

## BAB 6

### PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek antimikroba ekstrak etanol rimpang kunyit (*Curcuma domestica*) terhadap bakteri *Salmonella Typhimurium* secara *in vitro* dengan metode dilusi agar. Pemilihan rimpang kunyit ini didasari karena tanaman ini banyak ditemukan di Indonesia dan harganya pun murah. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu rimpang kunyit yang diekstrak dengan etanol 96% dengan metode maserasi. Etanol 96% dipilih sebab bahan aktif yang diduga terdapat pada rimpang kunyit, yaitu golongan fenol, cenderung larut terhadap etanol dan etanol memiliki efek antimikroba yang rendah serta tidak toksik terhadap makhluk hidup. Sedangkan metode maserasi digunakan karena metode ini dianggap paling sederhana.

Bakteri *Salmonella Typhimurium* yang digunakan berasal dari stok Laboratorium Mikrobiologi Universitas Brawijaya Malang. Sebelum digunakan, bakteri tersebut telah diidentifikasi dengan berbagai tes, diantaranya : pewarnaan gram, penanaman pada medium BSA (*Bismuth Sulfite Agar*), medium *MacConkey*, tes TSI, IMViC dan Vitek. Pada pewarnaan Gram, didapatkan koloni berbentuk batang Gram negatif yang berwarna merah. Setelah ditanam pada medium BSA, koloni tampak memiliki warna hitam pekat (*black jet colony*). setelah ditanam pada medium *MacConkey* ditemukan bahwa bakteri tidak meragikan laktosa sehingga ditemukan koloni yang bersifat *colorless*. Identifikasi dilanjutkan dengan uji biokimia dengan metode TSI-IMViC-Urea. Pada uji ini digunakan uji TSI (*triple*

*sugar iron*), uji indole, uji *methyl red*, uji *Voges Proskauer*, uji sitrat dan uji urea. Bakteri *Salmonella* Typhimurium dengan mengikuti skema *Enterobacteriaceae* memberikan hasil positif pada pemeriksaan TSI, *methyl red* dan sitrat, dan memberikan hasil negatif pada pemeriksaan indole, *Voges Proskauer* dan urea. Sedangkan hasil uji Vitek menunjukkan hasil bahwa bakteri yang diperiksa adalah *Salmonella* spp. Hal ini terjadi karena alat Vitek yang digunakan merupakan alat diagnostik sehingga kemungkinan tidak sensitif untuk *Salmonella* Typhimurium yang jarang ditemukan sebagai patogen pada manusia.

Metode dilusi yang digunakan pada penelitian ini adalah metode dilusi agar untuk menentukan Kadar Hambat Minimum (KHM) karena KHM pada penelitian ini tidak dapat ditentukan dengan menggunakan dilusi tabung. Hal ini disebabkan karena ekstrak etanol rimpang kunyit berwarna gelap serta terdapat endapan sehingga mengganggu visualisasi dalam menentukan KHM. Sedangkan Kadar Bunuh Minimal (KBM) tidak dapat ditentukan dengan metode dilusi agar ini. Penentuan KHM dilakukan dengan membandingkan pertumbuhan bakteri *Salmonella* Typhimurium antara agar yang ditetesi bakteri *Salmonella* Typhimurium tanpa diberi ekstrak etanol rimpang kunyit (*Curcuma domestica*) dengan agar yang ditetesi bakteri *Salmonella* Typhimurium dan telah diberi ekstrak etanol rimpang kunyit (*Curcuma domestica*) dengan berbagai konsentrasi. Kemudian masing-masing agar akan diinokulasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam.

Pada penelitian ini digunakan 5 konsentrasi ekstrak etanol rimpang kunyit (*Curcuma domestica*) yang ditentukan berdasarkan hasil uji eksplorasi yang dilakukan sebelum penelitian. Eksplorasi tersebut dilakukan dengan menggunakan 2 konsentrasi ekstrak etanol rimpang kunyit (*Curcuma domestica*), yaitu 1% dan 5%. Dari uji eksplorasi didapatkan bahwa bakteri tumbuh sangat tebal pada konsentrasi 1% dan sangat tipis pada konsentrasi 5%. Sehingga pada saat penelitian, konsentrasi-konsentrasi yang dipilih sebagai konsentrasi perlakuan adalah

mulai dari 2%-6%, yaitu konsentrasi 2%, 3%, 4%, 5% dan 6% serta kelompok kontrol tanpa diberi ekstrak etanol rimpang kunyit (*Curcuma domestica*) atau konsentrasi 0%. Masing-masing akan dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali.

Kadar Hambat Minimum dapat ditentukan dari konsentrasi terendah yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri *Salmonella* Typhimurium, yaitu pada konsentrasi 6%. Pada konsentrasi 2% bakteri tumbuh agak tebal pada pengulangan 1 dan 3, serta tumbuh tipis pada pengulangan 2 dan 4; pada konsentrasi 3% bakteri tumbuh agak tebal pada pengulangan 4, tipis pada pengulangan 3, serta sangat tipis pada pengulangan 1 dan 2; pada konsentrasi 4% ditemukan bakteri tumbuh tipis pada pengulangan 2 dan 3, serta tumbuh sangat tipis pada pengulangan 1 dan 4; sedangkan pada konsentrasi 5% ditemukan bakteri tumbuh sangat tipis di setiap pengulangan.

Untuk menganalisis data dari penelitian ini, dilakukan uji nonparametrik dengan SPSS versi 20.0, yaitu uji Kruskal Wallis, Mann Whitney dan Korelasi Spearman. Dari uji statistik Kruskal Wallis didapatkan hasil bahwa pemberian ekstrak etanol rimpang kunyit (*Curcuma domestica*) menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella* Typhimurium ( $p=0,001$ ), dimana semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol rimpang kunyit (*Curcuma domestica*), maka akan cenderung menurunkan jumlah koloni bakteri *Salmonella* Typhimurium ( $p=0,000, r=-0,933$ ).

Faktor penyebab penurunan jumlah koloni *Salmonella* Typhimurium dalam penelitian ini diduga karena efek dari senyawa-senyawa kimia aktif yang berasal dari ekstrak etanol rimpang kunyit (*Curcuma domestica*). Hasil ekstrak etanol rimpang kunyit (*Curcuma domestica*) diteliti mengandung beberapa senyawa kimia aktif misalnya, kurkumin, minyak atsiri, flavonoid dan saponin. Senyawa-senyawa tersebut memiliki sifat antimikroba dengan mekanisme yang berbeda-beda.

Kurkumin merupakan senyawa polifenol yang memiliki potensi antimikroba melalui mekanisme penghambatan pembentukan protein bakteri. Protein bakteri memerlukan enzim tiolase yang berperan pada oksidasi dari gugus sulfhidril (-SH) yang membentuk struktur sekunder dari protein. Enzim tiolase dihambat kerjanya oleh kurkumin. Jika struktur sekunder dari bakteri tidak terbentuk, maka akan terjadi denaturasi dari protein dan hal ini menyebabkan kematian bakteri. Selain itu, gugus kimia polifenol bersifat lipofilik sehingga dapat merusak struktur membran sel bakteri (Sari, 2010).

Kurkumin dapat menghambat FtsZ, yaitu protein yang berperan dalam proses pembelahan sel terutama pada proses sitokinesis. Kurkumin akan berikatan dengan tubulin dan menghambat polimerisasi mikrotubulin serta meningkatkan aktivitas enzim GTPase pada FtsZ. Kurkumin meningkatkan laju hidrolisis GTP pada FtsZ, sehingga FtsZ menjadi tidak stabil dan akan dipecah lebih cepat (dalam 200 detik) (Cowan, 1999). Kurkumin dapat menginduksi ekspresi *vitamin D receptor* (VDR) pada sel, dimana reseptor ini meregulasi protein CAMP (*cathelicidin antimicrobial peptide*). Mekanisme eliminasi dari bakteri oleh *cathelicidin* berlangsung cepat, dan diduga terjadi melalui proses interkolasi dan penyusunan peptide dalam membran bakteri sehingga merubah integritas dinding bakteri (Guo, *et al.*)

Saponin diperkirakan memiliki efek antibakteria melalui ikatannya dengan lipid A pada lipopolisakarida (LPS) sehingga akan merusak permeabilitas membran sel bakteri dan akhirnya menyebabkan lisis pada sel. Saponin juga dapat menghambat proses inflamasi di dalam tubuh.

Flavonoid memiliki efek antibakteri melalui mekanisme penghambatan sintesis asam nukleat dan penghambatan fungsi membrane sitoplasm. Diperkirakan cincin B flavonoid berperan dalam proses interkalasi antara ikatan hydrogen dengan basa asam nukleat sehingga terjadi hambatan sintesis DNA/RNA bakteri.

Selain itu, flavonoid juga dapat menghambat DNA Gyrase, yaitu suatu enzim penting dalam sintesis DNA bakteri. Penghambatan fungsi membrane sitoplasma bakteri oleh flavonoid diperkirakan melalui mekanisme perusakan lapisan lipid bilayer bakteri yang memiliki fungsi pertahanan sehingga menyebabkan keluarnya komponen-komponen intraseluler bakteri (Chusnie dkk, 2005). Ditambah lagi, flavonoid mampu mengikat *adhesion factor* yang merupakan salah satu factor virulensi bakteri (Sari, 2010).

Minyak atsiri merupakan senyawa terpenoid, yang mekanisme antibakterinya diperkirakan melalui proses destruksi membrane sel bakteri (Cowan, 1999).

Beberapa penelitian telah dilakukan untuk membuktikan adanya efek antimikroba dari senyawa utama yang terdapat dalam rimpang kunyit, yaitu kurkumin. Penelitian tersebut adalah penelitian dari Shinta Setiono yang menyebutkan bahwa kurkumin memiliki efek antimikroba terhadap *Salmonella Typhimurium*. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode dilusi tabung, didapatkan hasil Kadar Hambat Minimum (KHM) pada konsentrasi 15  $\mu\text{g/ml}$  dan Kadar Bunuh Minimum pada konsentrasi 20  $\mu\text{g/ml}$  (Setiono, 2013). Penelitian uji coba bahn aktif kurkumin juga pernah dilakukan oleh Rahayu pada hewan coba mencit. Pada penelitian tersebut dilihat pengaruh pemberian kurkumin dan kotrimoksazol terhadap kadar sitokin proinflamasi IL-1 $\beta$  dan TNF- $\alpha$ , serta kadar sitokin antiinflamasi IL-10 pada mencit. Dari hasil penelitian tersebut diambil kesimpulan bahwa kurkumin memiliki efek antimikroba terhadap *Salmonella Typhimurium*, namun kurkumin juga menurunkan efek antimikroba dari kotrimoksazol sehingga pemberian kombinasi obat ini untuk demam tifoid perlu dipertimbangkan (Rahayu, 2013). Penelitian lain yang serupa dilakukan oleh Diane Sari. Penelitian ini bertujuan untuk melihat efek antimikroba dari ekstrak etanol rimpang kunyit (*Cucuma domestica*) terhadap pertumbuhan koloni bakteri *Shigella dysentriae*. Penelitian ini dilakukan secara *in vitro* dengan menggunakan dilusi tabung. Dida-

patkan hasil penelitian yang menunjukkan bahwa kandungan senyawa aktif yang terdapat dalam kunyit seperti kurkumin, minyak atsiri dan flavonoid terbukti memiliki efek antimikroba terhadap *Shigella dysenteriae*, dengan Kadar Hambat Minimum (KHM) pada konsentrasi 25% dan Kadar Bunuh Minimum pada konsentrasi 26% (Sari, 2010).

Dengan melihat fakta hasil penelitian yakni adanya penurunan jumlah koloni bakteri *Salmonella Typhimurium* seiring dengan peningkatan konsentrasi perlakuan yang diperkuat dengan data kandungan bahan aktif ekstrak etanol rimpang kunyit (*Curcuma domestica*) yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella Typhimurium*. Hal ini membuktikan bahwa hipotesis yang telah disusun adalah benar.

Keterbatasan penelitian ini antara lain: (1) jumlah pasti masing-masing kandungan bahan aktif yang dihasilkan dari proses ekstraksi masih belum diketahui secara pasti untuk dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella Typhimurium*, (2) umur rimpang kunyit yang digunakan tidak diketahui karena peneliti menggunakan rimpang kunyit dalam bentuk serbuk, (3) lamanya penyimpanan ekstrak; semakin lama disimpan, maka sensitifitas ekstrak biasanya akan menurun. Pada penelitian ini masih belum diketahui bagaimana pengaruh lama penyimpanan terhadap sensitifitas ekstrak. Begitu pula dengan perbedaan geografi antar negara dan juga antar daerah di dalam satu negara juga perlu diperhatikan.

Aplikasi klinis dari penelitian ini masih memerlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui dosis yang aman dan tepat ekstrak etanol rimpang kunyit (*Curcuma domestica*) agar dapat berfungsi sebagai antimikroba terhadap bakteri *Salmonella Typhimurium* sehingga dapat digunakan sebagai pengobatan alternatif penyakit gastroenteritis mapupun demam tifoid pada manusia yang dianalogikan sama dengan demam tifoid pada hewan coba karena infeksi *Salmonella Typhimurium*.