

BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi ekstrak etanol bunga kecombrang sebagai antimikroba terhadap bakteri *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) secara *in vitro* dengan metode difusi sumuran. Selain itu, penelitian ini juga bertujuan untuk mengetahui hubungan ekstrak etanol bunga kecombrang dengan pertumbuhan *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) melalui metode difusi sumuran. Pertama, suspensi bakteri *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* 10^8 CFU/ml dicampurkan dengan agar *Mueller Hinton*. Kemudian dibuat lubang sumuran pada keempat sisi campuran agar *Mueller Hinton* dan suspensi bakteri *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* 10^8 CFU/ml yang telah dibagi sebelumnya, dengan menggunakan pelubang sumuran. Konsentrasi ekstrak etanol bunga kecombrang dengan konsentrasi 0%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 100% sebanyak 100 mikroliter dimasukkan pada tiap-tiap cawan petri yang telah ditandai. Kemudian cawan petri dimasukkan kedalam inkubator selama 18-24 jam dengan suhu 37°C . Setelah itu mengukur diameter zona inhibisi yang terbentuk disekitar lubang sumuran dengan menggunakan jangka sorong dalam satuan milimeter (mm). Hasil dari penelitian ini dianalisis dengan uji statistik.

Penelitian bunga kecombrang pada tahun 2005 pernah dilakukan untuk menguji aktifitas bunga kecombrang, dengan menggunakan metode difusi cakram sebagai pendahuluan adanya aktifitas ekstrak terhadap bakteri uji. Selanjutnya, dilakukan uji KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) ekstrak bunga kecombrang untuk mengetahui konsentrasi terkecil yang dapat menghambat

pertumbuhan bakteri uji. Aktivitas antimikroba ekstrak bunga kecombrang yang diamati dengan metode difusi sumur menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat dan etanol dapat menghambat semua bakteri uji yaitu : *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Salmonella* Typhimurium, *Escherichia coli*, *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas aeruginosa*, kecuali *Lactobacillus plantarum* (Naufalin, 2005).

Perbedaan penelitian dahulu dengan penelitian sekarang adalah pada penelitian Naufalin menggunakan metode difusi cakram dan metode difusi sumuran dengan banyak bakteri uji seperti *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Salmonella* Typhimurium, *Escherichia coli*, *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas aeruginosa*. Pada penelitian tersebut menggunakan 2 pelarut yaitu etil asetat dan etanol. Pada penelitian ini menggunakan metode difusi sumuran dengan bakteri uji *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Pelarut yang digunakan adalah etanol. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada konsentrasi 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, dan 50% pertumbuhan MRSA menjadi semakin sedikit. Hal ini sejalan dengan penelitian Naufalin, yang menandakan bahwa bahan aktif alkaloid, flavonoid dan triterpenoid yang terkandung pada bunga kecombrang dapat berperan sebagai antimikroba.

Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri yang dimiliki oleh Laboratorium Mikrobiologi FKUB. Bakteri diidentifikasi pada inokulasi Media CHROMagar akan tampak koloni yang muncul berwarna merah muda. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri tersebut positif *Staphylococcus aureus*. Pada pewarnaan Gram dan diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000 x. Pada pengamatan, *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) berbentuk kokus seperti anggur, bersifat Gram positif berwarna ungu. Pada tes katalase, didapatkan hasil positif, yang berarti bahwa bakteri tersebut merupakan

Staphylococcus. Kemudian pada tes koagulase, didapatkan hasil positif yang menunjukkan bakteri tersebut adalah *Staphylococcus aureus*. Untuk menguji sensitivitas terhadap *methicillin*, bakteri tersebut diuji menggunakan metode difusi cakram *cefoxitin* 30 µg. Dengan metode difusi cakram *cefoxitin*, didapatkan zona inhibisi ≤ 21 mm, yang menunjukkan bahwa *Staphylococcus* tersebut resisten terhadap *methicillin*.

Pada penelitian ini digunakan ekstrak etanol bunga kecombrang yang bahannya diperoleh dari Kebumen. Untuk membuat ekstrak etanol bunga kecombrang, bunga kecombrang yang telah dipotong-potong serta dicuci bersih dikeringkan dengan cara di oven. Setelah kering, bunga kecombrang dihaluskan dengan blender hingga berbentuk bubuk. Setelah itu masukkan 300 gram bubuk bunga kecombrang ke dalam labu erlenmeyer ukuran 1 liter. Kemudian rendam bahan dengan etanol 96% volume 900 ml, dan diamkan pada suhu kamar selama minimal 2 x 24 jam dengan sesekali diaduk. Setelah 2 x 24 jam, saring bahan dengan menggunakan kertas saring whatman no 40 dan pelarut yang diperoleh (yang mengandung bahan aktif) di evaporasi untuk menghilangkan sisa pelarut. Oven sisa pelarut yang masih tersisa dengan vacuum oven pada suhu 40 – 50 C hingga bahan benar-benar tidak mengandung pelarut. Adanya hasil evaporasi berupa cairan berwarna coklat kemerahan sebanyak 80 ml. Proses pembuatan ekstrak etanol bunga kecombrang dilakukan di Politeknik Negeri Malang.

Sebelum dimulai penelitian, dilakukan penelitian pendahuluan terlebih dahulu. Pada dasarnya penelitian pendahuluan hanya bertujuan untuk menentukan dosis yang akan digunakan dalam penelitian. Ditentukan konsentrasi yang tepat pada penelitian pendahuluan, yaitu 12,5%, 25%, 50%, dan 100%.

Dari penelitian pendahuluan dapat diketahui konsentrasi yang tidak didapatkan pertumbuhan bakteri MRSA (tidak terbentuk zona inhibisi) adalah konsentrasi 12,5%. Dari angka ini dapat ditentukan konsentrasi yang tepat untuk dilakukan pada penelitian, yaitu antara konsentrasi 25% - 50%.

Dari pengamatan pada metode difusi sumuran dapat ditentukan bahwa zona inhibisi ekstrak etanol bunga kecombrang terhadap MRSA terbentuk pada konsentrasi 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, dan 50%. Pada konsentrasi 25% diameter zona inhibisinya adalah 6,475 mm, konsentrasi 30% diameter zona inhibisinya adalah 7 mm, konsentrasi 35% diameter zona inhibisinya adalah 7,075 mm, konsentrasi 40% diameter zona inhibisinya adalah 7,125 mm, konsentrasi 45% diameter zona inhibisinya adalah 7,425 mm, dan pada konsentrasi 50% diameter zona inhibisinya adalah 9,075. Hasil ini diduga disebabkan karena semakin besar konsentrasi ekstrak etanol bunga kecombrang yang diberikan maka semakin besar pula konsentrasi bahan aktif yang berpengaruh terhadap pertumbuhan MRSA, sehingga pertumbuhan MRSA menjadi semakin sedikit.

Bahan aktif dalam bunga kecombrang yang diperoleh dari proses ekstrak, dan diduga berperan sebagai antimikroba adalah alkaloid, flavonoid dan triterpenoid. Alkaloid merupakan senyawa organik bahan alam yang terbesar jumlahnya, baik dari segi jumlahnya maupun sebarannya. Struktur alkaloid beraneka ragam, dari yang sederhana sampai rumit, dengan rentang efek biologis mulai yang menyegarkan tubuh sampai toksik. Contoh alkaloid antara lain seperti atropin, kafein, kokain, morfin, nikotin, quinin, dan striknin. Alkaloid dapat larut dalam metanol, etil asetat, kloroform, dan etanol namun tidak larut dalam *petroleum ether* (Idris *et al.*, 2009). Alkaloid bersifat antimikroba dengan mengganggu proses replikasi DNA dengan menginaktivasi enzim yang berperan pada proses pemasangan nukleotida pada untai DNA tunggal setelah dua untai induk DNA bakteri terpisah (Naim, 2005).

Flavonoid merupakan senyawa polar karena mempunyai sejumlah gugus hidroksil, sehingga akan larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton, dimetilsulfoksida, dimetilformamida, dan air. Lebih dari 3000 macam flavonoid telah diisolasi dari ekstrak berbagai tumbuhan. Flavonoid dibagi menjadi 12 subgrup sesuai struktur kimianya yaitu *flavines*, *flavonols*, *isoflavones*, *anthocyanins*, *anthocyanidins*, *leucoanthosyanins*, *chalcones*, *dihydrochalcones*, *aurones*, dan *catechins*. Flavonoid memiliki efek antitumor, anti retroviral, *immunostimulant*, antioksidasi, analgesik, antiinflamasi, antivirus, antifungal, antidiare, antihepatotoksik, antihiperglikemik, dan sebagai vasodilator (Uxiana, 2009). Efek flavonoid sebagai antimikroba diduga dapat menyebabkan hambatan pada regulasi protein ekstraseluler dan dinding sel bakteri, yang pada awalnya flavonoid berikatan dengan protein ekstraseluler dan membran sitoplasma bakteri.

Beberapa macam aktivitas fisiologi dari triterpenoid yang merupakan komponen aktif dari tumbuhan telah digunakan sebagai tumbuhan obat untuk penyakit diabetes, gangguan menstruasi, patukan ular, gangguan kulit, kerusakan hati dan malaria. Triterpenoid sangat mudah memasuki membran sel bakteri dengan cara memecah lipid sehingga terjadi peningkatan permeabilitas dan kerusakan struktural membran sel bakteri. Triterpenoid mengganggu proses-proses kimia intraseluler bakteri, yaitu dengan mempengaruhi banyak ligand dan kofaktor kimia intrasel (Klein, 2004).

Dari hasil analisis data dengan uji *One-Way ANOVA* didapatkan signifikansi 0,001 ($p < 0,05$). Hal ini berarti terdapat perbedaan nyata antar konsentrasi ekstrak etanol bunga kecombrang terhadap pertumbuhan bakteri *MRSA*. Berdasarkan *Post Hoc test (Tukey's Test)* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna pertumbuhan bakteri *MRSA* yang dihasilkan pada agar *Mueller Hinton* terhadap konsentrasi ekstrak etanol bunga kecombrang 50%

($p < 0,05$). Terdapat perbedaan signifikan pada konsentrasi 25% dengan 50%, dan pada konsentrasi 30% dengan 50% ($p < 0,05$). Namun pertumbuhan bakteri MRSA antara konsentrasi 25%, 30%, 35%, 40% dan 45% tidak berbeda bermakna satu sama lain ($p > 0,05$).

Dari uji korelasi didapatkan angka signifikansi 0,000 ($p < 0,05$), yang berarti terdapat hubungan bermakna antara pemberian konsentrasi ekstrak etanol bunga kecombrang dengan zona inhibisi. Besar koefisien korelasi yaitu $r = 0,701$. Tanda positif menunjukkan hubungan antara variabel berbanding lurus yaitu semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol bunga kecombrang maka semakin luas zona inhibisi, dan sebaliknya.

Pada uji regresi didapatkan koefisien determinasi *R Square* (R^2) sebesar 0,491. Angka ini menunjukkan besarnya derajat keeratan hubungan antara konsentrasi ekstrak etanol bunga kecombrang dengan zona inhibisi yaitu 49,1% sedangkan sisanya 50,9% disebabkan oleh faktor-faktor lain yang tidak diteliti.

Hubungan antara perubahan konsentrasi ekstrak dengan zona inhibisi dapat dinyatakan dengan rumus $y = 4,293 + 0,082x$. y adalah zona inhibisi, sedangkan x adalah konsentrasi ekstrak etanol bunga kecombrang. Hal ini berarti hubungan konsentrasi terhadap zona inhibisi mempunyai hubungan positif, artinya dengan penambahan konsentrasi ekstrak terjadi perluasan zona inhibisi. Hasil persamaan tersebut dapat dilihat dalam grafik persamaan linier pada Lampiran 3.

Berdasarkan hasil penelitian dan analisa di atas, maka dapat ditarik beberapa kesimpulan bahwa ekstrak etanol bunga kecombrang memiliki efek antimikroba terhadap MRSA secara *in vitro* dengan metode difusi sumuran, dimana semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka akan semakin sedikit jumlah koloni bakteri yang tumbuh.

Walaupun hasilnya bermakna, tentunya penelitian ini tetap memiliki beberapa keterbatasan, antara lain: kemungkinan adanya kesalahan teknis, tidak adanya standarisasi pembuatan ekstrak bahan alam, yang memungkinkan diperolehnya hasil ekstrak dengan efek yang berbeda apabila proses ekstraksi dilakukan pada laboratorium yang berbeda. Adanya variasi normal dari tiap ekstrak etanol bunga kecombrang juga dapat mempengaruhi perbedaan efek dari ekstrak yang digunakan. Penggunaan tabung bakteri uji sebaiknya tidak digunakan bersama dengan penelitian lain. Tabung bakteri uji digunakan cukup untuk satu penelitian saja, sehingga tabung bakteri uji tidak terlalu lama pada suhu ruangan.

Aplikasi klinis dari penelitian ini memang masih memerlukan penelitian lebih lanjut mengenai bahan aktif apa saja yang terkandung dalam bunga kecombrang yang berpotensi sebagai antimikroba dan berapa konsentrasi yang efektif sebagai antimikroba. Selain itu, masih perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui batasan dosis yang aman untuk ekstrak etanol bunga kecombrang sebagai antimikroba bagi MRSA agar dapat digunakan sebagai pengobatan alternatif oleh masyarakat luas.