

## BAB VI

### PEMBAHASAN

Penelitian eksperimental ini bertujuan untuk mengetahui adanya pengaruh ekstrak daun alpukat (*Persea gratissima Gaertn*) terhadap *Streptococcus pyogenes* secara *in vitro*. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode dilusi tabung (*tube dilution test*). Metode ini dapat mengukur Kadar Hambat Minimum (KHM) yang diamati secara kualitatif dari tingkat kekeruhan tabung dilusi dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) yang dilihat dari pertumbuhan koloni bakteri pada *Brain Heart Infusion* (BHI) < 0,1 % *original inoculums*. (Dzen dkk, 2003) Penelitian ini juga dilakukan sehingga dapat diketahui hubungan konsentrasi ekstrak daun alpukat terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes*.

Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Tes identifikasi telah dilakukan terhadap bakteri ini yaitu dengan pewarnaan Gram, penanaman pada *Blood Agar Plate*, tes katalase dan tes cakram basitrasin. Pada pewarnaan Gram menunjukkan bakteri berbentuk bulat (*coccus*) dan berwarna ungu, hal ini menunjukkan bahwa bakteri tersebut merupakan bakteri Gram positif. Pada penanaman di *Blood Agar Plate*, koloni *Streptococcus pyogenes* membuat sebagian *plate* tampak bening karena memiliki sifat  $\beta$ -hemolitik. (Cunningham, 2000). Pada tes katalase tes katalase, didapatkan hasil tidak terdapat adanya gelembung udara saat perbenihan cair pada glass objek ditetesi dengan  $H_2O_2$  3% (negatif). (Marlina, 2008). Tes cakram basitrasin pada koloni ini menunjukkan

bahwa *Streptococcus pyogenes* membuat zona inhibisi di sekitar cakram di area *plate* yang tampak translusen. (Dzen dkk, 2003)

Ekstrak daun alpukat (*Persea gratissima Gaertn*) merupakan proses ekstraksi simplisia menggunakan pelarut etanol 96% dengan beberapa kali pengadukan pada suhu ruangan. Dengan metode ini, zat-zat aktif yang tahan terhadap pemanasan maupun yang tidak tahan pemanasan dapat ditarik hingga mendapatkan hasil berupa ekstrak kental. Pada penelitian ini digunakan konsentrasi 0.2%, 0.4%, 0.6%, 0.8%, 1% yang didapatkan dengan metode pengenceran seri. Daun alpukat (*Persea gratissima Gaertn*) didapatkan dari Dinas Kesehatan Propinsi Jawa Timur UPT Materia Medica Batu.

Ekstrak daun alpukat berwarna hijau kehitaman dan sebelum diinkubasikan, warna ekstrak tampak keruh. KHM (Kadar Hambat Minimum) ditentukan melalui uji dilusi tabung. (Rollins, 2000). Menentukan KHM, dilakukan pengamatan kualitatif untuk mengamati tingkat kekeruhan pada tabung berdasarkan garis hitam yang tampak di balik tabung. Pada konsentrasi ekstrak konsentrasi 0.6% tabung terlihat jernih tetapi bila diperhatikan semakin banyak jumlah ekstrak yang ditambahkan pada konsentrasi perlakuan, kekeruhan semakin tampak. Berdasarkan pengamatan dapat disimpulkan nilai KHM (Kadar Hambat Minimum) ekstrak daun alpukat (*Persea gratissima Gaertn*) terhadap pertumbuhan *Streptococcus pyogenes* tidak dapat diamati. karena satu kandungan daun alpukat yaitu alkaloid yang bersifat mengendapkan protein yang merupakan komponen dari media biakan cair itu sendiri. (Kusaldi, 2005), sehingga semakin banyak jumlah ekstrak daun alpukat yang ditambahkan pada konsentrasi perlakuan, kekeruhan semakin tampak. Cara lain dalam penentuan nilai KHM adalah dengan menggunakan metode dilusi agar dan difusi (Kusaldi,

2005), namun karena terbatasnya waktu dan biaya pada penelitian ini tidak dapat dilakukan metode tersebut.

Tiap konsentrasi ekstrak daun alpukat pada tabung yang sudah ada di-*streaking* penuh dalam BHIA (*Brain Heart Infusion Agar*) setelah tabung-tabung itu diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C dan diamati tingkat kekeruhannya untuk melihat KHM. Sebelum di-*streaking*, tabung dengan konsentrasi 0.2%, 0,4%, 0,6% dilakukan pengenceran dengan larutan NaCl sebanyak 100x dan pada konsentrasi 0.8% dilakukan pengenceran NaCl sebanyak 10x. Hal ini dilakukan karena apabila tidak diencerkan maka akan didapatkan pertumbuhan koloni bakteri yang tidak dapat dihitung (terlalu padat), sehingga pengenceran ini bertujuan untuk memudahkan penghitungan jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada BHI dengan konsentrasi ekstrak yang sebenarnya. BHI diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam dan setelah diinkubasi, dihitung pertumbuhan koloni pada masing-masing *plate*. KBM dari penelitian ini adalah pada konsentrasi 1%. Penentuan nilai KBM didasarkan pada jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada konsentrasi perlakuan < 0,1% dari jumlah pada *Original Inoculum* (OI) (Kartono, 2011)

Hasil perhitungan jumlah koloni bakteri ini dianalisis dengan SPSS versi 16 untuk *windows*, menggunakan uji statistik *One way ANOVA*, Uji korelasi dan Uji regresi. Berdasarkan hasil uji *One Way ANOVA*, menunjukkan angka signifikansi 0,000 ( $p < 0,05$ ). Hal ini berarti perubahan konsentrasi ekstrak daun alpukat terhadap jumlah koloni rata-rata isolat bakteri *Streptococcus pyogenes* adalah berbeda secara signifikan pada taraf kepercayaan 95%. Pada uji korelasi didapatkan nilai signifikan 0,000 dan koefisien korelasi -0,895 yang berarti pemberian ekstrak daun alpukat mempunyai hubungan (korelasi) yang signifikan

dengan jumlah koloni bakteri *Streptococcus pyogenes* dengan arah korelasi negative, artinya semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun alpukat cenderung akan menurunkan jumlah bakteri *Streptococcus pyogenes*. Berdasarkan uji regresi dapat diketahui seberapa besar pengaruh pemberian ekstrak daun alpukat terhadap jumlah koloni bakteri *Streptococcus pyogenes*. Hasil persamaan regresi liniernya adalah  $Y=174201,9-186306X$ , dimana Y adalah jumlah koloni bakteri *Streptococcus pyogenes*, sedangkan X adalah konsentrasi daun alpukat. Nilai koefisien determinasi ( $R^2$ ) yang didapatkan sebesar 80% mempunyai arti bahwa pemberian ekstrak daun alpukat dalam menurunkan jumlah koloni bakteri *Streptococcus pyogenes* sebesar 80%, sedangkan sisanya 20% disebabkan oleh faktor-faktor lain yang tidak diteliti.

Efek antibakteri daun alpukat terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes* diperkirakan diperankan zat-zat aktif yang larut dalam etanol, sebab metode ekstraksi dalam penelitian ini menggunakan pelarut etanol. Diperkirakan zat-zat yang larut dalam etanol adalah alkaloid, flavonoid dan polifenol. Alkaloid merupakan senyawa nitrogen heterosiklik, yang mengandung basa nitrogen. Mekanisme kerja dari alkaloid adalah dengan menghambat aktivitas enzim yang berperan pada proses pengarahannya nukleotida pada pita DNA tunggal induk sebagai cetakannya, sehingga pertumbuhan bakteri akan terhambat (Naim, 2005). Flavonoid menyebabkan gangguan permeabilitas membran sel atau perubahan fosfolipid sehingga terjadi kebocoran parsial isi sitoplasma (Murhadi, 2010). Polifenol mempunyai mekanisme antibakteri melalui penghambatan enzim mikroorganisme yaitu pada enzim thiclase (enzim sulfhidril) yang menyebabkan terjadinya denaturasi protein bakteri. Selain itu, polifenol merupakan senyawa lipofilik yang dapat merusak membran sel dari bakteri. (Cowan, 1999)

Melihat fakta hasil penelitian yakni adanya penurunan jumlah bakteri *Streptococcus pyogenes* seiring dengan peningkatan konsentrasi perlakuan yang diperkuat dengan adanya data bahwa daun alpukat mengandung bahan aktif yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes*, maka dapat dikatakan bahwa daun alpukat berkhasiat sebagai antibakteri terbukti mampu menurunkan jumlah koloni *Streptococcus pyogenes*. Hal ini membuktikan bahwa hipotesis yang telah disusun sebelumnya adalah benar.

Uji lanjutan mengenai farmakokinetik, farmakodinamik, toksisitas, efek samping juga uji secara *in vivo* dari ekstrak ini sendiri masih diperlukan. Selain itu, perbedaan geografi antar negara dan antar daerah dalam satu negara, perlu diperhitungkan. Hal lain yang harus diperhatikan lagi adalah metode ekstraksi yang lebih efektif masih perlu dicari. Akibat berbagai hal di atas, penelitian ini masih belum dapat diterapkan secara langsung dalam kasus-kasus infeksi yang disebabkan oleh *Streptococcus pyogenes*. Oleh karena itu masih diperlukan penelitian yang lebih luas dari penelitian ini agar nantinya dapat diaplikasikan secara klinis pada manusia.