

## BAB 6

## PEMBAHASAN

## 6.1 Pembahasan

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang bertujuan untuk mengetahui efek antimikroba ekstrak flavonoid buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* secara *in vitro* dengan menggunakan metode dilusi tabung. Metode dilusi tabung terdiri dari dua tahap yakni, tahap pertama *Staphylococcus aureus* dimasukkan kedalam tabung yang berisi ekstrak dan diinkubasi selama 18-24 jam kemudian diamati kekeruhannya untuk menentukan KHM. Tahap kedua adalah penggoresan (*streaking*) pada media NAP dan diinkubasi selama 18-24 jam kemudian dihitung jumlah koloninya dengan menggunakan *colony counter* untuk menentukan KBM. Kemudian hasilnya dianalisa menggunakan uji statistik.

Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolate bakteri *Staphylococcus aureus* yang berasal dari laboratorium Mikrobiologi FKUB. Sebelum digunakan, terlebih dulu digunakan beberapa tes identifikasi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* antara lain pewarnaan gram, *streaking* pada media NAP, *streaking* pada media MSA, tes koagulase dan tes katalase.

Ekstrak yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak flavonoid buah Mahkota Dewa. buah Mahkota Dewa mudah diperoleh dan penggunaannya luas dikalangan masyarakat, sehingga dapat memudahkan proses aplikasi hasil penelitian di masa yang akan datang. Proses pembuatan ekstrak flavonoid buah Mahkota Dewa menggunakan metode maserasi dengan etanol 96% sebagai pelarut kemudian dilanjutkan dengan partisi cair-cair menggunakan pelarut n-

heksana dan n-butanol guna memisahkan flavonoid dari kandungan kimia yang lain.

Penggunaan pelarut n-heksana bertujuan agar dapat mengekstraksi secara selektif komponen non-polar terlebih dahulu, seperti terpenoid dan alkaloid. Kemudian dilanjutkan dengan pelarut n-butanol yang diharapkan dapat mengisolasi komponen flavonoid. Flavonoid merupakan golongan terbesar yang ada pada buah Mahkota Dewa (Prasetyo, *et al*, 2015).

Potensi senyawa flavonoid sebagai zat antimikroba didukung oleh penelitian Parubak (2013) karena senyawa flavonoid disintesis oleh tanaman sebagai sistem pertahanan dan dalam responnya terhadap infeksi oleh mikroorganisme, sehingga tidak mengherankan apabila senyawa ini efektif sebagai senyawa antimikroba terhadap sejumlah mikroorganisme.

Sebelum dilakukan penelitian, dilakukan uji eksplorasi terlebih dahulu untuk mendapatkan konsentrasi perlakuan. Berdasarkan hasil uji eksplorasi didapatkan pada konsentrasi 6.25% sudah tidak didapatkan pertumbuhan koloni bakteri *Staphylococcus aureus*. Lalu dilakukan eksplorasi dengan selisih konsentrasi 1% yaitu 1%, 2%, 3%, 4%, 5% dan 6%. Hasilnya pada konsentrasi 3% tidak terdapat pertumbuhan bakteri, sehingga dosis diturunkan menjadi 0.5%, 1%, 1.5%, 2%, 2.5%, 3% dan 3.5%. dan hasilnya pada konsentrasi 3.5% tidak terdapat pertumbuhan bakteri. Penurunan konsentrasi ini bertujuan agar didapatkan nilai KHM dan KBM yang lebih akurat.

Setelah dilakukan penelitian, dapat diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak flavonoid buah Mahkota Dewa, maka semakin sedikit jumlah koloni yang tumbuh pada medium NAP. Pemberian ekstrak flavonoid buah Mahkota Dewa 0.5% masih tampak keruh sedangkan konsentrasi lain tampak jernih dengan garis-garis hitam yang terlihat jelas. Dari hasil pengamatan dapat



diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi perlakuan, semakin kecil tingkat kekeruhan pada tabung dan dapat terlihat bahwa mulai pada konsentrasi 1% merupakan konsentrasi terkecil yang tidak menunjukkan kekeruhan pada tabung, sehingga dapat disimpulkan bahwa KHM pada penelitian ini adalah pada konsentrasi 1%.

Hasil pengamatan terhadap kultur bakteri pada medium NAP menunjukkan adanya penurunan jumlah koloni bakteri seiring dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak flavonoid buah Mahkota Dewa yang diberikan, dimana jumlah pertumbuhan koloni bakteri tertinggi pada konsentrasi KK sedangkan pada konsentrasi 0.5%, 1%, 1.5%, 2%, 2.5%, 3%, 3.5% terjadi pengurangan pertumbuhan bakteri. Dari pengamatan koloni di medium NAP diketahui bahwa pada konsentrasi 2% jumlah koloni bakteri kurang dari 0.1% *Original inoculums*, sehingga dapat disimpulkan bahwa KBM pada penelitian ini adalah 2%.

Menurut Silvikasari (2011) dalam penelitiannya mengenai ekstrak flavonoid daun gambir terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, disebutkan bahwa ekstrak flavonoid juga dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Daya hambat ekstrak flavonoid daun gambir terhadap bakteri *S. aureus* adalah 1%, sedangkan daya bunuhnya berada pada konsentrasi 9%. Sedangkan menurut Christiani, *et al.* (2015) *S. aureus* dapat dihambat pertumbuhannya pada konsentrasi 40% ekstrak akar karamunting fraksi n-butanol.

Dari hasil analisis statistika menunjukkan bahwa data perubahan koloni *S. aureus* terhadap pemberian ekstrak flavonoid buah Mahkota Dewa memiliki variasi yang homogen dengan signifikansi 0.056 ( $p > 0.05$ ) dan terdistribusi normal dengan signifikansi 0.475. dari hasil uji *One-Way ANOVA* diketahui bahwa perubahan

konsentrasi ekstrak flavonoid buah Mahkota Dewa memberikan perbedaan yang signifikan terhadap jumlah koloni *S.aureus* dengan nilai signifikansi sebesar 0.004 ( $p < 0.05$ ). Dari hasil uji *Post Hoc Tukey* dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan jumlah koloni yang bermakna antar kelompok konsentrasi 0% (KK) dengan kelompok konsentrasi 0.5%, 1%, 1.5%, 2%, 2.5%, 3%, dan 3.5%. Sedangkan perbedaan jumlah koloni kelompok ekstrak yang lain tidak terlalu memiliki nilai yang bermakna. Artinya bahwa dengan penambahan konsentrasi ekstrak, tidak terdapat penurunan jumlah koloni yang bermakna pada peningkatan konsentrasi berikutnya ( $p > 0.05$ ). Hasil ini sesuai dengan *Homogeneous Subsets* dimana 8 kelompok sampel masuk dalam 2 *subsets* yang berbeda.

Uji korelasi pemberian ekstrak flavonoid buah Mahkota Dewa terhadap jumlah koloni *Staphylococcus aureus* menunjukkan angka signifikan 0.004 ( $p < 0.005$ ). Besar koefisien korelasi Pearson yaitu  $r = -0.561$ , tanda negatif menunjukkan hubungan yang berbanding terbalik yakni semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin sedikit jumlah koloni bakteri yang tumbuh dan sebaliknya. Sedangkan uji regresi menunjukkan koefisien korelasi R Square ( $r^2$ ) sebesar 0.315 menyatakan besarnya derajat kerataan hubungan antara konsentrasi ekstrak flavonoid buah Mahkota Dewa dengan jumlah koloni *S. aureus* yakni sebesar 31.5%.

Berdasarkan hasil penelitian yaitu adanya penurunan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak flavonoid buah Mahkota Dewa diduga karena efek dari zat aktif flavonoid yang terdapat pada kulit dan daging buah Mahkota Dewa. Flavonoid memiliki beberapa efek antimikroba, yaitu salah satunya menghambat sintesis RNA pada *S. aureus* (Cushnie and Lamb, 2005). Mekanisme antimikroba lain dari flavonoid



adalah dengan cara mengganggu aktivitas transpeptidasi peptidoglikan sehingga pembentukan dinding sel terganggu dan sel mengalami lisis (Silvikasari, 2011). Flavonoid memiliki aktivitas penghambatan lebih besar pada bakteri gram positif (*S. aureus*), hal ini dikarenakan senyawa flavonoid merupakan bagian yang bersifat polar sehingga lebih mudah menembus lapisan peptidoglikan yang bersifat polar daripada lapisan lipid yang nonpolar, sehingga menyebabkan aktivitas penghambatan pada bakteri gram positif lebih besar daripada bakteri gram negatif (Puspitasari, *et al.* 2013).

Penelitian ini memiliki keterbatasan antara lain isolate yang digunakan hanya satu strain isolate *S. aureus* dengan tiga kali pengulangan. Apabila ekstrak flavonoid buah Mahkota Dewa diaplikasikan untuk *S. aureus* dengan strain yang berbeda-beda maka kemungkinan hasil yang diperoleh akan berbeda pula. Tidak adanya standarisasi pembuatan ekstrak, pola iklim dan geografis, serta metode ekstraksi yang digunakan sehingga akan berpengaruh pula terhadap efek antimikro ekstrak flavonoid buah Mahkota Dewa. Penentuan KHM yang hanya berdasarkan pengamatan visual peneliti yang bisa bersifat subjektif, sehingga diperlukan metode lain untuk menentukan KHM secara tepat.

Meskipun pada penelitian ini ekstrak flavonoid buah Mahkota Dewa memiliki efek terhadap *S. aureus* secara *in vitro*, namun masih diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai toksisitas pada hewan coba maupun *clinical trial* agar pemanfaatan ekstrak flavonoid buah mahkota dwa dapat diaplikasikan ke manusia.