

Aktivitas Antimikrob Minyak Atsiri dan Potensinya sebagai Antiseptik

Antimicrobial Activities of Essential Oils and Their Potential as Antiseptics

IRA MEYLAN NAFARAH RAKHMAN, JEPRI AGUNG PRIYANTO, RIKA INDRI ASTUTI*

Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Dramaga, Bogor 16680

Diterima 7 Januari 2024/Diterima dalam Bentuk Revisi 2 April 2024/Disetujui 4 April 2024

Pathogenic bacterial infection is one of the leading causes of mortality worldwide. Essential oil-based antiseptic is needed to prevent pathogenic infection. This study aimed to analyze the antimicrobial activity of essential oils and their antiseptic potential. The essential oils used were clove oil, patchouli oil, citronella oil, ginger oil, and nutmeg oil. These oils had various antibacterial activities with inhibition zones ranging from 0.3-1.2 cm against *Escherichia coli* [ATCC 8739], *Pseudomonas aeruginosa* [ATCC 15442], and *Staphylococcus aureus* [ATCC 6538], as tested by agar diffusion method. Nutmeg oil had the largest inhibition zone against of three targeted bacteria. Supporting this result, cell viability test showed nutmeg oil in concentration of 500 ppm and 1,000 ppm could inhibit the growth *S. aureus* up to 62% and 100%, respectively. Analysis of standardized antiseptic based on SNI: EN 1040:2005 proved that nutmeg oil can be used as antiseptic candidate because it was able to reduce the *S. aureus* more than $5\log_{10}$ after contact for 1 minute. Our data indicate nutmeg oil can potentially to be applied as an antimicrobial agent and an ingredient of antiseptic products.

Key words: antimicrobial, antiseptics, essential oil, pathogenic bacteria SNI : EN 1040:2005

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi masih menjadi masalah kesehatan yang utama di beberapa negara. Salah satu penyebab infeksi adalah adanya pertumbuhan bakteri patogen, diantaranya *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Bakteri *S. aureus* merupakan bakteri Gram positif yang merugikan dan membahayakan manusia karena sifatnya yang patogen menyebabkan infeksi. Infeksi bakteri *S. aureus* melalui kulit yang luka kemudian bermigrasi langsung dengan darah (Tong *et al.* 2015). Beberapa penyakit infeksi yang disebabkan oleh *S. aureus* adalah bisul, jerawat, impetigo, dan infeksi luka pada kulit (Chen dan Huang 2014). Bakteri *E. coli* merupakan salah satu bakteri penyebab infeksi saluran pencernaan makanan pada manusia, hewan. Infeksi yang disebabkan oleh *E. coli* dapat menyebabkan infeksi pada saluran kemih, diare, sepsis, dan meningitis (Vila *et al.* 2016). Bakteri *P. aeruginosa* dapat menyebabkan infeksi seperti pada saluran pernapasan, saluran kemih, kulit, jaringan

lunak, dan keratitis bakteri (Christine *et al.* 2018; Reynolds dan Kollef 2021).

Pengobatan penyakit infeksi umumnya dilakukan dengan menggunakan antibiotik. Penggunaan antibiotik yang tidak sesuai prosedur dapat menyebabkan resistensi bakteri terhadap antibiotik tersebut (Larsson dan Flach 2021; Murray *et al.* 2022). Salah satu strategi penting dalam pengendalian penyakit infeksi adalah melalui tindakan pencegahan. Tindakan pencegahan ini dapat dilakukan melalui aplikasi produk antimikrob. Beberapa senyawa bioaktif yang memiliki aktivitas antimikrob dapat digunakan untuk menghambat bakteri patogen. Senyawa antimikrob tersebut dapat dikembangkan menjadi produk anti-patogen, salah satunya sebagai antiseptik. Antiseptik adalah zat-zat kimia yang memiliki khasiat mematikan atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen, sedangkan toksisitasnya bagi manusia kecil (Sopyan *et al.* 2020). Salah satu senyawa bioaktif yang memiliki aktivitas antimikrob adalah minyak atsiri (Puškárová *et al.* 2017; Valdivieso-Ugarte *et al.* 2019).

Minyak atsiri merupakan salah satu komoditi Indonesia baik untuk pasar lokal maupun pasar ekspor. Minyak atsiri termasuk minyak volatile hasil

*Penulis korespondensi:

E-mail: rikaindriastuti@apps.ipb.ac.id

metabolisme sekunder tumbuhan yang diperoleh dari bagian tumbuhan seperti bunga, daun, biji, kulit kayu, buah-buahan dan akar. Minyak atsiri yang berasal dari rempah-rempah berpotensi untuk dikembangkan sebagai bahan pengawet karena memiliki aktivitas antimikrob dengan spektrum luas terhadap bakteri (Pandey *et al.* 2016). Lebih dari 40 jenis minyak atsiri yang sudah dikenali, 15 jenis diantaranya telah diproduksi dan menjadi komoditi ekspor Indonesia, termasuk minyak nilam (*patchouli oil*), minyak pala (*nutmeg oil*), minyak jahe (*ginger oil*). Indonesia mengisi pangsa pasar dunia untuk patchouli oil sebesar 64%, nutmeg oil sebesar 72%, dan ginger oil sebesar 0,4% (Rahmi *et al.* 2021). Minyak atsiri umumnya digunakan sebagai bahan obat-obatan, parfum, kosmetika, sabun, detergen, flavor dalam pangan dan aroma terapi (Saad *et al.* 2013).

Minyak atsiri yang digunakan pada penelitian ini adalah minyak cengkeh, minyak nilam, minyak serai, minyak jahe, dan minyak pala. Eksplorasi aktivitas antimikrob dari minyak atsiri tersebut telah dilaporkan pada penelitian sebelumnya (Nazzaro *et al.* 2013; Pandey *et al.* 2016; Ahmed Khalil *et al.* 2017; Chouhan *et al.* 2017). Namun belum terdapat informasi terkait potensinya sebagai komponen antiseptik terstandar. Oleh karena itu, tujuan dari penelitian ini adalah menguji aktivitas antimikrob dari minyak atsiri serta mengevaluasi potensinya sebagai antiseptik melalui analisis terstandar SNI: EN 1040: 2005 (BSN 2020).

BAHAN DAN METODE

Minyak Atsiri, Penyiapan Medium dan Kultivasi Bakteri Patogen. Minyak cengkeh, minyak nilam, minyak serai, minyak jahe, dan minyak pala yang digunakan dalam penelitian ini didapatkan dari PT. Sinkona Indonesia Lestari di Subang, Jawa Barat. Minyak atsiri yang digunakan telah terdestilasi. Koloni murni bakteri *E. coli* [ATCC 8739], *S. aureus* [ATCC 6538], dan *P. aeruginosa* [ATCC 15442] (koleksi lab Mikrobiologi, Biologi IPB) pada media miring *Trypticase Soy Agar* (TSA) diambil 1 ose dan dipindahkan ke media 50 ml *Trypticase Soy Broth* (TSB) cair. Selanjutnya, kultur diinkubasi selama 24 jam, 37°C. Stok kultur disiapkan dengan meremajakan isolat uji pada medium TSA dan diinkubasi di inkubator selama 24 jam, 37°C. Kultur stok kemudian disimpan dalam lemari pendingin.

Uji Antimikrob dengan Uji Cakram. Uji aktivasi antimikrob minyak atsiri dilakukan dengan menginokulasikan tiga bakteri target berumur 24 jam ke medium TSA yang masih cair. Media tersebut selanjutnya dituangkan ke dalam cawan petri dan didiamkan hingga memadat. Kertas cakram yang

telah ditetesi dengan minyak atsiri 10 µL, antibiotik ciprofloxacin 10 µL (0,01% (b/v)), dan akuades steril 10 µL diletakkan di atas permukaan media agar TSA yang telah diinokulasikan dengan bakteri patogen. Cawan petri selanjutnya diinkubasi selama 48 jam, 37°C di dalam inkubator. Zona hambat yang terbentuk selanjutnya diukur menggunakan penggaris dan dinyatakan dalam satuan sentimeter (cm) (Badan Standarisasi Nasional, BSN 2020) (Dany *et al.* 2023).

Uji Penghambatan Pertumbuhan Bakteri Patogen. Analisis pengaruh minyak atsiri terhadap pertumbuhan bakteri target dilakukan dengan teknik *Total Plate Count* (TPC) dan menghitung nilai *Optical Density* (OD) menggunakan spektrofotometer. Pengujian TPC menggunakan media agar TSA. Kultur bakteri patogen dipersiapkan dengan mengkulturkan bakteri patogen pada OD_{660nm} awal 0,5 untuk volume akhir kultur 10 ml pada medium TSB. Kultur bakteri patogen kemudian ditambahkan minyak atsiri berbagai konsentrasi (100 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 750 ppm, dan 1000 ppm). Kultur kemudian diinkubasi selama 4 dan 24 jam, suhu 37 °C. Jumlah koloni sel yang tumbuh dan nilai OD dihitung setelah inkubasi. Perhitungan kultur jumlah sel setelah inkubasi diencerkan secara serial menggunakan larutan garam fisiologis (0,85% NaCl). Sebanyak 100 µL kultur di setiap pengenceran kemudian disebar pada media TSA dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Jumlah koloni sel bakteri patogen yang tumbuh kemudian dihitung. Berdasarkan data konsentrasi sel yang telah diperoleh, maka dibuat kurva standar hubungan antara penurunan persentase konsentrasi bakteri dengan konsentrasi minyak atsiri. Nilai *Lethal Doses-50* (LD50) kemudian ditentukan berbasis kurva standar tersebut (Balouiri *et al.* 2016). Penghitungan nilai penurunan presentase OD pada tiap konsentrasi minyak atsiri dapat dihitung dengan mengurangi nilai OD akhir dengan nilai OD awal inkubasi (dalam bentuk %). Penghitungan nilai LD-50 dapat menggunakan grafik regresi linier dengan rumus $y = a + bx$. Nilai regresi linier yang dapat digunakan untuk uji selanjutnya adalah $R^2 > 0,90\%$.

Uji Antiseptik (SNI: EN 1040: 2005). Uji ini merupakan uji standar aktivitas bakterisidal dari antiseptik. Sebanyak 1 ml suspensi bakteri target disuplementasi dengan 8 ml minyak atsiri dan ditambahkan 1 ml akuades steril. Suspensi dicampurkan dan diinkubasi selama 1 menit selanjutnya diambil 1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi baru yang berisi 1 ml aquades steril dan 8 ml larutan netralisasi (*Phosphate Buffer Saline*). Larutan tersebut dicampurkan dan diinkubasi selama 5 menit, sebanyak 1 ml arutan diinokulasi ke dalam cawan petri yang berisi media agar TSA dan diinkubasi selama 48 jam, 37°C. Kemampuan bakterisidal pada uji SNI: EN

1040:2005 ditunjukkan dengan adanya penurunan bakteri target dengan penurunan log reduksi sebesar $\geq 5 \log_{10}$.

HASIL

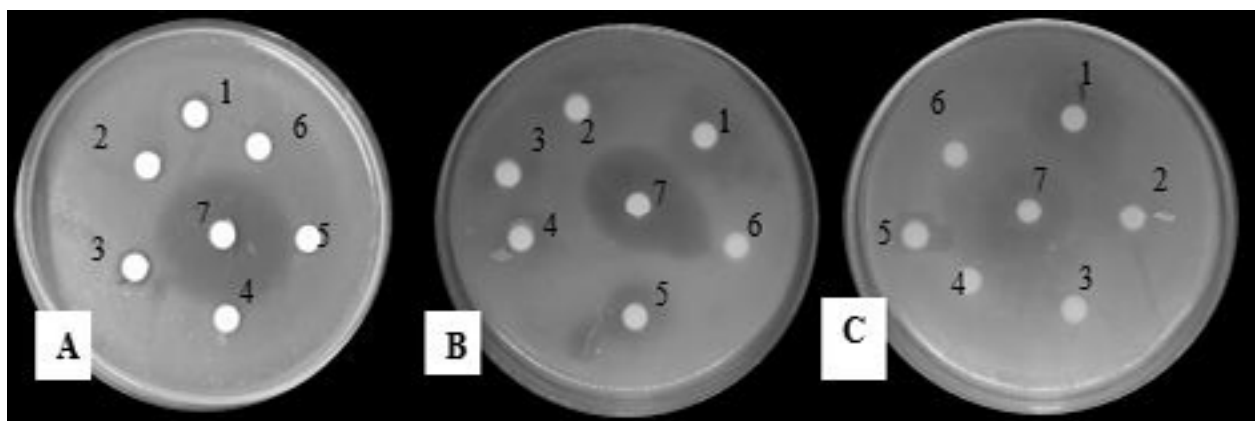
Aktivitas Antimikrob Minyak Atsiri. Lima jenis minyak atsiri yang digunakan dalam penelitian ini (minyak cengkeh, minyak nilam, minyak serai, minyak jahe, dan minyak pala) menunjukkan aktivitas antimikrob yang beragam. Setiap sampel yang diuji menghasilkan diameter zona hambat yang berbeda-beda yaitu berkisar antara 0,3-1,2 cm (Tabel 1). Pembentukan zona bening tersebut mengindikasikan adanya penghambatan pertumbuhan bakteri di sekitar kertas cakram (Gambar 1). Hal yang sama juga terlihat pada perlakuan kontrol positif menggunakan ciprofloxacin dengan diameter zona hambat yang lebih besar dibandingkan dengan sampel lainnya. Di sisi lain, zona hambat tidak terbentuk pada perlakuan akuades steril. Hasil uji ini menunjukkan kelima jenis minyak atsiri yang diuji mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri target dengan efektivitas penghambatan yang beragam (Gambar 1 dan Tabel 1). Minyak pala memiliki aktivitas antibakteri yang paling tinggi dibandingkan dengan 4 jenis minyak atsiri lainnya, baik terhadap *E. coli*, *P. aeruginosa*, maupun *S. aureus*.

Pengaruh Minyak Pala terhadap Pertumbuhan *S. aureus* [ATCC 6538]. Berdasarkan uji antimikrob sebelumnya, minyak pala memiliki aktivitas antimikrob terbaik terhadap *S. aureus*, sehingga minyak ini digunakan pada analisis selanjutnya. Uji ini dilakukan untuk mengetahui konsentrasi optimum minyak pala pada berbagai konsentrasi dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus*. Hasil uji menunjukkan semakin tinggi konsentrasi minyak pala, maka semakin menurun nilai OD atau kekeruhan sel. Perlakuan 1.000 ppm minyak pala menunjukkan penurunan persentase nilai OD tertinggi yakni sebesar 80% yang ditunjukkan pada Gambar 2.

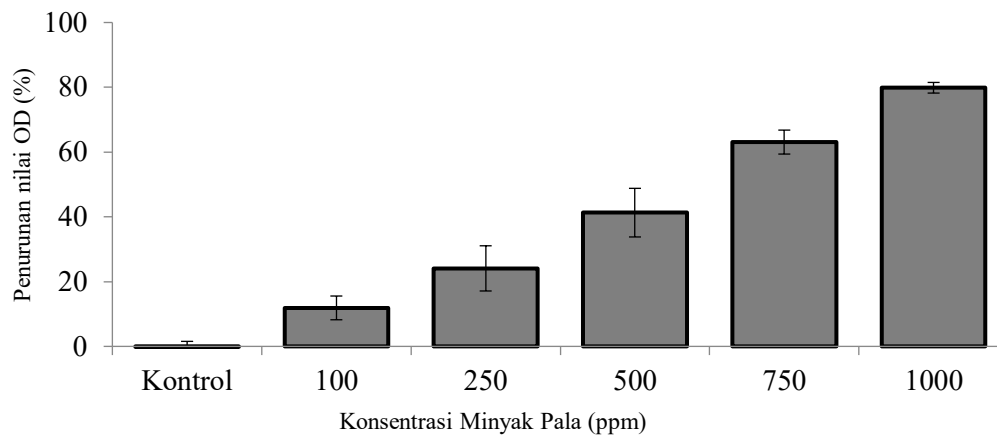
Selain berbasis pengukuran kekeruhan kultur (OD), evaluasi pengaruh aktivitas antimikrob minyak pala terhadap pertumbuhan *S. aureus* juga dianalisis dengan metode TPC pada media TSA. Hasil TPC menunjukkan bahwa penurunan jumlah koloni berkorelasi positif dengan peningkatan konsentrasi minyak pala yang digunakan dan penambahan waktu inkubasi. Penurunan jumlah koloni setelah inkubasi 24 jam lebih tinggi dibandingkan dengan waktu inkubasi 4 jam. Penurunan jumlah koloni tertinggi ditemukan pada perlakuan 1.000 ppm minyak pala baik setelah diinkubasi selama 4 jam maupun 24 jam dengan penurunan jumlah koloni berturut-turut 62% dan 93% (Tabel 2).

Tabel 1 Diameter zona hambat minyak atsiri terhadap bakteri patogen

Sampel	Diameter zona hambat (cm)		
	<i>P.a.</i> [ATCC 15442]	<i>S.a.</i> [ATCC 6538]	<i>E.c.</i> [ATCC 8739]
Antibiotik <i>ciprofloxacin</i>	3,2±0,3	1,9±0,1	2,4±0,5
Akuades steril	0	0	0
Minyak cengkeh	0,3±0,0	0,8±0,1	0,7±0,2
Minyak nilam	0,2±0,1	0,6±0,1	0,6±0,1
Minyak serai	0,3±0,2	0,4±0,2	0,3±0,0
Minyak jahe	0,4±0,2	0,6±0,1	0,4±0,2
Minyak pala	0,5±0,1	1,2±0,2	1,0±0,1



Gambar 1. Zona hambat minyak atsiri: pala (1), cengkeh (2), jahe (3), nilam (4), dan serai (5); terhadap bakteri patogen (A: *P. aeruginosa* [ATCC 15442]; B: *S. aureus* [ATCC 6538]; C: *E. coli* [ATCC 8739]). Perlakuan akuades steril (6) dan antibiotik ciprofloxacin (7) masing-masing didesain sebagai perlakuan kontrol negatif dan positif



Gambar 2. Penurunan Nilai OD (%) *S. aureus* setelah pemberian minyak pala dengan berbagai konsentrasi

Tabel 2 Pengaruh minyak pala terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* [ATCC 6538]

Konsentrasi minyak pala (ppm)	Rata-rata jumlah koloni (CFU/ml) ± standar deviasi		Penurunan jumlah koloni (%)	
	Jam ke-4	Jam ke-24	Jam ke-4	Jam ke-24
Kontrol	$5,8 \times 10^{12} \pm 6,6 \times 10^{10}$	$7,4 \times 10^{12} \pm 9,5 \times 10^{10}$	0	0
500	$3,6 \times 10^{12} \pm 1,9 \times 10^{11}$	$2,8 \times 10^{12} \pm 9,2 \times 10^{10}$	37	62
750	$2,3 \times 10^{12} \pm 2,6 \times 10^{11}$	$1,3 \times 10^{12} \pm 1,8 \times 10^{11}$	59	82
1.000	$2,0 \times 10^{12} \pm 9,2 \times 10^{10}$	$0,5 \times 10^{12} \pm 9,1 \times 10^{10}$	65	93

Kurva standar hubungan antara penurunan konsentrasi bakteri dengan perlakuan minyak pala tertera pada Gambar 3. Berdasarkan kurva standar tersebut diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi minyak pala, maka semakin tinggi persentase penurunan konsentrasi bakteri. Kurva standar tersebut dapat dihitung nilai *Lethal Doses-50*, yakni konsentrasi minyak pala yang mampu menurunkan 50% konsentrasi bakteri patogen. Nilai LD_{50} untuk perlakuan 4 jam dan 24 jam minyak atsiri masing-masing adalah 685,7 ppm dan 444,3 ppm.

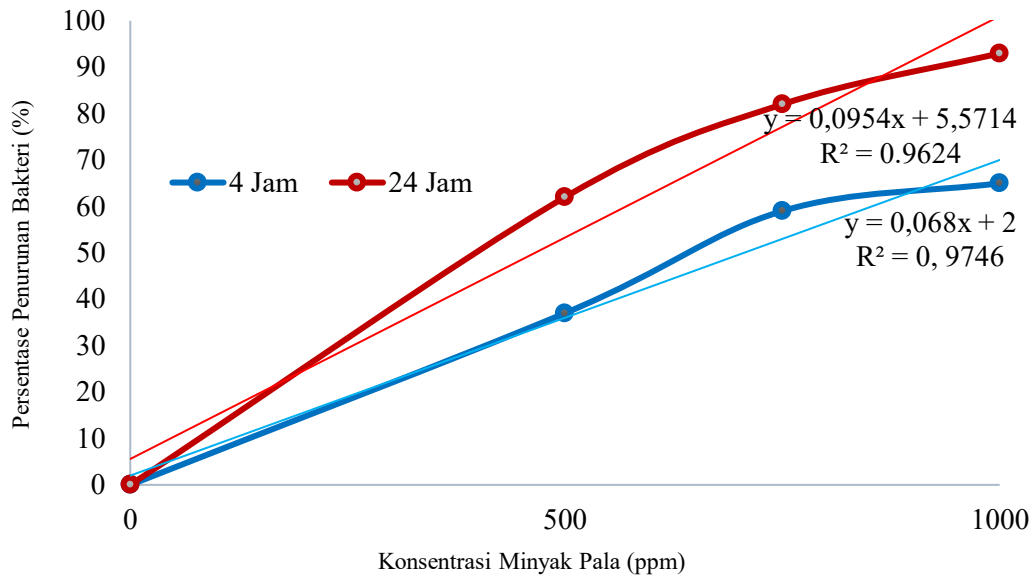
Kemampuan Minyak Pala sebagai Antiseptik (Uji SNI: EN 1040: 2005). Uji antiseptik merupakan uji standar aktivitas bakterisidal dari produk antiseptik. Indikator keberhasilan dari uji antiseptik ini adalah adanya pengurangan konsentrasi kultur bakteri sebanyak 5 log reduksi setelah kontak (5 menit) dengan produk antiseptik. Hasil uji berbasis SNI: EN 1040: 2005 mendapatkan hasil yang sejalan dengan standar uji. Hasil yang diperoleh pada ketiga konsentrasi tersebut mendapatkan penurunan pertumbuhan bakteri *S. aureus* sebesar 11,76 log reduksi, dimana lebih dari ketentuan standar uji yaitu 5 log reduksi (Tabel 3). Visualisasi hasil TPC dalam pengujian antiseptik sebelum dan sesudah kontak dengan minyak pala tertera pada Gambar 4 dan Gambar 5.

Hasil uji antiseptik pada minyak pala dengan konsentrasi paling rendah yakni 500 ppm dapat berpotensi sebagai antiseptik karena hasil log reduksi pada minyak pala sebesar 11,76 melebihi log reduksi

minimal sebesar 5 pada ketentuan uji SNI: EN 1040:2005. Sebelum terjadi kontak dengan minyak pala, bakteri *S. aureus* masih mengalami pertumbuhan dengan ditunjukkan pada hasil persebaran kultur pada agar cawan (Gambar 4). Hal ini terjadi karena tidak adanya kandungan minyak pala pada larutan kontrol. Namun, setelah terjadi kontak selama 1 menit, penurunan bakteri pada persebaran cawan sangatlah jelas dan hasilnya tidak terdapat koloni bakteri *S. aureus* pada cawan (Gambar 5).

PEMBAHASAN

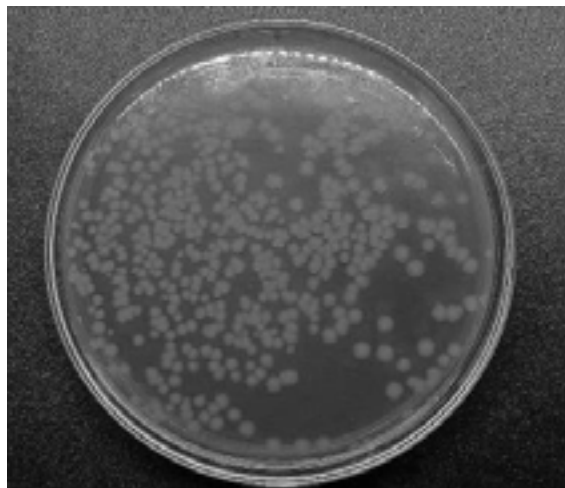
Aktivitas antibakteri minyak atsiri dievaluasi terhadap tiga bakteri target. Diameter daya hambat oleh minyak atsiri terhadap bakteri Gram negatif (*E. coli* dan *P. aeruginosa*) cenderung lebih kecil daripada rata-rata daya hambat pada bakteri Gram positif (*S. aureus*). Hal ini disebabkan karena bakteri Gram negatif mempunyai resistensi yang lebih baik terhadap senyawa antibakteri karena memiliki struktur dinding sel yang lebih kompleks. Dinding sel bakteri Gram positif sebagian besar tersusun atas peptidoglikan (95%), sedangkan dinding sel bakteri Gram negatif tersusun atas lipidprotein, lipopolisakarida dan hanya mengandung sedikit peptidoglikan (5-10%). Lapisan lipopolisakarida memperkuat rigiditas/kekakuan dinding sel bakteri Gram negatif melalui ikatan silang kationik intermolekuler (Nurhayati *et al.* 2020). Hal inilah yang menyebabkan bakteri Gram negatif menjadi lebih resisten sehingga lebih sulit untuk



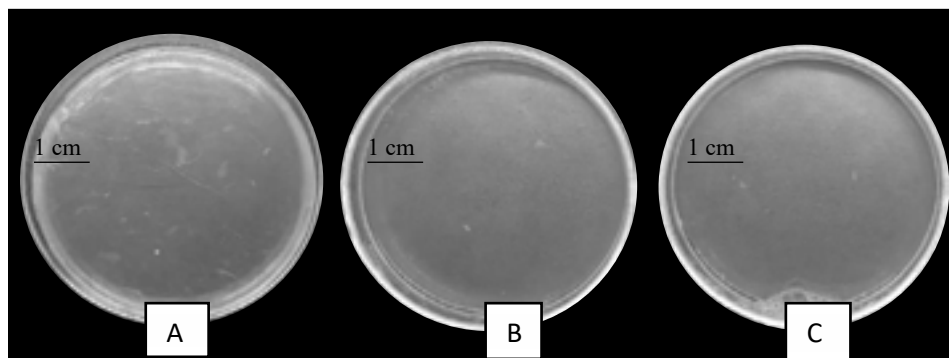
Gambar 3. Hubungan antara konsentrasi minyak pala dengan penurunan konsentrasi sel bakteri *Staphylococcus aureus* pada waktu inkubasi 4 dan 24 jam

Tabel 3. Hasil penurunan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* [ATCC 6538] pada uji antiseptik (Uji SNI: EN 1040: 2005)

Bakteri target	Diameter zona hambat (cm)					
	Konsentrasi minyak pala (ppm)	Sebelum kontak	Log ₁₀	Setelah kontak	Log ₁₀	Log reduksi
<i>S. aureus</i>	500	$5,7 \times 10^{12}$	12,76	<10	<1	>11,76
	750	$5,7 \times 10^{12}$	12,76	<10	<1	>11,76
	1.000	$5,7 \times 10^{12}$	12,76	<10	<1	>11,76



Gambar 4. Pertumbuhan koloni bakteri *Staphylococcus aureus* [ATCC 6538] sebelum kontak



Gambar 5. Pertumbuhan koloni bakteri *Staphylococcus aureus* setelah kontak dengan minyak pala dengan konsentrasi 500 ppm (A), 750 ppm (B), dan 1000 ppm (C)

ditembus oleh senyawa antibakteri (Larsson dan Flach 2021). Hal ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang melaporkan bahwa bakteri Gram negatif lebih resisten terhadap minyak atsiri dibandingkan dengan bakteri Gram positif (Semeniuc *et al.* 2017; Patterson *et al.* 2019).

Beberapa penelitian sebelumnya telah melaporkan kandungan utama minyak ini adalah Myristicin (4-methoxy-6-(2-propenyl) 1,3-benzodioxole sebanyak 12.93% (Rahmi *et al.* 2021). Senyawa tersebut telah terbukti mampu menghambat mikroba patogen *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus mutans*, dan *Candida albicans* (Setty *et al.* 2020). Selain itu, minyak ini juga memiliki beberapa kandungan lainnya, yaitu lemak, protein, dan senyawa fenolik berupa pektin dan flavonoid (Gupta *et al.* 2013). Kandungan flavonoid dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara merusak dinding sel dan merusak membran sel. Cincin beta dan gugus -OH pada flavonoid diduga sebagai struktur yang berperan dalam aktivitas antibakteri (Yuan *et al.* 2021; Shamsudin *et al.* 2022).

Pemberiaan minyak pala 1.000 ppm, secara nyata menurunkan kekeruhan kultur *S. aureus*. hal ini menandakan adanya penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri patogen tersebut. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak pala memiliki kandungan senyawa alkaloid, saponin, tannin, flavonoid, terpenoid yang dapat menghambat pertumbuhan *S. aureus* (Gupta *et al.* 2013; Setty *et al.* 2020). Hal ini juga diperkuat dengan penelitian lainnya yang menyatakan bahwa kandungan metabolisme sekunder tumbuhan yang memiliki senyawa flavonoid, alkaloid, steroid, tanin, saponin, antrakuinon dan terpenoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang memiliki sifat antibakteri (Mundy *et al.* 2016).

Melalui penelitian ini berhasil diungkap potensi minyak atsiri Indonesia. Lima jenis minyak atsiri (minyak pala, minyak nilam, minyak cengkeh, minyak jahe, dan minyak serai) memiliki aktivitas antimikrob yang beragam terhadap bakteri *S. aureus*, *E. coli*, dan *P. aeruginosa*. Minyak pala memiliki aktivitas antimikrob tertinggi terhadap semua jenis bakteri target dibandingkan dengan 4 jenis minyak atsiri lainnya. Aktivitas antimikrob tertinggi minyak tersebut adalah terhadap *S. aureus*. Minyak pala pada konsentrasi 500 ppm dan 1.000 ppm berturut-turut dapat menghambat pertumbuhan *S. aureus* hingga 62% dan 93% setelah 24 jam inkubasi. Analisis antiseptik terstandar berbasis SNI: EN 1040:2005 membuktikan bahwa minyak pala memenuhi persyaratan sebagai antiseptik karena mampu mereduksi densitas bakteri lebih dari 5log konsentrasi *S. aureus* setelah kontak selama 1 menit. Data penelitian ini menunjukkan bahwa minyak pala berpotensi digunakan sebagai

agen antimikrob dan bahan aktif penyusun produk antiseptik. Pada penelitian sebelumnya, menunjukkan hasil time-kill assay pada minyak pala dapat dimanfaatkan sebagai bahan aditif untuk mengurangi patogen dalam makanan karena aktivitas antibakteri yang bekerja dengan baik (Cui *et al.* 2015).

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed Khalil A, ur Rahman U, Rafiq Khan M, Amna Sahar, Tariq Mehmood, Muneeb Khan. 2017. Essential oil eugenol: sources, extraction techniques and nutraceutical perspectives. *RSC Adv* 7:32669–32681. DOI:10.1039/C7RA04803C
- Balouiri M, Sadiki M, Ibensouda SK. 2016. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: a review. *J Pharm Anal* 6:71. DOI:10.1016/J.JPHA.2015.11.005
- BSN. 2020. Standar Nasional Indonesia Disinfektan kimia dan antiseptik-Uji kuantitatif suspensi untuk evaluasi aktivitas baktericidal dasar pada disinfektan kimia dan antiseptik-Metode uji dan persyaratan (fase 1) Chemical disinfectants and antiseptics-Quantitative suspension test for the evaluation of basic bactericidal activity of chemical disinfectants and antiseptics-Test method and requirements (phase 1). :1–45.
- Chen CJ, Huang YC. 2014. New epidemiology of *Staphylococcus aureus* infection in Asia. *Clinical Microbiology and Infection* 20:605–623. DOI:10.1111/1469-0691.12705
- Chouhan S, Sharma K, Guleria S. 2017. Antimicrobial activity of some essential oils-present status and future perspectives. *Medicines* 4:58. DOI:10.3390/MEDICINES4030058
- Christine G, Budiarti S, Astuti RI. 2018. Diversity of urinary tract infection bacteria in children in Indonesia based on metagenomic approach. *Biodiversitas* 19: 1375-1381. DOI:10.13057/biodiv/d190425
- Cui H, Zhang X, Zhou H, Zhao C, Xiao Z, Lin L, Changzhu L. 2015. Antibacterial properties of nutmeg oil in pork and its possible mechanism. *J Food Saf* 35:370–377. DOI:10.1111/JFS.12184
- Dany RR, Astuti RI, Priyanto JA. 2023. The clove essential oil and its combination with galangal oil exhibit antibacterial activity, potential as antiseptic agent. *IOP Conf Ser Earth Environ Sci* 1271:012076. DOI:10.1088/1755-1315/1271/1/012076
- Gupta AD, Bansal VK, Babu V, Maithil N. 2013. Chemistry, antioxidant and antimicrobial potential of nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt). *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology* 11:25–31. DOI:10.1016/J.JGEB.2012.12.001
- Larsson DGJ, Flach CF. 2021. Antibiotic resistance in the environment. *Nature Reviews Microbiology* 20:257–269. DOI:10.1038/s41579-021-00649-x
- Mundy L, Pendry B, Rahman M. 2016. Antimicrobial resistance and synergy in herbal medicine. *J Herb Med* 6:53–58. DOI:10.1016/J.HERMED.2016.03.001
- Murray CJ, Ikuta KS, Sharara F, Swetschinski L, Robles Aguilar G, Gray A, Han C, Bisignano C, Rao P, Wool E, Johnson SC. 2022. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *The Lancet* 399:629–655. DOI:10.1016/S0140-6736(21)02724-0
- Nazzaro F, Fratianni F, De Martino L, Coppola R, De Feo V. 2013. Effect of essential oils on pathogenic bacteria. *Pharmaceuticals* 6:1451. DOI:10.3390/PH6121451
- Nurhayati LS, Yahdiyani N, Hidayatulloh A. 2020. Perbandingan pengujian aktivitas antibakteri starter yogurt dengan metode difusi sumuran dan metode difusi cakram. *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan* 1:41. DOI:10.24198/jthp.v1i2.27537
- Pandey AK, Kumar P, Singh P, Tripathi NN, Bajpai VK. 2016. Essential oils: sources of antimicrobials and food preservatives. *Front Microbiol* 7:2161. DOI:10.3389/FMICB.2016.02161
- Patterson JE, McElmeel L, Wiederhold NP. 2019. In vitro activity of essential oils against gram-positive and gram-negative clinical isolates, including carbapenem-resistant enterobacteriaceae. *Open Forum Infect Dis* 6: 1-4. DOI:10.1093/OFID/OFZ502
- Puškárová A, Bučková M, Kraková L, Pangallo D, Kozics K. 2017. The antibacterial and antifungal activity of six essential oils and their cyto/genotoxicity to human HEL 12469 cells. *Sci Rep* 7:1-11. DOI:10.1038/S41598-017-08673-9

- Rahmi D, Yunilawati R, Jati BN, Setiawati I, Riyanto A, Batubara I, Astuti RI. 2021. Antiaging and skin irritation potential of four main Indonesian essential oils. *Cosmetics* 8: 94. DOI:10.3390/COSMETICS8040094
- Reynolds D, Kollef M. 2021. The epidemiology and pathogenesis and treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections: an update. *Drugs* 81:2117–2131. DOI:10.1007/S40265-021-01635-6
- Saad NY, Muller CD, Lobstein A. 2013. Major bioactivities and mechanism of action of essential oils and their components. *Flavour Fragr J* 28:269-279. DOI:10.1002/FFJ.3165
- Semeniuc CA, Pop CR, Rotar AM. 2017. Antibacterial activity and interactions of plant essential oil combinations against gram-positive and gram-negative bacteria. *J Food Drug Anal* 25:403–408. DOI:10.1016/J.JFDA.2016.06.002
- Setty J, Srinivasan I, Sathiesh R, Kale M, Shetty V, Venkatesh S. 2020. *In vitro* evaluation of antimicrobial effect of *Myristica fragrans* on common endodontic pathogens. *J Indian Soc Pedod Prev Dent* 38:145–151. DOI:10.4103/JISPPD
- Shamsudin NF, Ahmed QU, Mahmood S, Shah SAA, Khatib A, Mukhtar S, Alsharif MA, Parveen H, Zakaria ZA. 2022. Antibacterial effects of flavonoids and their structure-activity relationship study: a comparative interpretation. *Molecules* 27:1-43. DOI:10.3390/MOLECULES27041149
- Sopyan I, Insan Sunan KS, Cikra Ikhdha NHS, Yasri Husaironi M. 2020. Disinfectant, antiseptic, and its use for infection. *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences* 11:1507–1516. DOI:10.26452/ijrps.v11i1sp11.3708
- Tong SYC, Davis JS, Eichenberger E, Holland TL, Fowler VG. 2015. *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Clin Microbiol Rev* 28:603–661. DOI:10.1128/CMR.00134-14/ASSET/CCDDEE5F-6E8B-4E7E-81D4-A80716493F86/ASSETS/GRAPHIC/ZCM0031525140001.JPG
- Valdivieso-Ugarte M, Gomez-Llorente C, Plaza-Díaz J, Gil Á. 2019. Antimicrobial, antioxidant, and immunomodulatory properties of essential oils: a systematic review. *Nutrients* 11:2786. DOI:10.3390/nu11112786
- Vila J, Sáez-López E, Johnson JR, Römling U, Dobrindt U, Cantón R, Giske CG, Naas T, Carattoli A, Martínez-Medina M, Bosch J. 2016. *Escherichia coli*: an old friend with new tidings. *FEMS Microbiol Rev* 40:437-463. DOI:10.1093/FEMSRE/FUW005
- Yuan G, Guan Y, Yi H, Lai S, Sun Y, Cao S. 2021. Antibacterial activity and mechanism of plant flavonoids to gram-positive bacteria predicted from their lipophilicities. *Scientific Reports* 11:1–15. DOI:10.1038/s41598-021-90035-7