



## **BAB 6**

# **PEMBAHASAN**

## BAB 6

### PEMBAHASAN

#### 6.1 Temuan Baru pada Penelitian

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data diperoleh bahwa *essential oil Cananga latifolia* efektif menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 50% dan 100%. Dimana pada konsentrasi 25% dan 50% *essential oil Cananga latifolia* dilarutkan menggunakan *Jojoba oil*, sedangkan pada konsentrasi 100% merupakan *essential oil Cananga latifolia* murni tanpa campuran apapun.

#### 6.2 Kelebihan dan Kekurangan dalam Metode Penelitian yang Dilakukan

Pada bab 2 disebutkan,  $\beta$ -*caryophyllene* memiliki berbagai fungsi seperti menghambat pertumbuhan *S. mutans* jika diberikan dengan konsentrasi di atas 0,078%, menghambat biofilm *S. mutans* jika diberikan dengan konsentrasi di atas 0,32%, serta menunjukkan sifatnya sebagai anti-biofilm apabila diberikan dalam konsentrasi 2,5% (Yoo and Jwa, 2018). Namun, pada penelitian ini didapatkan dengan konsentrasi 25% *essential oil Cananga latifolia* belum signifikan menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, hal ini dikarenakan pada penelitian ini hanya menggunakan pelarut berupa *Jojoba oil*, sedangkan pada kutipan di bab 2 tersebut  $\beta$ -*caryophyllene* dicampur dengan *dimethyl sulfoxide* (DMSO) (Sigma-al-drich Co., USA) dengan perbandingan 1:1, lalu ditambah dengan *buffered saline fosfat* (pH 7,2) hingga mencapai konsentrasi akhir 5%. Kemudian klorheksidin diencerkan dengan PBS hingga konsentrasi akhir 5%.

*Caryophyllene* dan *chlorhexidine* lalu disaring menggunakan filter *polyvinylidene*

*fluoride* (PVDF) dengan ukuran pori 0,22 mikrometer (Millipore So., USA). 180 mikroliter BHI disalurkan ke masing-masing sumur dari kolom ke-3 sampai ke-6 dalam pelat 96-sumur (SPL Lifescience, Korea), serta 180 mikroliter larutan  $\beta$ -*caryophyllene* dan *chlorhexidine* ditambahkan ke dalam sumur baris ke-12 dari sumur kolom ke-5 dan ke-6 yang mengandung BHI. Pengenceran serial dua kali lipat dilakukan menggunakan mikropipet (Yoo and Jwa, 2018).

Metode sumuran mempunyai kelebihan seperti mudah mengukur luas zona hambat yang terbentuk karena bakteri beraktivitas tidak hanya di permukaan atas nutrient agar tetapi juga sampai ke bawah (Nurhayati, Yahdiyani and Hidayatulloh, 2020).

Metode difusi sumur agar banyak digunakan untuk mengevaluasi aktivitas antimikroba tanaman atau ekstrak mikroba. Prosedur dalam metode ini sama halnya dengan metode difusi cakram, permukaan pelat agar diinokulasi dengan menyebarkan volume mikroba di okulum di atas seluruh permukaan agar-agar, lalu buat lubang dengan diameter 6 – 8 mm secara *aseptic* menggunakan penggerek gabus steril atau tip, dan volume (20-100  $\mu$ L) agen antimikroba atau ekstrak larutan dengan konsentrasi yang diinginkan kemudian dimasukkan ke dalam sumur. Selanjutnya, piring agar diinkubasi dalam kondisi yang sesuai tergantung pada mikroorganismenya uji. Agen antimikroba berdifusi masuk dalam media agar dan menghambat pertumbuhan strain mikroba uji (ZILHAYAI, 2021).

Metode penelitian yang pertama dilakukan yaitu dengan menggunakan konsentrasi 100% pada seluruh media MHA dan menggunakan dosis dalam bentuk

mL, diganti menjadi dosis dalam konsentrasi dengan konsentrasi yang digunakan yaitu 25%, 50%, dan 100%, perubahan metode yang terjadi menyesuaikan kejadian di lapangan. Pada konsentrasi 25% dan 50% essential oil *Cananga latifolia* dilarutkan dalam *jojoba oil*. Minyak pembawa yang dapat diidentifikasi sebagai peningkat aktivitas antimikroba dan penurunan sitotoksitas yaitu *Aloe vera Mill* serta *Simmondsia chinensis C.K.Schneid (Jojoba oil)*, dengan menurunnya sitotoksitas dari *essential oil* secara keseluruhan sebesar 87,5% pada 24 jam serta 85% pada 48 jam oleh *A. vera*. Lima *essential oil* yang telah diencerkan dalam minyak pembawa *A. vera* dan *S. chinensis* menunjukkan aktivitas antimikroba yang meningkat dalam melawan patogen seperti *Brevibacterium epidermidis*, *B. linens*, serta *P. aeruginosa* dengan nilai MIC 0,09 hingga 0,50 mg/mL (dan  $\sigma$ FIC 0,14 – 0,39). Studi ini dapat menyimpulkan bahwa minyak pembawa melengkapi formulasi dari *essential oil*, dimana sebagian besar dapat mengurangi sitotoksitas serta juga dapat meningkatkan aktivitas antimikroba (Orchard *et al.*, 2019).

### 6.3 Makna Temuan yang Diperoleh

*Essential oil Cananga latifolia* efektif menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi 50% (yang dilarutkan dalam *Jojoba oil*) dan konsentrasi 100% (murni hanya *essential oil Cananga latifolia*).

### 6.4 Mekanisme yang Berperan

Biofilm dari polimikroba seperti jamur dan bakteri patogen sering berperan dalam kegagalan pengobatan antimikroba. Pertumbuhan resistensi dari biofilm polimikroba patogen terhadap antibiotik telah menuntun kepada pengembangan terhadap strategi alternatif untuk melawan penyakit polimikroba. Di sini,

nanopartikel emas (AuNPs) disintesis menggunakan *β-caryophyllene* yang merupakan senyawa bioaktif yang diambil dari berbagai spesies tanaman. Bentuk, ukuran, serta potensi zeta dari  $\beta$ -c-AuNPs yang disintesis ditemukan non-bulat,  $17,6 \pm 1,2$  nm, dan  $-31,76 \pm 0,73$  mV, masing-masing. Sebuah biofilm yang merupakan campuran dari *Candida albicans* serta *Staphylococcus aureus* digunakan untuk menguji efikasi  $\beta$ -c-AuNPs yang disintesis. Hasil yang didapatkan menunjukkan penghambatan awal yang bergantung terhadap konsentrasi tahap pembentukan spesies tunggal serta biofilm campuran. Kemudian,  $\beta$ -c-AuNPs juga dapat mengeliminasi biofilm yang telah matang sehingga penggunaan  $\beta$ -c-AuNPs untuk menghambat biofilm serta mengeliminasi bakteri-jamur biofilm campuran merupakan pendekatan terapeutik yang menjanjikan untuk mengendalikan infeksi polimikrobia (Khan *et al.*, 2023).

Analisis GC/MS mengidentifikasi 13 senyawa dengan *b-caryophyllene* sebagai senyawa utama. Minyak menunjukkan aktivitas antibakteri sedang (MIC  $<1,0$  mg/mL) serta aktivitas antijamur yang kuat. Studi menggunakan *time-kill curve* menunjukkan bahwa minyak atsiri atau *b-caryophyllene* menyajikan pembunuhan bakteri yang cepat yaitu empat jam untuk *S. aureus* serta efek fungisida selama dua hingga empat jam untuk *F. solani* (Neta *et al.*, 2017).

Penyusun seperti *O-methylmoschatoline*, *liriodenine*, *3,4-dihydroxybenzoic acid*, *germacrene D*, and *β-caryophyllene* telah diketahui sebagai beberapa molekul bioaktif yang memiliki aktivitas antimikroba. Linalool merupakan penyusun lainnya yang telah terbukti dapat menunjukkan *insecticidal and anti-inflammatory activities* (Tan *et al.*, 2015).

*Linalool* yang merupakan salah satu komponen utama minyak atsiri, digunakan sebagai agen antibakteri untuk menyelidiki aktivitas antibakteri dan mekanismenya terhadap *Pseudomonas fluorescens*. Terjadinya pengurangan potensial membran (MP), kebocoran *alkaline phosphatase* (AKP), serta pelepasan makromolekul termasuk DNA, RNA dan protein menegaskan bahwa kerusakan struktur membran dinding sel serta kebocoran isi sitoplasma disebabkan oleh perlakuan *linalool*. Kemudian turunnya aktivitas enzim, termasuk *suksinat dehydrogenase* (SDH), malat dehidrogenase (MDH), piruvat kinase (PK), dan ATPase menunjukkan bahwa *linalool* dapat mengakibatkan disfungsi metabolisme serta menghambat sintesis energi. Selain hal tersebut, aktivitas *dehydrogenase* rantai pernapasan serta aktivitas metabolisme respirasi menunjukkan bahwa *linalool* dapat menghambat respirasi seluler. Hasil ini mengungkapkan bahwa *linalool* sebagai antibakteri yang kuat melawan *P. fluorescens* melalui kerusakan membran, metabolisme bakteri dan gangguan pernapasan oksidatif, mengganggu fungsi seluler, serta dapat mengakibatkan kematian sel. *Linalool* disarankan menjadi sumber potensial yang baru sebagai antiseptik makanan dalam sistem pangan (Guo *et al.*, 2021).

Pengukuran potensial Zeta serta uji permeabilitas membran luar mengungkapkan bahwa *linalool* dapat meningkatkan muatan pada permukaan bakteri dan permeabilitas membran. Kemudian terdeteksi bahwa adanya kebocoran asam nukleat serta protein intraseluler pada pengobatan *linalool*. Pemindaian serta mikroskop elektron transmisi lebih lanjut mengungkapkan rusaknya membran bakteri serta hilangnya bahan intraseluler. *Linalool* menginduksi terjadinya stres oksidatif yaitu dengan menghasilkan spesies oksigen reaktif (ROS) yang memulai

peroksidasi lipid, memimpin untuk merusak membran bakteri sehingga hal ini mengakibatkan terjadinya kebocoran intraseluler yang pada akhirnya membunuh sel KPC-KP (Yang *et al.*, 2021).

Penelitian untuk mengeksplorasi mekanisme antibakteri *linalool* terhadap *P. fragi* digunakan teknologi *RNA-seq* untuk menganalisis *transcriptome* *P. fragi* sampel dengan atau tanpa perlakuan *linalool* (1,5 mL/L) selama 2 jam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pengobatan *linalool* mengganggu jalur sintesis lipopolisakarida ekstraseluler pada *P. fragi* serta aktifnya metabolisme asam lemak dan fungsi ribosom untuk mengkompensasi kerusakan dari membran sel (Li *et al.*, 2022).

*Linalool* pada umumnya dapat ditemukan pada banyak tumbuhan dan digunakan sebagai bumbu teh hitam dimana senyawa ini adalah aditif wewangian yang sangat bagus untuk kosmetik, dapat meningkatkan efek pengawetan dari formulasi didalamnya atau sebagai anti-inflamasi pada lesi kulit yang ringan. Pada studi sebelumnya ditunjukkan bahwa *linalool* sangat penting dikarenakan spektrum dari aktivitas biologisnya yang luas, seperti antioksidan, antiinflamasi, antikanker, kardioprotektif, serta antimikroba (Maćzka *et al.*, 2022).