

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Keracunan Makanan

Keracunan makanan ialah penyakit yang terjadi setelah menyantap makanan mengandung racun yang dapat berasal dari jamur, kerang, pestisida, susu, bahan beracun yang terbentuk akibat pembusukan makanan dan bakteri. Mampu merusak semua organ tubuh manusia, tetapi yang paling sering terganggu adalah saluran cerna dan saluran saraf (Djamhuri, 2009). Penyebab keracunan makanan, yaitu :

- a. Bahaya kimia, merupakan cemaran bahan-bahan kimia beracun seperti residu, pestisida, racun yang secara alami terdapat dalam bahan makanan dan cemaran bahan kimia lainnya.
- b. Bahaya fisik, merupakan cemaran bahaya fisik seperti benda-benda asing yang dapat membahayakan manusia jika termakan
- c. Bahaya biologis, merupakan cemaran mikroba penyakit (patogen), virus, dan parasit (Siagian, 2002)

Bakteri dapat mengakibatkan keracunan makanan melalui dua mekanisme, yaitu :

- a. Intoksikasi (*Food poisoning*)

Intoksikasi makanan adalah gangguan akibat mengkonsumsi toksin dari bakteri yang telah terbentuk dalam makanan (Siagian, 2002). Bakteri tertentu menghasilkan toksin tertentu saat tumbuh dan

berkembang di dalam makanan. Jika makanan ditelan, maka toksin tersebut yang akan menyebabkan gejala, bukan bakterinya. Pada umumnya toksin dihasilkan di luar sel bakteri, dinamakan eksotoksin. Eksotoksin bukan merupakan sel hidup tetapi merupakan suatu senyawa yang bersifat racun, senyawa tersebut dapat dirusak oleh panas tetapi kadang-kadang lebih banyak diperlukan panas untuk toksin daripada bakteri yang memproduksinya. Karena itu meskipun bahan makanan telah dipanaskan sehingga cukup untuk memusnahkan bakteri tetapi eksotoksinnnya masih tetap ada dan aktif bila termakan masih dapat menyebabkan keracunan (Asadiyanti, 2004).

Gejala-gejala yang ditimbulkan oleh intoksikasi terlihat setelah 3-12 jam setelah memakan bahan makanan tersebut dan ditandai oleh muntah-muntah ringan dan diare (Siagian, 2002).

b. Infeksi (*Food infection*)

Infeksi makanan disebabkan masuknya bakteri ke dalam tubuh melalui makanan yang telah terkontaminasi dan sebagai akibat reaksi tubuh terhadap bakteri atau hasil-hasil metabolismenya. Infeksi ini disebabkan oleh bakteri yang hidup, dengan kata lain sakitnya seseorang adalah akibat masuknya bakteri patogen ke dalam tubuh melalui konsumsi makanan yang tercemar bakteri. Untuk menyebabkan penyakit, jumlah bakteri yang tertelan harus memadai. Bakteri-bakteri tumbuh dan berkembang biak di dalam makanan tetapi tidak memproduksi toksin di luar sel melainkan di dalam sel. Jenis toksin ini disebut endotoksin. Bakteri tersebut dapat menyebabkan

makanan beracun karena di dalam sel bakteri terdapat toksin (Siagian, 2002).

Endotoksin tersebut tidak dapat dikeluarkan dari dalam sel, kecuali sel-sel bakteri tersebut mati. Jika makanan terkontaminasi dengan jenis bakteri tersebut dan kemudian dikonsumsi manusia dan masuk ke dalam saluran pencernaan tidak akan menyebabkan sakit sampai jumlah bakteri yang mati menjadi cukup jumlahnya sehingga dapat mengeluarkan toksin dalam jumlah yang cukup untuk merangsang lambung dan saluran usus besar. Gejala yang muncul berupa kepala pusing, demam, diare, dan muntah-muntah (Asadiyanti, 2004).

Tabel 2.1 Keracunan Makanan Karena bakteri

Intoksikasi	Infeksi
1. Intoksikasi stapilokoki : Enterotoksin stapilokoki diproduksi oleh <i>Staphylococcus aureus</i> 2. Botulism : Neurotoksin diproduksi oleh <i>Clostridium botulinum</i>	1. Salmonellosis : Enterotoksin dan sitotoksin dari <i>Salmonella spp</i> 2. <i>Clostridium perfringens</i> : Enterotoksin diproduksi selama sporulasi <i>C. perfringens</i> tipe A dalam saluran pencernaan 3. <i>Bacillus cereus</i> : enterotoksin diproduksi selama sel lisis dalam saluran pencernaan 4. <i>Escherichia coli enteropatogenik</i> 5. <i>Campylobacter jejuni, C. coli</i> 6. <i>Listeria monocytogenes</i> 7. Yersiniosis, Shigellosis, <i>Vibrio parahaemolyticuz</i>

(Siagian, 2002)

2.2 *Staphylococcus aureus*

2.2.1 Definisi Umum *Staphylococcus aureus*

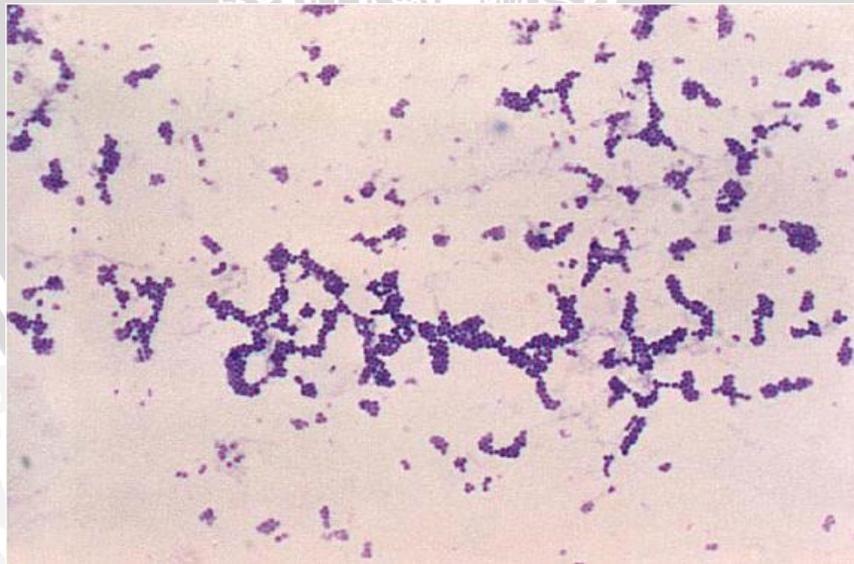
Staphylococcus berasal dari bahasa Yunani yang terdiri dari kata “*staphyle*” dan “*kokkos*”, yang berarti seperti kelompok anggur dan

berbentuk kokus atau bulat, sedangkan nama *aureus* berasal dari bahasa Latin yaitu “gold” yang berarti bakteri ini tumbuh dalam koloni besar yang berwarna kuning (Cook, 2006).

2.2.2 Klasifikasi *Staphylococcus aureus*

Berdasarkan taksonomi, *Staphylococcus aureus* dapat diklasifikasikan sebagai berikut :

Domino	: Prokaryota
Regnum	: Eubacteria
Phylum	: Posibacterio bionata
Classis	: Micrococcaea
Ordo	: Micrococales
Family	: Micrococcaceae
Genus	: <i>Staphylococcus</i>
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i> (Warsa, 1994)



Gambar 2.1. Penampakan *Staphylococcus aureus* yang Bergerombol dan Menunjukkan Hasil Pewarnaan Gram Positif (Neidhardt, 2004)

2.2.3 Morfologi dan Identifikasi *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram positif berbentuk bulat berdiameter 0,7-1,2 μm , tersusun dalam kelompok-kelompok yang tidak teratur seperti buah anggur, fakultatif anaerob, tidak membentuk spora, dan tidak bergerak (Novick *et al.*, 2003; Jawetz *et al.*, 2008).

Staphylococcus aureus tumbuh dengan mudah di berbagai medium pada suhu optimum 37 $^{\circ}\text{C}$, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25 $^{\circ}\text{C}$). Aktif secara metabolik, melakukan fermentasi karbohidrat dan menghasilkan pigmen yang bervariasi dari putih hingga kuning tua. *Staphylococcus aureus* bersifat koagulase positif dan merupakan patogen utama pada manusia (Jawetz, 2008).

Ciri lain *Staphylococcus aureus* adalah kemampuan tidak hanya menghasilkan enzim ekstraselular koagulase, tetapi juga bermacam enzim ekstraselular lain dan enterotoksin. Enterotoksin adalah protein globuler dengan berat molekul 28.000-35.000 dalton. Enterotoksin ini bersifat toksik bagi manusia dan hewan (Minor *et al.*, 1976). Toksin yang dihasilkan sangat tahan terhadap pemanasan. Oleh karenanya, meskipun bakterinya telah mati karena pemanasan (pemanasan pada suhu 66 $^{\circ}\text{C}$ selama 10 menit), toksinnya masih dapat bertahan pada suhu 100 $^{\circ}\text{C}$ selama 30 menit (Gaman and Sherington, 1992).

Staphylococcus aureus mampu memproduksi sejumlah besar enzim-enzim ekstraseluler, toksin dan komponen kimia lainnya. Beberapa metabolit ekstraseluler ini sangat bermanfaat untuk identifikasi *Staphylococcus aureus* dan membedakannya dari spesies stafilokoki lainnya. Dua metabolit yang umum dimanfaatkan untuk identifikasi

Staphylococcus aureus adalah aktivitas koagulase (enzim yang mengkoagulasi plasma) dan termonuklease (TNase), enzim fosfodiesterase tahan panas yang dapat memecah DNA maupun RNA untuk menghasilkan produk fosfomononukleotida (Bennet and Monday, 2003)

2.2.4 Sifat Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

Pada umumnya, *Staphylococcus aureus* tumbuh pada kisaran suhu 7-47°C dengan suhu optimum untuk pertumbuhan 30-37 °C. Enterotoksin dihasilkan pada suhu 10 dan 46°C, dengan suhu optimum 35-45°C. Produksi enterotoksin dapat berkurang pada suhu 20-25°C. Produksi enterotoksin tidak akan terjadi pada suhu di bawah 10°C . *Staphylococcus aureus* tumbuh pada kisaran pH yang luas dari 4,2-9,3 dengan pertumbuhan optimal dan produksi enterotoksin terjadi pada pH 6-7 dan dipengaruhi oleh kondisi atmosfer, sumber karbon, sumber nitrogen dan kadar garam. Pengurangan aw lebih menghambat sintesis enterotoksin daripada pertumbuhannya. Pertumbuhan optimum *Staphylococcus aureus* dan pembentukan enterotoksin terjadi pada aw > 0,99. Produksi toksin dilaporkan terjadi pada aw terendah yaitu sebesar 0,86 (Breemer, Fletcher, and Osborne, 2004). Bakteri ini memiliki toleransi yang cukup tinggi terhadap konsentrasi garam. Bakteri ini dapat tumbuh pada media yang mengandung NaCl 5-7%. Beberapa strain *Staphylococcus aureus* lainnya mampu bertahan pada media dengan konsentrasi garam hingga 20% (Adams and Moss, 2005).

Tabel 2.2 Parameter Fisik Faktor Pembatas Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*

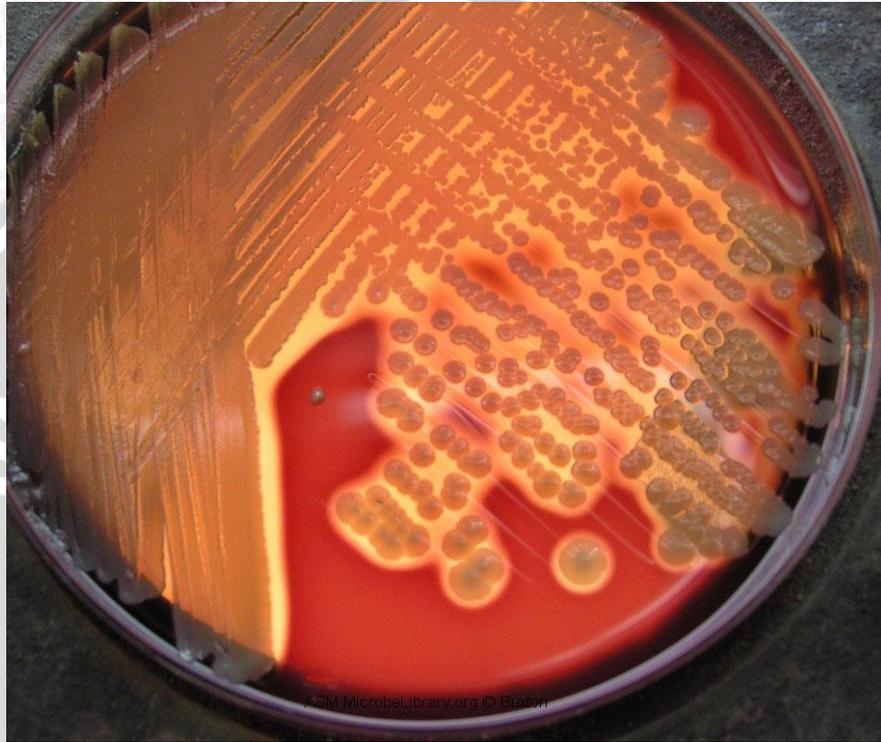
Faktor pembatas	Pertumbuhan		Produksi enterotoksin	
	Optimum	Kisaran	Optimum	Kisaran
Suhu (°C)	35-37	7-48	35-40	10-45
Ph	6.0-7.0	4.0-9.8	Enterotoksin A : 5.3-6.8 Enterotoksin lain : 6-7	4.8-9.0
Konsentrasi NaCl	0.5-4.0%	0-20%	0.5%	0-20%
Aktivitas air (aw)	0.98-0.99	0.83-0.99	>0.99	0.86-0.99
Kondisi atmosfer	Aerob	Aerob-anaerob	5-20% DO ₂	Aerob-anaerob

(Adams and Moss, 2005)

Staphylococcus aureus memerlukan komponen organik sebagai sumber nutrisinya. Nutrisi yang dibutuhkan antara lain asam amino sebagai sumber nitrogen, tiamin dan asam nikotinat sebagai sumber vitamin B. Monosodium Glutamat (MSG) berperan sebagai sumber C, N, dan sumber energi dalam kondisi pertumbuhan aerob pembentukan enterotoksin. Apabila *Staphylococcus aureus* ditumbuhkan pada kondisi cenderung anaerob, maka urasil sangat dibutuhkan. (Jay, 2000).

Koloni yang masih sangat muda tidak berwarna, tetapi dalam pertumbuhannya berbentuk pigmen yang larut dalam alkohol, eter, khloroform, dan benzol. Pigmen ini termasuk dalam golongan lipokrom dan akan tetap dalam koloni, tidak meresap ke dalam pembedahan, tapi larut dalam eksudat jaringan sehingga nanah berwarna sedikit kuning keemasan yang dapat merupakan petunjuk tentang adanya infeksi oleh bakteri ini. Atas dasar pigmen yang dibuatnya, Stafilokokus dibagi dalam beberapa spesies. Yang berwarna kuning keemasan dinamakan

Staphylococcus aureus, yang putih *Staphylococcus albus* dan yang kuning dinamakan *Staphylococcus citreus*.



Gambar 2.2 Penampakan Kultur *Staphylococcus aureus* di BAP yang Berwarna Kuning Emas dan Hemolisa Total (Jiaxin *et al.*, 2007)

Dalam suasana anaerob pada lempeng agar biasa pada suhu 37°C tidak dibentuk pigmen, pada lempeng agar darah pada suhu 37°C pembentukan pigmennya kurang subur. Tetapi bila koloni tersebut dipindahkan pada agar biasa atau pembedihan Loeffler, dieram pada suhu kamar, maka pembentukan pigmennya sangat baik. Virulensi ada hubungannya dengan kemampuannya membentuk koagulosa tetapi tidak bertalian dengan warna koloni (Arif *dkk.*, 2000).

2.2.5 Struktur Antigen *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus mengandung polisakarida dan protein yang bersifat antigen yang merupakan substansi penting di dalam struktur dinding sel. Peptidoglikan, suatu polimer polisakarida yang mengandung subunit-subunit yang terangkai, merupakan eksoskeleton yang kaku pada dinding sel. Peptidoglikan dihancurkan oleh asam kuat atau lizozim. Hal ini penting dalam patogenesis infeksi. Zat ini menyebabkan monosit membuat interleukin-1 (pirogen-endogen) dan antibody opsonik, dan zat ini juga dapat menjadi zat kimia penarik (kemoatraktan) untuk leukosit polimorfonuklir, mempunyai aktifitas mirip dengan endotoksin, menghasilkan fenomena Shwartzman lokal, dan mengaktifkan komplemen.

Asam teikoat yang merupakan polimer gliserol atau ribitol fosfat, berkaitan dengan peptidoglikan dan menjadi bersifat antigenik. Antibodi antiteikoat, yang dapat dideteksi dengan difusi gel, dapat ditemukan pada penderita endokarditis aktif yang disebabkan *Staphylococcus aureus*. Protein A merupakan komponen dinding sel kebanyakan strain *Staphylococcus aureus* yang terikat pada bagian Fc molekul IgG, kecuali IgG3. Bagian Fab pada IgG yang terikat pada protein A bebas untuk berkaitan dengan molekul IgG yang diarahkan terhadap antigen bakteri tertentu akan mengaglutinasi bakteri yang mempunyai antigen itu (koaglutinasi).

Beberapa strain *Staphylococcus aureus* mempunyai sampai yang dapat menghambat fagositosis oleh leukosit polimorfonuklir, kecuali jika ada antibody spesifik. Kebanyakan strain *S. aureus* mempunyai

koagulasi atau faktor penggumpal, pada permukaan dinding sel, koagulasi terikat secara non enzimatis dengan fibrinogen, sehingga bakteri beragregasi (Brooks, *et al.*, 1996).

2.2.6 Faktor-Faktor Patogen *Staphylococcus aureus*

Mekanisme dari *Staphylococcus aureus* dalam menyebabkan penyakit merupakan multifactor yaitu melalui pembentukan berbagai zat ekstraseluler, melibatkan toksin, enzim, dan komponen seluler (Syahrurachman *dkk.*, 1994). Berbagai zat ekstraseluler tersebut berperan sebagai faktor virulensi, yaitu sebagai berikut :

a. Katalase

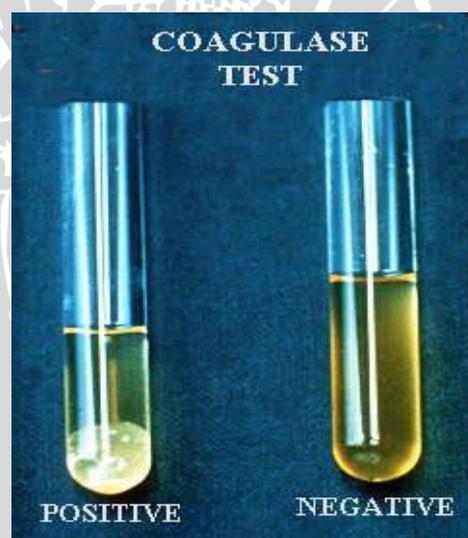
Katalase adalah enzim yang berperan pada daya tahan bakteri terhadap proses fagositosis. Tes adanya aktivitas katalase menjadi pembeda genus *Staphylococcus* dari *Streptococcus* (Ryan *et al.*, 1994; Brooks *et al.*, 1996). Hasil positif pada uji katalase menunjukkan bahwa bakteri tersebut ialah genus *Staphylococcus* yang ditandai dengan munculnya gelembung gas.



Gambar 2.3 Hasil Uji Katalase Positif *Staphylococcus aureus* Ditandai dengan Munculnya Gelembung Gas (Zshah, 2012)

b. Koagulase

Enzim ini dapat menggumpalkan plasma oksalat atau plasma sitrat, karena adanya faktor koagulase reaktif dalam serum yang bereaksi dengan enzim tersebut. Esterase yang dihasilkan dapat meningkatkan aktivitas penggumpalan, sehingga terbentuk deposit fibrin pada permukaan sel bakteri yang dapat menghambat fagositosis (Warsa, 1994). Uji koagulase digunakan untuk membedakan *Staphylococcus aureus* dengan strain *Staphylococcus* lainnya serta untuk mengetahui ada atau tidaknya sifat patogen pada bakteri tersebut. Hasil positif pada uji koagulase menunjukkan bahwa bakteri tersebut ialah strain *Staphylococcus aureus* dan bersifat patogen yang ditandai dengan munculnya gumpalan-gumpalan putih.



Gambar 2.4 Hasil Uji Koagulase Positif *Staphylococcus aureus* Ditandai dengan Munculnya Gumpalan putih (Hutchinson, 2010)

c. Hemolisis

Hemolisin merupakan toksin yang dapat membentuk suatu zona hemolisis di sekitar koloni bakteri. Hemolisin pada *Staphylococcus*

aureus terdiri dari alfa hemolisin, beta hemolisin, dan delta hemolisin. Alfa hemolisin adalah toksin yang bertanggung jawab terhadap pembentukan zona hemolisis di sekitar koloni *Staphylococcus aureus* pada medium agar darah. Toksin ini dapat menyebabkan nekrosis pada kulit hewan dan manusia. Beta hemolisin adalah toksin yang terutama dihasilkan Stafilokokus yang diisolasi dari hewan, yang menyebabkan lisis pada sel darah merah domba dan sapi. Sedangkan delta hemolisin adalah toksin yang dapat melisiskan sel darah merah manusia dan kelinci, tetapi efek lisisnya kurang terhadap sel darah merah domba (Warsa, 1994).

d. Leukosidin

Toksin ini dapat mematikan sel darah putih pada beberapa hewan. Tetapi perannya dalam patogenesis pada manusia tidak jelas, karena Stafilokokus patogen tidak dapat mematikan sel-sel darah putih manusia dan dapat difagositosis (Jawetz *et al.*, 1995).

e. Toksin eksfoliatif

Toksin ini mempunyai aktivitas proteolitik dan dapat melarutkan matriks mukopolisakarida epidermis, sehingga menyebabkan pemisahan intraepithelial pada ikatan sel di stratum granulosum. Toksin eksfoliatif merupakan penyebab *Staphylococcal Scalded Skin Syndrome*, yang ditandai dengan melepuhnya kulit (Warsa, 1994).

f. Toksin Sindrom Syok Toksik (TSST)

Sebagian besar galur *Staphylococcus aureus* yang diisolasi dari penderita sindrom syok toksik menghasilkan eksotoksin pirogenik. Pada manusia, toksin ini menyebabkan demam, syok, ruam kulit, dan gangguan multisistem organ dalam tubuh (Ryan, *et al.*, 1994; Jawetz *et al.*, 1995).

g. Enterotoksin

Enzim ini merupakan penyebab utama dalam keracunan makanan, terutama pada makanan yang mengandung karbohidrat dan protein (Jawetz *et al.*, 1995). Masa tunas antara 2-6 jam dengan gejala yang timbul secara mendadak, yaitu mual, muntah-muntah dan diare. Kadang-kadang dapat terjadi kolaps sehingga dikira kolera. Penyembuhan biasanya terjadi setelah 24-48 jam dan jarang berakibat fatal. Efek muntah terjadi karena toksin merangsang pusat muntah di susunan syaraf pusat. Enterotoksin adalah enzim yang tahan panas dan tahan terhadap suasana basa di dalam usus, sehingga jika makanan telah dipanaskan mungkin tidak dapat ditemukan kuman lagi, tetapi dalamnya terkandung jumlah besar enterotoksin (Arif *dkk.*, 2000).

2.2.7 Keracunan *Staphylococcus aureus*

Keracunan makanan karena *Staphylococcus aureus* terjadi melalui intoksikasi. Intoksikasi adalah tertelannya toksin yang dihasilkan oleh bakteri patogen pada pangan ke dalam saluran pencernaan. Dalam hal ini tidak diperlukan sel vegetatif selama konsumsi untuk terjadinya

keracunan. Keracunan pada manusia disebabkan oleh konsumsi enterotoksin yang dihasilkan oleh beberapa strain *Staphylococcus aureus* di dalam makanan, biasanya karena makanan tersebut tidak disimpan pada suhu yang cukup tinggi ($>60^{\circ}\text{C}$) atau cukup dingin ($<7.2^{\circ}\text{C}$) (Ray dan Bhunia, 2008). Kemampuan galur *Staphylococcus aureus* untuk tumbuh dan memproduksi enterotoksin pada kisaran kondisi lingkungan yang luas, ketahanan panas toksin, dan penanganan yang salah menjadi penyebab utama kasus keracunan pangan di berbagai dunia (Ray and Bhunia, 2008). Keracunan ini menyebabkan gastroenteritis, yaitu peradangan selaput lendir, lambung, dan usus kecil.

Tabel 2.3 Faktor-Faktor yang Berkontribusi pada Kasus Keracunan Makanan

Faktor	Presentase (%)
Faktor yang berhubungan dengan pertumbuhan mikroba	
a. Penyimpangan makanan pada suhu ruang	43
b. Suhu pembekuan yang tidak tepat	32
c. Penyiapan makanan yang terlalu lama saat penyajian	41
d. Holding pada suhu panas yang tidak cukup	12
e. Thawing yang tidak tepat	4
f. Penyajian makanan dalam jumlah yang terlalu banyak	22
Faktor yang berhubungan dengan ketahanan mikroba	
a. Pemanasan ulang yang tidak tepat	17
b. Pemanasan yang tidak cukup	13
Faktor yang berhubungan dengan kontaminasi	
a. Pekerja/karyawan	12
b. Kontaminasi makanan olahan non kaleng	19
c. Kontaminasi bahan makanan mentah	7
d. Kontaminasi silang	11
e. Pembersihan peralatan pengolahan yang tidak tepat	7
f. Sumber yang tidak aman	5
g. Kontaminasi makanan kaleng	2

(Forsythe, 2000)

Hanya sekitar 30% dari galur *Staphylococcus aureus* dapat menghasilkan enterotoksin, yang dilepaskan ke makanan sehingga berisiko menyebabkan keracunan makanan (*food intoxication*) pada konsumen (Forsythe, S.J. 2000). Toksin yang dihasilkan bakteri *Staphylococcus aureus* adalah *Staphylococcal enterotoksin (SE)*. Keenam enterotoksin tersebut adalah A, B, C1, C2, D, dan E (SEA, SEB, dan lain-lain), yang mana tipe A dan D banyak ditemukan di makanan. Enterotoksin *Staphylococcus aureus* berbentuk protein rantai tunggal yang bersifat antigenik dengan berat molekul 26-29 kDa (Normanno *et al.*, 2005). Enterotoksin yang dihasilkan oleh *Staphylococcus aureus* memiliki sifat resisten terhadap panas atau *heat resistant* (Meggitt, 2003). Kebanyakan enterotoksin tersebut mampu bertahan pada suhu didih dalam makanan sampai 30 menit dan enterotoksin tipe B menunjukkan stabilitas paling tinggi. Enterotoksin tipe B akan kehilangan 60- 70% aktivitasnya dalam beberapa menit pada suhu di atas 80 °C. Pengaktifan kembali dapat terjadi selama penyimpanan yang lama pada suhu kamar atau pemanasan pada suhu lebih tinggi (Forsythe dan Hayes 1998). Toksin ini bersifat *neutral-base* protein dengan titik isoelektrik 7.0-8.6. Toksin ini sangat resisten terhadap enzim proteolitik seperti tripsin, kimotripsin, renin, dan papain (Bergdoll and Wong, 2006).

Faktor-faktor yang mempengaruhi kejadian keracunan makanan oleh enterotoksin *Staphylococcus aureus* adalah :

- a. Galur *Staphylococcus aureus* penghasil enterotoksin berada pada makanan selama produksi, pengolahan, atau penyiapan makanan
- b. Bakteri dipindahkan dari sumber ke makanan

- c. Makanan harus tercemar dengan jumlah ribuan *Staphylococcus aureus* per gram atau biasanya lebih dan makanan sudah dipanaskan sebelum tercemar *Staphylococcus aureus*, atau makanan mengandung banyak garam atau gula
- d. Bakteri harus dapat bertahan hidup di makanan, tidak tumbuh berlebihan atau dihambat oleh mikroorganisme lain, atau dimatikan oleh pemanasan, pH rendah, atau kondisi yang tidak buruk sebelum *Staphylococcus aureus* menghasilkan enterotoksin
- e. Kondisi makanan mendukung pertumbuhan bakteri tersebut
- f. Makanan yang tercemar disimpan pada rentang suhu yang sesuai untuk pertumbuhan dan perbanyakkan *Staphylococcus aureus* sampai menghasilkan cukup enterotoksin
- g. Jumlah enterotoksin dalam makanan yang dikonsumsi harus melebihi ambang batas individu sehingga menghasilkan keracunan makanan (Forsythe and Hayes, 1998).

Jumlah sel yang diperlukan oleh *Staphylococcus aureus* untuk menghasilkan racun dari enterotoksin yang cukup sehingga bersifat meracuni adalah 10^6 CFU/g atau $10^4 - 10^8$ koloni/g (Buckle *et al.*, 1987; Jay, 2000). Keracunan *Staphylococcus aureus* disebabkan karena terkonsumsinya toksin dalam jumlah 100-200 ng yang dihasilkan oleh 10^6-10^7 CFU/ml atau CFU/gram dalam 30 gram/ml makanan (Ray and Bhunia, 2008). Pada individu yang memiliki sensitivitas tinggi, dosis 100-200 ng sudah dapat menyebabkan penyakit (Miliotis and Bier, 2003). Jumlah toksin *Staphylococcus aureus* yang diperlukan untuk

menyebabkan keracunan pangan sebesar 1,0 µg. Pada level ini dicapai jumlah bakteri sebanyak $1,0 \times 10^5$ CFU/gram atau CFU/ml.

Mekanisme keracunan *Staphylococcus aureus* yaitu dimulai dari tertelannya *Staphylococcal enterotoksin (SE)* yang berasal dari makanan yang dimakan. *SE* yang tertelan akan berikatan dengan antigen *major histocompatibility complex (MHC)* yang menstimulasi sel T hasil maturasi dari limposit oleh timus untuk melepas *cytokine* (sitokin). Sitokin ini selanjutnya akan menstimulasi neuroreseptor yang ada di saluran pencernaan, dan rangsangan tersebut akan diteruskan ke system syaraf pusat (*central nervous system*) sehingga memicu pusat muntah (*Vomic center*) yang ada di system syaraf pusat dan mengakibatkan terjadinya mual, muntah, dan pusing (Syamsir, 2008). Toksin akan cepat menyerang *Vomiting reflex center* dari otak, kejang otot perut dan diare kemudian biasanya terjadi. Terjadinya diare pada keracunan *Staphylococcus aureus* efeknya sejalan dengan toksin kolera (Tortora *et al.*, 1998). Toksin yang dihasilkan seringkali menyebabkan diare *secretory*. Diare *secretory* terjadi karena enterotoksin menstimulasi sekresi cairan dan elektrolit intestinal (usus) dengan meningkatkan sekresi anion aktif (menghambat absorpsi NaCl) dan air, gangguan system transportasi air dan elektrolit usus mengakibatkan terjadinya diare (Syamsir, 2008)

Staphylococcus aureus bisa mengkontaminasi makanan yang mengandung protein tinggi. Makanan yang berhubungan dengan kontaminasi *Staphylococcus aureus* antara lain; produk unggas dan produk telur olahan; produk salad seperti salad tuna, salad ayam, salad kentang, dan salad makaroni; produk bakery seperti *cream-filled pastries*,

cream pies, and *chocolate eclairs*; *sandwich filling*; susu serta produk olahan susu (USDA, 2001). Dapat pula pada produk makanan yang terpapar pada suhu hangat selama beberapa jam, makanan yang disimpan pada lemari pendingin yang terlalu penuh atau yang suhunya kurang rendah; serta makanan yang tidak habis dikonsumsi dan disimpan pada suhu ruang.

Makanan yang terkontaminasi oleh toksin *Staphylococcus aureus* akan menimbulkan gejala klinis pada orang yang mengonsumsi makanan tersebut dalam rentang waktu antara 1 dan 6 jam atau rata-rata sekitar 3 jam (Meggitt, 2003). Gejala klinis utamanya adalah muntah yang didahului oleh rasa mual. Frekuensi muntah dapat meningkat sesuai dengan rasa mual yang muncul. Gejala klinis lain yang muncul biasanya adalah kram perut dan diare (Forsythe and Hayes, 1998; Meggitt, 2003). Respon muntah terjadi karena adanya enterotoksin dari *Staphylococcus aureus* yang sering dikategorikan ke dalam neurotoksin berbahaya. Enterotoksin tersebut dapat menimbulkan respon muntah karena dapat mengaktifkan reseptor yang ada di usus yang akan menstimulasi pusat muntah di otak melalui *nervus vagus* dan simpatis (Adams and Moss, 2008).

Penanganan keracunannya adalah dengan mengganti cairan dan elektrolit yang hilang akibat muntah atau diare. Pengobatan antidiare biasanya tidak diperlukan. Untuk menghindari dehidrasi pada korban, berikan air minum dan larutan elektrolit yang banyak dijual sebagai minuman elektrolit dalam kemasan. Untuk penanganan lebih lanjut, hubungi puskesmas atau rumah sakit terdekat (Adams and Moss, 2008).

2.3 Cengkeh (*Syzygium aromaticum*)

2.3.1 Klasifikasi Cengkeh (*Syzygium aromaticum*)

Badan Agriculture Amerika Serikat, 2000 menetapkan klasifikasi atau taksonomi cengkeh sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae – plants
Subkingdom	: Tracheobionta – vascular plants
Superdevisi	: Spermatophyta – seed plants
Devisi	: Magnoliophyta – flowering plants
Class	: Magnoliopsida – dicotyledon
Subclass	: Rosidae
Order	: Myrtales
Family	: Mytaceae
Genus	: <i>Syzygium</i>
Species	: <i>Syzygium aromaticum</i>

Synonym :

- *Eugenia aromatic*, O. K.
- *Eugenia caryophyllus*, Sprengel.
- *Caryophyllus aromaticum*, Linn.
- *Eugenia caryophyllata*, Thunberg.
- *Myrtus carryophyllus*.
- *Jambos carryophyllus*, Spreng. (Soenardi, 1981)



Gambar 2.5. Cengkeh (Andi, 2007; Aksan, 2008)

2.3.2 Morfologi dan Karakteristik Cengkeh (*Syzygium aromaticum*)

Cengkeh (*Syzygium aromaticum*, syn. *Eugenia aromaticum*), dalam bahasa Inggris disebut *cloves*, adalah tangkai bunga kering beraroma dari suku *Myrtaceae*. Cengkeh adalah tanaman asli Indonesia, banyak digunakan sebagai bumbu masakan pedas di negara-negara Eropa, dan sebagai bahan utama rokok kretek khas Indonesia. Cengkeh juga digunakan sebagai bahan dupa di Tiongkok dan Jepang. Minyak cengkeh digunakan di aromaterapi dan juga untuk mengobati sakit gigi. Cengkeh ditanam terutama di Indonesia (Kepulauan Banda) dan Madagaskar, juga tumbuh subur di Zanzibar India, Sri Lanka (Aksan, 2008). Pohon cengkeh merupakan tanaman tahunan yang dapat tumbuh dengan tinggi mencapai 10-20 m, mempunyai daun berbentuk lonjong yang berbunga pada pucuk-pucuknya. Tangkai buah pada awalnya berwarna hijau, dan berwarna merah jika sudah mekar. Cengkeh akan dipanen jika sudah mencapai panjang 1,5-2 cm. Tumbuhan ini adalah flora identitas Provinsi Maluku Utara, pohonnya dapat tumbuh tinggi mencapai 20-30 m dan dapat berumur lebih dari 100 tahun. Tajuk

tanaman cengkeh umumnya berbentuk kerucut, piramid atau piramid ganda, dengan batang utama menjulang keatas. Cabang-cabangnya amat banyak dan rapat, pertumbuhannya agak mendatar dengan ukuran relatif kecil jika dibandingkan batang utama. Daunnya kaku berwarna hijau atau hijau kemerahan dan berbentuk elips dengan kedua ujung runcing. Daun-daun ini biasa keluar setiap periode dalam satu periode ujung ranting akan mengeluarkan satu set daun yang terdiri dari dua daun yang terletak saling berhadapan, ranting daun secara keseluruhan akan membentuk suatu tajuk yang indah (Soenardi, 1981). Rata-rata ukuran daun mempunyai lebar berkisar 2-3 cm dan panjang daun tanpa tangkai berkisar 7,5-12,5 cm. bunga dan buah cengkeh akan muncul pada ujung ranting daun, dengantangkai pendek serta bertandan. Pada saat masih muda cengkeh berwarna keungu-unguan, kemudian berubah menjadi kuning kehijau-hijauan dan berubah lagi menjadi merah muda apabila sudah tua dan akan berubah menjadi coklat kehitaman apabila sudah dikeringkan. Umumnya pohon cengkeh pertama kali berbuah pada umur 4-7 tahun. Cengkeh yang dipanen sebenarnya merupakan tangkai/kelopak bunga dari pohon cengkeh, kelopak bunga ini berbentuk silindris yang salah satu ujungnya meruncing dan ujung lainnya merekah melingkupi kuncup bunga yang belum mekar. Cengkeh baru dapat dipanen jika panjangnya sudah mencapai panjang 1,5-2 cm, berwarna merah terang dan bunganya masih belum mekar (Felter and Lycid, 1989).

Cengkeh yang berkualitas baik adalah yang padat, permukaannya halus, berwarna gelap, dan mengeluarkan minyak apabila ditekan dengan kuku. Cengkeh jenis ini biasanya berasal dari Afrika Timur dan Maluku.

Sedangkan cengkeh yang berwarna lebih terang, dan permukaannya berkerut berasal dari Amerika Selatan dan India. Cengkeh akan mengeluarkan minyak apabila digores, dan cengkeh memiliki aroma yang kuat dan khas serta rasa yang pedas (Ketaren, 1986)

2.3.3 Kandungan Cengkeh (*Syzygium aromaticum*)

Tanaman cengkeh mempunyai sifat khas karena hampir semua bagian pohon mengandung minyak, terutama bunga, batang, dan daun. Minyak cengkeh ini disebut minyak atsiri. Kandungan minyak cengkeh pada bagian-bagian tanaman tersebut bervariasi jumlahnya namun kadar minyak yang paling tinggi terdapat pada bagian bunga. Bunga cengkeh mengandung 15-20% minyak cengkeh, batang mengandung 5-7% minyak cengkeh, sedangkan daun mengandung sekitar 3% minyak cengkeh (Peter, 2001).

Hasil analisa ekstrak bunga cengkeh dengan GC-MS menunjukkan bahwa komponen utama pada minyak cengkeh adalah eugenol yaitu sebanyak 60-90%. Eugenol (*1-hidroksi-2-metoksi 4-allyl benzena*) adalah senyawa golongan hidrokarbon teroksidasi yang merupakan cairan minyak tidak berwarna atau sedikit kekuningan, mudah menguap, akan menjadi coklat jika kontak dengan udara dan berasa getir. Eugenol mempunyai flavor rempah-rempah dengan rasa yang sangat pedas dan panas, sehingga banyak digunakan sebagai flavor dalam produk rokok, minuman tidak beralkohol, berbagai produk pangan serta kosmetik (Ogata *et al.*, 2000). Di samping sebagai sumber flavor alami, cengkeh juga mengandung zat gizi seperti protein, vitamin, dan mineral.

Senyawa aktif lainnya di dalam minyak cengkeh ialah tannin sebanyak 10-13% dan flavonoid.

Tabel 2.4 Kandungan Zat Gizi dari Cengkeh (per 100 gram bahan)

Komposisi	USDA
Air (g)	6.86
Kalori (kcal)	323
Protein (g)	5.98
Lemak (g)	20.06
Karbohidrat (g)	61.22
Abu (g)	5.88
Ca (g)	0.646
P (mg)	105
Na (mg)	243
K (mg)	1102
Fe (mg)	8.68
Thiamin (mg)	0.115
Riboflavin (mg)	0.267
Niacin (mg)	1.458
Asam askorbat (mg)	80.81
Vitamin A (RE)	53

(Farrel, 1990)

2.3.4 Manfaat Cengkeh (*Syzygium aromaticum*)

Cengkeh dewasa ini sebagian besar di manfaatkan untuk penyedap makanan. Cengkeh sering digunakan untuk bumbu masakan baik dalam bentuk utuh atau sebagai bubuk. Bumbu ini digunakan di Eropa dan Asia. Di Indonesia cengkeh digunakan sebagai bahan rokok kretek dan untuk obat sakit gigi, di Jepang cengkeh digunakan untuk bahan dupa, sebagai aromaterapi. Sedangkan pemanfaatan untuk kesehatan sudah dikenal selama berabad-abad. Cengkeh memiliki antioksidan tinggi karena terdapat kandungan senyawa phenolic. Antioksidan memiliki arti penting untuk menjaga makanan tetap segar.

Maka, kandungan cengkeh memiliki dampak yang besar terhadap industri makanan (Cavallito and Bailey, 1944).

Cengkeh juga memiliki kemampuan antikoagulan (pencegah penggumpalan darah). Daya kerjanya sama hebat dengan aspirin. cengkeh mengandung suatu senyawa antibeku darah. Zat ini dapat melonggarkan pembuluh darah jantung yang tersumbat. Dari uraian jurnal dan riset ilmuwan Amerika ini mengisyaratkan pesan untuk rajin mengonsumsi makanan mengandung cengkeh agar dapat melindungi manusia dari ancaman stroke dan serangan jantung (Cavallito and Bailey, 1944).

Cengkeh juga berkhasiat sebagai antimikroba alami. Cengkeh dapat membunuh hampir semua bakteri penyebab penyakit termasuk bakteri-bakteri yang resisten terhadap obat-obat antibiotika. Sehingga cengkeh dapat dikatakan sebagai tumbuhan pengobat radang karena radang dapat dipicu oleh infeksi bakteri. *Eugenol* adalah salah satu senyawa fitokimia yang merupakan antimikroba alami yang terdapat dalam minyak cengkeh. Komponen ini mempunyai aktivitas antimikroba dengan cara mengganggu fungsi membran atau bahkan merusak membran. Secara umum, aktivitas antimikroba dari *eugenol* yaitu dengan merusak membran sitoplasma dan menonaktifkan dan atau menghambat sintesis dari enzim intraselular dan ekstraselular (Lim *et al.*, 2005).

2.3.5 Mekanisme Kerja Penghambatan Senyawa Antimikroba

Keefektifan penghambatan merupakan salah satu kriteria pemilihan suatu senyawa antimikroba untuk diaplikasikan sebagai bahan

pengawet bahan pangan. Semakin kuat penghambatannya semakin efektif digunakan. Kerusakan yang ditimbulkan komponen antimikroba dapat bersifat mikrosidal (kerusakan tetap) atau mikrostatik (kerusakan sementara yang dapat kembali). Suatu komponen akan bersifat mikrosidal atau mikrostatik tergantung pada konsentrasi dan kultur yang digunakan. Mekanisme penghambatan mikroorganisme oleh senyawa antimikroba dapat disebabkan oleh beberapa faktor, antara lain:

a. Mengganggu pembentukan dinding sel

Mekanisme ini disebabkan karena adanya akumulasi komponen lipofilat yang terdapat pada dinding atau membran sel sehingga menyebabkan perubahan komposisi penyusun dinding sel. Terjadinya akumulasi senyawa antimikroba dipengaruhi oleh bentuk tak terdisosiasi. Pada konsentrasi rendah molekul-molekul phenol yang terdapat pada minyak *thyme* kebanyakan berbentuk tak terdisosiasi, lebih hidrofobik, dapat mengikat daerah hidrofobik membran protein, dan dapat melarut baik pada fase lipid dari membran bakteri. Beberapa laporan juga menyebutkan bahwa efek penghambatan senyawa antimikroba lebih efektif terhadap bakteri Gram positif daripada dengan bakteri Gram negatif. Hal ini disebabkan perbedaan komponen penyusun dinding sel kedua kelompok bakteri tersebut. Pada bakteri Gram positif 90 persen dinding selnya terdiri atas lapisan peptidoglikan, selebihnya adalah asam teikoat, sedangkan bakteri Gram negatif komponen dinding selnya mengandung 5-20 persen peptidoglikan, selebihnya terdiri dari protein, lipopolisakarida, dan lipoprotein.

b. Bereaksi dengan membran sel

Komponen bioaktif dapat mengganggu dan mempengaruhi integritas membran sitoplasma, yang dapat mengakibatkan kebocoran materi intraseluler, seperti senyawa *phenol* dapat mengakibatkan lisis sel dan menyebabkan denaturasi protein, menghambat pembentukan protein sitoplasma dan asam nukleat, dan menghambat ikatan ATP-ase pada membran sel.

c. Menginaktivasi enzim

Mekanisme yang terjadi menunjukkan bahwa kerja enzim akan terganggu dalam mempertahankan kelangsungan aktivitas mikroba, sehingga mengakibatkan enzim akan memerlukan energi dalam jumlah besar untuk mempertahankan kelangsungan aktivitasnya. Akibatnya energi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan menjadi berkurang sehingga aktivitas mikroba menjadi terhambat atau jika kondisi ini berlangsung lama akan mengakibatkan pertumbuhan mikroba terhenti (inaktif). Efek senyawa antimikroba dapat menghambat kerja enzim jika mempunyai spesifitas yang sama antara ikatan kompleks yang menyusun struktur enzim dengan komponen senyawa antimikroba. Pada konsentrasi 0,005 M alisin (senyawa aktif dari bawang putih) dapat menghambat metabolisme enzim sulfhidril. Minyak oleoresin yang dihasilkan dari kayu manis, cengkeh, *thyme*, dan *oregano* dapat menghambat produksi ethanol, proses respirasi sel, dan sporulasi khamir dan kapang (Corner, 1995).

d. Menginaktivasi fungsi material genetik

Komponen bioaktif dapat mengganggu pembentukan asam nukleat (RNA dan DNA), menyebabkan terganggunya transfer informasi genetik yang selanjutnya akan menginaktivasi atau merusak materi genetik sehingga terganggunya proses pembelahan sel untuk pembiakan.

2.4 Ekstraksi

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak larut dengan pelarut cair. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat digolongkan ke dalam golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid, dan lain-lain. Dengan diketahuinya senyawa aktif yang dikandung simplisia akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat (Ditjen POM, 2000). Pembagian metode ekstraksi, yaitu :

a. Cara dingin

1. Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif yang akan larut, karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dan di luar sel maka larutan terpekat didesak keluar.

2. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Proses terdiri dari tahapan pengembangan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya terus-menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat). Cara perkolasi lebih baik dibandingkan dengan cara maserasi karena :

- Aliran cairan penyari menyebabkan adanya pergantian larutan yang terjadi dengan larutan yang konsentrasinya lebih rendah, sehingga meningkatkan derajat perbedaan konsentrasi.
- Ruangan diantara butir-butir serbuk simplisia membentuk saluran tempat mengalir cairan penyari. Karena kecilnya saluran kapiler tersebut, maka kecepatan pelarut cukup untuk mengurangi lapisan batas, sehingga dapat meningkatkan perbedaan konsentrasi.

b. Cara Panas

1. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

2. Sokletasi

Sokletasi adalah ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang selalu baru dan yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstrak kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

3. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan, yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50°C.

4. Infundasi

Infundasi adalah proses penyarian yang umumnya dilakukan untuk menyari zat kandungan aktif yang larut dalam air dari bahan-bahan nabati. Proses ini dilakukan pada suhu 90°C selama 15 menit.

5. Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama dan temperatur sampai titik didih air, yakni 30 menit pada suhu 90-100°C.

(DitJen POM, 2000).

2.5 Uji Sensitivitas Bakteri terhadap Antimikroba

a. Metode Difusi (*Disk Diffusion Test*)

Tes ini dikerjakan dengan menggunakan cakram kertas saring yang mengandung bahan antimikroba yang telah ditentukan kadarnya. Cakram kertas saring yang berisi sejumlah tertentu antimikroba ditempatkan pada permukaan medium padat yang sebelumnya telah diinokulasi bakteri uji pada permukaannya. Setelah inkubasi, diameter zona hambat sekitar cakram diukur dan dijadikan ukuran kekuatan hambatan obat terhadap organisme uji. Metode ini dipengaruhi beberapa faktor fisik dan kimia, selain faktor antara obat dan organisme (misalnya sifat medium dan kemampuan difusi, ukuran molecular dan stabilitas

obat). Meskipun demikian standardisasi faktor-faktor tersebut memungkinkan untuk dilakukannya uji sensitivitas dengan baik.

b. Metode Dilusi Tabung (*Tube Dilution Test*)

Metode ini digunakan untuk menentukan konsentrasi minimal, biasanya dalam mg/ml, suatu bahan antimikroba dibutuhkan untuk menghambat atau membunuh mikroorganisme tertentu dengan menggunakan media agar atau broth. Tes ini dikerjakan dengan mencampurkan bahan antimikroba dalam jumlah yang bertingkat ke dalam media perbenihan bakteri baik dalam bentuk cair maupun padat. Media perbenihan kemudian ditanami dengan bakteri uji dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam, kemudian diamati terjadinya kekeruhan pada tabung. Kadar atau konsentrasi minimal bahan uji yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji yang ditandai dengan tidak terdapatnya kekeruhan pada bahan uji dalam media yang telah diberi bakteri uji tersebut, dan disebut Kadar Hambat Minimal (KHM).

Setelah didapat nilai KHM, selanjutnya biakan dan semua tabung yang jernih diinokulasi pada media agar padat lalu diinkubasi dan keesokan harinya diamati ada tidaknya koloni bakteri yang tumbuh. Konsentrasi terendah bahan uji pada biakan padat yang ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni bakteri adalah Kadar Bunuh Minimal (KBM) dari bahan uji terhadap bakteri uji tersebut (Dzen *dkk.*, 2003).

c. Metode Dilusi Agar (*Agar Dilution Test*)

Pada metode ini, bahan antimikroba dengan konsentrasi tertentu dicampur dengan agar plate, satu plate untuk konsentrasi yang ingin diuji.

Bakteri yang akan diujikan dibuat dengan turbiditas sedikit lebih besar dari standar *spectrophotometry*. Kemudian sejumlah bakteri diletakkan pada sebuah *replicating inoculator* (yang dinamakan *Steers-Foltz replicator*) yang sudah dikalibrasi (biasanya 0,001 ml). Setelah itu suspensi bakteri tersebut diletakkan pada permukaan agar. Kemudian agar plate diinkubasi. Konsentrasi terendah yang menampakkan pertumbuhan koloni kurang dari 3 disebut Kadar Hambat Minimal (KHM). Kadar Bunuh Minimal (KBM) tidak dapat dilihat pada metode ini (Finegold and Baron, 1986)

2.6 Efek Antimikroba Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) pada *Staphylococcus aureus*

Dalam bunga cengkeh terdapat kandungan aktif berupa minyak atsiri yang mengandung senyawa eugenol. Mekanisme kerja dari eugenol sebagai antimikroba terhadap *Staphylococcus aureus* melalui reaksi dengan membran sel bakteri. Senyawa eugenol yang merupakan turunan dari senyawa fenol akan merusak membran sitoplasma yang dapat mengakibatkan kebocoran materi intraseluler, sehingga sel mengalami lisis dan menyebabkan denaturasi protein, menghambat pembentukan protein sitoplasma dan asam nukleat, dan menghambat ikatan ATP-ase pada membran sel. Apabila membran sel rusak dan protein rusak maka zat gizi tidak optimal dan tidak dapat masuk ke dalam bakteri sehingga tidak ada pertumbuhan energi dalam sel. Akibatnya energi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan menjadi berkurang sehingga aktivitas mikroba menjadi

terhambat dan bila kondisi tersebut berlangsung lama akan mengakibatkan pertumbuhan mikroba terhenti (inaktif).

