

BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek ekstrak buah sawo mentah (*Manilkara zapota*) terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella* Typhi secara *in vitro* dengan menggunakan metode dilusi agar. Selain untuk mengetahui hubungan ekstrak buah sawo mentah terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella* Typhi, penelitian ini juga bertujuan untuk mengetahui Kadar Hambat Minimum (KHM) ekstrak buah sawo mentah terhadap pertumbuhan *Salmonella* Typhi. Metode yang digunakan adalah metode dilusi agar dimana metode tersebut hanya dapat menentukan Kadar Hambat Minimum (KHM) dan tidak dapat menentukan Kadar Bunuh Minimum (KBM).

Isolat bakteri yang digunakan adalah isolat *Salmonella* Typhi yang didapat dari darah penderita demam tifoid di Rumah Sakit Saiful Anwar Malang dan disimpan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Sebelum digunakan untuk penelitian, *Salmonella* Typhi diidentifikasi terlebih dahulu dengan pewarnaan Gram, penanaman pada media BSA dan *Triple Sugar Iron Agar Slant* (TSIA). Dari pewarnaan Gram didapatkan gambaran bakteri berbentuk basil dan berwarna merah yang menandakan bakteri tersebut merupakan bakteri Gram negatif. Penanaman BSA didapatkan koloni khas berwarna hitam (*black jet colony*) dan pada TSIA didapatkan garis hitam pada daerah tusukan dan tidak didapatkan adanya gas. Ketiga identifikasi tersebut menunjukkan bahwa bakteri yang akan digunakan merupakan bakteri *Salmonella* Typhi.

Buah sawo mentah telah dikenal masyarakat sebagai bahan obat tradisional untuk diare. Berdasarkan penelitian, buah sawo mentah mengandung tannin, saponin dan juga flavonoid serta kandungan lain seperti zat besi, vitamin C, natrium, kalium, magnesium dan fosfor (Singh, 2011). Ekstrak yang digunakan dalam penelitian ini didapatkan dengan cara ekstraksi metode *maserasi*. Pada 600 gram buah sawo mentah diiris tipis sampai terbentuk simplisia. Simplisia lalu dijemur dibawah sinar matahari sampai kering, setelah itu diblender sehingga didapatkan 100 gram serbuk buah sawo mentah yang siap diekstraksi. Ekstraksi dilakukan di Laboratorium Teknik Kimia Politeknik Negeri Malang. Ekstraksi menggunakan pelarut etanol 96%, karena etanol relatif tidak merusak senyawa kimia aktif yang terdapat dalam buah sawo mentah. Dari hasil ekstraksi diperoleh cairan kental yang berwarna cokelat gelap seperti kecap.

Eksplorasi awal pada penelitian ini menggunakan konsentrasi 17,5%; 15%; 12,5%; 10% dan 7,5% didapatkan hasil tidak adanya pertumbuhan bakteri pada kelima konsentrasi tersebut. Kemudian konsentrasi yang digunakan pada penelitian ini adalah 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1% dan 0% menggunakan 4 kali pengulangan dengan hasil tidak adanya pertumbuhan bakteri pada konsentrasi 5% dan 6%. Kadar Hambat Minimum (KHM) dapat ditentukan dengan cara melihat konsentrasi terendah dimana tidak didapatkan pertumbuhan bakteri yaitu pada konsentrasi 5%.

Penilaian hasil pertumbuhan bakteri menggunakan sistem skoring dimana +3 berarti bakteri tumbuh tebal dan tak terhitung. Pada penelitian ini +3 mewakili konsentrasi 0% pada keempat pengulangan. +2 berarti bakteri tumbuh tipis dan tak terhitung dan yang merupakan +2 adalah konsentrasi 1% pada keempat pengulangan, konsentrasi 2% pada pengulangan III dan IV serta

konsentrasi 3% pada pengulangan I. +1 berarti bakteri tumbuh sangat tipis dan tak terhitung seperti kabut. Pada penelitian ini yang termasuk +1 adalah konsentrasi 2% pada pengulangan I dan II, 3% pada pengulangan II, III dan IV, 4% pada keempat pengulangan yang dilakukan. 0 berarti tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri dan yang termasuk kriteria 0 adalah konsentrasi 5% dan 6% pada semua pengulangan.

Data yang diperoleh dari proses tersebut lalu dianalisa menggunakan 3 jenis uji statistik dengan menggunakan software SPSS 20.0 yaitu uji beda non-parametrik *Kruskal Wallis*, uji multikomparasi *Mann Whitney* dan uji korelasi non-parametrik *Spearman*. Semua analisis dihitung berdasarkan batas kepercayaan 95%, artinya kemungkinan kesalahan hasil penelitian berkisar 5%.. Pada Uji *Kruskal Wallis* menunjukkan nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$) sehingga dapat menunjukkan bahwa perbedaan konsentrasi ekstrak buah sawo mentah mengakibatkan perbedaan pertumbuhan bakteri *Salmonella Typhi*.

Uji statistik kedua yang dilakukan adalah Uji *Mann Whitney* untuk melihat apakah terdapat perbedaan pertumbuhan bakteri antara dua macam konsentrasi yang berbeda. Hasil Uji *Mann Whitney* menunjukkan terdapat 5 pasangan perlakuan yang tidak berbeda nyata (tidak signifikan) yaitu antara perlakuan konsentrasi 1% dengan 2%, konsentrasi 2% dengan 3%, konsentrasi 2% dengan 4%, konsentrasi 3% dengan 4% dan konsentrasi 5% dengan 6%. Pertumbuhan bakteri pada kelima pasang perlakuan tidak berbeda jauh (tidak signifikan) sehingga secara pengujian statistik masih dianggap sama. Hampir semua pasangan perlakuan berbeda nyata (signifikan) dengan $p < 0,05$ atau dengan kata hal tersebut menunjukkan bahwa terdapat perbedaan pertumbuhan bakteri yang bermakna pada antara perlakuan.

Uji Korelasi *Spearman* untuk mengetahui korelasi antara konsentrasi ekstrak dengan pertumbuhan bakteri. Hasil uji menunjukkan nilai signifikansi $p < 0,000 < p < 0,05$ sehingga konsentrasi ekstrak buah sawo mentah memiliki korelasi dengan pertumbuhan bakteri. Selain menghasilkan nilai signifikansi korelasi antara kedua variabel, uji korelasi *Spearman* juga menunjukkan *Spearman correlation coefficient* (r) yang menunjukkan kekuatan korelasi antara dua variabel. Menurut Sugiyono, korelasi sangat rendah apabila $r = 0,000 - 0,199$, korelasi rendah $r = 0,200 - 0,399$, korelasi sedang $r = 0,400 - 0,599$, korelasi kuat $r = 0,600 - 0,799$ dan korelasi sangat kuat adalah $0,800 - 1,00$. Pada penelitian ini didapatkan $r = -0,946$, hal tersebut menunjukkan bahwa terdapat korelasi yang sangat kuat antara kedua variabel ($0,800 - 1,00$). Tanda negatif menunjukkan korelasi diantara kedua variabel adalah berbanding terbalik yang berarti apabila ekstrak yang diberikan semakin tinggi maka pertumbuhan akan semakin menurun.

Dengan melihat hasil penelitian yaitu penurunan pertumbuhan bakteri *Salmonella Typhi* seiring dengan peningkatan konsentrasi dengan Uji *Kruskal Wallis*, dapat disimpulkan bahwa ekstrak buah sawo mentah mengandung bahan aktif yang mempunyai efek antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella Typhi* secara *in vitro*. Hal ini membuktikan bahwa hipotesis yang telah disusun sebelumnya terbukti.

Selain buah sawo mentah, menurut hasil metaanalisis oleh Madan Singh pada tahun 2012 menyatakan bahwa ekstrak biji sawo dapat digunakan sebagai antibakteri secara *in vitro* dengan menggunakan metode difusi cakram dan dilusi tabung dengan hasil ekstrak biji sawo memiliki efek antibakteri *broad spectrum* terhadap bakteri gram positif dan gram negatif.

Aplikasi klinis ekstrak buah sawo mentah sebagai antimikroba masih memerlukan penelitian lebih lanjut berupa penelitian *in vivo* pada hewan coba dan manusia. Penelitian *in vivo* pada hewan coba bertujuan untuk memperkirakan toksisitas, dosis efektif dan memperkecil risiko penelitian pada manusia. Pengujian pada manusia bertujuan untuk memastikan efektifitas, keamanan dan gambaran efek samping yang dapat timbul dari pemakaian pada manusia (Ganiswara, 1995).

Penelitian ini memiliki kelemahan yaitu dalam menentukan Kadar Hambat Minimum (KHM) menggunakan penilaian skoring yang sifatnya subjektif sehingga setiap individu yang melihat hasil pada *plate* dapat memberi skor yang berbeda-beda. Oleh karena itu, pada penelitian ini menggunakan penilaian pribadi dari peneliti serta pendapat individu lain. Kelemahan lainnya adalah pada penelitian ini hanya menggunakan satu jenis isolat yaitu isolat yang berasal dari darah penderita demam tifoid di Rumah Sakit Saiful Anwar Malang sehingga tidak dapat diketahui apakah ekstrak buah sawo mentah juga berpengaruh dengan isolat dari rumah sakit lainnya. Diharapkan pada penelitian selanjutnya dapat digunakan isolat yang berbeda untuk mendapatkan hasil yang bisa digeneralisasikan. Pada hasil uji *Mann Whitney* didapatkan lima pasangan yang tidak signifikan dengan semua konsentrasi yang sangat dekat misalnya salah satunya adalah pada konsentrasi 1% dan 2% yang berarti pada kedua konsentrasi tersebut memiliki efek yang sama atau hampir sama. Hal ini diakibatkan oleh besarnya konsentrasi yang memiliki *range* sangat sempit. Diharapkan pada penelitian selanjutnya digunakan konsentrasi dengan *range* yang lebih lebar.