

BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk membuktikan efek antimikroba dari ekstrak etanol biji alpukat terhadap pertumbuhan koloni isolat bakteri *S.aureus* dari berbagai daerah di Indonesia yang ditunjukkan dengan dapat dibentuknya Kadar Hambat Minimal (KHM) terhadap bakteri *S. aureus*.

Bakteri *S. aureus* dalam penelitian ini menggunakan stock kultur berasal dari isolat pus penderita berbagai daerah di Indonesia yang dimiliki oleh Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Dengan demikian terdapat perbedaan karakter dari masing-masing daerah sehingga diharapkan dapat mewakili karakter pasien yang berbeda pada masing-masing daerah yang dapat mempengaruhi virulensi bakteri. Isolat dari berbagai daerah juga sebagai pengganti jumlah pengulangan dalam penelitian ini. Isolat pus digunakan karena *S.aureus* termasuk dalam 5 besar bakteri yang ditemukan dalam pus (Wirahjasa *et al.*, 2012).

Sebelum digunakan untuk penelitian, bakteri *S. aureus* dari berbagai daerah ini diidentifikasi terlebih dahulu menghasilkan bakteri Gram positif pada pengecatan Gram, uji katalase (+), uji koagulasi (+) dan warna kuning di sekitar koloni bakteri pada penanaman pada media Manitol Salt Agar.

Biji alpukat (*Persea americana Mill*) digunakan sebagai penelitian dengan alasan kemudahan dalam mendapatkannya karena biji alpukat tidak banyak dimanfaatkan dan hanya dijadikan limbah. Kemampuan biji alpukat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* disebabkan oleh adanya bahan-bahan aktif yang memiliki daya antimikroba, yaitu *saponin*, *tanin*,

flavonoid, alkaloid dan triterpenoid (Idris *et al*, 2009; Marlinda, 2012;). Interaksi antar substansi yang didapatkan melalui ekstraksi dapat bersifat sinergis, addisi, maupun kontradiktif. Sinergis berarti terdapat kooperasi atau kerjasama antar dua substansi atau lebih. Addisi berarti terjadi peningkatan efek jika terdapat dua substansi atau lebih. Sedangkan interaksi yang kontradiktif, menunjukkan aktivitas yang saling berlawanan antara dua substansi atau lebih (Naim, 2005).

Pada dasarnya antibiotika bekerja dengan cara mempengaruhi sintesis protein, sintesis DNA, sintesis dinding sel, menghambat enzim, mempengaruhi permeabilitas membran, dan memodifikasi membran. Setiap substansi yang didapatkan melalui ekstraksi biji alpukat memiliki mekanisme antimikroba tersendiri. Tetapi, beberapa substansi juga memiliki aktivitas yang sama seperti *flavonoid, saponin, dan tanin*. Semua gugus tersebut memiliki gugus lipofilik yang dapat merusak integritas membran plasma. Mungkin terdapat sinergisme dalam aktivitas merusak membran plasma (Hopkins, 1999)

Agar dapat memperoleh zat aktif yang terkandung dalam biji alpukat dengan maksimal maka proses ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70% . Metode maserasi digunakan karena mudah dan dapat menggunakan alat-alat sederhana walaupun membutuhkan waktu yang lebih lama dari proses ekstraksi yang lainnya. Etanol 70% digunakan sebagai pelarut karena zat aktif yang terkandung dalam biji alpukat sebagian terlarut etanol dan sebagian terlarut air. Walaupun etanol digunakan sebagai pelarut, efek antimikroba biji alpukat terhadap bakteri *S. aureus* diperkirakan bukan karena etanol karena pada proses ekstraksi telah mengalami proses evaporasi (penguapan) pelarut agar didapatkan ekstrak murni zat-zat aktif yang terkandung dalam biji alpukat. Untuk dapat menguapkan etanol 70%, maka diperlukan suhu

yang lebih tinggi dari titik didih etanol 70%. Dari literatur didapatkan titik didih etanol 70% senilai dengan titik didih etanol yaitu 78°C sehingga diharapkan seluruh pelarut etanol telah menguap. Setelah evaporasi didapatkan hasil ekstrak biji alpukat berupa larutan pekat berwarna coklat gelap dan keruh serta ada sedikit endapan di bagian bawah larutan. Untuk mendapatkan larutan yang homogen, sebelum ekstrak digunakan untuk pengujian, dilakukan proses sentrifuse terhadap ekstrak.

Pada penelitian ini dilakukan standarisasi jumlah sel bakteri yang akan diujikan (konsentrasi 10^6 CFU/ml) dengan menggunakan spektrofotometri dengan panjang gelombang 625 nm, karena dengan pengamatan visual saja akan memiliki nilai subjektifitas yang tinggi sehingga ada kemungkinan hasil standarisasi bakteri menjadi kurang objektif.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah *agar dilution test* (dilusi agar) untuk mengetahui KHM karena pada penelitian eksplorasi KHM tidak dapat ditentukan dengan metode *tube dilution test*. Penentuan KHM dilakukan dengan membandingkan pertumbuhan koloni bakteri *S.aureus* yang diinokulasikan pada medium dilusi agar pada temperatur 37°C selama 18-24 jam.

Dari penelitian eksplorasi Kadar Hambat Minimal (KHM) dari ekstrak etanol biji alpukat terhadap bakteri *S. aureus* tidak dapat ditentukan menggunakan *tube dilution test*. Hal ini dikarenakan bahan ekstrak etanol biji alpukat berwarna keruh seiring bertambahnya konsentrasi dan terdapat gumpalan atau endapan setelah diinkubasi walaupun telah dilakukan proses sentrifuse terhadap hasil ekstrak untuk mendapatkan ekstrak yang homogen. Bahan ekstrak yang menggumpal dalam *tube dilution test* menyebabkan bakteri

S.aureus bersembunyi dibalik gumpalan ekstrak dan zat aktif dalam ekstrak tidak menyebar secara merata.

Metode dilusi agar dipilih karena dengan metode ini dapat menunjukkan hasil kuantitatif berupa Kadar Hambat Minimal (KHM). Selain itu dapat menunjukkan adanya resistensi galur bakteri. Dengan metode dilusi agar, proses penentuan KHM yang diamati adalah derajat pertumbuhan koloni bakteri yang telah diinokulasikan pada permukaan agar yang telah dicampur ekstrak dalam bentuk tetesan (10^4 bakteri/10 μ l). Dari pengamatan hasil penelitian, didapatkan ekstrak etanol biji alpukat menghambat pertumbuhan *S. aureus* secara bermakna dengan KHM 0,5%. Tidak ditemukan perbedaan KHM dari beberapa isolat yang digunakan. Namun hal tersebut dapat terjadi karena perbedaan virulensi bakteri yang dipengaruhi lingkungan hidup bakteri.

Dengan melihat fakta bahwa pada penelitian ini dapat ditentukan Kadar Hambat Minimal (KHM) ekstrak etanol biji alpukat terhadap bakteri *S.aureus*, dan diperkuat dengan adanya data bahwa biji alpukat mengandung bahan aktif yang memiliki efek antimikroba serta analisis data yang memiliki kemaknaan tinggi, maka hal ini membuktikan bahwa hipotesa yang telah disusun adalah benar.

Bila dibandingkan dengan bahan aktif yang berasal dari bahan tumbuhan lain pada sebuah penelitian tentang efek antimikroba yang dilakukan oleh Hayuningrum (2011) terhadap bakteri *S. aureus* dengan menggunakan ekstrak kopi (*Coffea arabica*) dengan metode dilusi agar menunjukkan Kadar Hambat Minimum (KHM) berada pada konsentrasi 10%. Penelitian lain yang dilakukan oleh Mundhisari (2011) terhadap *S. aureus* dengan menggunakan ekstrak rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria*) dengan metode dilusi agar menunjukkan

Kadar Hambat Minimum (KHM) berada pada konsentrasi 1,25%. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji alpukat dapat menghambat pertumbuhan *S. aureus* dengan konsentrasi yang lebih kecil dibandingkan dengan ekstrak kopi (*Coffea arabica*) dan ekstrak rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria*).

Penelitian ini memiliki kelebihan yaitu penelitian ini memiliki validitas internal yang tinggi ditandai dengan hubungan sebab akibat yang kuat berdasarkan analisis dengan uji Kruskal Wallis. Namun penelitian ini juga memiliki kekurangan yaitu belum diketahui jumlah secara pasti bahan aktif yang dihasilkan dari proses ekstraksi serta interaksi antar zat aktif, bersifat sinergis, additif atau kontradiktif.

Aplikasi klinis ekstrak etanol biji alpukat sebagai antimikroba masih memerlukan penelitian lebih lanjut berupa penelitian *in vivo*. Hal ini dikarenakan belum adanya penelitian medis mengenai farmakodinamik, farmakokinetik, dosis efektif, toksisitas, dan efek samping yang ditimbulkan ekstrak etanol biji alpukat. Penelitian ini diharapkan dapat menangani kasus akibat infeksi bakteri *S. aureus* dengan pengobatan alternatif yang efektif, murah, aman, dan mudah didapat oleh masyarakat.