

**ARTIKEL PENELITIAN****EFEK ANTIMIKROBA OREGANO (*Origanum vulgare* L), JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia* Swingle), KOMBINASINYA TERHADAP *Staphylococcus aureus***Ayren Thomas¹, Djaja Rusmana^{2*}, Endang Evacuasiany³¹Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha Kota Bandung Provinsi Jawa Barat Indonesia²Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha Kota Bandung
Provinsi Jawa Barat Indonesia³Departemen Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha Kota Bandung
Provinsi Jawa Barat Indonesia

*Korespondensi : jayarusmana67@gmail.com Telp/HP 08122387121

Abstrak

Staphylococcus aureus merupakan salah satu bakteri tersering pada pioderma. Penggunaan herbal dapat dijadikan sebagai terapi komplementer. Daun oregano mengandung minyak atsiri, tanin, saponin, asam fenolat (asam rosmarinik), dan flavonoid (luteolin, apigenin, dan kaempferol) yang bersifat antimikroba. Perasan buah jeruk nipis mengandung asam sitrat, alkaloid, saponin, fenol, terpenoid, steroid, dan flavonoid glikosida (eriocitrin, hesperidin, dan neoponcirin) yang bersifat antimikroba. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui efek antimikroba infusa daun oregano, perasan buah jeruk nipis, dan kombinasinya terhadap *S. aureus* secara in vitro. Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorik sungguhan dengan metode difusi cakram Kirby-Bauer. Setiap cakram berisi daun oregano 20%, daun oregano 30%, buah jeruk nipis, dan kombinasinya serta ampicillin sebagai kontrol pembanding diletakan pada agar Mueller-Hinton yang sudah diinokulasi *S. aureus* ATCC 29213. Penelitian ini dilakukan secara triplo. Hasil penelitian menunjukkan rerata zona inhibisi terbesar pada ampicillin (15,1 mm), diikuti buah jeruk nipis (13,62 mm), kombinasi daun oregano 20% dan buah jeruk nipis (10,31 mm), daun oregano 30% (9,64 mm), kombinasi daun oregano 30% dan buah jeruk nipis (7,93 mm), daun oregano 20% (7,09 mm). Simpulannya daun oregano, buah jeruk nipis, dan kombinasinya memiliki efek antimikroba terhadap *S. aureus*.

Kata kunci: oregano, jeruk nipis, *Staphylococcus aureus*



Abstract

Staphylococcus aureus is one of the most common bacteria in pyoderma. The use of herbs can be used as a complementary therapy. Oregano leaves contain antimicrobial essential oils, tannins, saponins, phenolic acids (rosmarinic acid), and flavonoids (luteolin, apigenin, and kaempferol). Lime juice contains antimicrobial citric acids, alkaloids, saponins, phenols, terpenoids, steroids, and flavonoid glycosides (eriocitrin, hesperidin, and neoponcirin). The purpose of this research was to know the antimicrobial effect of oregano leaves infusion, lime juice, and the combination against *S. aureus* by in vitro methods. This research is an actual laboratory experiment, using the Kirby-Bauer disk diffusion method. Each disc contains oregano leaves 20%, oregano leaves 30%, lime, and their combination, ampicillin as comparison control is placed on the Mueller Hinton agar which had been inoculated with *S. aureus* ATCC 29213. This study was done triplo. The result of the study showed that the average widest inhibition zone was formed by ampicillin (15,1 mm), followed by lime (13,62 mm), combination of oregano leaves 20% and lime (7,93 mm), oregano leaves 30% (9,64 mm), combination of oregano leaves 30% and lime (7,93 mm), oregano leaves 20% (7,09 mm). The conclusion was that oregano leaves, lime and their combination have antimicrobial effects against *S. aureus*.

Keywords: oregano, lime, *Staphylococcus aureus*

PENDAHULUAN

Pioderma adalah infeksi pada kulit dan jaringan lunak akibat bakteri piogenik seperti *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus β hemolyticus group A* (Perdoski, 2017). Impetigo merupakan salah satu penyakit pioderma yang paling sering terjadi (Gandhi et al., 2012). Bowen et al (2015) menyatakan prevalensi impetigo pada anak di bawah 15 tahun pada tahun 2012 di Asia mencapai 7,3% (Bowen et al., 2015).

Daun oregano (*Origanum vulgare L.*) adalah herbal yang dapat digunakan sebagai anti-mikroba. Kandungan daun oregano terdiri dari minyak atsiri, tanin (katekin dan

galat), saponin, asam fenolat (asam rosmarinik), dan flavonoid (luteolin, apigenin, kaempferol) (Martins et al., 2014; Bendifallah et al., 2015; Sakkas and Papadopoulou, 2017).

Jeruk nipis (*Citrus aurantifolia Swingle*) merupakan salah satu jenis spesies yang paling banyak dibudidayakan di Indonesia dan bersifat sebagai antimikroba. Perasan buah jeruk nipis mengandung asam sitrat, alkaloid, saponin, fenol, terpenoid, steroid, dan flavonoid glikosida (eriocitrin, hesperidin dan neoponcirin) (Oikeh et al., 2015; Prastiwi and Ferdiansyah, 2017; Arian et al., 2019).



Penelitian mengenai kombinasi oregano dan jeruk nipis belum ada sampai saat ini sehingga kami melakukan penelitian ini untuk :

- Mengetahui efek antimikroba infusa daun oregano 20%, 30% dan perasan buah jeruk nipis 100% terhadap *Staphylococcus aureus* secara *In Vitro*.
- Mengetahui efek antimikroba kombinasi infusa daun oregano 20% dan perasan buah jeruk nipis 100% terhadap *Staphylococcus aureus* secara *In Vitro*.
- Mengetahui efek antimikroba kombinasi infusa daun oregano 30% dan perasan buah jeruk nipis 100% terhadap *Staphylococcus aureus* secara *In Vitro*.

METODE

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Kristen Maranatha. Jenis penelitian ini yaitu deskriptif. Desain penelitian ini bersifat eksperimental laboratorik sungguhan dengan metode *Kirby Bauer Disk Diffusion* dan telah mendapatkan persetujuan dari Komite Etik Penelitian, Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Maranatha berdasarkan SK No 098/KEP/V/2021.

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun oregano, buah jeruk nipis, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, akuades, cakram kertas kosong (*paper disc*),

pewarnaan Gram (kristal violet, iodin, aseton alkohol, safranin, minyak emersi), *Mannitol Salt Agar* (Oxoid™), *Tryptic Soy Agar* (Oxoid™), *Tryptic Soy Broth* (Oxoid™), gliserol 20%, *Mueller hinton Agar* (Oxoid™), hidrogen peroksida (H₂O₂) 3%, NaCl 0,9%, cakram yang berisi ampicillin 10 µg (Oxoid™), larutan standar 0,5 *McFarland*, dan alkohol 70%. Daun oregano didapatkan dari penjual tumbuhan di Lembang, Bandung. Buah jeruk nipis didapatkan dari penjual tumbuhan di Kabupaten Bandung Barat. *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Padjajaran.

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah otoklaf, oven, ose, bunsen, kapas lidi, cawan petri diameter 8 cm dan 12 cm, tabung reaksi, mikroskop cahaya, labu erlenmeyer 100 dan 1000 ml, pinset, pipet tetes, gelas kaca, penjepit kayu, *objek glass*, jangka sorong, korek api, mikropipet 100 µl, masker medis, sarung tangan, timbangan gram digital, pemeras jeruk *stainless steel*, kertas saring (merk Kova), panci infus, dan blender.

Tahapan Persiapan

1. Sterilisasi Basah dan Kering

Sterilisasi basah dilakukan menggunakan otoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1,5 atm. Alat dan bahan yang disterilkan yaitu akuades, medium



pertumbuhan bakteri uji, cakram kertas kosong, NaCl 0,9%, tip pipet 100 μ L, dan kapas lidi.

Sterilisasi kering dilakukan dengan memasukan alat ke dalam oven pada suhu 170°C selama 1 jam. Setelah itu, alat dapat didinginkan sebelum digunakan. Alat dan bahan yang disterilkan yaitu cawan petri, tabung reaksi, dan *objek glass*.

2. Persiapan Media Agar

Media agar yang dipersiapkan untuk identifikasi bakteri uji adalah Lempeng Agar Darah (LAD) dan *Mannitol Salt Agar* (MSA). Media agar yang dipersiapkan untuk tes sensitivitas antimikroba adalah *Mueller Hinton Agar* (MHA).

Prosedur Kerja

1. Identifikasi Bakteri Uji

Bakteri uji diidentifikasi menggunakan pewarnaan Gram, LAD, tes katalase, dan MSA.

2. Determinasi Bahan Uji

Uji determinasi tumbuhan oregano dan jeruk nipis dilakukan di Fakultas Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati Institut Teknologi Bandung.

3. Pembuatan Infusa Daun Oregano 20% dan 30%

Pembuatan infusa mengacu pada Farmakope Indonesia edisi IV, daun Oregano yang sudah dikumpulkan dicuci lalu dikeringkan di dalam ruangan. Setelah daun kering, daun diblender hingga menjadi bubuk. Bubuk daun oregano

ditimbang sebanyak 10 gram, lalu ditambahkan 100 ml akuades dan dipanaskan di atas penangas air selama 15 menit dihitung jika suhu sudah mencapai 90°C sambil sesekali diaduk. Selanjutnya, disaring menggunakan kertas saring kemudian ditambahkan akuades melalui ampas hingga didapatkan 100 ml infusa daun oregano (konsentrasi 10%). Infusa di atas dibagi menjadi 2 untuk mendapatkan konsentrasi 20% dan 30% dengan cara :

- Infusa daun oregano diambil 60 ml, kemudian diuapkan hingga tersisa 20 ml sehingga didapatkan infusa daun oregano dengan konsentrasi 30%.
- Infusa daun oregano diambil 40 ml lalu diuapkan hingga tersisa 20 ml untuk menghasilkan infusa daun oregano konsentrasi 20% (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995; Siregar et al., 2020).

4. Pembuatan Perasan Buah Jeruk Nipis 100%

Kulit jeruk nipis dicuci dengan air mengalir dan dibersihkan dengan kapas yang mengandung alkohol 70%. Selanjutnya, buah jeruk nipis dipotong lalu diperas menggunakan perasan jeruk *stainless steel* yang sudah diasepsis menggunakan alkohol 70%. Hasil perasan diletakkan dalam labu erlenmeyer steril 100 ml (Utami and Yessi, 2014).

5. Pembuatan Suspensi Mikroba



Sebanyak 4 sampai 5 koloni *S. aureus* pada TSA diambil menggunakan ose lalu diinokulasikan ke dalam tabung berisi cairan salin steril 2 ml. Setelah itu, isi tabung dihomogenkan dan disetarakan dengan *standart 0,5 McFarland* ($1-2 \times 10^8$ CFU/ ml) (Hudzicki, 2009; Hombach *et al.*, 2015).

6. Tes Sinergis

Tes sinergis adalah tes untuk menguji efektivitas kombinasi 2 antimikroba terhadap isolat bakteri tunggal. Suspensi *S. aureus* di dalam tabung reaksi diinokulasikan ke cawan petri berisi agar Mueller Hinton menggunakan kapas lidi steril. Kemudian, 1 cawan petri kosong diletakan 4 cakram kertas kosong. Cakram kertas kosong ke 1 ditetaskan 10 μ L infusa daun oregano 20%, cakram kertas kosong ke 2 ditetaskan 10 μ L infusa daun oregano 30%, cakram kertas kosong ke 3 dan 4 ditetaskan 10 μ L perasan buah jeruk nipis 100%. Cakram kertas yang sudah berisi sediaan diletakan pada cawan petri berisi MHA. Cakram kertas ke 1 dan 3 diletakan pada jarak 10 mm. Cakram kertas ke 2 dan 4 diletakan pada jarak 10 mm. Percobaan dilakukan secara duplo. Selanjutnya, kedua MHA di atas diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan diamati hasilnya (Biswas *et al.*, 2013; Lauma, Pangemanan and Hutagalung, 2014).

Interpretasi hasil tes sinergis :

- a. Sinergis : aktivitas kombinasi antimikroba secara substansial lebih besar dibandingkan aktivitas antimikroba tunggal.
- b. Indefrens : aktivitas kombinasi antimikroba menjadi tidak lebih baik atau tidak lebih buruk jika dibandingkan aktivitas antimikroba tunggal.
- c. Antagonis : aktivitas kombinasi antimikroba secara substansial lebih kecil dibandingkan aktivitas antimikroba tunggal. (interaksi ini perlu dihindari) (Tille, 2016).

7. Tes Sensitivitas Antimikroba dengan Metode Kriby-Bauer Disk Diffusion

Suspensi *S. aureus* di dalam tabung reaksi diinokulasikan ke permukaan agar *Mueller Hinton* menggunakan kapas lidi steril. Masing masing *Paper disc* berisi 10 μ L infusa daun oregano 20%, 10 μ L infusa daun oregano 30%, 10 μ L perasan buah jeruk nipis 100%, 10 μ L kombinasi infusa daun oregano 20% dan perasan buah jeruk nipis 100%, akuades sebagai kontrol negatif dan ampicillin sebagai kontrol pembanding diletakkan secara steril pada MHA. Percobaan dilakukan secara triplo. MHA diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Diameter zona inhibisi yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong dengan menggunakan



satuan mm (Hudzicki, 2009; Lauma, Pangemanan and Hutagalung, 2014).

Berdasarkan *National Community for Clinical Laboratory Standard* (NCCLS), ampicillin 10 mcg sensitif terhadap *S. aureus* jika zona inhibisinya ≥ 17 mm, termasuk intermediet jika zona inhibisinya 14 - 16 mm, dan termasuk resisten jika zona inhibisinya ≤ 13 mm (Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI), 2007).

HASIL

Hasil Identifikasi Bakteri Uji

Berikut hasil identifikasi bakteri uji secara mikroskopis (pewarnaan gram) dan makroskopis (tes katalase, LAD, MSA) :

a. Hasil Pewarnaan Gram

Identifikasi bakteri berdasarkan pewarnaan gram didapatkan :

Bentuk : Bulat
Warna : Ungu
Sifat : Gram positif
Susunan : Berkelompok seperti anggur
Ukuran : 0,5-1,0 μm
Kesimpulan : Kokus gram positif (Gambar 1A).

b. Hasil Tes Lempeng Agar Darah

Hasil biakan bakteri pada LAD akan tampak koloni berwarna kuning

dengan hemolisis tipe beta di sekitar koloni (Gambar 1B).

c. Hasil Tes Katalase

Hasil tes katalase positif (terbentuk gelembung udara) (Gambar 1C).

d. Hasil Tes *Mannitol Salt Agar*

Hasil biakan bakteri pada *Mannitol Salt Agar* positif (koloni berwarna kuning) (Gambar 1D).

Hasil Determinasi Bahan Uji

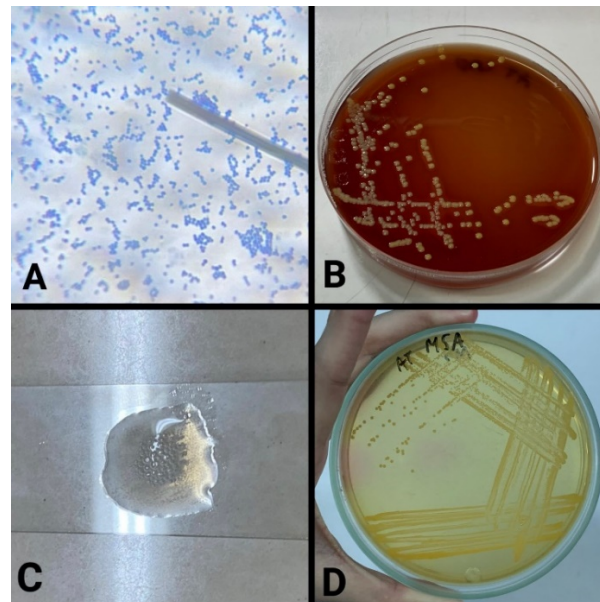
Berdasarkan hasil determinasi herbal di Fakultas Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati Institut Teknologi Bandung, tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Origanum vulgare* L. dan *Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle.

Hasil Tes Sinergis

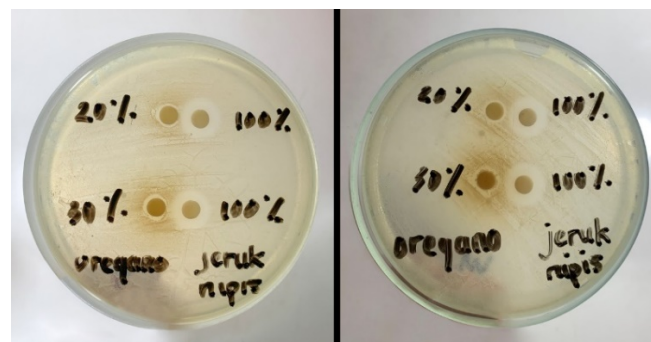
Hasil tes sinergis antara infusa daun oregano 20% dan perasan jeruk nipis 100% adalah indeferens dan hasil tes sinergis antara infusa daun oregano 30% dan perasan jeruk nipis 100% adalah antagonis. (Gambar 2)

Hasil Tes Sensitivitas Antimikroba

Hasil tes sensitivitas antimikroba digambarkan dalam bentuk tabel ukuran zona inhibisi masing-masing cakram dilakukan secara triplo. (Tabel 1)



Gambar 1. Identifikasi bakteri uji



Gambar 2 Tes sinergis

Tabel 1. Rata-rata zona inhibisi masing-masing cakram pada perlakuan triplo

Cakram	Rata-rata zona inhibisi (mm)
Kontrol Pembanding (ampicillin)	15,10 ± 1,00
Kontrol Negatif	0
Infusa Daun Oregano 20%	7,09 ± 0,31
Infusa Daun Oregano 30%	9,64 ± 1,45
Perasan Jeruk Nipis 100%	13,62 ± 0,86
Infusa Daun Oregano 20% dan Perasan Jeruk Nipis 100%	10,31 ± 1,52
Infusa Daun Oregano 20% dan Perasan Jeruk Nipis 100%	7,93 ± 0,80



PEMBAHASAN

Tahapan identifikasi bakteri uji yaitu pewarnaan gram, tes katalase, MSA dan LAD. Hasil pewarnaan gram memperlihatkan kokus gram positif, hasil tes katalase positif, hasil tes LAD koloni berwarna kuning dan hemolisis tipe beta, hasil tes MSA positif sehingga dapat disimpulkan bahwa bakteri uji yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus*.

Dasar penelitian digunakannya infusa daun oregano konsentrasi 20% yaitu menurut penelitian Kandasamy et al (2017) yang menggunakan infusa 20 g daun kering oregano dalam 100 ml air menghasilkan zona inhibisi 13.1 ± 5.6 terhadap *S. aureus* (Kandasamy et al., 2017).

Berdasarkan hasil penelitian ini, zona inhibisi infusa daun oregano 30% lebih besar dibandingkan infusa daun oregano 20%, tetapi diameter keduanya tetap lebih kecil dibandingkan ampicillin sebagai kontrol pembanding.

Hasil penelitian ini tidak sejalan dengan penelitian kandasamy et al (2017). Hal ini karena rata-rata zona inhibisi yang didapat lebih kecil dibandingkan penelitian kandasamy yang menggunakan infusa 20 gram daun oregano dalam 100 ml air didapatkan zona inhibisi sebesar $13,1 \pm 5,6$ mm (Kandasamy et al., 2017). Perbedaan zona inhibisi yang terbentuk kemungkinan diakibatkan oleh perbedaan strain *S. aureus* yang digunakan, dan karakteristik daun oregano karena kondisi geografis

setiap negara seperti musim, pH tanah, kandungan tanah, air sebagai habitat oregano yang berbeda. Hasil penelitian kami juga tidak sejalan dengan penelitian Martins et al (2014) yang menggunakan infusa 20 mg/ml daun dan bunga oregano tidak menghasilkan zona inhibisi terhadap *S. aureus* (Martins et al., 2014). Hal ini karena pada penelitian kami menggunakan infusa daun oregano 20 g dalam 100 ml dengan konsentrasi yang jauh lebih besar dibandingkan penelitian Martins dkk.

Minyak atsiri yang terkandung pada daun oregano berfluktuasi antara 0,5-2% dan dapat mencapai 7%. Komponen utama minyak atsiri daun oregano terdiri dari isomer fenol *carvacrol* dan *thymol*. Mekanisme kerja *carvacrol* dan *thymol* adalah merusak membran sitoplasma sehingga terjadi ekspansi dan destabilisasi struktur membran serta meningkatkan fluiditas dan permeabilitas sel bakteri. Hal ini menyebabkan ion, materi seluler, ATP, dan asam nukleat keluar menuju ekstraseluler (Xu et al., 2008; Nostro and Papalia, 2012; Sakkas and Papadopoulou, 2017).

Mekanisme kerja tanin adalah mengikat protein bakteri dengan hidrogen tanin sehingga protein bakteri tidak mampu menempel pada sel dan metabolisme bakteri akan terganggu. Selain itu, tanin mampu mengikat peptidoglikan yang merupakan penyusun dinding bakteri gram positif sehingga fungsi



integritas dinding bakteri dapat terganggu (Dong et al., 2018; Kaczmarek, 2020).

Mekanisme kerja saponin yaitu menurunkan tegangan permukaan sehingga permeabilitas membran akan meningkat lalu terjadi kebocoran isi sel seperti asam nukleat dan protein (Dong et al., 2020).

Mekanisme kerja asam rosmarinik yaitu meningkatkan permeabilitas membran sel sehingga terjadi kebocoran protein dan gula yang menyebabkan metabolisme sel bakteri terganggu. Selain itu, asam rosmarinik dapat menghambat DNA gyrase sehingga replikasi bakteri akan dihambat (Yao et al., 2012).

Mekanisme kerja luteolin yaitu menghambat DNA topoisomerase I dan II pada bakteri gram positif sehingga sintesis asam nukleat dan ekspresi protein bakteri akan terhambat, menurunkan produksi ATP dengan menghambat SDH (*succinate dehydrogenase*), dan menurunkan depolarisasi potensial *S. aureus* yang akan mengganggu integritas membran dan dinding sel bakteri sehingga terjadi kebocoran sel (Guo et al., 2020).

Mekanisme kerja apigenin adalah meningkatkan produksi *nitric oxide* (NO) pada sel bakteri. Hal ini menyebabkan terhambatnya fungsi enzim, meningkatkan kerusakan sel, dan proses pro-oksidan bakteri. Apigenin dapat meningkatkan *Reactive Oxygen Species* (ROS)/*Reactive Nitrogen Species* (RNS).

ROS/RNS menyebabkan peroksidasi membran sehingga terjadi kerusakan fosfolipid bilayer. ROS/RNS juga mengoksidasi gula dan basa DNA yang menyebabkan fragmentasi DNA dan membran potensial sehingga sel menjadi apoptosis. Selain itu, ROS/RNS dapat mengoksidasi glutathione sehingga homeostasis redoks seluler hilang. Apigenin juga mampu menekan produksi *α -hemolysin* pada *S. aureus* (Dong et al., 2013; Kim, Woo and Lee, 2020).

Mekanisme kerja kaempferol adalah menghambat adhesi *S. aureus* dengan menekan gen regulasi pada permukaan bakteri sehingga pembentukan biofilm tidak terjadi. Gen yang dihambat yaitu *clumping factor A* (*clf A*), *clumping factor* (*clf B*), *fibronectin binding A* (*fnb A*), *fibronectin binding B* (*fnb B*), dan *Staphylococcal accessory regulator A* (*sarA*) (Ming et al., 2017).

Hasil rata-rata zona inhibisi perasan buah jeruk nipis 100% pada penelitian ini adalah $13,62 \pm 0,86$ mm. Zona inhibisi ini lebih kecil dibandingkan ampicillin sebagai kontrol pembanding.

Hasil penelitian ini tidak sejalan dengan penelitian Razak, Djamal, dan Revilla (2013) karena pada penelitian Razak tentang air perasan jeruk nipis 100% terhadap *S. aureus* menghasilkan zona inhibisi sebesar 10,5 mm (Razak, Djamal dan Revilla, 2013). Selain itu, hasil penelitian ini tidak sejalan dengan penelitian Lauma, Pengamanan, dan Hutagalung



(2014) karena penelitian Lauma, Pangemanan, dan Hutagalung tentang air perasan jeruk nipis 100% terhadap *S. aureus* menghasilkan zona inhibisi sebesar 14,22 mm (Lauma, Pangemanan dan Hutagalung, 2014). Hasil penelitian ini juga tidak sejalan dengan penelitian Utami dan Yessi (2014) karena zona inhibisi yang didapat lebih kecil dibandingkan penelitian Utami dan Yessi tentang air perasan buah jeruk nipis 100% terhadap *S. aureus* menghasilkan zona inhibisi sebesar 21,34 mm (Utami dan Yessi, 2014). Perbedaan zona inhibisi yang terbentuk kemungkinan karena adanya perbedaan kondisi geografis buah jeruk nipis dan *S. aureus* yang digunakan.

Salah satu kandungan jeruk nipis yang bersifat antimikroba yaitu asam sitrat. Kadar asam sitrat dalam jeruk nipis sebesar 5,53 g/dl, sedangkan pH jeruk nipis yaitu 2,43. Mekanisme kerja asam sitrat yaitu berpindah melalui membran sel sehingga pH intraseluler menjadi rendah. Rendahnya pH dalam sel dapat merusak aktivitas enzimatis, protein, DNA, dan membran ekstraseluler. Selain itu, pH intraseluler yang rendah menyebabkan supresi *nicotinamide adenine dinucleotide* (NADH). Asam sitrat dapat mengubah pH lingkungan dan menyebabkan terjadi pengkelatan ion logam pada dinding sel yang mampu mengubah permeabilitas dinding sel. Hal ini menyebabkan

penghambatan absorpsi nutrisi sehingga semua mekanisme diatas mengakibatkan apoptosis mikroorganisme (Su et al., 2014; Arian et al., 2019).

Mekanisme kerja alkaloid yaitu menghambat *quorum sensing* *S. aureus* sehingga faktor virulensi tidak dilepaskan dan menghambat sortase A sehingga adhesi sel bakteri ke sel host terhambat (Cushnie, Cushnie and Lamb, 2014).

Mekanisme kerja steroid adalah berikatan dengan membran fosfolipid sel sehingga terjadi penurunan integritas membran dan perubahan morfologi membran sehingga sel menjadi lisis (Sapara and Waworuntu, 2016).

Mekanisme kerja terpenoid adalah mengikat protein transmembran atau porin untuk membentuk ikatan polimer kuat sehingga porin menjadi rusak. Rusaknya porin menyebabkan pertukaran zat terganggu dan permeabilitas membran menurun. Hal ini, menyebabkan terhambatnya pertumbuhan bakteri bahkan kematian sel (Cowan, 1999; Amalia, Wahdaningsih and Untari, 2014).

Mekanisme kerja hesperidin adalah merusak rantai respiratori organel mitokondria dengan mengurangi aktivitas dehidrogenase sehingga ATP yang dihasilkan akan berkurang (Min et al., 2014; Sahu et al., 2016).

Hasil penelitian rata-rata zona inhibisi kombinasi infusa daun



oregano 20% dan perasan buah jeruk nipis 100% adalah $10,31 \pm 1,52$ mm. Zona inhibisi dari hasil kombinasi keduanya lebih kecil dibandingkan perasan buah jeruk nipis 100% tunggal dan lebih besar dibandingkan infusa daun oregano 20% tunggal. Hal ini disebabkan karena kombinasi keduanya bersifat indifferens pada tes sinergis.

Berdasarkan respon farmakologi maksimal, agonis dibagi menjadi 2 yaitu agonis penuh dan agonis parsial. Agonis penuh terjadi ketika semua reseptor diduduki oleh zat aktif, sedangkan agonis parsial hanya menduduki sebagian reseptor yang menyebabkan respon farmakologi tidak maksimal. Ketika agonis penuh dan agonis parsial dikombinasi maka kerja agonis penuh menjadi lebih rendah dibandingkan jika tidak dikombinasi (Katzung, 2017). Kombinasi infusa oregano 20% dan perasan buah jeruk nipis 100% bersifat indifferens diduga karena salah satu bersifat agonis penuh dan yang lain bersifat agonis parsial.

Hasil penelitian rata-rata zona inhibisi kombinasi infusa daun oregano 30% dan perasan buah jeruk nipis 100% adalah $7,93 \pm 0,80$ mm. Zona inhibisi dari hasil kombinasi keduanya lebih kecil dibandingkan perasan buah jeruk nipis 100% tunggal dan infusa daun oregano 30% tunggal. Hal ini disebabkan karena kombinasi keduanya bersifat antagonis pada tes sinergis.

Penyebab antagonis masih belum dapat ditentukan, kemungkinan diakibatkan oleh perubahan pH jeruk nipis (*chemical antagonist*). Jeruk nipis memiliki pH 2,43 namun akibat penambahan daun oregano maka terjadi peningkatan pH sehingga kerja zat bioaktif menjadi kurang optimal (Katzung, 2017).

Pada penelitian ini didapatkan zona inhibisi terbesar hingga terkecil berturut-turut yaitu ampicillin ($15,1 \pm 1,00$ mm), diikuti perasan buah jeruk nipis 100% ($13,62 \pm 0,86$ mm), kombinasi daun oregano 20% dan perasan buah jeruk nipis 100% ($10,31 \pm 1,52$ mm), infusa daun oregano 30% ($9,64 \pm 1,45$ mm), kombinasi infusa daun oregano 30% dan perasan buah jeruk nipis 100% ($7,93 \pm 0,80$ mm), infusa daun oregano 20% ($7,09 \pm 0,31$ mm).

KESIMPULAN

Infusa daun oregano 20%, infusa daun oregano 30%, perasan buah jeruk nipis 100%, memiliki efek antimikroba terhadap *S. aureus*. Kombinasi infusa daun oregano 20% dan buah jeruk nipis 100% bersifat indifferens. Kombinasi infusa daun oregano 30% dan buah jeruk nipis 100% bersifat antagonis.

Penelitian berikutnya dapat melakukan tes sensitivitas antimikroba menggunakan konsentrasi infusa daun oregano yang lebih tinggi untuk mengetahui konsentrasi optimal, menggunakan ekstrak daun oregano untuk uji



aktivitas antimikroba, menggunakan bakteri lain untuk uji aktivitas antimikroba menggunakan oregano dan jeruk nipis, dan dilakukan uji fitokimia infusa daun oregano dan perasan buah jeruk nipis.

UCAPAN TERIMAKASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha yang telah memfasilitasi alat dan bahan, juga kepada staf laboratorium mikrobiologi, dosen Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha yang telah memberikan masukan untuk penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Amalia, S., Wahdaningsih, S. and Untari, E. K. (2014) 'Antibacterial Activity Testing of N-hexane Fraction of Red Dragon (*Hylocereus polyrhizus* Britton & Rose) Fruit Peel on *Staphylococcus aureus* ATCC 25923', *Traditional Medicine Journal*, 19(2), pp. 89–94. Available at: <https://jurnal.ugm.ac.id/TradMedJ/article/view/8146>.
- Arian, A. *et al.* (2019) 'Chemical and Microbiological Quality of Traditional and Industrial Lime Juice Produced in Kashan, Iran', *Journal of Nutrition and Food Security*, 4(4), pp. 272–278. doi: 10.18502/jnfs.v4i4.1725.
- Bendifallah, L. *et al.* (2015) 'Phytochemical Study and Antimicrobial Activity of *Origanum Vulgare* L. (Lamiaceae) in Boumerdes Mountainous Region (Algeria)', *Journal of Medical and Bioengineering*, 4(6), pp. 471–474. doi: 10.12720/jomb.4.6.471-474.
- Biswas, S. *et al.* (2013) 'Comparison of Three Dimensional Test and Double Disc Synergy Test for detection of Extended Spectrum β -Lactamase (ESBL) producing Gram negative bacteria', *Pulse*, 6(1–2), pp. 12–19. doi: 10.3329/pulse.v6i1-2.20328.
- Bowen, A. C. *et al.* (2015) 'The global epidemiology of impetigo: A systematic review of the population prevalence of impetigo and pyoderma', *PLoS ONE*, 10(8), pp. 1–15. doi: 10.1371/journal.pone.0136789.
- Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) (2007) *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing - Seventeenth Informational Supplement*.
- Cowan, M. M. (1999) 'Plant products as antimicrobial agents', *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4), pp. 564–582. doi: 10.1128/cmr.12.4.564.
- Cushnie, T. P. T., Cushnie, B. and Lamb, A. J. (2014) 'Alkaloids: An overview of their antibacterial, antibiotic-enhancing and antivirulence activities', *International Journal of Antimicrobial Agents*, 44(5), pp. 377–386. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2014.06.001.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia (1995) *Farmakope Indonesia edisi IV*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dong, G. *et al.* (2018) 'Antimicrobial and anti-biofilm activity of tannic acid against *Staphylococcus aureus*', *Natural Product Research*, 32(18), pp. 2225–2228. doi: 10.1080/14786419.2017.1366485.
- Dong, J. *et al.* (2013) 'Apigenin alleviates the symptoms of *Staphylococcus aureus* pneumonia by inhibiting the production of alpha-hemolysin', *FEMS Microbiology Letters*, 338(2), pp. 124–131. doi: 10.1111/1574-6968.12040.
- Dong, S. *et al.* (2020) 'Antibacterial activity and mechanism of action saponins from *Chenopodium quinoa* Willd. husks against foodborne pathogenic bacteria', *Industrial Crops and Products*, 149(August 2019), p. 112350. doi: 10.1016/j.indcrop.2020.112350.
- Gandhi, S. *et al.* (2012) 'Clinical and bacteriological aspects of pyoderma', *North American Journal of Medical Sciences*, 4(10), pp. 492–495. doi: 10.4103/1947-2714.101997.
- Guo, Y. *et al.* (2020) 'The antibacterial



- activity and mechanism of action of luteolin against *Staphylococcus aureus*, *Infection and Drug Resistance*, 13, pp. 1697–1711. doi: 10.2147/IDR.S253363.
- Hombach, M. *et al.* (2015) 'Standardization of operator-dependent variables affecting precision and accuracy of the disk diffusion method for antibiotic susceptibility testing', *Journal of Clinical Microbiology*, 53(12), pp. 3864–3869. doi: 10.1128/JCM.02351-15.
- Hudzicki (2009) 'Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol', *American Society Microbiology*. Available at: <https://asm.org/getattachment/2594ce26-bd44-47f6-8287-0657aa9185ad/Kirby-Bauer-Disk-Diffusion-Susceptibility-Test-Protocol-pdf.pdf>.
- Kaczmarek, B. (2020) 'Tannic acid with antiviral and antibacterial activity as a promising component of biomaterials-A minireview', *Materials*, 13(14). doi: 10.3390/ma13143224.
- Kandasamy, M. *et al.* (2017) 'Antibacterial activity of aqueous infusion and decoction of dried leaves of oregano (*Origanum vulgare*) on clinical bacterial isolates', 4(7), pp. 442–447. doi: 10.18231/2394-5478.2017.0099.
- Katzung, B. G. (2017) *Basic & Clinical Pharmacology*. 14th edn. McGraw-Hill Education. doi: 10.1016/bs.seda.2019.07.006.
- Kim, S., Woo, E. R. and Lee, D. G. (2020) 'Apigenin promotes antibacterial activity via regulation of nitric oxide and superoxide anion production', *Journal of Basic Microbiology*, 60(10), pp. 862–872. doi: 10.1002/jobm.202000432.
- Lauma, S. W., Pangemanan, D. H. C. and Hutagalung, B. S. P. (2014) 'Uji Efektifitas Perasan Air Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia* S) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* secara in Vitro', *Pharmakon*, 4(4), pp. 9–15. doi: 10.35799/pha.4.2015.10185.
- Martins, N. *et al.* (2014) 'Decoction, infusion and hydroalcoholic extract of *Origanum vulgare* L.: Different performances regarding bioactivity and phenolic compounds', *Food Chemistry*, 158, pp. 73–80. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.02.099.
- Min, K. Y. *et al.* (2014) 'Antimicrobial activity of acid-hydrolyzed *Citrus unshiu* peel extract in milk', *Journal of Dairy Science*, 97(4), pp. 1955–1960. doi: 10.3168/jds.2013-7390.
- Ming, D. *et al.* (2017) 'Kaempferol inhibits the primary attachment phase of biofilm formation in *Staphylococcus aureus*', *Frontiers in Microbiology*, 8(NOV), pp. 1–11. doi: 10.3389/fmicb.2017.02263.
- Nostro and Papalia (2012) 'Antimicrobial Activity of Carvacrol: Current Progress and Future Perspectives', *Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery*, 7(1), pp. 28–35. doi: 10.2174/157489112799829684.
- Oikeh, E. I. *et al.* (2015) 'Phytochemical, antimicrobial, and antioxidant activities of different citrus juice concentrates', *Food Science and Nutrition*, 4(1), pp. 103–109. doi: 10.1002/fsn3.268.
- Perdoski (2017) *Panduan Praktik Klinis bagi Dokter Spesialis Kulit dan Kelamin di Indonesia*. Jakarta: PERDOSKI. doi: 10.1021/jo900140t.
- Prastiwi, S. S. and Ferdiansyah, F. (2017) 'Kandungan Dan Aktivitas Farmakologi Jeruk', *Farmaka*, 15(2), pp. 1–8.
- Razak, A., Djamil, A. and Revilla, G. (2013) 'Uji Daya Hambat Air Perasan Buah Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia* s.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* secara In Vitro', *Jurnal Kesehatan Andalas*, 2(1), p. 05. doi: 10.25077/jka.v2i1.54.
- Sahu, N. *et al.* (2016) 'Synthesis of silver nanoparticles using flavonoids: hesperidin, naringin and diosmin, and their antibacterial effects and cytotoxicity', *International Nano Letters*, 6(3), pp. 173–181. doi: 10.1007/s40089-016-0184-9.
- Sakkas, H. and Papadopoulou, C. (2017) 'Antimicrobial activity of basil, oregano, and thyme essential oils', *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(3), pp. 429–438. doi: 10.4014/jmb.1608.08024.
- Sapara, T. U. and Waworuntu, O. (2016) 'Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun



- Pacar Air (*Impatiens Balsamina* L.) Terhadap Pertumbuhan *Porphyromonas Gingivalis*', *Pharmakon*, 5(4), pp. 10–17. doi: 10.35799/pha.5.2016.13968.
- Siregar, S. *et al.* (2020) 'Perbandingan Aktivitas Antibakteri Infusa Daun Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) dan Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) terhadap Bakteri *Escherichia coli*', *Jurnal Farmasi*, 3(1), pp. 39–46.
- Su, L. C. *et al.* (2014) 'Study on the antimicrobial properties of citrate-based biodegradable polymers', *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2(JUL), pp. 1–9. doi: 10.3389/fbioe.2014.00023.
- Tille, P. M. (2016) *Bailey & Scott's Diagnostic microbiology*. 14th edn. Mosby.
- Utami, D. and Yessi (2014) 'Daya Antibakteri Air Perasan Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Klebsiella pneumonia*', *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan*, 1(1), pp. 35–42.
- Xu, J. *et al.* (2008) 'The antibacterial mechanism of carvacrol and thymol against *Escherichia coli*', *Letters in Applied Microbiology*, 47(3), pp. 174–179. doi: 10.1111/j.1472-765X.2008.02407.x.
- Yao, X. *et al.* (2012) 'Antimicrobial activity of nobiletin and tangeretin against *Pseudomonas*', *Food Chemistry*, 132(4), pp. 1883–1890. doi: 10.1016/j.foodchem.2011.12.021.