

BAB 6**PEMBAHASAN**

Penelitian ini dilakukan untuk membuktikan efek antimikroba dari ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode dilusi agar. Dari penelitian pendahuluan sebelum menggunakan uji dilusi *plate* agar, dapat teramati bahwa Kadar Hambat Minimal (KHM) dari ekstrak bunga cengkeh terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* tidak dapat ditentukan dengan menggunakan uji dilusi tabung. Hal ini dikarenakan bahan ekstrak bunga cengkeh keruh dan mengendap bila dicampurkan dengan cairan di dalam tabung. Sehingga melalui metode dilusi agar ini digunakan untuk mengetahui nilai Kadar Hambat Minimal (KHM) dengan membandingkan pertumbuhan koloni bakteri *Staphylococcus aureus* yang diinokulasikan pada medium dilusi agar pada temperatur 37°C selama 18-20 jam. Namun, pada metode ini Kadar Bunuh Minimal (KBM) tidak dapat ditentukan. Penentuan KBM ini dapat dilakukan salah satunya dengan uji dilusi tabung.

Senyawa aktif ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) didapatkan melalui proses ekstraksi dengan cara maserasi dari 100 gram serbuk bunga cengkeh yang menggunakan pelarut etanol dan didapatkan sebanyak 25 ml ekstrak cair. Etanol digunakan sebagai bahan pelarut karena senyawa aktif yang terkandung di dalam bunga cengkeh (eugenol) yang bersifat non polar akan larut dengan etanol yang juga bersifat non polar, sehingga komponen dari bunga

cengkeh akan terdifusi kelarutannya secara optimal (Diniyah, 2005). Selain itu, pelarut etanol lebih aman dan tidak membahayakan apabila ekstraknya diaplikasikan pada bahan pangan (Farrel, 1990). Meskipun menggunakan etanol, efek antimikroba ekstrak bunga cengkeh terhadap *Staphylococcus aureus* diperkirakan bukan disebabkan etanol, karena dalam proses pembuatannya ekstrak telah mengalami proses evaporasi dan dioven pada suhu 78,5°C sedangkan titik didih etanol adalah 78°C, sehingga dengan demikian dapat diasumsikan seluruh pelarut etanol sudah menguap.

Konsentrasi ekstrak yang digunakan dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak bunga cengkeh dengan variasi 0,1%; 0,2%; 0,3%; 0,4%; 0,5%; 0,6%; 0,7%; 0,8%; dan 1 kelompok kontrol tanpa diberi ekstrak bunga cengkeh (konsentrasi 0%). Besarnya konsentrasi tersebut ditentukan berdasarkan pada penelitian pendahuluan yang dilakukan juga dengan menggunakan dilusi *plate* agar. Rentang konsentrasi yang dipakai sebelumnya adalah 1%, 2%, 3%, 4%, dan 5% dan menunjukkan hasil bahwa koloni bakteri sudah tidak tumbuh dari konsentrasi 1% sehingga pada penelitian ini rentang tersebut dipersempit agar didapatkan konsentrasi optimum dalam jumlah kecil yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Dari konsentrasi yang kecil tersebut, maka akan dapat menekan biaya pengadaan dan pemakaian ekstrak bunga cengkeh apabila digunakan dalam kehidupan sehari-hari.

Isolat bakteri *Staphylococcus aureus* yang digunakan berasal dari bakteri yang dimiliki Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Sebelum digunakan bakteri diidentifikasi terlebih dahulu dengan pewarnaan gram, tes katalase, dan tes koagulase. Dari hasil pewarnaan didapatkan bakteri berwarna ungu dan bergerombol berbentuk *coccus*

menunjukkan bahwa bakteri gram positif. Dari tes katalase didapatkan hasil positif yang ditandai dengan timbulnya gelembung udara pada media pembenihan. Hal ini membedakan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan bakteri *Streptococcus* sp. Sedangkan dari tes koagulase juga didapatkan hasil positif yang ditandai dengan terbentuknya gumpalan-gumpalan putih pada gelas obyek. Hal ini membedakan *Staphylococcus aureus* dengan strain *Staphylococcus* lainnya dan menunjukkan bahwa bakteri bersifat patogen.

Dalam menentukan KHM, nilai yang diamati adalah jumlah pertumbuhan koloni bakteri pada medium agar yang telah diinkubasi selama 24 jam. Suatu konsentrasi ekstrak dianggap sebagai KHM jika pada agar dengan konsentrasi ekstrak tersebut tidak ditemukan pertumbuhan koloni (Hendriksen, 2003). Pada plate dengan kandungan ekstrak bunga cengkeh ini, jumlah koloni terlalu banyak dan tidak dapat dihitung, sehingga digunakan skoring untuk memudahkan analisa. Berdasarkan hasil penelitian, didapatkan bakteri tidak tumbuh di konsentrasi 0,2% pada pengulangan 2, 3, dan 4, sedangkan di konsentrasi 0,3% bakteri tidak tumbuh pada keempat pengulangan. Maka dapat disimpulkan bahwa KHM dari ekstrak bunga cengkeh terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* adalah 0,3%.

Data-data dari pertumbuhan koloni yang didapat dalam penelitian ini kemudian dilakukan uji statistik untuk mengetahui hubungan antara pemberian sejumlah konsentrasi ekstrak bunga cengkeh terhadap pertumbuhan koloni bakteri pada media agar. Dari analisa data yang dilakukan, didapatkan hasil yang signifikan ($p < 0,05$) menunjukkan bahwa ada hubungan antara pemberian ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) dengan pertumbuhan koloni bakteri *Staphylococcus aureus*. Hubungan tersebut kuat ditandai dari nilai *correlation*

coefficient pertumbuhan bakteri sebesar -0.751, nilai 0.751 tersebut mendekati 1.000. Dan untuk tanda negatif pada nilai -0.751 menunjukkan arah hubungan yang negatif atau bertolak belakang. Artinya peningkatan konsentrasi ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) akan cenderung menurunkan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yang dihasilkan pada *plate* agar. Dari hubungan antara 2 variabel tersebut, juga didapatkan hasil bahwa terdapat perbedaan efek dari berbagai konsentrasi ekstrak bunga cengkeh terhadap pertumbuhan koloni bakteri meskipun pada beberapa konsentrasi menunjukkan hasil yang sama yaitu tidak adanya pertumbuhan koloni bakteri (skoring 0).

Pada minyak bunga cengkeh yang diekstrak dengan menggunakan pelarut heksan terkandung senyawa aktif *eugenol* sebesar 71,56%, *eugenyl acetate* 8,99%, *caryophyllene* 1,67%, dan unsur lainnya dalam jumlah yang sedikit (Nasar, *et al.*, 2007). Sedangkan kandungan minyak bunga cengkeh hasil penyulingan terdiri dari 70-75% *eugenol*, 15% *eugenyl acetate*, 5-12% *caryophyllene*, serta 10% unsur-unsur kecil lainnya (Guenther, 2007). Dari ketiga senyawa kandungan utama minyak bunga cengkeh tersebut yang dapat menimbulkan efek hambat ekstrak bunga cengkeh terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ialah senyawa aktif *eugenol*. *Eugenol* berperan sebagai senyawa antimikroba dan komponen utama dalam jumlah tinggi di dalam minyak bunga cengkeh (Thompson, 2004).

Eugenol dapat digunakan sebagai antimikroba karena sifatnya yang terpenting ialah *hydrophobicity* dan non polar (lipofilik). Sifat ini mampu mengakibatkan terjadinya *adhesive* antara membran sel bakteri *Staphylococcus aureus* yang terdiri dari fosfolipid dengan *eugenol*. Hal ini akan menyebabkan hidrophobisitas pada membran sel bakteri sehingga membran sel akan rusak

kemudian terjadi perubahan permeabilitas membran sel bakteri dan tekanan osmotik meningkat dan pada akhirnya membran sel bakteri akan lisis (Burt, 2004). Lisisnya sel akan menyebabkan denaturasi protein sel sitoplasma sehingga menghambat pembentukan protein sitoplasma dan menghambat ikatan ATP-ase pada membran sel (Corner, 1995). Dengan munculnya hambatan tersebut, bakteri kekurangan zat gizi dan jumlah energi untuk tumbuh menurun. Oleh karena itu, ekstrak bunga cengkeh dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Rempah-rempah disebut layak dijadikan sumber antimikroba apabila memenuhi kriteria yaitu bersifat efektif dalam menghambat mikroba perusak dan patogen pangan serta memiliki tingkat ketersediaan yang tinggi (mudah diperoleh). Bunga cengkeh merupakan salah satu rempah-rempah yang mudah diperoleh dan sesuai hasil penelitian dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Hal tersebut dapat dijadikan sebagai bahan pertimbangan dalam pengaplikasiannya sebagai bahan pengawet (Mawaddah, 2008). Minyak cengkeh hasil ekstraksi bunga cengkeh digunakan pada makanan sebagai bahan pengawet. Karena memiliki *flavour* yang sangat kuat, minyak cengkeh hanya ditambahkan dalam jumlah yang sedikit (Nurdjannah, 2004).

Salah satu alternatif untuk mengaplikasikan ekstrak bunga cengkeh sebagai antimikroba alami ialah dengan mencampurkan minyak atsiri hasil ekstraksi ke dalam bumbu atau makanan yang belum jadi (Yohanna, 2007). Minyak cengkeh dapat diaplikasikan pada pencampuran dalam bumbu rendang, bumbu kari, saus, makanan yang dipanggang, atau makanan yang memiliki citarasa pedas lainnya karena komoditi ini pada dasarnya memiliki rasa yang cukup kuat (Nurdjannah, 2004). Dalam kehidupan sehari-hari banyak dijumpai

penggunaan bumbu instant siap pakai yang mengandung pengawet kimia. Terlihat pada komposisi bumbu instant rendang dan kare dengan merk Indofood menggunakan pengawet dan penguat rasa *Mononatrium Glutamat*, *Dinatrium Inosinat*, dan *Guanilat*. Pengawet kimia yang ada tersebut dapat diganti dengan pengawet alami dan salah satu alternatifnya yaitu dengan ekstrak bunga cengkeh sebagai antimikroba alami.

Berdasarkan penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa ekstrak bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum*) terbukti memiliki efek antimikroba terhadap *Staphylococcus aureus*, sehingga ekstrak bahan uji ini dapat diaplikasikan pada beberapa jenis makanan yang sesuai dengan *flavour* yang dihasilkan oleh minyak cengkeh hasil dari ekstraksi bunga cengkeh.

