

AKTIVITAS ANTIBAKTERI MINYAK ATSIRI RIMPANG JERINGAU (*Acorus calamus* Linn.) TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* DAN *Staphylococcus aureus*

Wiwik Susanah Rita*, I Wayan Suirta, Putu Prisanti Putri Utami

Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana, Kuta Bali-Indonesia

*susanah.rita@unud.ac.id

ABSTRAK: Isolasi minyak atsiri dari rimpang jeringau (*Acorus calamus* Linn) dan uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* (*E. coli*) dan *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) telah dilakukan. Ekstraksi minyak atsiri dilakukan dengan metode destilasi uap, uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode sumur difusi, dan identifikasi senyawa dilakukan dengan kromatografi gas-spektroskopi massa (KG-SM). Rendemen minyak yang dihasilkan sebesar 0,1653% (b/b) dengan berat jenis 1,066 g/mL. Minyak atsiri dengan konsentrasi 10% (v/v) menunjukkan aktivitas penghambatan yang kuat terhadap pertumbuhan *E. coli* dan *S. aureus* dengan diameter hambat masing-masing sebesar 11,33 mm dan 13,57 mm. Nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) minyak atsiri terhadap *E. coli* dan *S. aureus* masing-masing sebesar 4 dan 0,4% dengan zona hambat berturut-turut 6,67 dan 8,83 mm. Kandungan senyawa utama dalam minyak atsiri rimpang jeringau adalah eusaron dan asaron yang telah diketahui memiliki aktivitas sebagai antibakteri.

Kata kunci: Minyak atsiri, *Acorus calamus* Linn, Antibakteri, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*

ABSTRACT: Isolation of essential oils from rhizome of Jeringau (*Acorus calamus* Linn) and the antibacterial activity assay against *Escherichia coli* (*E. coli*) and *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) has been performed. Essential oil extraction was done by steam distillation method, antibacterial activity test was conducted by diffusion wells, and compound identification was conducted by gas chromatography-mass spectroscopy (GC-MS). The essential oils with a concentration of 10% (v/v) showed a strong inhibitory activity against the growth of *E. coli* and *S. aureus* with diameter inhibition of 11.33 mm and 13.57 mm respectively. Minimum inhibitory concentration (MIC) of the oils against *E. coli* and *S. aureus* was 4 and 0.4% respectively with the inhibition zone of 6.67 and 8.83 mm. The main compounds of the oils were eusaron and asaron known having antibacterial activity.

Keywords: Essential oils, *Acorus calamus* Linn, antibacterial activity, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*

1. PENDAHULUAN

Menurut *World Health Organization* (WHO) lebih dari 80% populasi dunia

bergantung pada obat tradisional untuk kebutuhan kesehatan primer mereka. Obat tradisional merupakan produk yang terbuat

dari bahan alam yang jenis dan sifat kandungannya sangat beragam dan secara turun temurun telah digunakan untuk pengobatan berdasarkan pengalaman yang dapat digunakan untuk mengobati penyakit kronis serta penyakit menular baik yang disebabkan oleh virus maupun bakteri [1].

Escherichia coli (*E. coli*) dan *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) merupakan bakteri patogen yang paling banyak menyerang manusia. Penyakit yang disebabkan oleh *E. coli* yaitu infeksi saluran kemih, diare, sepsis, dan meningitis. Penyakit yang disebabkan oleh *S. aureus* adalah jerawat, pneumonia, meningitis, dan arthritis [2].

Salah satu tanaman obat yang berkhasiat sebagai antibakteri adalah tanaman jeringau (*Acorus calamus* Linn.). Phongpaichit *et al.* [3] melaporkan bahwa ekstrak metanol rimpang jeringau aktif sebagai penghambat pertumbuhan bakteri patogen (*Staphylococcus aureus* (MRSA), *Enterococcus* sp., *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*), khamir (*Cryptococcus neoformans* dan *Candida albicans*) dan jamur berfilamen (*Microsporum gypseum*, *Trichophyton rubrum*, dan *Penicillium marneffeii*). Anisah *et al.* [4] melaporkan bahwa ekstrak etanol dan air rimpang jeringau yang diperoleh di kabupaten Pontianak mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Ekstrak methanol jeringau dapat membunuh sel kanker MCF-7 (kanker payudara) dengan IC₅₀ sebesar 52,07 µg/mL [5]. Devi and Ganjewala [6] melaporkan bahwa ekstrak etilasetat rimpang dan daun jeringau mempunyai aktivitas antijamur dengan diameter hambat berturut-turut antara 20-28 and 18-25 mm.

Rita *et al* [7] melaporkan bahwa minyak atsiri rimpang jeringau mampu menghambat pertumbuhan *Fusarium solani*, jamur penyebab busuk batang buah naga dengan KHM (konsentrasi hambat minimum) sebesar 2%. Minyak atsiri rimpang jeringau juga dapat menghambat kuat pertumbuhan *Candida albicans* dengan daya hambat sebesar 11 mm dan KHM

sebesar 1% [8]. Ledoh *et al.* [9] melaporkan minyak atsiri batang genoak (jeringau) berpotensi sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli*. Berdasarkan skrining fitokimia terhadap rimpang jeringau yang tumbuh di India menunjukkan adanya senyawa aktif seperti alkaloid, flavonoid, polifenol, saponin, tanin, steroid, resin, dan glikosida [10]. Penelitian Lero [11] menunjukkan adanya kandungan minyak atsiri pada rimpang dan daun jeringau dengan asaron sebagai penyusun utamanya.

Oleh karena rimpang jeringau berpotensi sebagai penghambat pertumbuhan bakteri dan mengandung senyawa aktif, maka perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri minyak atsiri rimpang jeringau yang tumbuh di Bali terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

2. PERCOBAAN

2.1 Bahan dan Peralatan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rimpang jeringau yang diperoleh dari Kec. Rendang, Kab. Karangasem. Bakteri uji yang digunakan adalah bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Bahan kimia yang digunakan antara lain antibiotik (*amoxycillin* 3,0%), serbuk NA (nutrien agar), kalsium klorida (CaCl_2) anhidrat, natrium klorida (NaCl), akuades, dan Tween 80.

Alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi seperangkat alat gelas, statif dan klem, botol vial, mikro pipet, kertas saring, neraca elektronik, penangas air, cawan petri, autoklaf, laminar flow, inkubator, preforator, jangka sorong/mistar, seperangkat alat destilasi uap, dan seperangkat alat Kromatografi Gas-Spektrometer Massa (KG-MS atau GC-MS).

2.2 Metode

Isolasi minyak atsiri dengan destilasi uap

Sebanyak 10 kg rimpang jeringau didestilasi secara bertahap sebanyak 2 kali. Rimpang jeringau kering yang telah dipotong-potong kemudian dimasukkan ke dalam dandang yang telah berisi air dan dilengkapi dengan kondensor, kemudian dipanaskan dengan api kecil. Hasil destilat berupa fraksi minyak dan fraksi air. Fraksi minyak kemudian dipisahkan menggunakan corong pisah berdasarkan perbedaan densitas masing-masing fraksi. Fraksi minyak yang diperoleh dikeringkan dengan menambahkan CaCl_2 anhidrat. Minyak yang diperoleh dianalisis komponen kimianya dengan menggunakan KG-SM dan di uji aktivitas antibakterinya.

Uji aktivitas antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri minyak atsiri rimpang jeringau dilakukan pada konsentrasi 2,0; 4,0; 6,0; 8,0, dan 10,0% (v/v) menggunakan metode sumur difusi agar. Sebanyak 20 μL ekstrak uji, kontrol negatif (tween-80 10%), dan kontrol positif (*amoxycillin* 3,0%) dimasukkan ke dalam sumur, kemudian di inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam untuk bakteri. Penentuan KHM dilakukan dengan metode yang sama yaitu sumur difusi agar dengan konsentrasi mulai dari 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 1,0; 2,0, dan 4,0% (v/v). Hasil positif (+) berupa zona bening yang merupakan daerah hambat pertumbuhan bakteri dan zona bening yang terbentuk diukur diameternya.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi minyak atsiri dengan destilasi uap

Sebanyak 10 kg rimpang jeringau menghasilkan minyak atsiri seberat 16,53 g dengan rendemen 0,1653% dan memiliki berat jenis sebesar 1,066 g/mL. Rendemen yang diperoleh pada penelitian ini mendekati rendemen dari hasil penelitian

minyak atsiri rimpang jeringau yang dilaporkan oleh Ledoh [4] yakni 0,17%. Perbedaan rendemen yang diperoleh dapat disebabkan oleh beberapa faktor, antara lain tempat tumbuh tanaman, umur tanaman, faktor genetik tanaman, serta iklim.

Uji aktivitas antibakteri

Aktivitas antibakteri minyak atsiri rimpang jeringau (*Acorus calamus* Linn) dengan berbagai konsentrasi dipaparkan pada Tabel 1 dan Gambar 1. Tabel 1. menunjukkan bahwa minyak atsiri rimpang jeringau aktif menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Besarnya hambatan terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus* bergantung pada konsentrasi minyak atsiri yang digunakan. Semakin besar konsentrasi yang digunakan, maka semakin besar pula daya hambat yang diberikan.

Minyak atsiri rimpang jeringau mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dengan diameter hambat sebesar 6,67; 8,33; 9,67; dan 11,33 mm pada konsentrasi 4,0; 6,0; 8,0; dan 10,0% (v/v). Sedangkan pada konsentrasi 2,0% tidak terjadi penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* yang ditandai dengan diameter hambat sebesar 0 mm. Sedangkan untuk bakteri *S. aureus*, minyak atsiri rimpang jeringau dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan diameter hambat sebesar 11,97; 12,07; 12,43; 13,10; dan 13,57 mm pada konsentrasi 2,0; 4,0; 6,0; 8,0; dan 10,0% (v/v). sehingga dapat dikatakan bahwa minyak atsiri rimpang jeringau mempunyai daya hambat antara 6-12 mm untuk bakteri *E. coli* dan 11-14 mm untuk bakteri *S. aureus*. Berdasarkan kategori daya hambat bakteri menurut Ardiansah [12], maka dapat disimpulkan bahwa minyak atsiri rimpang jeringau memiliki aktivitas antibakteri yang sedang sampai kuat terhadap bakteri *E. coli* dan untuk bakteri *S. aureus* memiliki aktivitas antibakteri yang tergolong kuat.

Tabel 1. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Rimpang Jeringau

Konsentrasi Minyak (%)	Diameter Hambat <i>E. coli</i> (mm)	Diameter Hambat <i>S. aureus</i> (mm)
0	0 ^a	0 ^{a*}
2,0	0 ^a	11,97 ^b
4,0	6,67 ^b	12,07 ^b
6,0	8,33 ^c	12,43 ^{bc}
8,0	9,67 ^c	13,10 ^{cd}
10,0	11,33 ^d	13,57 ^d
Kontrol positif (amoxicillin)	16,33 ^e	29,67 ^e

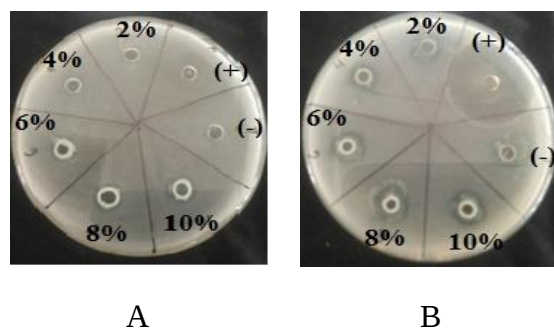
*Angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan *Duncan Multiple Range Test* pada taraf 5%.

Tabel 1 juga menunjukkan bahwa untuk bakteri *E. coli*, terdapat perbedaan yang signifikan antara kontrol negatif dengan minyak atsiri rimpang jeringau konsentrasi 4,0 %, namun untuk konsentrasi 6,0 % dan 8,0% tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Sedangkan untuk bakteri *S. aureus*, terdapat perbedaan yang signifikan antara kontrol negatif dengan minyak atsiri rimpang jeringau dengan konsentrasi 2,0 %. Akan tetapi, pada konsentrasi 2,0 dan 4,0 % tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Pada konsentrasi 4,0; 6,0; 8,0; dan 10,0 % perbedaan tidak signifikan.

Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dilakukan untuk mengetahui konsentrasi terendah minyak atsiri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji. Berdasarkan Tabel 2, minyak atsiri rimpang jeringau memiliki nilai KHM sebesar 4,0 % dengan diameter hambatan sebesar 6,67 mm untuk bakteri *E. coli*, sedangkan untuk bakteri *S. aureus* memiliki nilai KHM sebesar 0,4 % dengan diameter hambatan sebesar 8,83 mm.

Minyak atsiri rimpang jeringau merupakan minyak yang tersusun dari golongan terpenoid yaitu monoterpen dan

seskuiterpen. Mekanisme terpenoid sebagai antibakteri adalah bereaksi dengan protein transmembran (porin) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin merupakan pintu keluar masuknya senyawa yang akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri yang mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati [13].

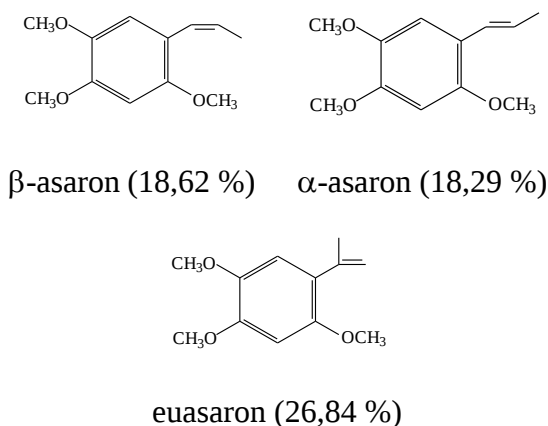


Gambar 1. Hasil uji aktivitas antibakteri minyak atsiri rimpang jeringau terhadap bakteri A) *E. coli*., dan B) *S. aureus*

Tabel 2. Konsentrasi Mambat Minimum (KHM) Minyak Terhadap Untuk Bakteri *E. coli* dan *S. aureus*

Konsentrasi Minyak (%)	Diameter Hambat <i>E. coli</i> (mm)	Diameter Hambat <i>S. aureus</i> (mm)
0	0	0
0,2	0	0
0,3	0	0
0,4	0	8,83
0,5	0	9,93
1,0	0	11,07
2,0	0	11,97
4,0	6,67	12,07

Berdasarkan analisis dengan kromatografi gas, komponen minyak atsiri yang telah dilaporkan [8] mengandung sebelas komponen, yang mana asaron merupakan komponen utama (36,91 %) yang terdiri dari β -asaron (18,62 %) dan α -asaron (18,29 %). Selain asaron, komponen utama selanjutnya adalah eusaron (26,84 %). Struktur dari β -asaron, α -asaron, dan β -asaron disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Struktur dari β -asaron, α -asaron, dan β -asaron

Aktivitas antibakteri dari minyak atsiri rimpang jeringau diduga karena asaron dan eusaron tersebut di atas. Berdasarkan Tabel 4, dari dugaan senyawa-senyawa penyusun minyak atsiri rimpang jeringau yakni eusaron dan asaron diketahui memiliki aktivitas antibakteri [8, 14] Senyawa eusaron dan asaron merupakan senyawa organik dari golongan terpenoid yang bersifat aromaterapi. Mekanisme terpenoid sebagai antibakteri adalah bereaksi dengan dinding sel bakteri yang tersusun dari lapisan peptidoglikan. Adanya minyak atsiri dalam dinding sel bakteri menyebabkan meningkatnya tekanan osmotik dalam sel bakteri sehingga menyebabkan terjadinya lisis pada sel bakteri [15].

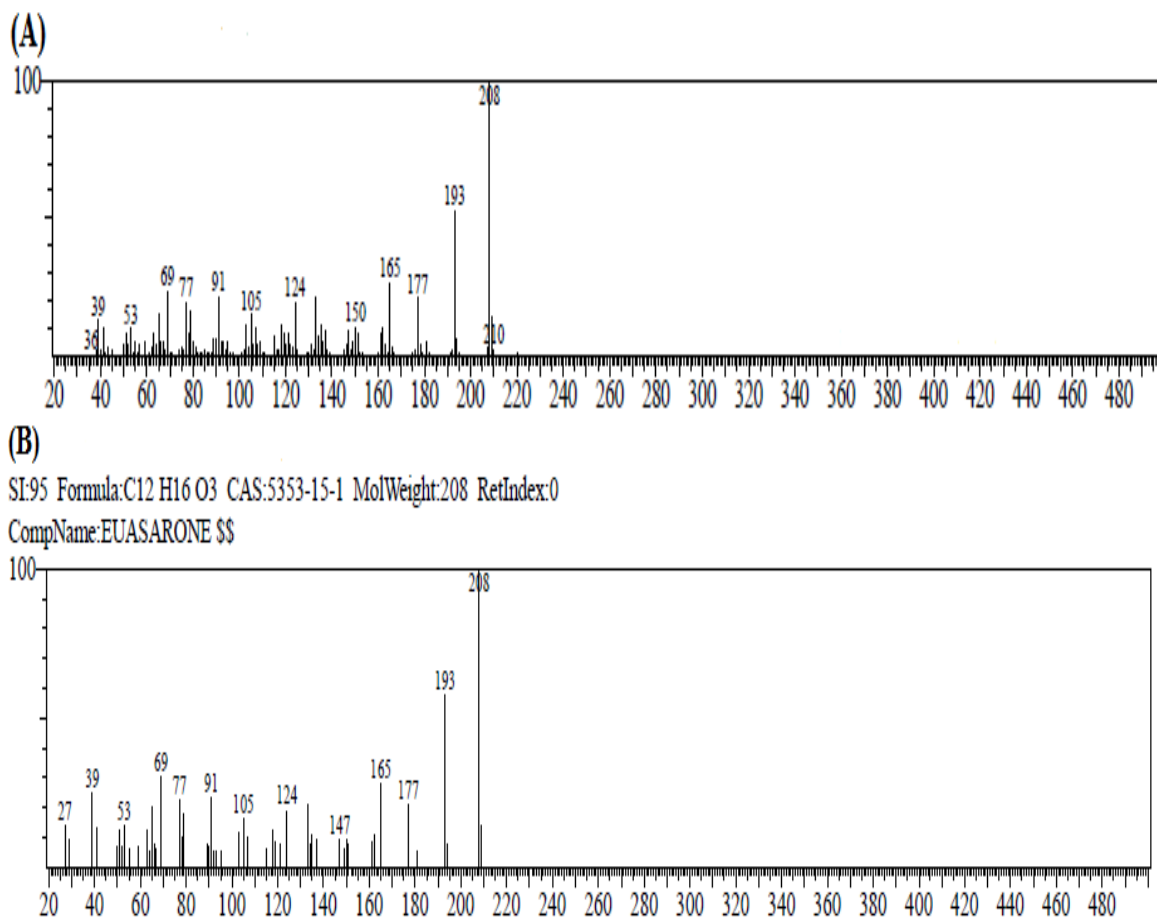
Rita *et al.* [8] telah melaporkan fragmentasi dari asaron, sedangkan untuk eusaron belum dilaporkan. Fragmentasi eusaron dengan spektroskopi massa dapat (Gambar 3) menunjukkan bahwa fragmentasi puncak eusaron minyak atsiri rimpang jeringau menunjukkan persamaan dengan data base dari NIST (*The National institute of Standards and Technology*). Pola fragmentasi dari eusaron tersebut disajikan pada Gambar 4.

4. KESIMPULAN

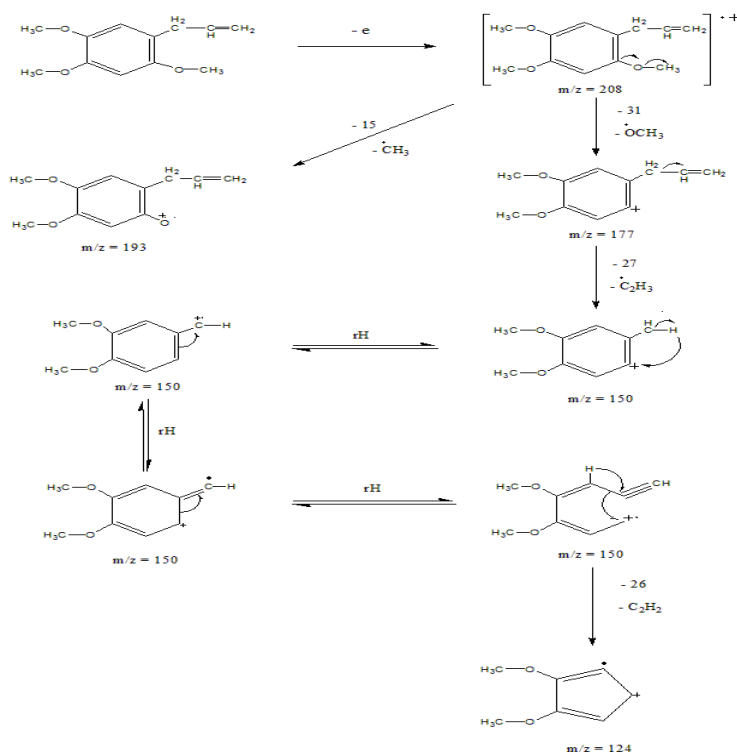
Minyak atsiri rimpang jeringau (*Acorus calamus* Linn) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) sebesar 4% dan 0,4% dengan diameter hambatan masing-masing sebesar 6,67 mm dan 8,83 mm. Semakin besar konsentrasi minyak atsiri maka diameter hambatan yang terbentuk akan semakin besar. Senyawa penyusun utama minyak atsiri tersebut yang diduga berkontribusi terhadap aktivitasnya sebagai antibakteri adalah eusaron (26,84%), dan asaron (36,91%).

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada LPPM yang telah memberikan dana penelitian melalui dana PNBP, Hibah Penelitian Udayana 2016.



6. Gambar 3. Spektra Massa Senyawa euasaron sampel (A) dan data base (B)



Gambar 4. Dugaan pola fragmentasi dari euasaron.

6. DAFTAR PUSTAKA

- [1] Menteri Kesehatan RI. Kebijakan Obat Tradisional Nasional Tahun 2007, Depkes RI, Jakarta.
- [2] Jawetz, E., Melnick, J.L., Adelberg, E.A., Brooks, G.F., Butel, J.S., Ornston, L.N., 1995. Mikrobiologi Kedokteran. Edisi ke-20, a.b. Nugroho dan R.F.Maulany, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- [3] Phongpaichit, S., Pujenjob, N., Rukachaisirikul, V., Ongsakul, M., 2005. Antimicrobial activities of the crude methanol extract of *Acorus calamus* Linn., *Songklanrampangin J. Sci. Technol.* 27(2): 517-523.
- [4] Anisah, Khotimah, S., Yanti, A.H., 2014. Aktivitas antibakteri ekstrak rimpang Jeringau (*Acorus calamus* L.) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Probiotik*, 3 (3): 1- 5.
- [5] Sreejaya, S.B., Santhy, K.S., 2013. Cytotoxic properties of *Acorus calamus* in MCF -7 breast cancer cells. *Int. J. Curr. Res. Aca. Rev.* 1(1): 106-111.
- [6] Devi, S.A., Ganjewala, D., 2009. Antimicrobial activity of *Acorus calamus* (L.) rhizome and leaf extract, *Acta Biologica Szegediensis*, 53(1): 45-49.
- [7] Rita, W.S., Asih, I.A.R.A, Yuliari, N.M., 2016. Potensi minyak atsiri rimpang jeringau (*Acorus calamus* Linn.) sebagai penghambat *Fusarium solani*, jamur patogen penyebab busuk batang pada buah naga. *Cakra Kimia*, 4(2): 120-128.
- [8] Rita, W.S., Kawuri, R., Swantara, I M.D., 2017. The essential oils contents of Jeringau (*Acorus calamus* L.) Rhizomes and Their Antifungal Activity Against *Candida albicans*, *Journal of Health Sciences and Medicine*, 1(1): 33-38.
- [9] Ledoh, S.M. F., Lerrick, R. I., dan Ratu, D., 2013. Aktivitas Antibakteri *Eschericia coli* pada Minyak Atsiri Batang Genoak (*Acorus calamus*) Asal Pulau Timor, *Molekul*, 8(1): 1 - 8.
- [10] Kumar, V., Singh R., Joshi, V., 2014. Antimicrobial activity of Rhizome Extract of *Acorus calamus* Against Different Micro-Organisms, *Octa Journal of Biosciences*, 2(1): 59-63.
- [11] Lero, M. S., 2011. Isolasi Minyak Atsiri Daun Jeringau (*Acorus calamus* L.), Karakterisasi dan Identifikasi Komponen-Komponennya melalui Kromatografi Gas-Spektrometri Massa. *Skripsi*, Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Malang.
- [12] Ardiansyah, 2004, *Daun Beluntas sebagai Bahan Antibakteri dan Antioksidan*, Berita IPTEK.com. (Diakses tanggal 15 Desember 2016).
- [13] Cowan, M.M., 1999. Plant Product as antimicrobial Agent, *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4): 564-582.
- [14] Heluani, C.S., Lampasona, M. P., Vega, M.I., and Catalan, C.A.N., 2005, Antimicrobial Activity and Chemical Composition of the Leaf and Root Oils from *Croton hieronymi* Griseb, *Journal of Essential Oil Research*, 17(3): 351 - 353.
- [15] Pelczar, J.M., and Chan, E.C.S., 1988, *Basic of Microbiology*, Penerjemah Ketaren, UI Press, Jakarta.