**EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI CENGKEH *(Syzygium aromaticum L.)* DAN KAYU MANIS *(Cinnamomum burmannii)* YANG DIAPLIKASIKAN PADA IKAN MAS *(Cyprinus carpio)***

ED Rissa Rizkina, Yudi Garnida, Dede Zainal Arief

NPM. 208050008

Program Studi Magister Teknologi Pangan, Universitas Pasundan, Jl. Sumatera No.41, Bandung, Indonesia, 40117

E-mail : ed.rissarizkina@yahoo.co.id

# *ABSTRACT*

*This study aims to determine the effectiveness of antibacterial, minimum concentration of inhibition, and length of immersion time in carp. The research method used is the method of linear regression analysis. The analysis used included water content, GCMS, bacterial identification test, minimum inhibitory concentration, minimum bactericidal concentration, and total plate count. MIC analysis on clove and cinnamon essential oils, bacteria can be inhibited with a concentration of 2.5%. MBC analysis using the TPC method can be lethal to Salmonella typhosa bacteria at a concentration of 2.5%. The best antibacterial soaking time for carp is 30 minutes to inhibit Salmonella typhosa, with this soaking time the activity of Salmonella typhosa bacteria can be inhibited for 17 hours 1 minute 5 seconds. The conclusion of this study is that the combination of clove and cinnamon essential oils has antibacterial effectiveness, the minimum inhibition concentration is 2.5%, and the best soaking time for carp is 30 minutes which inhibits Salmonella typhosa.*

*Keywords: Antibacterial, Clove, Cinnamon, MIC, Goldfish*

**PENDAHULUAN**

Indonesia merupakan negara dengan jumlah penduduk sangat besar dan pasar potensial untuk produk perikanan, baik perikanan laut maupun darat (Calon *et al.*, 2013). Ikan mas (*Cyprinus carpio*) adalah salah satu spesies ikan air tawar tertua di dunia dan tersebar luas di sungai, danau, kolam dan parit. *Food and Agricultural Organization* (FAO) memberi peringkat pada ikan mas sebagai yang ketiga tertinggi di antara ikan air tawar (Kong *et al.*, 2016).

Ikan mas merupakan salah satu jenis bahan pangan yang mudah rusak (*highly perishable food*), sehingga mutu ikan mudah menurun (Sitakar *et al.*, 2016). Hanya dalam waktu sekitar 8 jam sejak ikan ditangkap dan didaratkan sudah akan timbul proses perubahan yang mengarah pada kerusakan (Riyantono, Abida dan Farid, 2009). Hal ini dikarenakan tubuh ikan mengandung kadar protein dan air cukup tinggi sehingga merupakan media bagi pertumbuhan bakteri pembusuk dan mikroba yang lain (Sitakar *et al.*, 2016).

Berdasarkan literatur yang menyebutkan bahwa salah satu mikroflora ikan yang termasuk spesies bakteri adalah *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Vibrio*, *Serratia* dan *Micrococcus* (Ghaly *et al.*, 2010). Serta untuk ikan yang tidak diawetkan maka pembusukan dapat terjadi dari hasil bakteri Gram-negatif seperti *Pseudomonas sp*. dan *Shewanella spp* dan bakteri fermentasi (seperti *Vibrionaceae*) (Ghaly *et al.*, 2010). Selain itu penelitian lain menyebutkan bahwa salah satu bakteri yang terdapat pada ikan mas yaitu *Shewanella putrefaciens* (18,66%), *Aeromonas hydrophila* (18,18%), *Vibrio sp* (8,13%), *Pseudomonas sp* (4,79%), *Staphylococcus sp* (2,39%) dan *Streptococcus sp* (4,31%) (Ahmed H. Al-Harbi, 2012).

Oleh karena itu, untuk mencegah pembusukan ikan berbagai antimikroba digunakan seperti bahan kimia antimikroba, antioksidan, produk bioteknologi, antimikroba polimer, dan antimikroba alami (Lu *et al.*, 2010). Selain itu, pengawetan dapat dilakukan terhadap daging ikan dengan penambahan bahan tambahan makanan (Tjahyaningsih *et al.*, 2013). Perlu adanya penggunaan bahan tambahan makanan yang alami serta aman untuk konsumen. Bahan alami yang memiliki aktifitas antioksidan dan antibakteri merupakan bahan yang dapat digunakan dalam proses pengawetan (Tjahyaningsih *et al.*, 2013).

Rempah-rempah seperti cengkeh, oregano, mint, *thyme* dan kayu manis, telah digunakan selama berabad-abad sebagai pengawet makanan dan sebagai tanaman obat terutama karena aktivitas antioksidan dan antimikroba. Cengkeh memiliki antioksidan kuat dan antimikroba dibandingkan rempah-rempah lainnya (Cortés-Rojas, de Souza and Oliveira, 2014).

Cengkeh dan kayu manis baik tunggal maupun kombinasi memiliki aktivitas antibakteri spektrum luas terhadap semua organisme yang diuji (*Escherichia coli*, *Vibrio cholera*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Salmonella sp*, *Shigella spr*, *Acinetobacter sp*, dan *Klebsiella sp)*, meskipun sensitivitas tertinggi ditemukan dari *Staphylococcus aureus.* Oleh karena itu, kombinasi rempah-rempah dan antimikroba lainnya dapat meningkatkan umur simpan makanan dengan menghancurkan organisme pembusuk makanan (Banik *et al.*, 2018).

Penelitian yang sama menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri dan konsentrasi penghambatan minimum (MIC) dari minyak atsiri cengkeh dan kayu manis ditemukan paling aktif melawan *S. aureus* diikuti oleh *E. coli*. *B.cereus* dan *C. jejuni*. Namun, minyak atsiri kayu manis ditemukan aktif melawan semua bakteri patogen yang diuji (*Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Salmonella typhimurium, Bacillus cereus, Campylobacter jejuni, Listeria monocytogenes, Streptococcus pyogenes, Methicillin resistant Staphylococcus aureus*) dibandingkan dengan minyak atsiri cengkeh (Jagadeesh Babu *et al.*, 2011). Studi ini memberikan bukti bahwa minyak atsiri kayu manis dan minyak atsiri cengkeh dapat bermanfaat sebagai alternatif alami yang penting untuk mengendalikan beberapa bakteri patogen (Adesiji *et al.*, 2015).

Maka penelitian ini akan menguji efektivitas antibakteri kombinasi cengkeh dan kayu manis yang diaplikasikan pada ikan mas dengan menggunakan bakteri uji pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* dan *Salmonella typhosa*.

**BAHAN DAN ALAT**

Bahan baku yang digunakan adalah serbuk dan minyak atsiri dari cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) dan kayu manis (*Cinnamomum burmannii*). Bahan penunjang yang digunakan adalah ikan mas segar *(Cyprinus carpio).* Bahan analisis yang digunakan *Salmonella Sigella Agar* (SSA), *Nutrien Agar* (NA), *Plat Count Agar* (PCA), TSB, aquades, alkohol.

Alat yang digunakan dalam proses penelitian diantaranya adalah timbangan, pipet mikroliter, cawan petri, inkubator, *colony counter*, autoklaf, jarum ose, oven, peralatan gelas laboratorium, tabung reaksi, rak tabung reaksi, bunsen, lumpang dan alu, *hand mixer*, *Spektrofotometri uv vis,* dan *shaker* laboratorium. Alat yang digunakan untuk identifikasi kandungan cengkeh dan kayu manis yaitu instrumen *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS) (Shan *et al.*, 2007).

**METODE**

Metode penelitian yang dilakukan terdiri atas dua tahapan yaitu penelitian tahap I dan tahap II. Tahap I : analisis kadar air pada antibakteri dengan metode gravimetri, analisis senyawa kimia pada antibakteri dengan metode GCMS, uji identifikasi bakteri, analisis uji antibakteri dengan metode MIC dan MBC. Tahap II : penentuan variasi waktu perendaman, penentuan waktu perendaman terbaik dengan metode TPC.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

Tahap I

1. Analisis Kadar Air Antibakteri

Berdasarkan hasil pengukuran kadar air dengan metode gravimetri didapat hasil analisis kadar air pada serbuk cengkeh adalah 9,45 %, dan serbuk kayu manis adalah 11,11 %, sesuai dengan SNI serbuk cengkeh dan kayu manis tidak lebih dari 12%. Bila kadar air lebih dari 14% cengkeh mudah terserang jamur sehingga tidak tahan disimpan (Danun, 2019).

1. Analisis Komponen Senyawa Kimia

Berdasarkan data kromatogram yang diperoleh dari analisis bahwa komponen-komponen senyawa yang terkandung dalam cengkeh dan kayu manis didapat hasil analisis pada cengkeh mengandung senyawa eugenol dengan konsentrasi 89,08%, sesuai dengan SNI 06-2387-2006 pada cengkeh harus mengandung senyawa eugenol total minimal dengan kadar 78%. Berdasarkan pengukuran kayu manis mengandung senyawa sinemaldehid dengan konsentrasi 76,42%, menurut SNI 8891-2020 pada kayu manis harus mengandung senyawa sinemaldehid dengan kadar minimal 50%. Hasil tersebut menandakan bahwa bahan sediaan antibakteri layak dilakukan untuk digunakan penelitian.

Analisis komponen senyawa kimia yang terdapat pada antibakteri cengkeh dan kayu manis dilakukan pengukuran dengan menggunakan GC-MS *(Gas Cromatography and Mass Spectroscopy)* merupakan alat yang digunakan untuk menganalisa senyawa didalam sampel (antibakteri) (Shan *et al.*, 2007).

Kromatografi gas merupakan metode untuk pemisahan komponen campuran kimia dalam suatu bahan dan mendeteksi senyawa-senyawa yang mudah menguap dalam suatu campuran. Tujuan utama kromatografi adalah untuk memisahkan komponen yang berbeda dari suatu campuran larutan. Pada umumnya kromatografi gas memiliki prinsip kerja yang didasari dari pemisahan fisik senyawa organik pada suhu tertentu, di mana senyawa tersebut dibawa oleh suatu gas pembawa menuju kolom partisi. Setiap senyawa akan memiliki kecepatan yang berbeda-beda dalam melewati kolom sesuai dengan nilai kepolaran.

1. Uji Identifikasi Bakteri

Berdasarkan hasil uji identifikasi bakteri pada biakan bakteri gram positif dan gram negatif, bakteri yang digunakan pada bakteri gram negatif adalah *Pseudomonas aeroginosa* dan *Salmonella typhosa*, sedangkan bakteri gram positif yang digunakan adalah *Bacillus subtillis* dan *Staphylococcus aureus*. Hasil dari analisis ini membuktikan bahwa identifikasi biakan bakteri uji adalah benar mengandung bakteri tersebut, dan bisa digunakan untuk penelitian selanjutnya.

Pengamatan fisiologi bakteri dilakukan dengan cara uji biokimia. Uji biokimia yang biasa dilakukan yaitu pengujian fermentasi karbohidrat (untuk mengamati kemampuan bakteri dalam memfermentasikan karbohidrat), pengujian Metyl red (untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menghasilkan asam), pengujian Vogest Paskauer (untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menghasilkan acetumetyl carbinol dan fermentasi glukosa), pengujian indol (untuk mengatahui kemampuan bakteri dalam menghasilkan indol), pengujian oksidase (untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam memproduksi enzim oksidase), pengujian H2S (untuk mengatahui kemampuan bakteri dalam memproduksi H2S), pengujian amylase (untuk mengetahui kemampuan bakteri menghidrolisis amilum), pengujian katalase (untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menghasilkan enzim katalase), pengujian protease (untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menghidrolisis protein) (Sari, Rahmawati dan W, 2019).

1. Analisis Uji Antibakteri

Berdasarkan analisis uji antibakteri kombinasi serbuk cengkeh dan kayu manis pada bakteri uji dengan metode MIC *(minimum inhibitory concentration)* didapatkan hasil yang dapat dilihat pada tabel berikut ini:

**Tabel 1** Hasil MIC secara Visual Konsentrasi Serbuk Cengkeh dan Kayu Manis

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **No**  | **Konsentrasi Serbuk Cengkeh dan Kayu Manis** | ***Staphylococcus******aureus*** | ***Pseudomonas aeruginosa*** | ***Salmonella typhosa*** | ***Bacillus subtilis*** |
| 1 | 2 | 1 | 2 | 1 | 2 | 1 | 2 |
| 1 | 10 % | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 2 | 5 % | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 3 | 2,5 % | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 4 | 1,25 % | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 5 | 0,625 % | - | - | + | + | + | + | + | + |

**Tabel 2** Hasil MIC secara Spektrofotometri Konsentrasi Serbuk Cengkeh dan Kayu Manis

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **No**  | **Konsentrasi Serbuk Cengkeh dan Kayu Manis** | **Bakteri**  |
| ***Staphylococcus*** ***Aureus*** | ***Pseudomonas aeroginosa*** | ***Salmonella typhosa*** | ***Bacillus subtilis*** |
| λ | OD | λ | OD | λ | OD | λ | OD |
| 1 | 10 % | 625 | 1,241 | 625 | 1,108 | 625 | 1,365 | 625 | 1,350 |
| 2 | 5 % | 625 | 1,921 | 625 | 1,607 | 625 | 1,846 | 625 | 1,089 |
| 3 | 2,5 % | 625 | 1,148 | 625 | 1,055 | 625 | 1,414 | 625 | 1,218 |
| 4 | 1,25 % | 625 | 0,865 | 625 | 0,778 | 625 | 1,156 | 625 | 1,336 |
| 5 | 0,625 % | 625 | 0,862 | 625 | 0,622 | 625 | 0,853 | 625 | 1,219 |
| 6 | 0% | 625 | 0,068 | 625 | 0,048 | 625 | 0,036 | 625 | 0,097 |
| 7 | McFarland | 625 | 0,153 | 625 | 0,153 | 625 | 0,153 | 625 | 0,153 |

**Gambar 1** Grafik efektivitas kombinasi serbuk kayu manis dan cengkeh

Selanjutnya untuk memastikan antibakteri kombinasi serbuk cengkeh dan kayu manis mempunyai sifat bakterisidal dapat dilihat dari hasil MBC *(Minimum Bactericidal Concentration)* sebagai berikut.

**Tabel 3** Hasil MBC Kombinasi Serbuk Cengkeh dan Kayu Manis

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Bentuk Sediaan** | **Bakteri** | **Inkubasi** | **Konsentrasi Sampel** | **Hasil** | **Keterangan** |
| Serbuk Cengkeh dan Kayu Manis | *Staphylococcus aureus* | 1 | 1,25% | + | koloni kuning |
| 2 | 0,625% | + | koloni putih |
| *Salmonella typhosa* | 1 | 0,625% | + | koloni hitam |
| 2 | 0,625% | + | koloni hitam |
| *Bacillus subtilis* | 1 | 0,625% | + | koloni putih |
| 2 | 0,625% | + | koloni putih |
| *Pseudomonas aeruginosa* | 1 | 1,25% | + | koloni hijau |
| 2 | 0,625% | + | koloni hijau |

Berdasarkan pengamatan pada tabel MIC secara visual pada kombinasi serbuk cengkeh dan kayu manis, hasil yang didapatkan yaitu dengan mengamati hasil yang dibandingkan dengan larutan Mc Farland sebagai kontrol positif, jika yang dihasilkan positif (+) ditandai dengan kekeruhan tabung setara atau lebih keruh dari tabung kontrol positif (K +) artinya bakteri masih tumbuh secara subur, sedangkan jika yang dihasilkan negatif (-) ditandai dengan tabung sudah mulai jernih daripada kontrol positif (K +) artinya pertumbuhan terhambat.

 Berdasarkan hasil pengamatan maka didapatkan MIC secara visual pada antibakteri serbuk cengkeh dan kayu manis dapat menghambat *Staphylococcus aureus* pada inkubasi pertama dan kedua, dengan nilai konsentrasi sebesar 0,625%.

 Berdasarkan hasil pengamatan dengan pengukuran spektrofotometri didapatkan hasil pada kombinasi serbuk cengkeh dan kayu manis setelah dilakukan inkubasi dimana hasil akan dibandingkan dengan larutan Mc Farland, jika hasil mendekati angka larutan Mc Farland maka dapat dikatakan konsentrasi tersebut yang dipilih sebagai nilai MIC. Hasil inkubasi yang didapat adalah nilai OD (nilai kekeruhan) pada bakteri *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhosa* dan *Bacillus subtilis* nilai OD tidak mendekati nilai Mc Farland.

Berdasarkan dari hasil tersebut selanjutnya dilakukan analisis regresi, analisis tersebut merupakan salah satu metode dengan tujuan untuk melihat hubungan sebab akibat yang terjadi antara antibakteri dengan mikroorganisme. Nilai koefisien determinasi (R2) dan koefisien korelasi (r) pada umumnya antara 0-1. Berdasarkan hasil dari grafik efektivitas serbuk kayu manis dan cengkeh maka didapatkan hasil pada *Staphyolococcus aureus* nilai R2=0,356 dengan nilai r= 0,597, artinya konsentrasi antibakteri berpengaruh lemah terhadap daya hambat *S.aureus*, sedangkan konsentrasi antibakteri berkorelasi kuat terhadap daya hambat *S.aureus*. *Pseudomonas aeruginoasa* R2=0,403 dengan nilai r=0,635, artinya konsentrasi antibakteri berpengaruh lemah terhadap daya hambat *P.aeruginosa*, sedangkan konsentrasi antibakteri berkorelasi kuat terhadap daya hambat *P.aeruginosa*. *Salmonella typhosa* nilai R2=0,346 dengan nilai r=0,588, artinya konsentrasi antibakteri berpengaruh lemah terhadap daya hambat *S.typhosa*, sedangkan konsentrasi antibakteri berkorelasi kuat terhadap daya hambat *S.typhosa*. *Bacillus subtilis* nilai R2=0,204 dengan nilai r=0,452, artinya konsentrasi antibakteri berpengaruh lemah terhadap daya hambat *Bacillus subtilis*, sedangkan konsentrasi antibakteri berkorelasi cukup terhadap daya hambat *Bacillus subtilis*. Dapat disimpulkan bahwa kombinasi serbuk cengkeh dan kayu manis tidak terpilih sebagai antibakteri untuk tahap selanjutnya.

Hasil uji MBC dengan metode TPC pada kombinasi serbuk cengkeh dan kayu manis tidak bersifat bakterisidal (mematikan) untuk bakteri *Salmonella typhosa*, *Bacillus subtilis, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella typhosa.*

Berdasarkan analisis uji antibakteri kombinasi minyak atsiri cengkeh dan kayu manis pada bakteri uji dengan metode MIC *(minimum inhibitory concentration)* didapatkan hasil sebagai berikut :

**Tabel 4** Hasil MIC secara Visual Konsentrasi Minyak Atsiri Cengkeh dan Kayu Manis

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **No**  | **Konsentrasi Minyak Atsiri Cengkeh dan Kayu Manis** | ***Staphylococcus******aureus*** | ***Pseudomonas aeruginosa*** | ***Salmonella typhosa*** | ***Bacillus subtilis*** |
| 1 | 2 | 1 | 2 | 1 | 2 | 1 | 2 |
| 1 | 10 % | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 2 | 5 % | + | + | + | + | + | + | - | - |
| 3 | 2,5 % | - | - | - | - | - | + | - | - |
| 4 | 1,25 % | - | - | + | + | + | - | + | + |
| 5 | 0,625 % | + | + | + | + | + | + | + | + |

**Tabel 5** Hasil MIC secara Spektrofotometri Konsentrasi Minyak Atsiri Cengkeh dan Kayu Manis

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **No**  | **Konsentrasi Minyak Atsiri Cengkeh dan Kayu Manis** | **Bakteri**  |
| ***Staphylococcus*** ***Aureus*** | ***Pseudomonas aeroginosa*** | ***Salmonella typhosa*** | ***Bacillus subtilis*** |
| λ | OD | λ | OD | Λ | OD | λ | OD |
| 1 | 10 % | 625 | 2,261 | 625 | 2,178 | 625 | 1,957 | 625 | 1,318 |
| 2 | 5 % | 625 | 0,569 | 625 | 0,518 | 625 | 0,597 | 625 | 0,190 |
| 3 | 2,5 % | 625 | 0,601 | 625 | 0,199 | 625 | 0,184 | 625 | 0,055 |
| 4 | 1,25 % | 625 | 0,243 | 625 | 0,426 | 625 | 0,303 | 625 | 0,732 |
| 5 | 0,625 % | 625 | 0,584 | 625 | 0,252 | 625 | 0,450 | 625 | 0,800 |
| 6 | 0% | 625 | 0,068 | 625 | 0,048 | 625 | 0,036 | 625 | 0,097 |
| 7 | McFarland | 625 | 0,153 | 625 | 0,153 | 625 | 0,153 | 625 | 0,153 |

**Gambar 2** Grafik efektivitas kombinasi minyak atsiri kayu manis dan cengkeh

Selanjutnya untuk memastikan antibakteri kombinasi minyak atsiri cengkeh dan kayu manis mempunyai sifat bakterisidal dapat dilihat dari hasil MBC *(Minimum Bactericidal Concentration)* sebagai berikut.

**Tabel 6** Hasil MBC Kombinasi Minyak Atsiri Cengkeh dan Kayu Manis

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Bentuk Sediaan** | **Bakteri** | **Inkubasi** | **Konsentrasi Sampel** | **Hasil** | **Keterangan** |
| Minyak Atsiri Cengkeh dan Kayu Manis | *Staphylococcus aureus* | 1 | 2,50% | - | tidak ada koloni |
| 1,25% | + | koloni kuning |
| 2 | 2,50% | + | koloni kuning |
| *Salmonella typhosa* | 1 | 2,50% | - | tidak ada koloni |
| 2 | 2,50% | - | tidak ada koloni |
| 1,25% | - | tidak ada koloni |
| *Bacillus subtilis* | 1 | 5% | + | koloni putih |
| 2,50% | + | koloni putih |
| 2 | 2,50% | + | koloni putih |
| *Pseudomonas aeruginosa* | 1 | 2,50% | - | tidak ada koloni |
| 2 | 0,625% | + | koloni hijau |

Berdasarkan pengamatan dengan pengukuran spektrofotometri didapatkan

Berdasarkan hasil pengamatan MIC secara visual pada antibakteri kombinasi minyak atsiri cengkeh dan kayu manis pada konsentrasi 2,5% dapat menghambat *Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella typhosa* dan *Bacillus subtilis*, sedangkan pada konsentrasi 1,25% dapat menghambat *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhosa*.

Berdasarkan hasil dari MIC yang diukur dengan spektrofotometri hasil dari kombinasi minyak atsiri cengkeh dan kayu manis didapat nilai OD sebesar 0,184, dimana hasil ini yang paling mendekati dengan MC Farland dengan nilai 0,153, berdasarkan hasil tersebut maka ditetapkan nilai MIC dengan konsentrasi sebesar 2,5%.

Berdasarkan hasil MIC secara visual maka bentuk sediaan antibakteri yang terpilih adalah kombinasi minyak atsiri cengkeh dan kayu manis dengan konsentrasi 2,5%. Pemilihan tersebut dikarenakan bentuk sediaan kombinasi minyak atsiri cengkeh dan kayu manis lebih banyak menghambat bakteri ditandai dengan tanda negatif (-).

Menurut Jagadeesh Babu et al (2011), penelitian lain menunjukan bahwa aktivitas antibakteri dan konsentrasi penghambatan minimum (MIC) dari minyak cengkeh dan kayu manis ditemukan paling aktif melawan pada bakteri *Staphylococcus aureus*.

Berdasarkan hasil dari grafik efektivitas minyak atsiri kayu manis dan cengkeh maka didapatkan hasil pada *Staphyolococcus aureus* nilai R2=0,857 dengan nilai r= 0,925, artinya konsentrasi antibakteri berpengaruh kuat terhadap daya hambat *S.aureus*, sedangkan konsentrasi antibakteri berkorelasi sangat kuat terhadap daya hambat *S.aureus*. *Pseudomonas aeruginoasa* R2=0,875 dengan nilai r=0,935, artinya konsentrasi antibakteri berpengaruh kuat terhadap daya hambat *P.aeruginosa*, sedangkan konsentrasi antibakteri berkorelasi sangat kuat terhadap daya hambat *P.aeruginosa*. *Salmonella typhosa* nilai R2=0,874 dengan nilai r=0,935, artinya konsentrasi antibakteri berpengaruh kuat terhadap daya hambat *S.typhosa*, sedangkan konsentrasi antibakteri berkorelasi sangat kuat terhadap daya hambat *S.typhosa*. *Bacillus subtilis* nilai R2=0,324 dengan nilai r=0,569, artinya konsentrasi antibakteri berpengaruh lemah terhadap daya hambat *Bacillus subtilis*, sedangkan konsentrasi antibakteri berkorelasi kuat terhadap daya hambat *Bacillus subtilis*. Dapat disimpulkan jika nilai koefisien korelasi (r) positif artinya semakin tinggi konsentrasi antibakteri minyak atsiri cengkeh dan kayu manis yang digunakan, maka semakin besar kemampunan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphyolococcus aureus, Pseudomonas aeruginoasa,* dan *Salmonella typhosa.*

Hasil uji MBC dengan metode TPC dapat bersifat mematikan untuk bakteri *Salmonella typhosa* dengan konsentrasi 2,5% pada minyak atsiri kombinasi cengkeh dan kayu manis.

Uji MBC bertujuan untuk mengetahui daya hambat antibakteri cengkeh dan kayu manis terhadap bakteri. Pertumbuhan bakteri akan terhambat bahkan mati jika suatu bahan yang diberikan dalam pengujian mengandung senyawa antibakteri (Nuraeni, 2020).

Berdasarkan cara kerjanya, antibakteri dibedakan menjadi bakterisidal dan bakteriostatik. Bakteriostatik adalah zat yang bekerja menghambat pertumbuhan bakteri sedangkan bakterisidal adalah zat yang bekerja mematikan bakteri. Bebrapa zat antibakteri bersifat bakteriostatik pada konsentrasi rendah dan bersifat bakterisidal pada konsentrasi tinggi (Nuraeni, 2020).

Berdasarkan pemaparan yang telah dilakukan maka pemilihan konsentrasi dan bentuk sediaan antibakteri yang terpilih adalah minyak atsiri kombinasi cengkeh dan kayu manis dengan konsentrasi 2,5%, selanjutnya hasil ini akan diaplikasikan pada ikan mas untuk tahap II.

Tahap II

Berdasarkan hasil tahap I selanjutnya dilakukan analisis bakteri dengan metode TPC untuk menentukan waktu perendaman terbaik yang diaplikasikan pada ikan mas berdasarkan kurva linier**,** dapat dilihat pada gambar berikut ini.

**Gambar 3** Grafik efektivitas antibakteri pada *Staphylococcus aureus* didalam ikan mas

**Gambar 4** Grafik efektivitas antibakteri pada *Bacillus subtilis* didalam ikan mas

**Gambar 5** Grafik efektivitas antibakteri pada *Salmonella typhosa* didalam ikan mas

Penentuan waktu perendaman terbaikberdasarkan hasil pada tahap I didaptkan antibakteri berupa minyak atsiri kayu manis dan cengkeh dengan konsentrasi 2,5%. Hasil tersebut digunakan untuk tahap II dalam mencari waktu perendaman terbaik, dengan variasi waktu perendaman 0, 15, 30, 45 menit dalam waktu 0, 24, 48 jam dihasilkan total mikroba dan dihitung dengan metode TPC.

Berdasarkan hasil kurva dari grafik efektivitas minyak atsiri kayu manis dan cengkeh pada ikan mas selama penyimpanan 24 jam, didapatkan kurva linier pada bakteri *Salmonella typhosa* dengan persamaan Y=0,0369X + 2,609 nilai R2 = 0,844 nilai r = 0,919, dengan waktu perendaman 30 menit, artinya waktu perendaman berpengaruh kuat terhadap daya hambat pertumbuhan *Salmonella typhosa* dan waktu perendaman dengan antibakteri memiliki korelasi atau hubungan yang sangat kuat dengan pertumbuhan jumlah bakteri, dimana nilai korelasinya 0,919 artinya hubungan positif yaitu ketika waktu perendaman semakin lama, maka jumlah bakteri yang dihambat semakin tinggi.

Berdasarkan persamaan linier tersebut dapat disimpulkan bahwa waktu perendaman antibakteri memiliki hubungan yang cukup kuat terhadap pertumbuhan bakteri, semakin lama waktu perendaman maka jumlah bakteri yang dihambat semakin tinggi. Dapat disimpulkan bahwa bakteri yang terdapat pada ikan mas yang dapat dihambat secara optimum oleh antibakteri kombinasi minyak atsiri cengkeh dan kayu manis dengan konsentrasi 2,5% adalah bakteri *Salmonella typhosa* (gram negatif) dengan waktu perendaman antibakteri selama 30 menit, dengan waktu perendaman tersebut maka aktivitas bakteri *Salmonella* *typhosa* dapat dihambat selama 17 jam 1 menit 5 detik.

Penelitian lain membandingkan aktivitas antibakteri cengkeh dan kayu manis baik tunggal maupun kombinasi memiliki aktivitas antibakteri spectrum luas terhadap bakteri uji *E.coli, Vibrio colera, Staphylococcus aureus, Bacillus cereus, Salmonella sp.* Oleh karena itu, kombinasi cengkeh dan kayu manis dapat meningkatkan umur simpan bahan pangan dengan menghancurkan organisme pembusuk pada bahan pangan (Banik, et al., 2018).

 Menurut Jagadeesh Babu et al (2011), menyebutkan bahwa minyak atsiri pada kayu manis dan cengkeh menunjukan efek penghambatan yang signifikan. Dari 21 minyak atsiri tanaman yang diuji dihasilkan bahwa kayu manis dan cengkeh ternyata menghambat bakteri gram positif dan gram negatif. Peneltian ini memberikan bukti bahwa minyak atsiri cengkeh dan kayu manis dapat bermanfaat sebagai pengawet alternatif alami yang penting untuk mengendalikan beberapa bakteri patogen seperti bakteri *Staphylococcus aureus* (gram positif) dan *Salmonella thyphosa* (gram negatif) (Adesiji et al., 2015).

 Mekanisme penghambatan mikroorganisme oleh senyawa antibakteri dapat disebabkan oleh beberapa cara, antara lain: (1) Menggangu pembentukan dinding sel, (2) Bereaksi dengan membrane sel, (3) Menginaktivasi enzim, (4) Menginaktivasi fungsi material genetik. Kemampuan suatu zat antibakteri tersebut dipengaruhi oleh bebrapa factor, antara lain: (1) Konsentrasi zat antibakteri, (2) Waktu penyimpanan, (3) Suhu lingkungan, (4) Sifat-sifat fisik dan kimia makanan kadar air, pH, jenis, dan jenis senyawa didalamnya (Nuraeni, 2020).

 Kandungan minyak atsiri pada bunga cengkeh mempunyai kadar eugenol yang paling banyak. Eugenol merupakan salah satu senyawa golongan fenol yang diketahui memiliki efek toksik terhadap bakteri. Senyawa fenol dapat menembus membran sel bakteri kemudian berinteraksi dengan enzim dan protein pada membran tersebut sehingga dapat merusak sel bakteri. Mekanisme eugenol sebagai antibakteri dengan cara menembus membran sitoplasma kemudian mengganggu atau merusak kemampuan permeabilitas dinding sel bakteri. Selain itu, sifat hydrophobik (tidak larut dalam air) yang dimiliki eugenol lebih memudahkannya menembus lipopolisakarida dari membran sel bakteri, dan mengubah stuktur dinding sel, struktur dinding sel yang berubah kemudian menyebabkan kebocoran pada bagian intrasel sehingga menghambat pertumbuhan bakteri, kemampuan inilah yang akhirnya minyak cengkeh dapat dijadikan sebagai antibakteri (Hasanuddin dan Salnus, 2020).

 Mekanisme penghambatan pertumbuhan bakteri oleh sinemeldehid yang tekandung dalam minyak kayu manis adalah senyawa bioaktif mengikatkan diri pada membran sitoplasma sehingga mengurangi kesetabilan membran, maka menimbulkan kebocoran pada dinding sel dam membran plasma sehingga sitoplasma dan cairannya mengalir keluar (Tokan, 2019).

**DAFTAR PUSTAKA**

Adesiji, Y. *et al.* (2015) “Antibacterial Activity Of Cinnamon And Clove Oil On Different Food Borne Bacterial Isolates,” *Nigeria. Journal of Pure and Applied Science*, 28, hal. 2610–2616.

Ahmed H. Al-Harbi (2012) “Bacterial content in the intestine of frozen common carp Cyprinus carpio,” *AFRICAN JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY*, 11(30), hal. 7751–7755. Tersedia pada: https://doi.org/10.5897/ajb12.002.

Banik, A. *et al.* (2018) “Antibacterial Activity of Allium Sativum, Syzygium Aromaticum, and Cinnamomum Zeylanicum against Food Borne Pathogens in Vitro,” *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences (IOSR-JPBS*, 13(2), hal. 68–73. Tersedia pada: https://doi.org/10.9790/3008-1302056873.

BSN (2006) “SNI 06-2387-2006 Minyak Daun Cengkih,” *Standar Nasional Indonesia*, hal. 1–8.

BSN (2020) “Kulit kayumanis ( Cinnamomum burmanni ( Nees & T . Nees ) Blume ) sebagai bahan baku.”

Calon, P. *et al.* (2013) *Kementerian Kelautan Dan Perikanan Republik Indonesia Kementerian Kelautan Dan Perikanan*, *Kkp.Go.Id*. Jakarta. Tersedia pada: https://kkp.go.id/djprl/artikel/21045-konservasi-perairan-sebagai-upaya-menjaga-potensi-kelautan-dan-perikanan-indonesia.

Cortés-Rojas, D.F., de Souza, C.R.F. and Oliveira, W.P. (2014) “Clove (Syzygium aromaticum): A precious spice,” *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4(2), hal. 90–96. Tersedia pada: https://doi.org/10.1016/S2221-1691(14)60215-X.

Danun, R.Y. (2019) “Panen Dan Pascapanen Cengkeh,” *Cyberextension*, hal. 2019.

Ghaly, A.E. *et al.* (2010) “Fish spoilage mechanisms and preservation techniques: Review,” *American Journal of Applied Sciences*, 7(7), hal. 846–864.

Hasanuddin, A.R.P. dan Salnus, S. (2020) “Uji Bioaktivitas Minyak Cengkeh (Syzygium aromaticum).pdf,” *Bioma: Jurnal Biologi Makassar*, 5(2), hal. 241–250.

Jagadeesh Babu, A. *et al.* (2011) “Study on the antimicrobial activity and minimum inhibitory concentration of essential oils of spices,” *Veterinary World*, 4(7), hal. 311–316. Tersedia pada: https://doi.org/10.5455/vetworld.2011.311-316.

Kong, C. *et al.* (2016) “Quality changes and predictive models of radial basis function neural networks for brined common carp (Cyprinus carpio) fillets during frozen storage,” *Food Chemistry*, 201, hal. 327–333. Tersedia pada: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.088.

Lu, F. *et al.* (2010) “Cinnamon and nisin in alginate-calcium coating maintain quality of fresh northern snakehead fish fillets,” *LWT - Food Science and Technology*, 43(9), hal. 1331–1335. Tersedia pada: https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.05.003.

Nuraeni, C. (2020) “Parameter Kualitas Dan Kemurnian Minyak Atsiri,” *Balai Besar Kimia dan Kemasan*.

Riyantono, R., Abida, I.W. dan Farid, A. (2009) “Tingkat Ketahanan Kesegaran Ikan Mas (Cyprinus carpio) Menggunakan Asap Cair,” *Jurnal Kelautan: Indonesian Journal of Marine Science and Technology; Vol 2, No 1: April (2009)* [Preprint].

Sari, D.P., Rahmawati dan W, E.R.P. (2019) “Deteksi dan Identifikasi Genera Bakteri Coliform Hasil Isolasi dari Minuman Lidah Buaya,” *Jurnal Labora Medika*, 3(1), hal. 29–35. Tersedia pada: http://jurnal.unimus.ac.id/index.php/JLabMed.s

Shan, B. *et al.* (2007) “Antibacterial Properties and Major Bioactive Components of Cinnamon Stick (Cinnamomum burmannii):  Activity against Foodborne Pathogenic Bacteria,” *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(14), hal. 5484–5490. Tersedia pada: https://doi.org/10.1021/jf070424d.

Sitakar, N.M. *et al.* (2016) “Pengaruh Suhu Pemeliharaan Dan Masa Simpan Daging Ikan Nila (Oreochromis niloticus) Pada Penyimpanan Suhu -20 -20Â°C Terhadap Jumlah Total Bakteri,” *Jurnal Medika Veterinaria*, 10(2), hal. 162–165.

Tjahyaningsih, W. *et al.* (2013) “Potential use of red algae ethanol extract (kappaphycus alvarezii) as formalin substitute natural preservative in meat fish,” *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 5(2), hal. 123–127.

 Tokan, M.K. dkk (2019) “Aktivitas Antibakteri Sinamaldehid yang Diisolasi dari Kulit Batang Kayumanis Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus,” *Universitas Nusa Cendana*.