BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh efektivitas ekstrak bunga Tahi Kotok (*Tagetes erecta L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* secara in vitro. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode dilusi tabung dengan dua tahap yang bertujuan untuk mengetahui Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM) (Dzen, *dkk*., 2003) . Tahap pertama, dengan mengamati kekeruhan tabung uji suspensi ekstrak-bakteri untuk menentukan KHM. Tahap kedua adalah dengan melakukan *streaking* (penggoresan) pada media padat NAP (*Nutrient Agar Plate*), penentuan KBM dilakukan dengan menghitung jumlah koloni *Staphylococcus aureus* menggunakan *colony counter*. Hasil dari perhitungan kemudian dianalisis dengan uji statistik untuk mengetahui hubungan antara ekstrak dan mengetahui dosis efektif pemberian ekstrak bunga Tahi Kotok (*Tagetes erecta*) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

6.1 Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Bunga Tahi Kotok (*Tagetes erecta L.*) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

Konsentrasi ekstrak yang digunakan pada penelitian ini adalah 0% (Kontrol Kuman), 0.1%, 0.15%, 0.2%, 0.25%. Berdasarkan hasil penelitian, KHM ditentukan pada konsentrasi 0.15% (Gambar 5.5). Penilaian KHM ditunjukkan dari terlihat kejernihan pertama kali pada larutan konsentrasi yang diuji di media tabung.

Dari hasil streaking bakteri di media NAP, didapatkan penurunan jumlah koloni bakteri yang tumbuh, seiring dengan bertambahnya konsentrasi ekstrak yang diuji (Gambar 5.6). Pada gambar hasil streaking 0.2% pertumbuhan koloninya terlihat lebih padat dan banyak, dibanding konsentrasi sebelumnya. Hasil tersebut dikarenakan pengenceran yang dilakukan pada konsentrasi 0.2% sebanyak 100x sedangkan konsentrasi sebelumnya dilakukan sebanyak 1.000x sehingga berpengaruh pada gambar yang terlihat dari hasil inokulasi bakteri di media NAP. Tabel 5.2 menunjukkan hasil perhitungan koloni bakteri *Staphylococcus aureus* di media plate, didapatkan perbedaan jumlah koloni antara OI dengan 0% yang memiliki selisih hitung berbeda jauh. Hasil tersebut diduga pengenceran yang terlalu tinggi dapat mempengaruhi jumlah koloni bakteri yang tumbuh di media plate. Lama inkubasi dari, OI selama 18—24 jam sedangkan pada konsentrasi 0% yang memiliki lama inkubasi total 36—48 jam, juga dapat memberikan pengaruh hasil perhitungan yang berbeda. Berdasarkan hasil penelitian, nilai KBM ditentukan pada konsentrasi 0.25%, yang ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni bakteri pada media NAP atau berjumlah koloni kurang dari 0,1% inokulum asli bakteri *Staphylococcus aureus*

KHM adalah konsentrasi terendah dari ekstrak yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji yang dinilai secara kasat mata, sedangkan KBM adalah konsentrasi terendah dari ekstrak yang akan mencegah pertumbuhan organisme setelah disubkultur pada media pertumbuhan. KHM digunakan untuk mengkonfirmasi resitensi suatu antimikroba. Pada penelitian ini KHM dicari untuk menentukan aktivitas in vitro antimiroba baru. KHM dicari untuk menentukan kerentanan organisme terhadap antimikroba yang diuji dan digunakan untuk menilai kinerja metode uji kerentanan yang digunakan. Dari nilai KHM dapat

disesuaikan untuk menentukan KBM apabila kadar antimikroba ditingkatkan melebihi KHM (Andrews, 2001). Dengan ditemukannya nilai KHM dan KBM dapat menentukan kepekaan *Staphylococcus aureus* terhadap antibakteri yang berasal dari ekstrak etanol bunga tahi kotok. Nilai tersebut digunakan untuk menentukan pengobatan yang efektif terhadap penyakit yang disebabkan oleh bakteri tersebut pada manusia.

Berdasarkan hasil uji analisis data untuk menilai pengaruh pemberian ekstrak etanol bunga tahi kotok (*Tagetes erecta*) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* didapatkan hasil nilai $p<0.05$. Hasil tersebut menunjukkan terdapat pengaruh bermakna (signifikan) antara pemberian ekstrak etanol bunga tahi kotok terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Sedangkan untuk membandingkan antara 2 kelompok perlakuan mana saja yang memberikan perbedaan secara signifikan terhadap pertumbuhan bakteri, didapatkan nilai $p<0.05$ pada hampir semua pasangan kelompok perlakuan, kecuali pada konsentrasi 0.1% yang tidak memberikan perberbedaan secara signifikan dengan konsentrasi 0.15%. Hal tersebut terjadi diduga karena penurunan jumlah koloni bakteri dari konsentrasi 0.1% ke konsentrasi 0.15% hanya memberikan sedikit selisih perbedaan. Sedangkan dari konsentrasi 0.15% ke 0.2% memberikan selisih perhitungan yang sangat jauh (tabel 5.2). Selain itu hasil grafik penurunan jumlah koloni menunjukkan penurunan yang sangat drastis pada konsentrasi 0,25% (gambar 5.7). Korelasi hubungan yang sangat kuat ($r = -0.949$) juga ditunjukan dengan semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol bunga tahi kotok yang diberikan, maka semakin sedikit jumlah koloni bakteri yang tumbuh.

Keefektifan ekstrak etanol bunga tahi kotok (*Tagetes erecta*) yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yang diuji, diduga dikarenakan adanya kandungan senyawa aktif fitokimia yang terdapat pada bunganya, berupa *flavonoid, saponin, terpenoid*, dan *tanin*. Berdasarkan penelitian terdahulu *flavonoid* yang terkandung pada bunga tahi kotok sebesar 9—22% dan telah diidentifikasi jenisnya berupa *flavonoid patulitrin*, *flavonoid* bebas, dan *flavonoid glikosida.* Aktivitas antibakteri pada penelitian ini juga dikaitkan karena adanya senyawa tersebut (Vasudevan, *et al.,* 1997; Rhama, *et al.,* 2011; Jain, *et al.,* 2012). Penelitian yang telah dilakukan oleh Rhama, *et al.* (2011), mengidentifikasi dan mengisolasi *flavonoid patulitrin* pada bunga *Tagetes erecta* tujuannya untuk mengetahui aktivitas antibakteri pada *Alcaligens faecalis, Bacillus cereus, Campylobacter coli, Escherchia coli, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa, Proteus vulgaris, Streptococcus mutans*, dan *Streptococcus pyogenes.* Didapatkan hasil uji bahwa flavonoid patulitrin memiliki aktivitas antibakteri yang tinggi dan sangat efektif dalam membunuh semua strain bakteri yang diujikan, dengan zona hambat maksimum 29,50 mm dan minimum 21,00 mm. Mekanisme senyawa flavonoid sebagai antimikroba bekerja dengan cara merusak dinding sel bakteri yang terdiri dari lipid dan asam amino, yang akan berekasi dengan senyawa fenol. Rusaknya dinding sel tersebut mengakibatkan perubahan mekanisme mikrosom, lisosom, dan dinding sel bakteri, selain itu flavonoid juga dapat masuk ke dalam inti sel dan merusak struktur lipid DNA sehingga inti sel bakteri akan lisis dan menyebabkan kematian sel (Darwis, *dkk.,* 2013).

Mekanisme senyawa tanin sebagai antimikroba bekerja dengan cara mengikat protein penyusun sel bakteri membentuk ikatan kompleks tanin-protein. Hal tersebut menyebabkan rusaknya dinding sel sehingga permeabilitas sel dan transport nutrisi terganggu, mengakibatkan pertumbuhan sel terhambat dan menyebabkan kematian sel (Darwis, *dkk.,* 2013). Selain itu kemampuan tanin sebagai antimikroba yang lain adalah dapat menginaktivasi adhesin dan menghambat kerja enzim (Cowan, 1999). Adhesin pada *Staphylococcus aureus* penting untuk pembentukan biofilm bakteri, pembentukan biofilm inilah awal untuk bateri memulai infeksi dengan mengikat komponen matriks ekstraseluler sel inangnya (Foster, *et al.,* 1998; Heilmann, 2011). Dengan adanya senyawa tanin diharapkan dapat menyebabkan bakteri *Staphylococcus aureus* lisis.

Berdasarkan penelitian terdahulu *terpenoid* yang terkandung pada bunga tahi kotok sebesar 4,4—15,8% (Vasudevan, *et al.,* 1997). Mekanisme senyawa terpenoid sebagai antimikroba bekerja dengan cara mengikat protein dan lipid penyusun dinding sel, mengakibatkan terganggunya pembentukan dinding sel dan transport nutrisi yang penting bagi pertumbuhan bakteri, sehingga akan terjadi ekspansi atau pembengkakan di dalam sel dan bakteri pun akan lisis (Cowan, 1999; Darwis, *dkk.,* 2013).

Mekanisme senyawa *saponin* sebagai antimikroba bekerja dengan cara mengganggu permeabilitas membran sel dan menyebabkan keluarnya komponen penting di dalam sel bakteri, seperti protein, asam nukleat, dan nukleotida. Kerusakan tersebut mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel dan kematian sel. Selain itu *saponin* memiliki kemampuan dapat menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri karena *saponin* memiliki komponen aktif *aglycone*. Akibatnya terbentuklah *single ion channel* yang dapat menyebabkan

ketidakstabilan membran sel sehingga menginaktivasi enzim yang berperan pada kehidupan bakteri (Ganiswara, 1995; Zahro, *dkk.,* 2013). Antigen permukaan pada bakteri *Staphylococcus aureus* berfungsi untuk mencegah serangan fagositosis dari sel inang (Warsa, 1994). Dengan hadirnya senyawa *saponin* diharapakan dapat menyebabkan bakteri *Staphylococcus aureus* lisis.

Untuk melarutkan keempat senyawa fitokimia aktif tersebut tidak lepas dari pengaruh pelarut ekstrak yang digunakan. Penelitian ini menggunakan pelarut etanol 96% untuk melarutkan senyawa-senyawa aktif pada bunga tahi kotok (*Tagetes erecta*) yang telah digunakan sebagai faktor antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. Pelarut etanol lebih unggul dalam melarutkan senyawa polar dan non polar, karena etanol memiliki struktur kimia C_2H_5OH. Diketahui bahwa senyawa tanin dan saponin memiliki polaritas yang tinggi, flavonoid termasuk golongan senyawa semi polar, sedangkan terpenoid tergolong senyawa non polar (Sarker, *et al.,* 2006). Penggunaan pelarut yang berbeda juga berpengaruh terhadap senyawa dan jumlah fitokimia yang dilarutkan, hal tersebut akan berdampak pada keefektivitasannya sebagai antibakteri. Seperti penelitian yang dilakukan oleh Kiranmai, *et al.* (2012) untuk menilai senyawa fitokimia bunga *Tagetes erecta* dan menguji sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* menggunakan pelarut ekstrak etanol 70%, didapatkan adanya senyawa fitokimia berupa *flavonoid, terpenoid dan tanin*, sedangkan *saponin* memiliki hasil negatif. Sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* didapatkan zona hambat sebesar 8—14 mm pada konsentrasi 500mg/ml. Pada ekstrak bunga *Tagetes erecta* menggunakan pelarut etanol 75% didapatkan aktifitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* pada zona hambat sebesar $\pm$ 10 mm pada konsentrasi 10 mg/ml (Verma, *et al.,* 2012).

Sehingga penelitian ini telah membuktikan bahwa penggunaan pelarut etanol 96% dapat melarutkan senyawa aktif pada bunga tahi kotok, berupa senyawa flavonoid, tanin, terpenoid, dan saponin sebagai antibakteri dengan kekuatan penghambat yang besar (tabel 5.1).

6.2 Implikasi terhadap Kebidanan

Impetigo adalah suatu infeksi menular pada kulit superfisial yang salah satunya disebabkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* (Baughman, *et al*., 2000). Bentuk klinis dari *Impetigo* yaitu seperti bintik merah kecil berisi cairan lengket warna kuning dan akan mengering membentuk kerak kulit berwarna madu (Thompson, 2003). Walaupun semua kelompok umur dapat terkena *impetigo*, tapi anak-anak berusia 2-6 tahun yang paling berisiko menderita infeksi tersebut (Wijaya, 2014). Saat ini impetigo diobati dengan salep topikal seperti mupirocin (*bactroban)* namun tanda-tanda adanya resistensi sudah mulai terjadi (Graham-Brown, *et al*., 2005; Mersch, 2015).

Penelitian ini dilakukan untuk mencari efektifitas ekstrak bunga tahi kotok (*Tagetes erecta*) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, dari hasil didapatkan dosis efektif yang dapat digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Sehingga diharapkan bunga tahi kotok mampu diaplikasikan sebagai obat untuk menangani infeksi kulit seperti impetigo. Aplikasi obat yang sesuai pada infeksi kulit superfisial adalah dalam bentuk obat topikal. Tujuannya adalah untuk memperoleh reaksi lokal sehingga dapat mengurangi dan mengatasi infeksi kulit.

6.3 Keterbatasan Penelitian

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan diantaranya adalah tidak diketahui secara pasti kadar masing-masing senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak etanol bunga Tahi Kotok yang telah diproses. Perlu penelitian lebih lanjut untuk menentukan dosis efektif yang aman diimplikasikan kemanusia. Karena dosis yang aman masih belum diketahui maka perlu dilakukan uji toksisitas agar dapat digunakan sebagai pengobatan penyakit kulit, seperti *Impetigo*. Selain itu isolat bakteri *Staphylococcus aureus* yang digunakan hanya berasal dari satu penderita penyakit kulit yang diambil dari swab *pus* nya saja, sehingga belum bisa digeneralisasi dan kemungkinan resistensi yang dimiliki tiap individu berbeda-beda.