

## **BAB 2**

### **TINJAUAN TEORITIS**

#### **2.1 Kajian Pustaka**

##### **2.1.1 *Hand sanitizer***

*Hand sanitizer* merupakan zat antiseptik yang dapat digunakan untuk membersihkan tangan (Rini & Nugraheni, 2018). Banyak masyarakat yang tertarik menggunakan *hand sanitizer* karena penggunaannya lebih efektif dan efisien dibanding dengan menggunakan sabun dan air (Asngad *et al.* 2018), hal ini sejalan dengan Veronita *et al.* (2017) yang menyatakan bahwa *hand sanitizer* dapat dijadikan alternatif praktis dalam menjaga kebersihan tangan.

Produk *hand sanitizer* yang berada di pasaran semakin beragam, baik komponennya, atau zat pembawanya (Radji, Suryadi, & Arianti, 2007). Umumnya *hand sanitizer* mengandung bahan aktif alkohol, triklosan, atau agen antimikroorganisme lain yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Persentase alkohol yang digunakan biasanya 60-90% (Rini & Nugraheni, 2018) Senyawa yang terkandung dalam *hand sanitizer* tersebut memiliki mekanisme kerja dengan cara mendenaturasi dan mengkoagulasi protein sel dari mikroorganisme (Asngad *et al.* 2018). Oleh karena itu, zat kimia seperti alkohol dan triklosan sering digunakan sebagai bahan dalam pembuatan *hand sanitizer*.

Namun penggunaan zat kimia untuk *hand sanitizer* dapat beresiko bagi kesehatan bila digunakan berlebihan atau terus menerus misalnya iritasi hingga menimbulkan rasa terbakar pada kulit (Asngad *et al.* 2018). Selain itu, *hand sanitizer* berbasis alkohol dapat memiliki efek samping kesehatan untuk anak-anak seperti iritasi mata, muntah, iritasi mulut, dermatitis kontak iritan, batuk, dan sakit perut (Hakimi & Armstrong, 2020). Efek negatif yang ditimbulkan dari penggunaan zat kimia dapat diatasi dengan penggunaan bahan alami untuk *hand sanitizer*, salah satunya adalah ekstrak daun cengkih (*Syzygium aromaticum*).

Produk *hand sanitizer* ekstrak daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) ini dikemas dengan bentuk cair. Hasil penelitian Diana, Hendrarini, & Narto (2013) menjelaskan bahwa *hand sanitizer* berbentuk cair mampu menurunkan angka kuman tangan lebih banyak dibandingkan dengan gel. Selain itu, *hand sanitizer* berbentuk cair lebih cepat kering dan tidak lengket jika digunakan. Oleh karena

itu, peneliti tertarik untuk menguji efektivitas *hand sanitizer* alami ekstrak daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) berbentuk cair.

### 2.1.2 Tanaman Cengkih (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M.Perry)

*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M.Perry atau biasa disebut cengkih (Gambar 2.1), merupakan pohon berukuran sedang (8-12 m) dari famili *Myrtaceae* yang berasal dari kepulauan Maluku di Timur Indonesia. Pohon cengkih (*Syzygium aromaticum*) sering dibudidayakan di daerah pesisir pada ketinggian maksimum 200 m dpl (Cortés-Rojas, de Souza, Oliveira, 2014).



A



B



C

Gambar 2.1

**Pohon Cengkih (*Syzygium aromaticum*) (A), Daun Tanaman Cengkih (*Syzygium aromaticum*) (B), Batang Tanaman Cengkih (*Syzygium aromaticum*) (C)**

Sumber: Dokumentasi Pribadi

Klasifikasi tanaman cengkih (*Syzygium aromaticum*) adalah:

Kingdom	: Plantae
Phylum	: Tracheophyta
Class	: Magnoliopsida

Order	: Myrtales
Family	: Myrtaceae
Genus	: <i>Syzygium</i> R.Br. ex Gaertn.
Species	: <i>Syzygium aromaticum</i> (L.) Merr. & L.M.Perry

Sumber: Mem. Amer. Acad. Arts ser. 2, 18:196. 1939

Menurut Kaur, Kaushal, & Rani (2019) morfologi tanaman cengkih (*Syzygium aromaticum*) yaitu:

Cabang-cabangnya setengah tegak, berwarna keabu-abuan dan lebat. Daunnya besar lonjong sampai elips, berbentuk bulat telur sederhana dan berhadapan, tidak berbulu dan memiliki banyak kelenjar minyak di permukaan bawah. Pohon mulai berbunga dalam waktu sekitar 7 tahun dan terus berbunga selama 80 tahun atau lebih. Bunga kecil, berwarna merah tua dan hermafrodit (biseksual), dan terdapat di ujung terminal cabang kecil. Setiap tangkai membawa 3 sampai 4 tangkai bunga dan panjang perbungaan antara 4 sampai 5 cm. Awalnya kuncup bunga berwarna kuning pucat dengan tampilan mengkilap dan berubah hijau menjadi merah terang saat dewasa. Panjangnya 1-2 cm dengan ovarium tebal silindris yang terdiri dari empat sepal berdaging.

Cengkih (*Syzygium aromaticum*) memiliki banyak kegunaan terapeutik, seperti untuk mengobati diare, penyakit hati, perut dan usus, dan sebagai stimulan untuk saraf (Tanko, Mohammed, Okasha, Umah, & Magaji, 2008). Selain itu, cengkih (*Syzygium aromaticum*) adalah antiseptik yang sangat tinggi, antimutagenik, antiinflamasi (Chaieb, Hajlaoui, Zmantar, Kahla-Nakbi, Rouabhia, Mahdouani & Bakhrouf, 2007), antiulcerogenik, antitrombosit, antifungi (Park, Gwak, Yang, Choi, Jo, Chang, Jeung, Choi, 2007) antioksidan, antimikroorganisme (Cortés-Rojas *et al.*, 2014), antiparasit dan antivirus (Saeed & Tariq, 2008). Cengkih (*Syzygium aromaticum*) memiliki berbagai kegunaan dalam mengobati berbagai penyakit, dan juga dapat digunakan sebagai antiseptik karena kandungan senyawa yang dimiliki.

Cengkih (*Syzygium aromaticum*) merupakan salah satu sumber nabati utama penghasil senyawa fenolik seperti flavonoid, asam hidroksibenzoat, asam hidroksisinamat dan hidroxiphenyl. Selain itu, cengkih (*Syzygium aromaticum*) mengandung eugenol yang merupakan senyawa bioaktif utama pada cengkih (*Syzygium aromaticum*) dan ditemukan dalam konsentrasi berkisar antara 9381,70 hingga 14650,00 mg per 100 g bahan tanaman segar (Cortés-Rojas *et al.* 2014). Senyawa eugenol memiliki aktivitas antibakteri, antifungal, antiplasmodial, anthelmitic, anti-inflamatori, antiviral, analgesik, antioksidan, antikanker,

sehingga senyawa ini banyak dimanfaatkan dalam berbagai industri (Neveu, Jiménez, Vos, Crespy, Chaffaut, Mennen, Knox, Eisner, Cruz, Wishart, & Scalbert, 2010). Cengkih (*Syzygium aromaticum*) memiliki aktivitas antibakteri dari senyawa eugenol yang terkandung, sehingga dapat dijadikan sebagai bahan *hand sanitizer* alami.

### **2.1.3 Ekstrak**

#### 1) Definisi ekstrak

Menurut Farmakope Indonesia Edisi V (Depkes RI, 2014), disebutkan bahwa ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan. Sedangkan menurut Handa, Khanuja, Longo, & Rakesh (2008), ekstrak adalah sediaan yang diperoleh dari pemisahan senyawa aktif dari jaringan tanaman obat dengan menggunakan pelarut terpilih melalui prosedur standar.

#### 2) Definisi ekstraksi

Ekstraksi merupakan teknik pemisahan suatu senyawa berdasarkan perbedaan distribusi zat terlarut diantara dua pelarut yang saling bercampur. Pada umumnya zat terlarut yang diekstrak bersifat tidak larut atau larut sedikit dalam suatu pelarut tetapi mudah larut dengan pelarut lain. Metode ekstraksi yang tepat ditentukan oleh tekstur kandungan air bahan-bahan yang akan diekstrak dan senyawa-senyawa yang akan diisolasi (Harborne, 1996). Menurut Zhou & Yu (2004), pelarut untuk ekstraksi dipilih sesuai dengan tujuan ekstraksi seperti preparasi atau analisis, sifat komponen, sifat fisikokimia matriks, ketersediaan reagen dan peralatan, biaya, dan masalah keamanan

#### 3) Metode Ekstraksi

Berikut ini merupakan beberapa metode ekstraksi, yaitu:

##### a) Maserasi

Metode ini banyak digunakan dalam penelitian tanaman obat. Maserasi melibatkan perendaman bahan tanaman (kasar atau bubuk) dalam wadah tertutup dengan pelarut dan didiamkan pada suhu kamar selama minimal 3 hari dan sering

diaduk. Pengolahan tersebut dimaksudkan untuk melembutkan dan menghancurkan dinding sel tumbuhan untuk melepaskan fitokimia yang larut. Setelah 3 hari, campuran ditekan atau disaring dengan filtrasi. Dalam metode ini, pelarut yang digunakan dalam proses perendaman memainkan peran penting (Nn, 2015).

#### b) Perkolasi

Perkolasi adalah prosedur ekstraksi yang lengkap, dimana semua unsur yang dapat larut dihilangkan seluruhnya dari bahan tanaman yang dihancurkan, dengan mengekstraksi obat mentah dengan pelarut segar (Mukherjee *et al.* 2014). Metode ini menggunakan alat yang disebut perkolator. Nn (2015) menjelaskan prosedur perkolasi yaitu dengan memasukkan sampel bubuk kering ke dalam perkolator, ditambah air mendidih dan dimaserasi selama 2 jam. Proses perkolasi biasanya dilakukan dengan kecepatan sedang (misalnya 6 tetes / menit) sampai ekstraksi selesai sebelum penguapan untuk mendapatkan ekstrak pekat.

#### c) Sokletasi

Metode sokletasi mengintegrasikan keunggulan ekstraksi dan perkolasi, yang memanfaatkan prinsip refluks dan penyedotan untuk terus mengekstrak ramuan dengan pelarut segar. Sokletasi adalah metode ekstraksi kontinu otomatis dengan efisiensi ekstraksi tinggi yang membutuhkan lebih sedikit waktu dan konsumsi pelarut daripada maserasi atau perkolasi. Suhu tinggi dan waktu ekstraksi yang lama dalam ekstraksi sokletasi akan meningkatkan kemungkinan degradasi termal (Zhang, Lin, & Ye, 2018).

#### d) Dekoksi

Nn (2015) menjelaskan bahwa metode dekoksi hanya cocok untuk mengekstraksi senyawa yang tahan panas, bahan tanaman keras (misalnya akar dan kulit kayu) dan biasanya menghasilkan lebih banyak senyawa yang larut dalam minyak dibandingkan dengan maserasi dan infus. Dekoksi adalah infus pada waktu yang lebih lama (>30 menit) dan temperature sampai titik didih air.

#### e) Infus

Infus adalah salah satu jenis sediaan resmi di mana obat dimaserasi dalam air dingin atau mendidih untuk waktu yang sangat singkat, diikuti dengan penyaringan melalui media filter (Handa, Khanuja, Longo, & Rakesh, 2008).

Menurut Mukherjee *et al.* (2014), sediaan harus digunakan dalam waktu 24 jam setelah persiapan, karena sangat rentan terhadap kontaminasi mikroorganisme.

f) *Microwave Extraction* (MAE)

*Microwave extraction* (MAE) adalah teknik untuk mengekstraksi bahan-bahan terlarut di dalam sampel menggunakan pelarut air dengan bantuan energi gelombang mikro (Bintari, Haryadi, & Rahardjo, 2018). Menurut Shakinaz, Refaat, & El (2010), MAE memiliki keunggulan sebagai metode ekstraksi yaitu meminimalkan penggunaan pelarut organik, efisiensi waktu, dan sebagai metode ekstraksi yang ramah lingkungan.

g) *Ultrasound-assisted extraction* (UAE)

Ekstraksi dengan bantuan ultrasonik (UEA) melibatkan penggunaan ultrasonik mulai dari 20 kHz hingga 2000 kHz (Handa *et al.*, 2008). Efek mekanik kavitasi akustik dari ultrasonik meningkatkan kontak permukaan antara pelarut dan sampel serta permeabilitas dinding sel. Sifat fisik dan kimia dari bahan yang diberi ultrasonik berubah dan mengganggu dinding sel tumbuhan kemudian memfasilitasi pelepasan senyawa dan meningkatkan transportasi massa pelarut ke dalam sel tumbuhan (Dhanani, Shah, Gajbhiye, & Kumar S, 2013).

#### **2.1.4 Metode Maserasi**

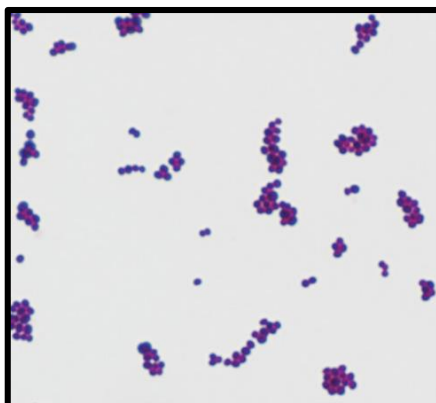
Menurut Marjoni (2016), Maserasi merupakan salah satu metoda ekstraksi yang dilakukan dengan cara merendam simplisia nabati menggunakan pelarut tertentu selama waktu tertentu dengan sesekali dilakukan pengadukan atau pengocokan. Prinsip kerja dari maserasi menurut Marjoni (2016) adalah proses melarutnya zat aktif berdasarkan sifat kelarutannya dalam suatu pelarut (*like dissolved like*). Ekstraksi zat aktif dilakukan dengan cara merendam simplisia nabati dalam pelarut yang sesuai selama beberapa hari pada suhu kamar dan terlindung dari cahaya. Pelarut yang digunakan, akan menembus dinding sel dan kemudian masuk ke dalam sel tanaman yang penuh dengan zat aktif. Pertemuan antara zat aktif dan pelarut akan mengakibatkan terjadinya proses pelarutan dimana zat aktif akan terlarut dalam pelarut. Maserasi merupakan metode sederhana dan paling banyak digunakan karena metode ini sesuai dan baik untuk skala kecil

maupun skala industri. Langkah-langkah pengerjaan maserasi adalah sebagai berikut (Marjoni, 2016):

- 1) Simplisia dimasukkan ke dalam wadah yang bersifat inert dan tertutup rapat pada suhu kamar.
- 2) Simplisia kemudian direndam dengan pelarut yang cocok selama beberapa hari sambil sesekali diaduk. Pelarut yang digunakan untuk maserasi bersifat “bisa dicampur air” seperti air itu sendiri yang disebut dengan pelarut polar dan dapat juga digunakan pelarut yang tidak dapat bercampur dengan air seperti : aseton, etil asetat. Pelarut yang tidak dapat bercampur dengan air ini disebut pelarut non polar atau pelarut organik.
- 3) Setelah proses ekstraksi selesai, pelarut dipisahkan dari sampel dengan cara penyaringan.

### 2.1.5 Bakteri *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* adalah bakteri Gram positif yang berbentuk cocci dan cenderung tersusun dalam *cluster* yang digambarkan mirip dengan buah anggur (Gambar 2.2). Pada media, organisme ini berwarna keemasan atau kuning (*aureus* berarti emas atau kuning) (Taylor & Unakal, 2017).



Gambar 2.2

#### **Bakteri *Staphylococcus aureus***

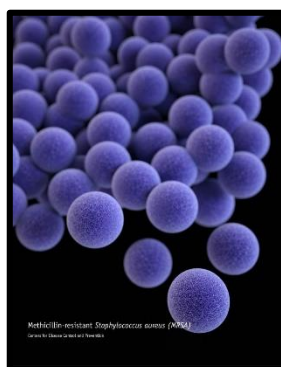
Sumber: Jawetz, Melnick, & Adelberg (2010)

Klasifikasi *Staphylococcus aureus* meliputi:

Kingdom	:	Bacteria (Cavalier-Smith, 2002 )
Subkingdom	:	Posibacteria (Cavalier-Smith, 2002)
Phylum	:	Firmicutes (corrig. Gibbons & Murray, 1978)
Class	:	Bacilli (Ludwig <i>et al.</i> , 2010)
Order	:	Bacillales ( Prévot, 1953 )
Family	:	Staphylococcaceae (Schleifer & Bell, 2010)
Genus	:	<i>Staphylococcus</i> (Rosenbach, 1884)
Species	:	<i>Staphylococcus aureus</i> (Rosenbach, 1884)

Bakteri *S. aureus* termasuk bakteri nonmotil dan tidak membentuk spora, bakteri ini tumbuh dengan mudah diberbagai jenis media dan aktif secara metabolik, serta memfermentasi karbohidrat. *S. aureus* tumbuh paling cepat pada 37°C tetapi paling baik membentuk pigmen pada suhu kamar (20-25°C). *S. aureus* adalah patogen utama bagi manusia. Hampir setiap orang akan mengalami beberapa jenis infeksi *S. aureus* selama hidupnya, mulai dari keracunan makanan atau infeksi kulit ringan hingga infeksi parah yang mengancam jiwa. *S. aureus* menghasilkan katalase, yang mengubah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen, selain itu *S. aureus* menghasilkan koagulase, suatu protein mirip enzim yang membekukan plasma teroksalat atau sitrat (Brooks *et al.*, 2010:209-213).

#### 2.1.6 Bakteri *Methicilin-Resistant Staphylococcus aureus*



Gambar 2.3

#### **Bakteri *Methicilin-Resistant Staphylococcus aureus***

Sumber: Oosthuizen (2013)

Bakteri *Staphylococcus aureus* memiliki kemampuan adaptasi yang luar biasa sehingga bisa resisten pada berbagai jenis antibiotik dan menjadi masalah sangat serius (Afifurrahman, Samadin, Aziz, 2014). Resistensi antibiotik juga dapat terjadi pada bakteri Gram positif lain seperti *Pneumococcus* dan *Enterococcus*, namun *S. aureus* mungkin merupakan patogen yang paling membahayakan karena virulensi intrinsiknya, kemampuannya untuk menyebabkan beragam infeksi yang mengancam jiwa, dan kemampuannya untuk beradaptasi dengan kondisi lingkungan yang berbeda (Lowy, 2003). Kejadian resistensi *S. aureus* menjadi masalah yang sangat serius karena peningkatan resistensi bakteri ini terhadap berbagai jenis antibiotik (*Multi Drug Resistance*) (Afifurrahman, *et al.*, 2014). Salah satunya, adalah bakteri *S. aureus* dapat resisten terhadap antibiotik methicilin.



*Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) (Gambar 2.3) merupakan strain bakteri *S.aureus* yang resisten terhadap Antibiotik methicillin, dan lebih dari 80% isolat *S.aureus* yang diteliti, resisten terhadap golongan antibiotik beta-laktam (EARS, 2013)

Bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dianggap sebagai penyebab infeksi nosokomial yang paling mengancam. Infeksi MRSA sangat menantang untuk diobati karena resistensi bakteri terhadap sebagian besar antibiotik yang dapat digunakan secara klinis (Brooks *et al.*, 2007). Oleh karena itu MRSA merupakan ancaman besar bagi kesehatan manusia di seluruh dunia.

Banyak senyawa alami, yang ditemukan pada tumbuhan dan rempah-rempah terbukti sebagai antimikroba dan dapat digunakan sebagai sumber untuk obat antimikroba dari mikroba patogen (Cowan, 1999; 31). Dalam penelitian sebelumnya merekomendasikan bahwa tanaman obat dapat menjadi sumber potensial yang ideal untuk mengeksplorasi obat antibakteri baru bahkan terhadap strain bakteri yang resisten antibiotik (Davidson, 2001; Ceylan & Fung, 2004).

Penelitian dari Tayel *et al.*, (2018) membuktikan bahwa ekstrak dari biji tanaman *P. emblica* dan *L. Shawii* dapat digunakan sebagai agen anti bakteri yang kuat untuk mengendalikan bakteri MRSA. Selain itu senyawa eugenol yang dapat ditemukan pada beberapa tanaman, seperti tanaman cengkih (*Syzygium aromaticum*) mempunyai kemampuan untuk membunuh bakteri MRSA melalui kerusakan membran (Yadav *et al.*, 2015). Oleh karena itu diharapkan bahwa *hand sanitizer* ekstrak daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) dapat efektif dalam menghambat bakteri MRSA.

### **2.1.7 Antimikroba**

#### 1) Definisi Antimikroba

Antimikroba merupakan suatu zat atau komponen yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri/kapang (bakteristatik atau fungistatik) hingga membunuh bakteri atau kapang (bakterisidal atau fungisidal) (Zheng *et al.*, 2013). Kadar minimal yang dibutuhkan oleh suatu zat untuk menghambat pertumbuhan bakteri disebut Kadar Hambat Minimal (KHM) (Madigan *et al.*, 2012:763). Sementara

kadar minimal yang diperlukan untuk membunuh mikroorganisme biasa dikenal dengan sebutan Kadar Bunuh Minimal (KBM) (Andrews, 2001).

## 2) Senyawa dan Mekanisme Kerja Antimikroba Ekstrak daun cengkih (*Syzygium aromaticum*)

Ekstrak daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) mengandung senyawa kimia yang dapat digunakan sebagai bahan antimikroba. Menurut Suhendar & Sogandi (2019), senyawa kimia yang terdapat dalam ekstrak daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) yaitu Alkaloid, Flavonoid, Saponin, Tannin, Steroid, Triterpenoid, dan Fenolik. Sementara senyawa bioaktif yang terkandung yaitu *f3-allyl-6-methoxyphenol-eugenol*, *caryophyllene1,4,7,-cycloundecatriene*, *1,5,9,9-tetramethyl, phenol, 2-methoxy-4-(2-propenyl)*, dan *eugenol acetate*. Sementara menurut Raina *et al.*, (2017) senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) adalah (*E*)- $\beta$ -Ocimene, Linalool, Terpinen-4-ol, Nerol, Eugenol,  $\alpha$ -Copaene,  $\beta$ -Caryophyllene,  $\alpha$ -Humulene, (*E,E*)- $\alpha$ -Farnesene,  $\gamma$ -Cadinene, (*E*)-Nerolidol,  $\beta$ -Caryophyllene oxide, Humulene oxide II, *t*-Cadinol, Cadalene, Hexadecyl acetate.

Berikut merupakan penjelasan mengenai senyawa antimikroba beserta aktivitas senyawa tersebut terhadap mikroorganisme:

### a) Alkaloid

Alkaloid merupakan golongan senyawa yang mengandung nitrogen dan merupakan metabolit sekunder yang ditemukan di sekitar 20% spesies tumbuhan (Ziegler & Facchini, 2008). Sebagian besar senyawa alkaloid bersumber pada tumbuh-tumbuhan (Ningrum, Purwanti, & Sukarsono, 2017). Alkaloid dapat dijumpai pada bagian daun, ranting, biji, dan kulit batang (Aksara, Musa, & Alio, 2013). Alkaloid memiliki fungsi yang sangat penting dalam tanaman.

Menurut Ningrum *et al.* (2017), fungsi alkaloid dalam tanaman yaitu dapat mengganti basa mineral dalam mempertahankan kesetimbangan ion dalam tumbuhan, karena alkaloid bersifat basa. Alkaloid pada tanaman berfungsi sebagai racun yang dapat melindunginya dari serangga dan herbivora, faktor pengatur pertumbuhan, dan senyawa simpanan yang mampu menyuplai nitrogen dan unsur-unsur lain yang diperlukan tanaman tumbuhan .

Menurut Suhendar & Sogandi (2019) ekstrak daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) mengandung alkaloid. Alkaloid memiliki aktivitas sebagai antibakteri dengan mekanisme kerja mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel. Selain itu, karena alkaloid memiliki gugus basa yang mengandung nitrogen, maka alkaloid dapat bereaksi dengan senyawa asam amino penyusun dinding sel bakteri. Reaksi ini mengakibatkan terjadinya perubahan struktur dan susunan asam amino yang akan menimbulkan ketidakseimbangan genetik pada rantai DNA sehingga akan mengalami kerusakan dan mendorong terjadinya lisis bakteri yang akan menyebabkan kematian sel pada bakteri (Arlofa, 2015).

#### b) Flavonoid

Flavonoid adalah kelompok dengan berat molekul rendah, dan merupakan fenolat tumbuhan sekunder yang dicirikan oleh flavan nukleus. Flavonoid tersebar luas di daun, biji, kulit kayu, dan bunga tanaman, lebih dari 4.000 flavonoid telah diidentifikasi hingga saat ini. Pada tumbuhan, senyawa ini memberikan perlindungan terhadap radiasi ultraviolet, patogen, dan herbivora (Heim, Tagliaferro, & Bobilya, 2002) Sehingga, peran senyawa flavonoid bagi tumbuhan sangat penting.

Flavonoid terdapat dalam ekstrak daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) yang ditandai dengan adanya warna jingga pada uji Wilstater yang berarti menunjukkan positif adanya flavonoid. Cushnie & Lamb (2005) menyatakan bahwa flavonoid memiliki aktivitas antibakteri dengan tiga mekanisme:

- (1) Penghambatan sintesis asam nukleat (Ulanowska, Tkaczyk, Konopa, & Wegrzyn, 2006)
- (2) Penghambatan fungsi membran sitoplasma: misalnya, lengkuas telah menunjukkan aktivitas antibakterinya dengan menyebabkan kehilangan potassium dari sel *S. aureus*, yang menunjukkan kerusakan langsung pada membran sitoplasma dinding sel *S. aureus*;
- (3) Penghambatan metabolisme energi: Apigenin dan naringenin mengubah membran luar dan sitoplasma sel *E. cloacae*, akibatnya mengganggu pertukaran

nutrisi dan metabolit dan akhirnya menghambat pasokan energi untuk bakteri (Eumkeb & Chukrathok, 2013).

c) Saponin

Saponin adalah jenis glikosida yang banyak ditemukan dalam tumbuhan (Gunawan & Hendra, 2018). Saponin merupakan senyawa aktif permukaan dan juga bersifat seperti sabun, cara mendeteksi saponin yaitu berdasarkan kemampuannya membentuk busa jika dikocok dalam air dan menghemolisis sel darah (Zahro & Agustini, 2013). Saponin memiliki aktivitas sebagai antibakteri dengan mekanisme kerja yaitu menyebabkan kebocoran protein dan enzim dari dalam sel. Hal ini dapat terjadi karena zat aktif yang terdapat pada permukaan saponin mirip dengan deterjen, akibatnya saponin akan menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri dan merusak permeabilitas membran (Suhendar & Sogandi, 2019).

d) Tanin

Tanin adalah salah satu senyawa aktif metabolit sekunder yang terdapat pada tumbuhan dan memiliki banyak khasiat (Fathurrahman & Musfiroh, 2013). Tannin terdapat pada tumbuhan berpembuluh dan dalam angiospermae terdapat pada jaringan kayu (Harborne, 1987:102). Tanin terdapat dalam ekstrak daun cengkih (*Syzygium aromaticum*), dan memiliki aktivitas antibakteri dengan mengganggu permeabilitas sel, sehingga mengakibatkan sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat dan mengalami kematian (Suhendar & Sogandi, 2019).

e) Steroid

Steroid adalah senyawa yang terdapat baik pada tumbuhan atau hewan. Pada tumbuhan, steroid banyak terdapat baik pada tumbuhan tingkat tinggi maupun tumbuhan tingkat rendah. Steroid pada tumbuh-tumbuhan secara umum terdapat dalam bentuk sterol (Suryelita, Etika, & Kurnia, 2017). Tiga senyawa sterol yang ditemukan pada tumbuhan disebut 'fitosterol', yaitu sitosterol, stigmasterol, dan kampesterol (Harborne, 1987:158). Ekstrak daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) mengandung steroid yang memiliki aktivitas antibakteri, dengan cara menyebabkan kebocoran pada liposom (Ahmed *et al.* 2017).

#### f) Triterpenoid

Triterpenoid merupakan senyawa yang memiliki kerangka karbon berasal dari enam satuan isoprena dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C<sub>30</sub> asiklik, yaitu skualena (Harborne, 1987:147). Triterpenoid terkandung dalam ekstrak daun cengkih (*Syzygium aromaticum*), dan memiliki aktivitas antibakteri dengan mekanisme berupa reaksi dengan membentuk ikatan polimer yang kuat dengan purin pada membran luar sehingga mengakibatkan rusaknya purin. Rusaknya purin mengurangi permeabilitas membran sel bakteri yang akan mengakibatkan sel kekurangan nutrisi dan akan menghambat pertumbuhan atau mengalami kematian (Suhendar & Sogandi, 2019).

#### g) Fenolik

Senyawa fenol merupakan senyawa yang berasal dari tumbuhan, yang mempunyai ciri khas yaitu cincin aromatik yang mengandung satu atau dua penyulih hidroksil. Senyawa ini mudah larut dalam air karena umumnya berikatan dengan gula sebagai glikosida, dan terdapat pada vakuola sel (Harborne, 1987: 47).

Mekanisme kerja senyawa fenol dalam ekstrak daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) sebagai antibakteri adalah dengan cara melisis sel dan menyebabkan denaturasi protein, kemudian menghambat pembentukan protein sitoplasma dan asam nukleat serta menghambat ikatan ATP-ase pada membran sel (Suhendar & Sogandi, 2019).

### 2.1.8 Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan 3 metode, yaitu metode difusi, dilusi, dan *E-test*. (Willey, Sherwood, & Woolverton, 2008: 840-841). Pada uji aktivitas antibakteri yang diukur adalah respons pertumbuhan populasi mikroorganisme terhadap agen antimikroba. Beberapa cara pengujian antibakteri adalah:

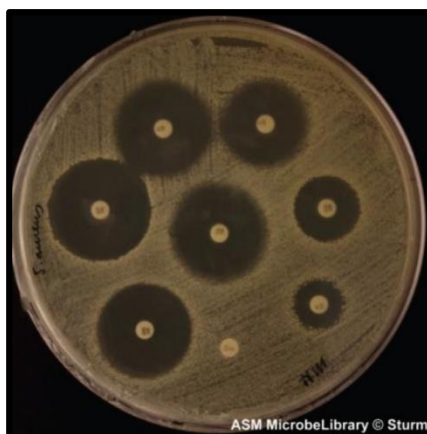
#### 1) Metode Difusi

Pada metode ini, penentuan aktivitas didasarkan pada kemampuan difusi dari zat antimikroba dalam lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan mikroorganisme uji. Hasil pengamatan yang akan diperoleh berupa ada atau tidaknya zona hambatan yang akan terbentuk disekeliling zat antimikroba pada waktu

tertentu masa inkubasi (Brooks *et al.* 2007:224). Metode ini dapat dilakukan dengan 3 cara, yaitu:

a) Cara Cakram (*Disc*)

Metode difusi cakram (*Kirby-Baueur Method*) yang terdapat pada gambar 2.4 dikembangkan pada awal 1960-an di Fakultas Kedokteran Universitas Washington oleh William Kirby, A.W. Bauer, dan rekannya (Willey *et al.* 2008: 840). Pada metode ini digunakan cakram kertas saring (*paper disc*) yang berfungsi untuk menampung zat antimikroba. Kertas saring diletakkan pada lempeng agar yang telah diinokulasi mikroorganisme uji, kemudian diinkubasi pada permukaan media padat yang telah diinokulasi pada permukaan dengan organisme uji (Brooks *et al.* 2007:268). Hasil dapat diamati setelah inkubasi selama 16-18 jam dalam suhu 35°C (Willey *et al.* 2008: 840).



Gambar 2.4  
**Metode Difusi Cakram**  
Sumber: Ibrahim (2020)

Hasil pengamatan yang diperoleh berupa ada atau tidaknya daerah bening yang terbentuk disekeliling kertas cakram yang menunjukkan zona hambat pada pertumbuhan bakteri (Peljzar & Chan, 1988). Menurut Davis & Sout (1971) efektivitas suatu zat antibakteri bisa diklasifikasikan pada tabel 2.1 berikut:

Tabel 2.1  
**Kriteria Ketentuan Daya Antibakteri**

No	Diameter Zona Hambat (mm)	Daya Antibakteri
1	10-20	Kuat
2	5-10	Sedang
3	<5	Lemah

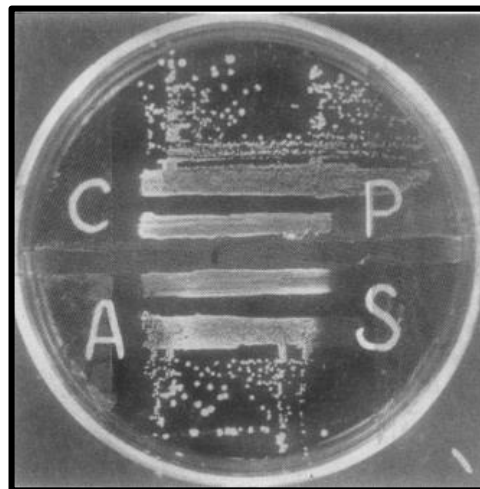
Sumber: Davis & Sout (1971)

Pengukuran zona hambat ini dilakukan dengan cara mengambil garis horizontal pada zona hambat di sekitar *disc* dengan menggunakan jangka sorong (Novaryatiin, Handayani, & Chairunnisa, 2018).

Cara ini merupakan metode yang sering digunakan (Buldani, Yulianti, & Soedomo, 2017) dan sangat tepat digunakan jika diuji pada mikroorganisme yang bersifat aerob atau fakultatif seperti *Staphylococcus* atau *Pseudomonas*, selain itu uji ini biayanya relatif murah dan media yang digunakan mudah (Willey *et al.* 2008: 840).

b) Cara Parit (*Ditch*)

Metode pelat parit (Gambar 2.5) digunakan untuk menguji aktivitas antimikroorganisme. Koloni bakteri diinokulasikan pada lempeng agar, kemudian dibuat sebidang parit. Parit dibiarkan selama 1 jam pada suhu kamar dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kemudian diperiksa zona hambat mikroorganisme di sekitar parit (Almas, Skaug, & Ahmad, 2005).



Gambar 2.5  
**Metode Parit**  
Sumber: Kohn (1953)

c) Cara Sumuran (*hole/cup*)

Pada metode sumuran/lubang digunakan cara membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian, kemudian lubang diisi dengan larutan yang akan diuji. Setelah diinkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan disekeliling lubang (Kusmiyati & Agustini, 2007).

## 2) Metode Dilusi

Metode dilusi dilakukan dengan mencampurkan zat antimikroba dan media agar, yang kemudian diinokulasikan dengan mikroorganisme uji. Hasil pengamatan yang akan diperoleh berupa tumbuh atau tidaknya mikroorganisme didalam media (Pratiwi, 2008). Metode dilusi dapat digunakan untuk menentukan nilai Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) (Willey *et al.* 2008: 840). Kadar Hambat Minimum (KHM) didefinisikan sebagai konsentrasi terendah dari agen antimikroba yang mencegah pertumbuhan mikroorganisme yang terlihat dalam kondisi yang ditentukan (Pratiwi, 2008). Metode ini terdiri atas dua cara, yaitu:

### a) Pengenceran serial dalam tabung

Pengujian ini dilakukan menggunakan media pertumbuhan cair yang mengandung berbagai konsentrasi yang meningkat secara geometris (biasanya rangkaian pengenceran dua kali lipat) dari agen antimikroba, yang diinokulasi dengan sejumlah sel bakteri tertentu. Setelah inkubasi, adanya kekeruhan atau sedimen menunjukkan pertumbuhan organisme (Wiegand, Hilpert, & Hancock, 2008). Aktivitas zat ditentukan sebagai kadar hambat minimal (KHM) (Pratiwi, 2008).

### b) Penipisan Lempeng Agar

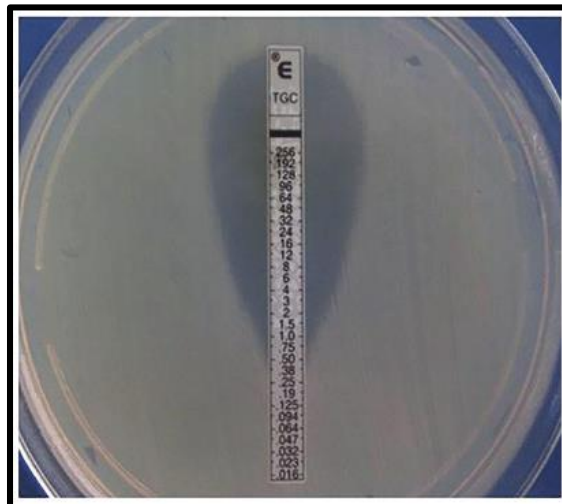
Untuk metode ini, larutan dengan jumlah sel bakteri tertentu dimasukkan ke dalam pelat agar dengan konsentrasi antibiotik yang berbeda. Setelah inkubasi, keberadaan koloni bakteri pada pelat menunjukkan pertumbuhan organisme (Wiegand *et al.*, 2008). Konsentrasi terendah dari larutan zat antibakteri yang masih memberikan hambatan terhadap pertumbuhan kuman ditetapkan sebagai konsentrasi Hambat Minimal (KHM) (Pratiwi, 2008).

## 3) Metode *Etest*

*E-test* atau *Epsilometer Test* merupakan sebuah metode kuantitatif untuk uji antimikroorganisme (Nachnani, Scuteri, Newman, Avanesian, & Lomeli, 1992). *E-test* biasa digunakan untuk menguji patogen anaerob. Metode ini dilakukan dengan cara memasukkan strip plastik khusus (*Strip Etest*®) yang sudah mengandung agen antibakteri kedalam cawan petri yang berisi agar dengan tiga



arah berbeda. *Strip Etest*® ditempatkan di permukaan sehingga memanjang radial dari pusat. Setiap strip berisi gradien dari antibiotik dan diberi label dengan skala penghambatan minimal nilai konsentrasi. Konsentrasi terendah di strip terletak di tengah cawan petri. Setelah 24 hingga 48 jam inkubasi, maka akan muncul zona penghambatan (Willey *et al.* 2008: 841).



Gambar 2.6  
**Metode E-Test**  
 Sumber: Li *et al* (2015)

## 2.2 Hasil Penelitian yang Relevan

Penelitian yang dilakukan terkait efektivitas ekstrak daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) sebagai *hand sanitizer* diantaranya dilakukan oleh Fardan & Harimurti (2018). Pada penelitian ini pembuatan *hand sanitizer* gel diformulasikan dengan berbagai konsentrasi minyak atsiri daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) yaitu 0%, 1, 10, dan 20%. Kemudian dilakukan evaluasi sifat fisik gel dan uji daya antibakteri terhadap bakteri *S. aureus*. Hasil penelitian menunjukkan konsentrasi minyak atsiri daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) sebesar 10% dapat menghambat bakteri *S. aureus*.

Penelitian yang relevan dengan penelitian yang akan penulis lakukan adalah penelitian ekstrak daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) dalam menghambat bakteri *S. aureus*. Salah satu penelitian tersebut dilakukan oleh (Rosmawati, 2012). Penelitian tersebut bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) terhadap pertumbuhan *S. aureus* secara *in vitro*. Hasil

penelitian menunjukkan terdapat pengaruh ekstrak daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus*. Konsentrasi 50% memiliki zona hambat optimum sebesar 1,46 cm. Selain menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*, penelitian dari Das et al., (2016) membuktikan bahwa senyawa eugenol yang dapat dijumpai pada minyak atsiri daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) efektif dalam membunuh strain *S. aureus* yang resisten terhadap vankomisin melalui produksi ROS dan kerusakan membran. Selain vankomisin, eugenol juga dapat membunuh bakteri *Methicilin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dengan cara merusak membran bakteri.

Selain ketiga penelitian di atas, penelitian lain yang relevan adalah mengenai *hand sanitizer* dari bahan alami. Salah satu penelitian tersebut telah dilakukan oleh (Veronita et al., 2017). Penelitian tersebut dilakukan untuk mengetahui adanya senyawa flavonoid dan daya antibakteri ekstrak daun binahong terhadap bakteri *Escherichia coli* dan bakteri *S. aureus* serta memformulasi menjadi sediaan *hand sanitizer*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak hasil isolasi daun binahong diduga merupakan senyawa flavonoid golongan auron. Ekstrak daun binahong memiliki daya hambat terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus*. Sedangkan *hand sanitizer* daun binahong memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* dan tidak memiliki daya hambat terhadap bakteri *S. aureus*.

### **2.3 Kerangka Konseptual**

Adapun kerangka konseptual untuk penelitian ini dapat dilihat pada gambar 2.7 sebagai berikut:



Gambar 2.7

**Kerangka Konseptual**

Sumber: Data Pribadi

*Hand sanitizer* merupakan zat antiseptik yang dapat dijadikan alternatif lain dalam menjaga kebersihan tangan selain dengan mencuci tangan. *Hand sanitizer* juga merupakan agen antimikroba yang dapat menghambat sampai membunuh mikroorganisme pada tangan. *Hand sanitizer* yang terdapat di pasaran biasanya mengandung bahan kimia seperti alkohol dan triklosan.

Namun jika digunakan secara berlebihan dan terus menerus, bahan kimia dapat mengakibatkan efek samping yang buruk bagi kesehatan. Alternatif lain untuk menggunakan *hand sanitizer* tanpa menggunakan bahan kimia, adalah dengan menggunakan bahan alam sebagai bahan aktif, salah satunya adalah ekstrak daun cengkih (*Syzygium aromaticum*). Ekstrak daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) mengandung bahan aktif eugenol yang menunjukkan aktivitas antibakteri.

Salah satu mikroorganisme yang sering dijumpai pada tangan dan dapat menyebabkan infeksi pada kulit adalah bakteri *S. aureus*. Infeksi dari bakteri tersebut dapat dicegah dengan rajin mencuci tangan atau menggunakan *hand sanitizer*, salah satunya adalah *hand sanitizer* ekstrak daun cengkih (*Syzygium aromaticum*). Daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) dijadikan sebagai bahan

pembuatan *hand sanitizer*, karena mengandung eugenol yang mempunyai aktivitas antibakteri salah satunya terhadap *S. aureus*. Eugenol juga mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Methicilin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Bakteri MRSA merupakan bakteri yang resisten terhadap antibiotik, dan menyebabkan penyakit yang susah untuk diobati.

*Hand sanitizer* alami ekstrak daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) dibuat dengan cara membuat ekstrak daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) menggunakan metode maserasi. Konsentrasi ekstrak daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) yang berbeda yaitu 0% (kontrol), 5%, 10%, 15%, dan 20% akan diuji menggunakan metode difusi *paper disk*, untuk menentukan apakah *hand sanitizer* tersebut efektif dalam menghambat bakteri *Methicilin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Uraian di atas dapat digunakan sebagai arahan berpikir, bahwa *hand sanitizer* ekstrak daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) efektif dalam menghambat bakteri *Methicilin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).

#### **2.4 Hipotesis Penelitian**

Hipotesis dalam penelitian ini adalah:

H<sub>0</sub>: *Hand sanitizer* ekstrak daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) tidak efektif dalam menghambat bakteri *Methicilin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).

H<sub>a</sub>: *Hand sanitizer* ekstrak daun cengkih (*Syzygium aromaticum*) efektif dalam menghambat bakteri *Methicilin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).