

## BAB 6

### PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk membuktikan adanya efek antibakteri dari ekstrak daun juwet (*Syzygium cumini* Linn.) terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* secara *in vitro* dengan metode dilusi agar. Pemilihan tanaman juwet berdasarkan dari *ethnomedicine* masyarakat Trunyan di Bali karena daun juwet dikenal dapat mengobati penyakit seperti diare disentri. Menurut Ayyanar *et al.*, (2012) dan Chanda (2011) tanaman juwet juga diketahui mengandung senyawa aktif yang berasal dari golongan fenol seperti flavonoid, tanin dan konstituen fenolik lainnya yang mempunyai efek antibakteri. Senyawa aktif ini dapat diperoleh melalui cara ekstraksi.

Metode ekstraksi yang dipilih adalah maserasi karena sebagian besar senyawa aktif yang terkandung di dalam daun juwet tidak tahan terhadap pemanasan. Pelarut yang digunakan adalah etanol 70%. Penggunaan pelarut ini bertujuan untuk dapat mengekstrak senyawa aktif daun juwet yang larut di dalam campuran air – alkohol. Selain itu, alasan penggunaan etanol karena sifatnya yang mampu melarutkan hampir semua zat, baik yang bersifat polar, nonpolar maupun semipolar serta kemampuannya untuk mengendapkan protein dan menghambat kerja enzim sehingga terhindar dari proses oksidasi dan hidrolisis (Helmi *et al.*, 2006). Proses maserasi dilakukan berulang sebanyak tiga kali. Maserasi awal selama tiga hari dan diikuti dengan remaserasi masing-masing selama satu hari sebanyak dua kali. Hal ini dilakukan agar semua senyawa aktif dapat terekstrak sempurna sehingga konsentrasi dianggap menjadi 100%.

Hasil maserat kemudian dievaporasi menggunakan *vacuum rotary evaporator* tujuannya untuk memekatkan ekstrak dan memisahkan senyawa aktif dalam ekstrak dengan pelarutnya. *Vacuum rotary evaporator* diatur pada suhu 40°C dengan kecepatan 30 – 35 rpm. Proses vakum akan mempercepat pemisahan dengan cara mengurangi tekanan permukaan sehingga menurunkan titik didih pelarutnya. Vakum dilakukan untuk mengurangi kemungkinan terurainya senyawa aktif apabila terpapar suhu yang tinggi (Helmi *et al.*, 2006). Selain itu, ditambah dengan pengaturan suhu pada *waterbath* sampai dengan 40°C untuk membantu mempercepat proses pemisahan. Hasil rotav kemudian ditampung dalam cawan porselen. Ekstrak kemudian dimasukkan kedalam oven dengan suhu 40°C untuk mengurangi kadar air yang mungkin masih ada. Suhu oven dipertahankan stabil pada kisaran angka 40°C agar senyawa aktif yang tidak tahan terhadap panas tidak terdegradasi. Ekstrak dikeluarkan dari dalam oven setelah 5 hari dan didapatkan hasil ekstrak kental berwarna coklat. Selanjutnya, dilakukan uji fitokimia sesuai prosedur penelitian yang ada.

Hasil uji *screening* fitokimia menunjukkan bahwa di dalam ekstrak daun juwet (*Syzygium cumini* Linn.) positif mengandung fenol, flavonoid, tanin, alkaloid dan saponin. Uji fenol dilakukan dengan menggunakan tes Ferri Klorida atau  $FeCl_3$ , ekstrak daun juwet positif mengandung fenol karena warna ekstrak yang awalnya coklat berubah menjadi warna biru pekat ketika ditetesi dengan reagen  $FeCl_3$ . Uji flavonoid menggunakan metode Wilstater, hasil uji positif karena menunjukkan perubahan warna ekstrak menjadi kemerahan setelah dipanaskan. Uji tanin menggunakan tes  $FeCl_3$ , positif karena terbentuk endapan berwarna biru kehitaman. Uji alkaloid menggunakan reagen Mayer, hasilnya juga positif karena terbentuk endapan berwarna putih. Namun, pada uji alkaloid ini endapan putih yang terbentuk hanya sedikit sehingga dilakukan uji

Wagner untuk memastikan adanya senyawa alkaloid di dalam ekstrak juwet. Prosedur uji Wagner (Tiwari *et al.*, 2011) yakni 2 mL ekstrak ditambahkan dengan HCl lalu disaring menggunakan kertas saring dan hasil filtratnya ditambahkan dengan beberapa tetes reagen Wagner. Hasilnya juga positif mengandung alkaloid karena terbentuk endapan berwarna coklat. Hal ini cukup membuktikan bahwa ekstrak daun juwet mengandung senyawa alkaloid. Hasil uji saponin pada ekstrak daun juwet juga positif yakni terbentuknya busa atau gelembung buih yang tidak segera hilang tetapi karena pada uji awal buih yang terbentuk hanya sedikit maka dilakukan uji saponin dengan metode Forth (Dewi *et al.*, 2005) yakni dengan menambahkan 10 mL aquades ke dalam 2 mL sampel ekstrak di dalam tabung reaksi kemudian dikocok kuat selama 30 detik. Positif mengandung saponin karena terbentuk buih stabil yang sangat banyak.

Beberapa macam konsentrasi yang diujikan pada penelitian ini antara lain 0% sebagai kontrol tanpa ekstrak, 0,2%  $V/V$ ; 0,3%  $V/V$ ; 0,4%  $V/V$  dan 0,5%  $V/V$ . Variasi konsentrasi ini diperoleh dari hasil eksplorasi dosis ekstrak daun juwet mana yang diduga mulai efektif menunjukkan adanya hambatan terhadap pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* kemudian dari konsentrasi tersebut dijadikan patokan untuk mencari rentang konsentrasi yang diujikan. Hasilnya diamati dan dianalisis menggunakan uji statistik yang telah ditentukan.

Sampel bakteri uji *Shigella dysenteriae* yang telah diidentifikasi sebelumnya kemudian distandarisasi dengan spektrofotometri untuk mengetahui jumlah sel bakteri yang akan digunakan dalam penelitian. Standarisasi dengan spektrofotometer dilakukan pada panjang gelombang 625nm. Pengamatan pada metode dilusi agar ini dilakukan secara visual (langsung) maka ada kemungkinan akan memberikan nilai subyektif yang tinggi sehingga hasil standarisasi bakteri dapat menjadi kurang obyektif.

Proses penentuan nilai KHM pada metode dilusi agar, nilai yang diamati adalah pertumbuhan bakteri yang diinokulasikan pada permukaan media NAP dalam bentuk tetesan sebanyak 10 $\mu$ L yang berasal dari konsentrasi 10<sup>6</sup> CFU/mL dan dibiarkan meresap masuk ke media sehingga konsentrasi yang ada di dalam media NAP adalah 10<sup>4</sup> CFU/mililiter (Forbes *et al.*, 2007). Pengamatan hasil penelitian didapatkan bahwa Kadar Hambat Minimum (KHM)nya adalah 0,5%. Pada konsentrasi 0,5% ini, ekstrak daun juwet dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* secara bermakna.

Analisis yang dilakukan pada penelitian ini adalah uji statistik *Kruskall-Wallis*, dilanjutkan dengan uji *Post-hoc Mann Whitney* dan uji korelasi *Spearman*. Hasil uji *Kruskall-Wallis* menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,001 ( $p < 0,05$ ) sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* dengan perlakuan beberapa konsentrasi ekstrak daun juwet. Uji *Post-hoc Mann Whitney* menghasilkan perbedaan yang signifikan antar perlakuan pemberian ekstrak daun juwet terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*, tetapi dari semua variasi uji yang dilakukan hanya pada konsentrasi ekstrak sebesar 0,3% yang tidak berbeda signifikan jika dibandingkan dengan konsentrasi 0,4%. Perbedaan nilai yang tidak signifikan ini dapat dimungkinkan karena pada konsentrasi tersebut telah memberikan efek penghambatan pertumbuhan bakteri yang hampir sama. Disamping itu, kemungkinan dapat terjadi karena proses pengerjaan bakteri yang kurang teliti. Hasil interpretasi uji korelasi *Spearman* menunjukkan bahwa makin meningkatnya konsentrasi ekstrak daun juwet (*Syzygium cumini* Linn.) yang diberikan maka akan menurunkan pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae*.

Dari hasil uji *screening* uji fitokimia yang telah disebutkan sebelumnya, senyawa aktif yang terkandung di dalam ekstrak daun juwet kemungkinan mempunyai mekanisme antibakteri adalah fenol, flavonoid, tanin dan saponin. Mekanisme senyawa fenol yakni melisiskan dinding sel dan menghambat sintesis protein dari bakteri. Seperti yang telah dicantumkan pada literatur, tanaman juwet memang kaya akan senyawa polifenol. Senyawa flavonoid dan tanin yang juga termasuk dalam senyawa golongan fenolik mekanismenya yaitu dapat berikatan dan membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler, protein terlarut, serta dinding sel bakteri (Shihabudeen *et al.*, 2010).

Komponen senyawa aktif pada tanaman, umumnya terakumulasi sebagai metabolit sekunder yang konsentrasinya bisa sangat bervariasi tergantung bagian tanaman yang diambil, kondisi iklim dan geografis maupun dari segi jenis spesies tiap tanaman. Kemungkinan teridentifikasinya saponin dalam jumlah yang cukup besar dengan metode Forth juga dapat dipengaruhi oleh faktor-faktor tersebut. Hasil penelitian ini menambahkan informasi baru mengenai ekstrak etanol daun juwet (*Syzygium cumini* Linn.) yang ternyata juga memiliki senyawa saponin. Senyawa saponin diketahui dapat larut dalam air maupun alkohol dan mempunyai karakteristik sebagai surfaktan serta *emulsifier*. Mekanisme antibakteri saponin ialah karena kemampuannya mengakibatkan keluarnya protein dan beberapa enzim dari dalam sel bakteri melalui kerusakan permeabilitas membran dan sitoplasma sehingga menyebabkan kematian sel bakteri (Shihabudeen *et al.*, 2010).

Mekanisme keempat senyawa yang terdapat di dalam ekstrak daun juwet ini secara keseluruhan hampir sama sehingga menghasilkan aktivitas penghambatan bakteri secara *in vitro* yang baik. Hasil penelitian dapat bervariasi karena waktu, tempat

dan peneliti yang berbeda akan menghasilkan *output* yang berbeda pula. Kemungkinan hal ini juga bergantung pada jenis perlakuan, bahan yang digunakan, metode yang dipakai atau hal-hal yang dapat mempengaruhi lainnya. Potensi aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol daun juwet ini masih perlu diteliti dan dikembangkan lebih lanjut dari segi klinis untuk menunjang informasi mengenai pemanfaatan tanaman juwet sebagai sumber alternatif antibiotik baru.

