

BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek ekstrak etanol tanaman parioto (*Medinilla speciosa L.*) sebagai antimikroba terhadap bakteri *Escherichia coli* secara *in vitro*. Selain untuk mengetahui hubungan antara ekstrak etanol tanaman parioto dengan pertumbuhan *Escherichia coli*, penelitian ini juga bertujuan untuk mengetahui Kadar Hambat Minimum (KHM) ekstrak etanol tanaman parioto (*Medinilla speciosa L.*) terhadap *Escherichia coli*.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah agar *dillution test* untuk mengetahui Kadar Hambat Minimal (KHM). Karena nilai KHM lebih penting dibandingkan nilai KBM. KHM dari sebuah antibiotika terhadap mikroba digunakan untuk mengetahui sensitivitas dari mikroba terhadap antibiotika. Nilai KHM berlawanan dengan sensitivitas mikroba yang diuji. Semakin rendah nilai KHM dari sebuah antibiotika, sensitivitas dari bakteri akan semakin besar. KHM dari sebuah antimikroba terhadap spesies mikroba adalah rata-rata KHM terhadap seluruh strain dari spesies tersebut. Strain dari beberapa spesies mikroba adalah sangat berbeda dalam hal sensitivitasnya (Jawetz et al, 1996)

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu tanaman parioto yang dipakai adalah bagian daun, batang dan buah yang dibeli di Balai Materia Medika di kota Batu. Karena pada bagian daun, batang dan buah tanaman parioto mengandung flavonoid, saponin, dan tanin (Zuhud, 2013). Tanaman parioto dalam

penelitian ini diekstrak dengan etanol 96% dengan metode maserasi. Etanol dipilih karena etanol relatif tidak merusak senyawa kimia aktif yang terdapat dalam tanaman parijoto (*Medinilla speciosa L.*). Sedangkan maserasi digunakan karena metode ini lebih mudah diaplikasikan masyarakat.

Ekstrak tanaman parijoto yang digunakan untuk penelitian ini diperoleh dari 200 gram serbuk kering tanaman parijoto yang diekstrak di Materia Medika Kota Batu dengan metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Didapatkan ekstrak tanaman parijoto sebanyak 100 ml. Bentuk ekstrak ini cair, kental, dan berwarna coklat gelap.

Isolat bakteri yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Sebelum digunakan untuk penelitian, *Escherichia coli* diidentifikasi terlebih dahulu dengan pewarnaan Gram, penanaman pada media Eosin-Methylen Blue (EMB), dan *Microbact System test*. Hasil identifikasi bakteri dari pewarnaan Gram, didapatkan gambaran bentuk basil Gram negatif, yang ditandai dengan bakteri berbentuk batang berwarna merah.

Sebelum melakukan penelitian ini, dilakukan penelitian pendahuluan terlebih dahulu untuk menentukan konsentrasi ekstrak yang akan digunakan dalam penelitian ini. Pada eksplorasi dosis pertama, digunakan konsentrasi ekstrak 0%, 5%, 10%, 15%, dan 20%. Dari uji eksplorasi didapatkan bahwa bakteri tumbuh tebal pada konsentrasi 0%, tipis pada konsentrasi 5% dan tidak tumbuh pada konsentrasi 10%. Oleh karena itu, pada eksplorasi dosis kedua digunakan konsentrasi yang berkisar di konsentrasi akhir 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, dan 9%. Dari eksplorasi dosis

kedua didapatkan hasil penghambatan pada semua konsentrasi, ditandai dengan tidak ada koloni bakteri yang tumbuh. Karena tidak ada koloni bakteri yang tumbuh pada setiap konsentrasi, pada eksplorasi dosis ketiga, rentang konsentrasi diturunkan menjadi 3%, 3,5%, 4%, 4,5%, dan 5%. Pada eksplorasi dosis ketiga, didapatkan hasil dengan perbedaan koloni yang lebih signifikan, yaitu koloni tumbuh agak tebal dan tidak terhitung pada konsentrasi 3%, koloni tumbuh agak tebal dan tidak terhitung pada konsentrasi 3,5%, tidak ada pertumbuhan pada konsentrasi 4%, tidak ada pertumbuhan pada konsentrasi 4,5%, dan tidak ada pertumbuhan pada konsentrasi 5%. Oleh karena hasil eksplorasi ketiga yang signifikan, maka ditentukan konsentrasi yang tepat pada penelitian ini yaitu 3%; 3,5%; 4%; 4,5% dan 5%. Dalam penelitian ini menggunakan 6 macam perlakuan (konsentrasi 0%, 3%; 3,5%; 4%; 4,5% dan 5%), sehingga jumlah sampel yang dibutuhkan adalah empat buah (Lukito, 1988).

Dalam menentukan KHM, nilai yang diamati adalah jumlah pertumbuhan koloni pada medium agar yang ditetesi bakteri 10^6 CFU/ml dan diinkubasi selama 18-24 jam. Nilai KHM dari ekstrak tanaman parijoto pada penelitian ini didefinisikan sebagai konsentrasi terendah dimana bakteri *Escherichia coli* tidak tumbuh (scoring 0) (Hendriksen, 2003). Dari hasil pengamatan didapatkan yaitu pada konsentrasi 4%. Pada konsentrasi 0% koloni bakteri tumbuh sangat tebal dan tidak terhitung. Pada konsentrasi 3% koloni bakteri tumbuh agak tebal dan tidak terhitung pada isolat 1, 3 dan 4. Dan pada isolat 2 koloni bakteri tumbuh tipis dan tidak terhitung. Pada konsentrasi 3,5% koloni bakteri tumbuh agak tebal dan tidak terhitung pada isolat 1 dan 2. Dan tumbuh tipis dan tidak terhitung pada isolat 3 dan 4. Pada konsentrasi

4% tidak ada pertumbuhan koloni bakteri pada keempat isolat. Pada konsentrasi 4,5% tidak ada pertumbuhan koloni bakteri pada keempat isolat. Dan pada konsentrasi 5% tidak ada pertumbuhan koloni bakteri pada keempat isolat.

Dari hasil penelitian ini dengan penelitian - penelitian yang lain dengan membandingkan bakteri *Escherichia coli*, pada penelitian yang dilakukan oleh Sari (2012) meneliti mengenai antimikroba daun salam (*Syzygium polyanthum*(Wight) Walp) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan menggunakan metode *disk diffusion* diperoleh zona hambat untuk bakteri *Escherichia coli* sebesar 9,7 mm pada konsentrasi 20%. Dinda (2005) mengenai efek antibakteria daun anting-anting (*Acalypha indica*) terhadap *Escherichia coli* didapatkan hasil KHM pada konsentrasi 30%.

Irmudita (2008) meneliti tentang antibakteri ekstrak bawang putih (*Allium sativum* Linn) terhadap *Escherichia coli* dengan metode dilusi tabung diperoleh KHM pada konsentrasi 50%. Kumala, dkk (2008) mengenai ekstrak daun cengkeh (*Eugenia aromatic* L.) sebagai antibakteri terhadap berbagai jenis bakteri, salah satunya *Escherichia coli* dengan menggunakan etanol 96%, diperoleh KHM pada konsentrasi 10%.

Perdana (2013) melakukan penelitian mengenai antimikroba daun *rosemary* (*Rosmarinus officinalis*) terhadap *Escherichia coli*, dengan metode *tube dilution*, didapatkan KHM pada konsentrasi 26%

Dari pemaparan beberapa penelitian tersebut mengindikasikan ekstrak tanaman pariijoto (*Medinilla speciosa* L.) lebih efisien jika dibandingkan dengan

ekstrak daun salam, daun anting-anting, bawang putih, daun cengkeh dan daun *rosemary* dikarenakan dengan konsentrasi lebih rendah mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, yaitu dengan konsentrasi ekstrak tanaman pari-joto sebesar 4%.

Data jumlah koloni yang diperoleh kemudian dianalisis dengan uji statistik menggunakan *software* SPSS 17,0. Uji statistik yang digunakan meliputi uji non-parametrik Kruskal Wallis, uji multi-komparasi Mann Whitney, dan uji korelasi non-parametrik Spearman. Semua analisis dihitung berdasarkan batas kepercayaan 95%, artinya kemungkinan kesalahan hasil penelitian berkisar 5%. Berdasarkan uji Kruskal Wallis didapatkan nilai signifikansi yaitu $p = 0,000$ ($p < 0,05$), menunjukkan bahwa perbedaan konsentrasi ekstrak mengakibatkan perbedaan jumlah koloni bakteri.

Uji multi-komparasi Mann Whitney dilakukan untuk melihat apakah terdapat perbedaan jumlah koloni bakteri antara dua macam konsentrasi yang berbeda. Hasilnya didapatkan *p-values* yang signifikan ($p < 0,05$) pada sebagian besar perbandingan antar masing-masing konsentrasi. Hal tersebut menunjukkan bahwa terdapat perbedaan jumlah koloni yang bermakna pada semua kelompok perlakuan jika dibandingkan antar kelompok perlakuan.

Uji korelasi non-parametrik Spearman dilakukan untuk melihat korelasi antara konsentrasi ekstrak dengan jumlah koloni bakteri. Hasil uji menunjukkan nilai signifikansi (*p-value*) 0,000, sehingga konsentrasi ekstrak memiliki korelasi dengan jumlah koloni bakteri ($0,000 < 0,050$). Selain menghasilkan nilai signifikansi korelasi

antara kedua variabel, uji korelasi non-parametrik Spearman juga menunjukkan *Spearman correlation coefficient* (r) yang menunjukkan kekuatan korelasi antara dua variabel. Korelasi lemah ditunjukkan jika $r < 0,500$, korelasi sedang jika $r = 0,500-0,599$, korelasi kuat jika $r = 0,600-0,799$, dan korelasi sangat kuat jika $r > 0,799$. Pada penelitian ini didapatkan hasil uji $r = - 0.919$, hal tersebut menunjukkan terdapat korelasi yang sangat kuat antara kedua variabel ($0.919 > 0.799$). Tanda negatif pada *Spearman correlation coefficient* penelitian ini menunjukkan korelasi di antara kedua variabel adalah berbanding terbalik, dimana semakin tinggi konsentrasi ekstrak, maka semakin rendah jumlah koloni bakteri.

Faktor penyebab penurunan jumlah koloni *Escherichia coli* dalam penelitian ini diduga karena efek dari senyawa-senyawa kimia aktif yang berasal dari ekstrak tanaman parijoto (*Medinilla speciosa L.*). Ekstrak tanaman parijoto mengandung beberapa senyawa aktif antara lain flavonoid, saponin dan tannin. Senyawa tersebut memiliki efek antimikroba dengan mekanisme yang berbeda-beda.

Flavonoid adalah polifenol yang hanya dapat disintesis dari tanaman. Senyawa flavonoid ini memiliki manfaat sebagai antioksidan sekaligus sebagai antimikroba. Senyawa flavonoid mempunyai kerja menghambat enzim topoisomerase II pada bakteri serta berikatan dengan protein bakteri. DNA gyrase termasuk salah satu dari enzim kelas topoisomerase II. DNA gyrase memilin untaian dari DNA, dengan menguraikan untaian DNA, sehingga asam nukleat tidak terbentuk. Flavonoid juga dapat bekerja dengan menurunkan fluiditas dari membran plasma, sehingga fungsinya menurun. Dalam menghambat sintesis DNA, flavonoid juga berlaku sebagai agen interkalasi dengan mengganggu ikatan hidrogen dengan

deretan basa yang ada di DNA. Selain itu flavonoid dapat membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler bakteri sehingga terjadi denaturasi protein (Robinson, 1991; Cowan, 1999; Melderer, 2002). Flavonoid dapat menghambat metabolisme energi bakteri dengan cara meninhibisi NADH sitokrom c pada proses transport elektron di mitokondria, sehingga energi sel tidak terbentuk. Akibat tidak terbentuknya energi maka seluruh aktivitas sel akan terganggu (Chusnie dan Lamb, 2005).

Saponin adalah senyawa yang bersifat larut air. Senyawa ini terdiri dari kombinasi antara hidrofilik triterpene dengan glukosa hidrofilik sehingga mempunyai kemampuan sebagai deterjen. Sifat ini dapat merusak membrane sel bakteri secara utuh (Tsuchiya et al, 1996). Saponin memiliki efek antimikroba melalui ikatannya dengan lipid A pada lipopolisakarida (LPS) sehingga akan merusak permeabilitas membran sel bakteri dan akhirnya menyebabkan lisis pada sel (Tsuchiya et al, 1996).

Tanin adalah salah satu senyawa kimiawi yang termasuk dalam golongan polifenol yang diduga dapat mengikat salah satu protein yang dimiliki oleh bakteri yaitu adhesin dan apabila hal ini terjadi maka dapat merusak ketersediaan reseptor pada permukaan sel bakteri. Tannin telah dibuktikan dapat membentuk kompleks senyawa yang irreversibel dengan prolin, suatu protein lengkap, yang mana ikatan ini mempunyai efek penghambatan sintesis protein untuk pembentukan dinding sel (Agnol *et.al.*,2003).

Berdasarkan fakta hasil penelitian ini yang didapatkan efek hambat pertumbuhan koloni *Escherichia coli* seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak tanaman parioto, maka dapat diketahui ekstrak tanaman parioto memiliki efek antimikroba terhadap bakteri *Escherichia coli*. Namun penelitian ini masih memerlukan uji lebih lanjut, baik itu tentang farmakokinetik, farmakodinamik, toksisitas, dan efek ekstrak ini pada hewan coba lain dan *clinical trial* pada manusia. Selain itu, lamanya penyimpanan ekstrak akan mempengaruhi sensitifitas ekstrak dan metode ekstraksi tanaman parioto yang digunakan akan mempengaruhi kandungan bahan aktif pada ekstrak tanaman parioto, sehingga masih perlu diteliti lebih lanjut mengenai metode dan bahan pelarut untuk mendapatkan ekstrak yang lebih murni dan mengandung bahan aktif dalam jumlah yang lebih tinggi. Begitu pula dengan perbedaan geografi antar negara dan juga antar daerah didalam suatu negara perlu diperhatikan. Oleh karena itu masih diperlukan penelitian yang lebih luas dari penelitian ini agar nantinya dapat diaplikasikan secara klinis pada manusia.

Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak tanaman parioto memiliki efek antimikroba terhadap *Escherichia coli*. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak tanaman parioto, maka semakin rendah tingkat pertumbuhan *Escherichia coli* yang ditandai dengan jumlah koloni yang semakin sedikit. Dengan demikian, hipotesis penelitian terbukti benar.