

BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek antibakteri ekstrak etanol daun kitolod (*Isotoma longiflora*) terhadap *S. aureus* secara *in vitro*. Metode yang digunakan adalah metode dilusi tabung dalam dua tahap perbenihan, yaitu tahap pertama *S. aureus* ditumbuhkan dalam media cair *Nutrient Broth* yang dicampur dengan ekstrak etanol daun kitolod dan diinkubasi selama 18-24 jam untuk diamati kekeruhannya untuk menentukan KHM. Tahap kedua adalah penggoresan (*streaking*) pada NAP kemudian diinkubasikan selama 18-24 jam untuk dihitung jumlah koloni dengan menggunakan *colony counter* untuk menentukan KBM. Kemudian hasilnya dianalisis dengan uji statistik.

Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah empat macam isolat bakteri *S. aureus* yang berasal dari swab tenggorok dan disediakan oleh Laboratorium Mikrobiologi FKUB. Bakteri diidentifikasi dengan pewarnaan Gram dan diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000x. Pada pengamatan didapatkan bakteri bentuk kokus berwarna ungu yang menunjukkan sifat Gram positif. Pada tes katalase, didapatkan hasil positif, yang berarti bahwa bakteri tersebut adalah *Staphylococcus*. Kemudian pada tes koagulase, didapatkan hasil positif yang menunjukkan bahwa bakteri tersebut merupakan *S. aureus*. Pada tes dengan menggunakan medium selektif yaitu *Mannitol Salt Agar*, didapatkan hasil yang positif yang menunjukkan bahwa bakteri tersebut adalah *S. aureus*.

Pada penelitian ini digunakan ekstrak etanol daun kitolod (*Isotoma longiflora*) yang bahannya didapatkan dari Balai Materia Medika, Batu, Malang. Untuk membuat ekstrak kitolod, daun kitolod segar yang telah dicuci bersih serta

dikeringkan, dan dihaluskan. Kemudian daun kitolod ditimbang dan direndam seluruhnya dengan larutan etanol 96% di dalam *beacker glass* dengan perbandingan 1:3, serta didiamkan pada suhu kamar selama minimal 2 x 24 jam dengan sesekali diaduk. Larutan kitolod kemudian mengalami proses penyaringan menggunakan kertas saring *whatman*. Filtrat dari penyaringan ini kemudian dievaporasikan dengan menggunakan *rotary-evaporator* pada temperatur 40°C, sehingga pada akhirnya didapatkan ekstrak etanol daun kitolod yang siap digunakan. Proses pembuatan ekstrak dilakukan di Laboratorium Kimia Politeknik Negeri Malang.

Penelitian eksplorasi dilakukan terlebih dahulu untuk menentukan konsentrasi perlakuan. Dari eksplorasi dapat diketahui konsentrasi yang tidak didapatkan pertumbuhan bakteri *S. aureus*, yaitu pada konsentrasi ekstrak 25% v/v. Dari angka ini dapat ditentukan konsentrasi yang tepat pada penelitian. Konsentrasi ekstrak yang digunakan dalam penelitian ini yaitu konsentrasi 20% v/v, 21% v/v, 22% v/v, 23% v/v, 24% v/v, dan 25% v/v. Rentang konsentrasi tersebut dimaksudkan untuk dapat menentukan KBM (Kadar Bunuh Minimal) yang lebih tepat.

Dari pengamatan pada dilusi tabung dapat ditentukan bahwa KBM ekstrak etanol daun kitolod terhadap *S. aureus* adalah pada konsentrasi 23% v/v. Selanjutnya dilakukan penggoresan pada NAP untuk mengamati pertumbuhan koloni *S. aureus*, sehingga KBM didapatkan pada konsentrasi 25% v/v. Hasil ini diduga disebabkan karena semakin besar konsentrasi ekstrak yang diberikan semakin besar pula konsentrasi bahan aktif yang berpengaruh terhadap pertumbuhan *S. aureus*, sehingga pertumbuhan *S. aureus* menjadi semakin sedikit.

Penelitian mengenai tanaman obat yang memiliki efek antimikroba terhadap *S. aureus* pernah dilakukan sebelumnya, yaitu daun kemangi (*Ocimum basilicum*) (Agustina, 2004), rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) (Titisurianggi, 2004) dan buah mengkudu (*Morinda citrifolia*) (Hidayatullah, 2004). Salah satu diantaranya, Efektivitas Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*) sebagai Antimikroba terhadap *S. aureus* secara *in vitro*. Pada penelitian tersebut didapatkan KHM pada konsentrasi 50% (Hidayatullah, 2004).

Dari penelitian tersebut mengindikasikan ekstrak etanol daun kitolod lebih efisien jika dibandingkan dengan ekstrak buah mengkudu dikarenakan dengan konsentrasi lebih rendah mampu membunuh bakteri *S. aureus*, yaitu dengan konsentrasi ekstrak daun kitolod sebesar 25% v/v.

Bahan aktif dalam daun kitolod yang didapatkan dari proses ekstraksi dan diduga berperan sebagai antibakteri adalah utamanya alkaloid, saponin, flavonoid, serta polifenol.

Saponin telah lama dikenal dapat melisis membran sel. Aktivitas ini dipercaya merupakan akibat dari afinitas *aglycone* terhadap sterol (terutama kolesterol) membran sel yang menghasilkan kompleks tidak larut air. Saponin juga terbukti mengubah fluiditas membran sehingga mengganggu aktivitas enzimatik membran sel dan transport ion yang melewati membran sel. Ketika berikatan dengan kolesterol, saponin mengakibatkan perubahan lingkungan lipid protein membran, termasuk kanal ion, transporter, dan reseptor (Rao dan Sung, 1995).

Flavonoid diketahui telah disintesis oleh tanaman dalam responsnya terhadap infeksi mikroba. Aktivitas tersebut kemungkinan disebabkan oleh kemampuannya untuk membentuk kompleks dengan dengan dinding sel.

Flavonoid yang bersifat lipofilik mungkin juga akan merusak membran mikroba (Melderer, 2002). Polifenol ini diketahui mempunyai aktivitas sebagai antibakteri. Hal ini dibuktikan oleh hasil penelitian Alberto *et al* (2006), yang menunjukkan polifenol dari kulit apel dapat menghambat bakteri pathogen pada manusia seperti *E. Coli* dan *S. aureus* (Kunaepah, 2008).

Alkaloid memiliki kemampuan sebagai antibakteri. Mekanisme yang diduga adalah dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Robinson, 1995).

Dari hasil analisis data dengan uji *one-way* ANOVA didapatkan signifikansi sebesar 0.000 ($p < 0,05$). Hal ini berarti terdapat perbedaan nyata antar konsentrasi ekstrak etanol daun kitolod terhadap rata-rata pertumbuhan koloni isolat *S. aureus*. Berdasarkan *Post Hoc test* (*Turkey's Test*) antar setiap perlakuan menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna jumlah koloni bakteri *S. aureus* yang dihasilkan pada medium NAP antar berbagai konsentrasi ekstrak etanol daun kitolod ($p < 0,05$), namun jumlah koloni bakteri *S. aureus* pada konsentrasi 23% v/v, 24% v/v dan 25% v/v tidak berbeda bermakna satu sama lain ($p > 0,05$).

Dari uji korelasi diketahui bahwa pemberian ekstrak etanol daun kitolod sebagai antibakteri terhadap jumlah koloni bakteri *S. aureus* yang dihasilkan pada medium NAP ($R = -0.983$, $p = 0.000$) mempunyai hubungan (korelasi) yang kuat dan signifikan ($p < 0.05$) dengan arah korelasi yang negatif, artinya peningkatan konsentrasi ekstrak etanol daun kitolod cenderung akan menurunkan jumlah koloni bakteri *S. aureus* yang dihasilkan pada medium NAP,

dibandingkan dengan jumlah koloni bakteri *S. aureus* pada konsentrasi yang lebih rendah maupun pada kelompok kontrol.

Berdasarkan hasil analisis regresi, pengaruh pemberian ekstrak etanol daun kitolod terhadap jumlah koloni bakteri *S. aureus* yang dihasilkan pada medium NAP sebesar 96,7%, sedangkan 3,3% keragaman jumlah koloni bakteri *S. aureus* yang dihasilkan pada medium NAP tersebut disebabkan oleh faktor-faktor lain, kemungkinan karena faktor resistensi dari bakteri terhadap ekstrak dan pengaruh lama penyimpanan ekstrak.

Berdasarkan hasil penelitian dan analisa data di atas, maka dapat ditarik beberapa kesimpulan, yang pertama bahwa ekstrak etanol daun kitolod memiliki efek antimikroba terhadap *S. aureus* secara *in vitro*, dimana semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka akan semakin sedikit jumlah koloni bakteri yang tumbuh. Kedua, keberhasilan penelitian pada empat macam isolat *S. aureus* menunjukkan bahwa penelitian dapat digeneralisasikan, dengan kata lain memiliki validitas eksternal yang tinggi.

Aplikasi klinis dari penelitian ini memang masih memerlukan penelitian lebih lanjut mengenai bahan aktif apa saja yang terkandung dalam daun kitolod yang dapat berpotensi sebagai antibakteri dan beberapa konsentrasi yang efektif sebagai antibakteri. Selain itu masih perlu dilakukan penelitian lebih lanjut secara *in vivo* untuk dapat digunakan secara sistemik, baik dilihat dari segi farmakokinetik maupun farmakodinamik dan untuk mengetahui aplikasi pemakaian baik secara topikal, oral maupun injeksi dari ekstrak etanol daun kitolod sebagai antimikroba bagi *S. aureus* agar dapat digunakan sebagai pengobatan alternatif oleh masyarakat luas.