

## BAB 6

## PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek antimikroba dari tanaman *rosemary* terhadap pertumbuhan bakteri MRSA. Bakteri yang digunakan merupakan kultur isolat bakteri MRSA Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Isolat bakteri diperoleh dari pasien infeksi kulit, yang telah di-*screening* menggunakan metode kultur pada media *Oxacilin Resistance Screening Agar Base* (ORSAB) yang merupakan media selektif terhadap pertumbuhan bakteri MRSA. Bakteri ini telah diidentifikasi ulang sebelum digunakan dalam penelitian. Bagian tanaman yang digunakan dalam penelitian ialah daun sebab bagian tanaman ini mudah diperoleh di swalayan dan juga sudah sering digunakan oleh masyarakat.

Daun *rosemary* kering diekstraksi menggunakan pelarut etanol dengan metode *soxhlet*. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, pelarut etanol 96% digunakan untuk melarutkan bahan aktif yang didapat pada daun *rosemary*. Penelitian yang dilakukan oleh Hayati pada tahun 2010 menunjukkan bahwa ekstrak etanol dari buah belimbing wuluh, menunjukkan uji positif pada pengujian flavonoid, tanin dan terpenoid (Latifah, 2008). Hal tersebut membuktikan bahwa etanol memiliki kemampuan menarik senyawa fenolik seperti flavonoid, dan tanin. Etanol memiliki kemampuan melarutkan bahan aktif yang bersifat polar, semipolar maupun nonpolar. Selain itu, pelarut etanol diketahui lebih aman (tidak bersifat toksik) jika dibandingkan dengan pelarut metanol (Paryanto, 2006).

Dari hasil ekstraksi diperoleh campuran zat padat dan cair yang berwarna coklat gelap. Untuk menentukan bahwa ekstrak merupakan ekstrak yang steril maka pada penelitian pendahuluan dilakukan uji terhadap bahan ekstrak. Hasil uji tersebut menunjukkan ekstrak tersebut steril. Proses ekstraksi daun *rosemary* kering yang digunakan merupakan proses ekstraksi standard untuk berbagai tanaman pada umumnya, sehingga ekstrak yang diperoleh merupakan ekstrak mentah (*crude extract*). Berdasarkan penelitian sebelumnya, untuk memperoleh ekstrak murni dari ekstrak mentah maka diperlukan metode fraksinasi (Abdel-Massih *et al.*, 2010). Namun dalam penelitian pendahuluan didapatkan bahwa ekstrak mentah tersebut masih mampu menghambat pertumbuhan bakteri MRSA. Agar memperoleh proporsi ekstraksi yang sama pada tiap perlakuan, maka digunakan metode *serial dilution* dengan dilakukan *mixing* ekstrak heterogen sebelum dicampur dengan bakteri. Dalam penelitian ini, konsentrasi ekstrak etanol daun *rosemary* yang digunakan ialah 1%, 0.5%, 0.25%, 0.125%, 0.0625%, dan 0.03125%. Konsentrasi ekstrak ini diperoleh setelah dilakukan beberapa kali penelitian pendahuluan.

Pada penelitian pendahuluan pertama digunakan rentang dosis ekstrak 100%, 50%, 25%, 12.5%, 6.25%, dan 3.125%. Berdasarkan uji dilusi tabung diperoleh semua tabung jernih, dan setelah dilakukan penanaman pada medium NAP didapat pertumbuhan bakteri selain MRSA pada konsentrasi 6.25% dan 3.125%. Bakteri MRSA yang tumbuh pada medium NAP akan memberikan warna kuning keemasan, sedangkan pada konsentrasi ekstrak 6.25% dan 3.125% didapatkan koloni yang tidak berwarna keemasan. Untuk menghilangkan dugaan kontaminasi bahan ekstrak maka dilakukan *streaking* bahan ekstrak

pada medium NAP. Hasil *streaking* menunjukkan bahwa bahan tidak terkontaminasi, maka diduga medium NAP mengalami kontaminasi lokal.

Berdasarkan penelitian pendahuluan pertama dimana tidak didapatkan pertumbuhan koloni MRSA hingga konsentrasi ekstrak 3.125% maka dilakukan penurunan rentang dosis ekstrak menjadi 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, dan 1%. Hasil uji dilusi tabung pada penelitian pendahuluan kedua ini tidak tampak adanya kekeruhan, dan tidak didapat pertumbuhan koloni pada hasil *streaking*. Diduga nilai KHM dan KBM berada di bawah konsentrasi ekstrak 1% sehingga pada penelitian pendahuluan ketiga digunakan konsentrasi ekstrak 1.2%, 1%, 0.8%, 0.6%, 0.4%, dan 0.2%.

Pada penelitian pendahuluan ketiga, semua tabung hasil uji dilusi tabung tampak jernih namun terdapat sedikit endapan dan hasil *streaking* menunjukkan hasil yang tidak konsisten di mana tidak didapat pertumbuhan pada konsentrasi ekstrak 0.2%, 0.6% dan 1.2%. Maka dilakukan *streaking* ulang yang menghasilkan pertumbuhan koloni pada konsentrasi ekstrak 0.2% dan 0.6%.

Pada penelitian pendahuluan keempat dilakukan pergeseran rentang dosis ekstrak menjadi 1.4%, 1.2%, 1%, 0.8%, 0.6%, dan 0.4%. Dari hasil penelitian pendahuluan keempat tidak didapat kekeruhan pada uji dilusi tabung, sedangkan pada *streaking* tidak didapat pertumbuhan bakteri. Hal ini tidak sesuai dengan hasil penelitian pendahuluan sebelumnya. Diduga karena ekstrak yang digunakan merupakan campuran zat cair dan padat, proporsi ekstrak yang diberikan pada tiap tabung tidak sama. Oleh karena itu dilakukan penelitian lanjutan menggunakan metode *serial dilution* dengan konsentrasi ekstrak 1%, 0.5%, 0.25%, 0.125%, 0.0625%, dan 0.03125%. Pada penelitian ini, tingkat

kekeruhan dan perbedaan jumlah koloni yang tumbuh dapat diamati secara jelas sehingga dilakukan pengulangan perlakuan menggunakan dosis ini.

Hasil dari uji penentuan KHM dan KBM pada penelitian ini mendukung hasil penelitian sebelumnya yang menyebutkan bahwa *rosemary* memiliki banyak komponen aktif yang sering digunakan dalam pengobatan tradisional untuk efek antimikroba yang dimiliki tanaman ini. Dalam penelitian ini, ekstrak etanol daun *rosemary* memberikan efek antimikroba yang sangat poten terhadap bakteri MRSA. Rendahnya nilai KHM dan KBM terhadap bakteri MRSA dalam penelitian ini diduga disebabkan oleh senyawa *flavonoids*, *carosic acid* dan *carosol* sebagai senyawa antioksidan; *rosmarinic acid* sebagai katalisator ikatan komponen-komponen aktif daun *rosemary*, seperti 1,8-*cineole*, *borneole*, *champor*, dan *pinene*, terhadap dinding sel dan membran plasma bakteri.

Penelitian yang telah dipublikasikan sebelumnya menunjukkan bahwa *S. aureus* merupakan bakteri yang paling sensitif terhadap ekstrak *rosemary*, sedangkan mikroorganisme yang paling tidak peka adalah *A. niger*.  $\alpha$ -*pinene*, 1,8-*cineole*, *champor*, *verbenone* dan *borneole* pada penelitian tersebut menunjukkan aktivitas antimikroba dan *borneole* merupakan senyawa yang paling aktif diikuti oleh *champor* dan *verbenon*. Bakteri Gram positif diketahui lebih peka terhadap minyak esensial jika dibandingkan dengan bakteri Gram negatif (Issabeagloo *et al.*, 2012).

Dalam beberapa penelitian disebutkan bahwa interaksi spesifik *flavonoid* terhadap bakteri belum diketahui secara jelas (Cushnie and Lamb, 2005; Jayshree, *et al.*, 2012). Namun efek *flavonoid* sebagai antioksidan telah terbukti dan diakui (El-Beltagi and Badawi, 2013). *Flavonoid* dan *carosic acid* bersama dengan *carosol* merupakan senyawa fenol antioksidan yang terdapat dalam

famili *Lamiceae*. Senyawa ini diduga mampu menyebabkan efek donasi proton yang mampu meningkatkan keasaman pada plasma membran dan sitosol dari bakteri sehingga menyebabkan adanya efek antimikroba. Terlebih, senyawa fenol ini mampu mengikat elektron bebas dari *electron transport chain* sepanjang membran bakteri. Hal ini menyebabkan gangguan aliran elektron pada tingkat sitokrom sehingga dapat mengganggu proton yang diperlukan untuk proses oksidasi fosforilasi. Proses oksidasi fosforilasi pada bakteri bertujuan untuk menghasilkan ATP, selain itu juga menghasilkan bahan sisa radikal bebas (Kwon *et al.*, 2007).

Gangguan pembentukan energi akibat senyawa antioksidan dan juga gangguan stabilisasi membran akibat penumpukan komponen aktif pada membran plasma mampu menyebabkan penurunan resistensi bakteri MRSA. Resistensi bakteri ini hanya akan terjadi apabila terdapat *cross-link* gen PBP 2 $\alpha$  pada dinding sel. Syarat terjadinya *cross-link* ini ialah apabila terdapat peningkatan konsentrasi *N-acetylmuramyl-pentapeptide* pada dinding sel baru. Jika terdapat inhibisi pada pembentukan dinding sel, terutama komponen peptidoglikan pada dinding sel, maka akan terjadi penurunan konsentrasi dari *N-acetylmuramyl-pentapeptide* pada dinding sel baru sehingga PBP 2 $\alpha$  yang memiliki afinitas yang rendah tidak akan dapat berpartisipasi dalam *cross-link* terhadap peptidoglikan sebab komponen PBP lain yang memiliki afinitas lebih tinggi dari PBP 2 $\alpha$  akan melakukan *cross-link*. Hal ini menyebabkan penurunan resistensi dari bakteri (Sato *et al.*, 2004).

Turunnya resistensi bakteri ini menyebabkan bakteri menjadi lebih peka terhadap terapi dan menyebabkan rendahnya nilai KHM dan KBM dari bakteri ini. Hal ini akan sangat menguntungkan apabila dapat diterapkan dalam pengobatan

infeksi MRSA. Vankomisin yang merupakan pilihan terapi utama dari infeksi MRSA saat ini bekerja dengan cara mengikat erat rantai D-Ala-D-Ala yang merupakan bagian dari *N-acetylmuramyl-pentapeptide* sehingga gen PBP 2a tidak dapat melakukan *cross-link* (Arnita, 2007; Sato *et al.*, 2004). Sehingga mekanisme kerja vankomisin dalam pengobatan MRSA ialah sebagai inhibitor kompetitif. Sedangkan pada pembahasan di atas, kandungan pada tanaman *rosemary* mampu mengganggu kestabilan dinding sel secara langsung yang menyebabkan terjadi penurunan konsentrasi dari *N-acetylmuramyl-pentapeptide* yang akan menurunkan partisipasi gen PBP 2a dalam *cross-linking*.

Berdasarkan pembahasan tersebut dengan didukung hasil penelitian sebelumnya, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun *rosemary* terbukti memiliki efek antimikroba terhadap MRSA. Namun sebelum dapat diterapkan dalam masyarakat, masih perlu dilakukan penelitian–penelitian lanjutan, baik penelitian mengenai efek daun *rosemary* terhadap pertumbuhan bakteri MRSA dengan menggunakan metode ekstraksi yang berbeda sehingga diharapkan ekstrak yang dihasilkan lebih murni, penelitian lebih lanjut mengenai efek sinergis dari tanaman *rosemary* terhadap berbagai macam antibiotik terutama dalam menurunkan resistensi bakteri MRSA, serta penelitian mengenai efek samping dan dosis yang aman dari penggunaan tanaman *rosemary* sebagai bahan medikasi mengingat tidak adanya penelitian yang menilai secara spesifik efek samping dan dosis yang aman dari penggunaan tanaman *rosemary* ini.