalks Oil*), dan daun (*Clove Leaf Oil*) (Lova *et al.*, 2018). Tanaman cengkeh mengandung randemen minyak atsiri pada bunga 10-20%, batang 5-10%, dan daun 1-4% (Safitri & Purnamawati, 2021). Kandungan di dalam minyak cengkeh yaitu *eugenol* merupakan senyawa utama, terhitung setidaknya 50 %, sisanya 10–40 % terdiri dari *eugenyl acetate*, β -*caryophyllene*, dan α -*humulene*. Kurang dari 10% merupakan komponen minor seperti *diethyl phthalate*, *caryophyllene oxide*, *cadinene*, α -*copaene*, *4-(2-propenyl)-phenol*, *chavicol*, dan α -*cubebene*. Minyak cengkeh mengandung senyawa fenolik dalam jumlah tinggi dengan beberapa aktivitas biologis, termasuk sifat antibakteri, antijamur, insektisida, dan antioksidan (Haro-González *et al.*, 2021). Minyak cengkeh dengan senyawa *eugenol* memiliki cincin aromatik, gugus metoksi, gugus hidroksil, dan ikatan rangkap (Prasetya *et al.*, 2019).

Menurut Safitri dan Purnamawati (2021) senyawa *eugenol* telah lama dikenal karena kemampuan antioksidan dan antiinflamasinya yang kuat. Selain itu, senyawa ini memiliki sifat antifungi dan antibakteri yang sangat baik terhadap bakteri gram positif maupun gram negatif. Gugus hidroksil bebas dari *eugenol* dapat terikat pada protein yang bertanggung jawab pada sintesis enzim dalam membran sel bakteri (Yunilawati *et al.*, 2021). Sifat hidrofobik senyawa

eugenol memudahkannya masuk ke bagian lipopolisakarida membran sel bakteri dengan mengubah struktur dinding sel, menyebabkan kebocoran pada intraseluler dan kematian sel (Nurliana *et al.*, 2020). Minyak cengkeh dapat menghambat bakteri gram negatif (*Escherichia coli*, *Salmonella*, *Klebsiella pneumoniae*, *Erwinia carotovora*, *Agrobacterium*, *Pseudomonas aeruginosa*) dan bakteri gram positif (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus*, *Listeria monocytogenes*) (Haro-González *et al.*, 2021). *Eugenol* adalah struktur fenolik yang sangat aktif melawan berbagai mikroorganisme. Senyawa tersebut dapat dengan mudah melewati dinding sel bakteri gram positif, menyebabkan degradasi dinding sel, kemudian merusak membran sitoplasma sehingga menyebabkan rusaknya protein membran, gangguan sistem enzim bakteri, peningkatan permeabilitas sehingga menyebabkan kebocoran isi sel, dan akhirnya lisis sel (Wongsawan *et al.*, 2020).

2.3 GCMS (*Gas Chromatography Mass Spectrophotometry*)

GC-MS (*Gas Chromatography Mass Spectrophotometry*) merupakan teknik analitik yang digunakan untuk menganalisis suatu senyawa aktif yang terkandung dalam suatu sampel (Melati, 2021). Kromatografi Gas - Spektrometri massa adalah teknik kromatografi gas yang digunakan bersama dengan spektrometri massa (Melati, 2021; Pramod *et al.*, 2021). Kromatografi gas digunakan untuk mencari senyawa yang mudah menguap dalam kondisi vakum tinggi dan tekanan rendah saat dipanaskan. Sedangkan spektrometri massa digunakan untuk menentukan berat molekul, rumus molekul, dan menghasilkan molekul bermuatan. Hasil yang didapatkan adalah berupa kromatogram yang ditunjukkan dengan suatu puncak grafik yang menandakan adanya satu jenis senyawa pada suatu sampel (Melati, 2021).

Dasar pemisahan kromatografi gas adalah menyebarkan sampel dalam fase diam sementara gas fase gerak melulusi fase diam. Cara kerja kromatografi gas adalah fase gerak dalam bentuk gas mengalir di bawah tekanan melalui pipa yang dipanaskan dan diisi dengan fase cair (fase diam) yang dilapisi dengan suatu penyangga padat. Analit dimasukkan ke bagian atas kolom melalui portal injeksi yang dipanaskan. Suhu oven dipertahankan atau diprogram agar meningkat secara

bertahap. Begitu berada di kolom, terjadi pemisahan antar komponen. Pemisahan ini akan bergantung pada waktu relatif yang dibutuhkan oleh komponen-komponen dalam fase diam. Dengan berkembangnya teknologi, peralatan kromatografi gas digunakan bersama dengan peralatan lain seperti spektrometer massa. Prinsip spektrofotometri massa adalah mengionisasi senyawa kimia untuk menghasilkan molekul bermuatan dan mengukur rasio massa terhadap muatan. Molekul yang telah terionisasi melalui penembakan elektron berenergi tinggi menghasilkan ion bermuatan positif, yang kemudian diarahkan menuju medan magnet dengan kecepatan tinggi. Medan magnet atau listrik akan membelokkan ion untuk menentukan berat molekul yang dihasilkan. Selanjutnya detektor menghitung muatan terinduksi atau arus yang dihasilkan ketika ion melewati atau menyentuh permukaan, memindai massa (*scanning massa*), dan menghitung ion berdasarkan rasio massa terhadap muatan (*mass to charge* atau m/z) (Darmapatni, 2016).

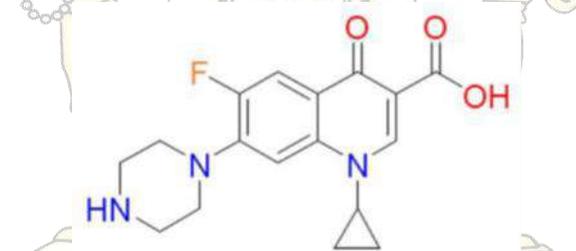
Kromatografi Gas - Spektrometri massa adalah teknik yang sangat efektif dalam mengidentifikasi senyawa-senyawa organik dalam berbagai jenis sampel. Keunggulan dari Kromatografi Gas - Spektrometri adalah kemampuannya untuk mengidentifikasi senyawa-senyawa secara spesifik dan sensitif, sehingga dapat digunakan untuk memisahkan senyawa-senyawa yang sangat kompleks dalam sebuah sampel (Kartika Fitri & Proborini, 2018).

2.4 Antibiotik Ciprofloxacin

Sebagai anggota keluarga antibiotik fluorokuinolone dan memiliki spektrum luas, *ciprofloxacin* dapat digunakan untuk mengobati berbagai bakteri gram positif dan gram negatif. Badan Pengawas Obat dan Makanan Amerika Serikat (FDA) telah memberikan persetujuan obat tersebut untuk pengobatan infeksi saluran cerna dan saluran pernapasan bawah, antraks, wabah penyakit, salmonellosis, infeksi kulit, tulang, dan sendi, prostatitis, demam tifoid, dan infeksi menular seksual seperti gonore dan chancroid. Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) juga menyarankannya sebagai pengobatan lini kedua untuk tuberkulosis (TB) yang resistan terhadap beberapa obat. Beberapa bakteri seperti *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas aeruginosa* telah menunjukkan

peningkatan resistansi terhadap *ciprofloxacin*. Tiga mekanisme resistansi *ciprofloxacin* telah ditemukan yaitu, mutasi target obat (seperti DNA girase dan DNA topoisomerase IV), mutasi yang membatasi akumulasi obat dan plasmid yang melindungi sel dari efek mematikan *ciprofloxacin* (Shariati *et al.*, 2022).

Ciprofloxacin memiliki berat molekul 331,346 g/mol dengan rumus molekul $C_{17}H_{18}FN_3O_3$ (Sumampouw, 2018). Mekanisme kerja antibakteri kuinolon, termasuk *ciprofloxacin* memiliki sifat bakterisidal yaitu kemampuan membunuh bakteri, melibatkan gangguan replikasi dan transkripsi DNA melalui penghambatan DNA bakteri girase (topoisomerase II) dan DNA topoisomerase IV, dan selanjutnya mencegah pelepasan dan penggandaan DNA bakteri. Dengan demikian, kompleks DNA-enzim kuinolon terbentuk, menyebabkan produksi racun seluler dan kematian sel (Masadeh *et al.*, 2014).



Sumber: Shariati *et al.*, (2022, Gambar 2.2).

Gambar 2.2 Struktur Kimia *Ciprofloxacin*

2.5 MRSA (*Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*)

2.5.1 Morfologi MRSA

Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) merupakan bakteri gram positif yang memiliki bentuk bulat kadang-kadang menyerupai buah anggur, dan tersusun bergerombol yang tidak beraturan dengan diameter 0,8-1,0 μm , tidak dapat bergerak dan tergolong bakteri aerob sampai anaerob fakultatif. Bakteri *Staphylococcus aureus* dapat bertahan hidup dalam kondisi kering, pada suhu panas 50°C selama 30 menit dan dalam larutan NaCl 9%. Pada media sederhana koloni berbentuk bulat dengan diameter 1-2 mm, memiliki warna putih hingga kuning keemasan, tepi utuh, kenaikan permukaan melengkung dan tekstur halus, basah dan *opaque* (Rollando, 2019). Kromosomnya terdiri dari DNA berserat ganda, ekstra

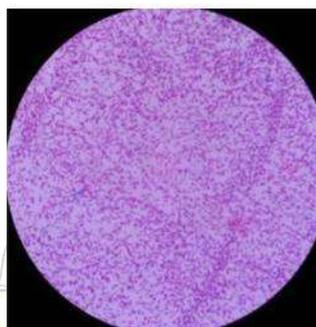
kromosomal, tanpa nukleosom (plasmid), dan ribosom 70s dan tersusun dari subunit 30s dan 50s. Membran sitoplasma terdiri dari dua lapisan lemak atau kolesterol. Kapsul bakteri ini terdiri dari polisakarida, pili, dan *fimbrae*. Bentuk sel dipengaruhi oleh dinding sel bakteri yang kompleks dan tidak elastis. Komponen pada dinding sel bakteri *Staphylococcus aureus* meliputi *peptidoglycan*, *teichoic acid*, dan *lipoteichoic acid* (Sayogo *et al.*, 2017).

2.5.1 Penatalaksanaan Terapi Infeksi Bakteri MRSA

Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) adalah strain *Staphylococcus aureus* yang resistan terhadap antibiotik metisilin dan golongan beta laktam (Syarif *et al.*, 2023). Resistansi terjadi karena bakteri memperoleh gen *mecA* yang mampu mengkode protein *Penicilin-Binding Protein 2a* (PBP2a) menyebabkan afinitasnya rendah sehingga bakteri kurang sensitif terhadap antibiotik tersebut (Tamhid *et al.*, 2017). Pneumonia, meningitis, empiema, mastitis, infeksi kulit, osteomielitis, endokarditis, dan sepsis merupakan contoh infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus*. Infeksi *Staphylococcus aureus* juga dapat terjadi pada luka bakar dan luka bedah, dimana toksin yang dihasilkan dapat menyebabkan *toxic shock syndrome* sehingga mengakibatkan terjadinya demam, sakit, dan dalam beberapa kasus kematian (Nurani *et al.*, 2018). Penyebab utama infeksi nosokomial salah satunya adalah MRSA. Terdiri dari dua jenis MRSA yaitu MRSA yang diperoleh di rumah sakit (*Hospital Acquired MRSA/HA-MRSA*) dan MRSA yang diperoleh pada masyarakat (*Community Acquired MRSA/CA-MRSA*). Infeksi MRSA di perawatan kesehatan dikaitkan dengan peningkatan angka kematian, durasi perawatan yang lebih lama, dan biaya perawatan yang lebih tinggi (I. W. Rahman *et al.*, 2023).

Terapi yang digunakan untuk HA-MRSA sebagai pilihan utama yaitu *vancomycin* atau pilihan alternatif seperti *ceftaroline*, *daptomycin*, *linezolid*, *telavancin*, *tigecycline*, *trimethoprim-sulfamethoxazole*, *quinupristin-dalfopristin* sedangkan terapi yang digunakan untuk CA-MRSA sebagai pilihan utama yaitu *clindamycin*, *trimethoprim-sulfamethoxazole*, *doxycycline* atau pilihan alternatif seperti *ceftaroline*, *dalbavancin*, *daptomycin*, *linezolid*, *oritivancin*, *tedizolid*,

telavancin, *tigecycline*, atau *vancomycin* (DiPiro *et al.*, 2020). *Vancomycin* yang sebelumnya digunakan sebagai obat pilihan MRSA kini mulai tersubstitusi karena meningkatnya resistansi. Berbeda dengan antibakteri β -laktam, resistansi *Staphylococcus aureus* terhadap *vancomycin* dan antibakteri glikopeptida lainnya membutuhkan waktu 40 tahun untuk berkembang. Obat ini juga memerlukan pemantauan obat terapeutik (TDM) dalam penggunaannya karena nefrotoksisitasnya yang tinggi (Miladiyah & Rachmawaty, 2017).



Sumber: Nurjihan *et al.*, (2017, Gambar 2.3).

Gambar 2.3 Mikroskopis bakteri MRSA pada Pembesaran 40x10

2.6 Kombinasi Minyak Atsiri dan Antibiotik Terhadap Pertumbuhan MRSA

Kombinasi antara antibiotik dan minyak atsiri merupakan strategi yang menjanjikan dalam pengobatan dan pengendalian infeksi yang disebabkan oleh bakteri yang resistan terhadap banyak obat yang diharapkan mampu meningkatkan efektivitas terapi dari antibiotik (Kwiatkowski *et al.*, 2020). Penggunaan kombinasi juga dapat untuk menurunkan dosis antibiotik sehingga mengurangi kemungkinan toksisitas, tetapi dengan daya kerja yang hampir sama dengan antibiotik (A'lana *et al.*, 2017).

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan Hriouech *et al.*, (2020) membuktikan aktivitas sinergis kombinasi antibiotik β -laktam (amoksisilin/asam klavulanat, AMC) dengan *1,8-cineole* atau *eucalyptol* yang terdapat di beberapa minyak atsiri seperti globulus minyak atsiri kayu putih dalam melawan strain MRSA dimana penelitian serupa juga dilakukan oleh Kwiatkowski *et al.*, (2020) menunjukkan bahwa kombinasi *1,8-cineole* dengan *penicillin G* menunjukkan efek sinergis terhadap strain MRSA. Selanjutnya, hasil penelitian dari Kwiatkowski *et*

al., (2020) juga menunjukkan aktivitas sinergis dan aditif dalam kombinasi *linalyl asetat* yang terdapat di banyak minyak atsiri seperti lemon, *clary sage*, atau lavender dengan *methicillin* dan *penicillin G* masing-masing terhadap strain MRSA. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Tamhid *et al.*, (2017) menunjukkan bahwa kombinasi minyak kulit batang kayu manis dan antibiotik *ampicillin* memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri MRSA dengan daya hambat yang diperoleh sebesar 23,67 mm diuji dengan metode difusi. Dalam penelitian yang dilakukan oleh Sreepian *et al.*, (2022), kombinasi minyak atsiri *Citrus reticula* dan *gentamicin* menunjukkan interaksi sinergis dengan nilai FICI 0,012–0,258 di antara sebagian besar isolat MRSA (3/5, 60,0%). Kemudian, kombinasi minyak atsiri *Citrus aurantifolia* dan *gentamicin* menunjukkan interaksi sinergis dengan nilai FICI 0,012-0,016 hanya pada 2 isolat MRSA (2/5, 40,0%). Demikian pula, kombinasi *limonene* dan *gentamicin* menunjukkan interaksi sinergis dengan nilai FICI 0,012-0,375 di hampir semua isolat MRSA (4/5, 80,0%). Tidak ada efek antagonis yang diamati pada kombinasi minyak atsiri *Citrus reticula*, minyak atsiri *Citrus aurantifolia*, atau *limonene*. Penelitian yang dilakukan oleh El-Kalek & Mohamed, (2012) menunjukkan aktivitas antimikroba dari kombinasi minyak sereh dan antibiotik *amoxicillin* memberikan efek sinergis terhadap semua MRSA yang diteliti dengan nilai FICI 0,82-0,86.

2.7 Pengujian Antibakteri dengan Metode Dilusi

Metode dilusi dibagi menjadi dua, yaitu dilusi cair dan padat. Metode dilusi cair digunakan untuk mengukur MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) dengan membuat seri pengenceran agen antibakteri pada medium cair yang ditambahkan dengan bakteri uji sedangkan metode dilusi padat digunakan untuk menentukan MBC (*Minimum Bactericidal Concentration*) yang dilakukan dengan menginokulasi bakteri uji pada media agar yang mengandung agen antibakteri (Fitriana *et al.*, 2020). Dilusi cair terdiri dari makrodilusi dan mikrodilusi, yang pada dasarnya pengerjaannya sama hanya menggunakan volume yang berbeda. Makrodilusi menggunakan volume lebih dari 1 ml, sedangkan mikrodilusi menggunakan volume antara 0,05 ml dan 0,1 ml (Soleha, 2015).

Antibakteri yang digunakan disediakan pada berbagai macam pengenceran dalam satuan $\mu\text{g/ml}$. Metode makrodilusi adalah pengembangan dari metode dilusi cair yang menggunakan media, bakteri, dan senyawa uji dalam jumlah volume yang lebih banyak dengan menggunakan tabung reaksi diinokulasikan dengan inokulum yang setara dengan standar *McFarland* 0,5 dan diinkubasi pada kondisi yang sesuai. Metode ini dilakukan dengan mengamati kekeruhan larutan pada tabung reaksi sebagai nilai kerapatan optik (*optical density/OD*) dengan menggunakan instrumen *McFarland* densitometer yang diaplikasikan dalam nilai *turbidity/kekeruhan*. Keuntungan dari prosedur makrodilusi yaitu menghasilkan hasil kuantitatif yaitu MIC. Kerugian utama dari metode makrodilusi yaitu prosedur dilakukan secara manual, memungkinkan terjadi kesalahan dalam menyiapkan sampel, jumlah reagen serta ruangan yang dibutuhkan untuk setiap pengujian relatif besar (Jorgensen & Ferraro, 2009).

2.8 MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*)

Minimum Inhibitory Concentration (MIC) dan *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) adalah salah satu dasar penentuan antimikroba secara *in vitro*. MIC merupakan konsentrasi terendah dari suatu antimikroba yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri (Saputera *et al.*, 2019). Nilai MIC merupakan salah satu parameter yang digunakan untuk menentukan kemampuan antibiotik sebagai agen bakterisidal (Sanjaya *et al.*, 2022). Secara umum untuk menentukan MIC, pengenceran antimikroba biasanya dilakukan dengan menurunkan konsentrasi setengahnya, seperti 16,8,4,2,1,0,5,0,25 $\mu\text{g/ml}$. MIC ditunjukkan dengan jernihnya medium uji, baik dilihat secara visual atau dengan alat semiotomatis dan otomatis yang disebut juga sebagai nilai KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) (Soleha, 2015). (Sanjaya *et al.*, 2022).

Berikut merupakan rumus perhitungan persentase pertumbuhan bakteri dalam penentuan nilai MIC:

$$\% \text{Pertumbuhan bakteri} = \frac{OD \text{ drug combination well} - OD \text{ background}}{OD \text{ drug free well} - OD \text{ background}} \times 100\% \dots\dots\dots (2.1)$$

(Sumber : Bellio *et al.*, 2021)

Keterangan :

OD _{drug combination well} : Kekeruhan kombinasi

OD _{background} : Kekeruhan kontrol media

OD _{drug free well} : Kekeruhan kontrol negatif

Dari data tersebut juga dimungkinkan untuk menghitung *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) untuk setiap kombinasi. MIC didefinisikan sebagai konsentrasi obat terendah, yang mengurangi pertumbuhan bakteri hingga lebih dari 80% (Bellio *et al.*, 2021).

2.9 FICI (*Fractional Inhibitory Concentration Index*)

Fractional Inhibitory Concentration Index (FICI) adalah nilai yang dapat menunjukkan karakteristik dari suatu kombinasi antibakteri (Apridamayanti *et al.*, 2021). FICI juga dapat menunjukkan indeks aktivitas penghambatan dari kombinasi senyawa antibiotik dan bahan alam (A'lana *et al.*, 2017). Nilai FICI akan menunjukkan efek kombinasi sebagai berikut:

Tabel 2.1 Karakteristik Kombinasi Berdasarkan Nilai FICI

Nilai FICI	Karakteristik
$\leq 0,5$	Sinergis
$0,5 > x \leq 1$	Aditif
$1 > x \leq 4$	<i>Indifferent</i>
> 4	<i>Antagonis</i>

Sumber : Adaszyńska-Skwirzyńska *et al.*, (2023)

Dalam interpretasi pengaruh gabungan minyak atsiri dan antibiotik, nilai MIC dibandingkan pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. Setelah nilai MIC masing-masing diketahui, nilai *Fractional Inhibitory Concentration* (FIC)/Kadar Hambat Fraksional (KHF) dan FICI/Kadar Hambat Fraksional Indeks (KHFI) dihitung untuk mengetahui apakah aktivitas sinergis, *additive*, *indifferent*, atau antagonis terjadi pada kombinasi minyak atsiri dan antibiotik (Jazmin *et al.*, 2018). Penentuan nilai FICI dapat menggunakan rumus sebagai berikut:

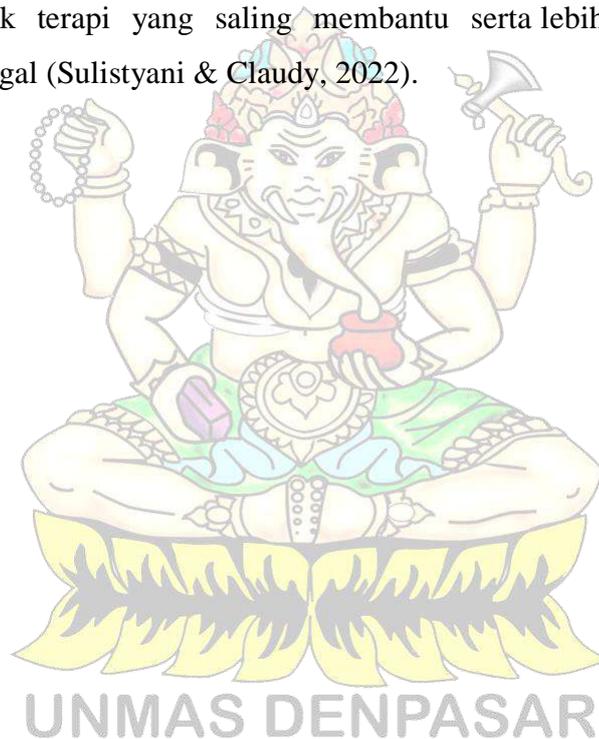
$$FIC_{\text{Minyak Cengkeh}} = \frac{\text{Nilai MIC minyak cengkeh kombinasi ciprofloxacin}}{\text{Nilai MIC minyak cengkeh tunggal}} \dots\dots\dots(2.1)$$

$$FIC_{\text{Amoxicillin}} = \frac{\text{Nilai MIC ciprofloxacin kombinasi minyak cengkeh}}{\text{Nilai MIC Ciprofloxacin tunggal}} \dots\dots\dots(2.2)$$

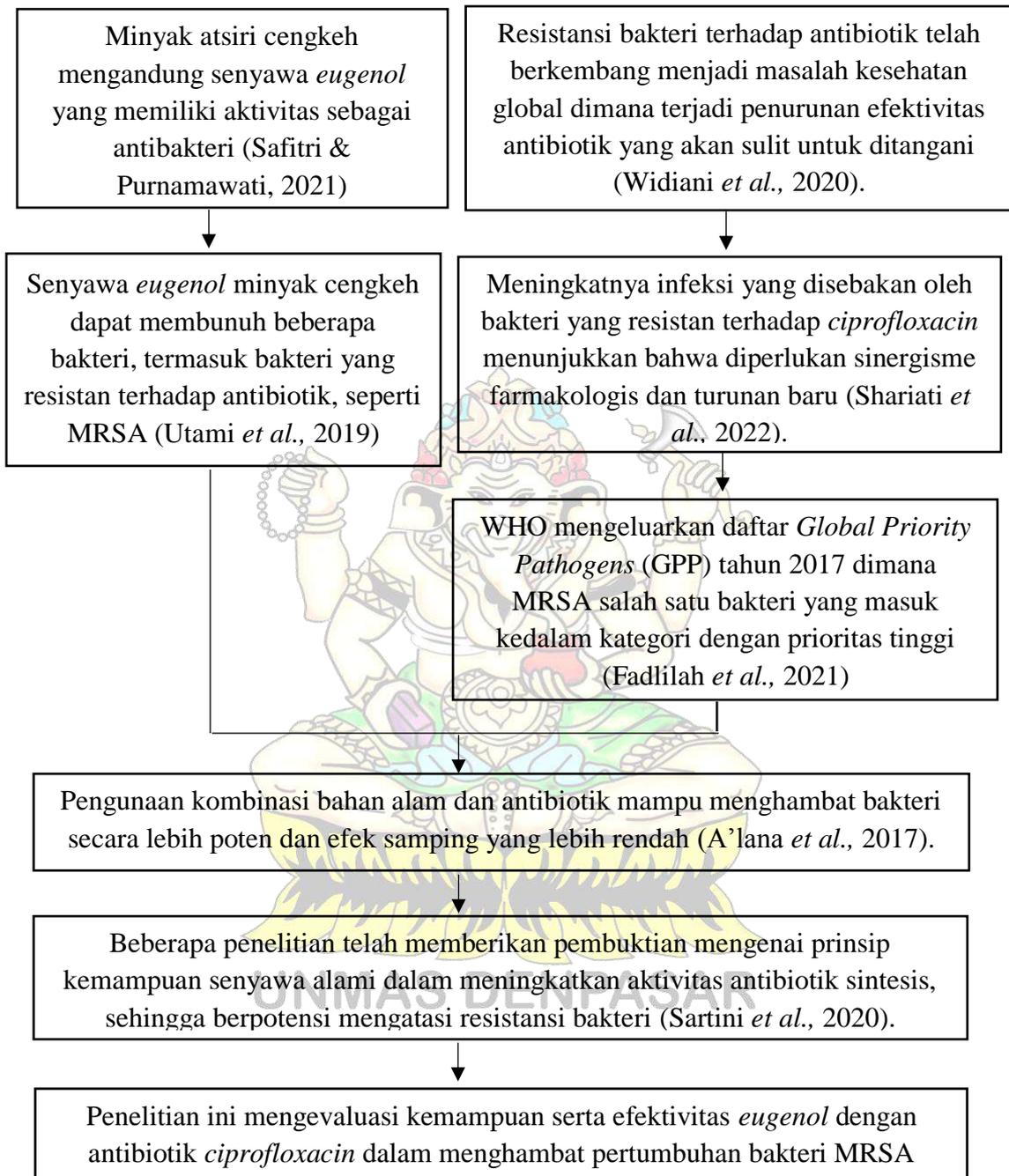
$$FICI = \text{Nilai } FIC_{\text{Minyak Cengkeh}} + \text{Nilai } FIC_{\text{Ciprofloxacin}} \dots\dots\dots(2.3)$$

(Adaszyńska-Skwirzyńska *et al.*, 2023).

Nilai FICI yang menunjukkan memiliki sifat aditif dan sinergis dapat meningkatkan aktivitas antibiotik (Apridamayanti *et al.*, 2021). Efek sinergis menunjukkan bahwa penggunaan minyak atsiri dan antibiotik bersama-sama dapat memberikan efek terapi yang saling membantu serta lebih efektif daripada penggunaan tunggal (Sulistiyani & Claudy, 2022).

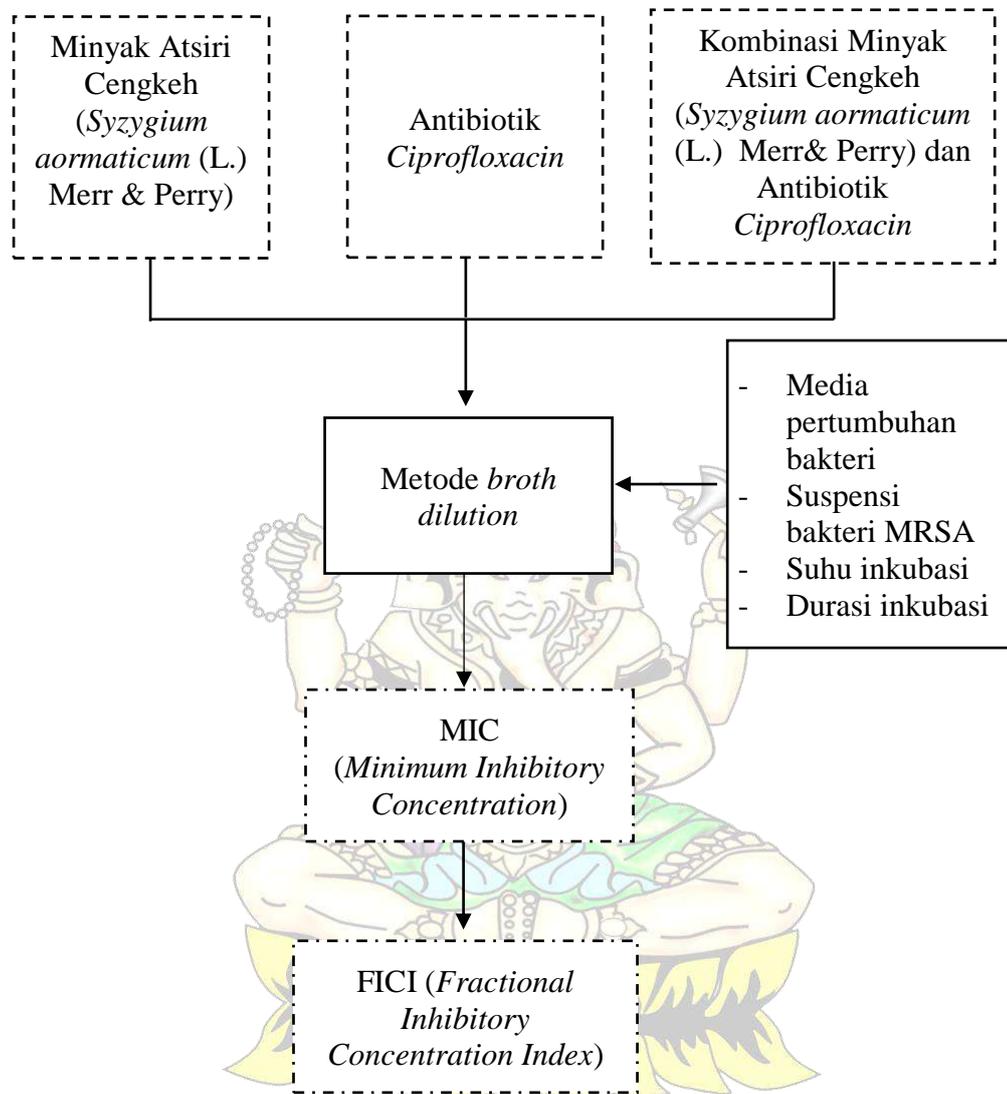


2.10 Kerangka Teori



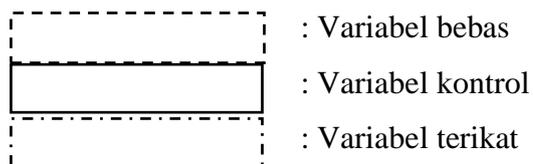
Gambar 2.4 Kerangka Teori

2.11 Kerangka Konsep



Gambar 2.5 Kerangka Konsep

Keterangan :



2.12 Hipotesis

1. Diduga minyak cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr & Perry) mengandung *eugenol* sebagai senyawa dengan konsentrasi tertinggi berdasarkan analisis dengan GC-MS.
2. Diduga kombinasi minyak cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr & Perry) dan antibiotik *ciprofloxacin* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)
3. Diduga terdapat interaksi dari kombinasi minyak cengkeh (*Syzygium aromaticum* L. Merr & Perry) dan antibiotik *ciprofloxacin* dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)

