

BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk membuktikan efek antibakteri dari ekstrak daun kastuba terhadap *Shigella dysenteriae* dengan menggunakan metode dilusi agar. Metode dilusi agar digunakan untuk mengetahui Kadar Hambat Minimum (KHM) ekstrak daun kastuba pada bakteri *Shigella dysenteriae* secara *in vitro*.

Ekstrak daun kastuba diperoleh dari proses ekstraksi menggunakan metode maserasi karena kandungan senyawa fitokimia dari daun kastuba yang dimungkinkan dapat rusak bila menggunakan metode ekstraksi dengan cara panas (kandungan senyawa fitokimia daun kastuba bersifat termolabil). Proses ekstraksi ekstrak daun kastuba dilakukan selama lima hari dan remaserasi dua kali selama dua hari. Maserasi beserta remaserasi dilakukan dengan tujuan agar hasil ekstrak yang didapatkan mengandung senyawa fitokimia yang diinginkan dapat tersari seefektif mungkin (diharapkan 100% tersari).

Penggunaan pelarut etanol 70 %, karena 70% pelarut etanol dapat melarutkan dengan baik kandungan senyawa fitokimia tanaman yakni flavonoid dan tannin, sedangkan 30% campuran pelarut air dapat melarutkan saponin dan tannin. Konsentrasi senyawa flavonoid semakin tinggi yang dapat dilarutkan dengan etanol 70%, karena polaritas yang dimiliki lebih tinggi dari etanol murni. Penambahan air ke etanol murni hingga 30% untuk membuat etanol 70% dapat meningkatkan polaritas pelarut. Etanol diketahui lebih mudah menembus

membran sel untuk mengekstrak bahan intraseluler dari bahan tanaman. Ekstrak tanaman dari pelarut organik telah diketahui dapat memberikan aktivitas antimikroba lebih konsisten dibandingkan dengan ekstrak air saja (Tiwari *et al.*, 2011). Pada penelitian ini, diyakini bahwa efek antimikroba ekstrak daun kastuba bukan karena etanol (etanol diuapkan). Pada proses pembuatan ekstrak untuk menguapkan pelarut etanol dilakukan evaporasi menggunakan vakum rotary evaporator pada suhu 40°C dengan kecepatan 45 rpm dan di oven selama lima hari pada suhu 38°C - 40°C.

Berdasarkan hasil uji fitokomia yang dilakukan pada penelitian ini diketahui ekstrak daun kastuba memiliki kandungan senyawa fitokimia berupa flavonoid, saponin, dan tannin. Kandungan alkaloid tidak teruji dimungkinkan karena alkaloid lebih larut pada etanol 90% dibandingkan pada etanol 70% yang digunakan pada penelitian sehingga kadar yang alkaloid yang tersari menggunakan etanol 70% sangat sedikit. Selain itu, juga dimungkinkan kadar alkaloid pada tanaman ini dalam kadar yang kecil. Alkaloida umumnya ditemukan dalam kadar yang kecil dan harus dipisahkan dari campuran senyawa yang rumit dari jaringan tumbuhan (Lenny, 2006).

Kandungan flavonoid, saponin, dan tannin inilah yang diketahui memiliki efek antibakteri. Flavonoid dan tannin merupakan senyawa fenol yang dapat mengganggu metabolisme dan kerusakan membran sel bakteri. Senyawa fenol bekerja dengan merusak sel dan membran sel. Flavonoid juga memiliki kecenderungan untuk mengikat protein bakteri, sehingga menghambat aktivitas enzim bakteri pada akhirnya mengganggu proses metabolisme bakteri. Tannin adalah senyawa yang dapat memicu pengendapan protein pada sitoplasma dan membran sel bakteri, sehingga dapat mengganggu sintesis protein. Jika ada

pengendapan protein dalam sitoplasma sel dan membran sel bakteri, pertumbuhan sel bakteri akan terganggu dan diikuti oleh kematian. Saponin memiliki mekanisme antibakteri dengan cara dapat merusak permeabilitas membrane melalui perusakan sitoplasma dan dapat menyebabkan kematian pada sel-sel bakteri (Widyaningrum, 2012). Mekanisme ketiga senyawa ini secara keseluruhan hampir sama sehingga menghasilkan aktivitas penghambat pertumbuhan bakteri secara *in vitro* cukup baik.

Pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan variasi konsentrasi 0,2%; 0,3%; 0,4%; 0,5%; dan 0% v/v (kontrol). Besarnya konsentrasi tersebut diperoleh berdasarkan penelitian pendahuluan (eksplorasi dosis) yang sebelumnya telah dilakukan oleh peneliti. Eksplorasi dosis dimulai dari konsentrasi 0,5%; 1%; 2%; 3%; dan 4% v/v (tidak ada pertumbuhan bakteri) sehingga dilanjutkan penurunan dosis dengan variasi konsentrasi 0,2%; 0,3%; 0,4%; 0,5%; dan 0% v/v (kontrol) untuk mengetahui dosis KHM ekstrak daun kastuba terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*. Hasil dari penelitian diamati dan dianalisis secara statistik.

Standarisasi jumlah sel bakteri *Shigella dysenteriae* yang akan di ujikan pada penelitian ini, dilakukan menggunakan spektrofotometri dengan panjang gelombang 625 nm. Standarisasi tidak dilakukan dengan pengamatan visual saja, karena memiliki nilai subyektifitas yang tinggi sehingga kemungkinan hasil standarisasi bakteri menjadi kurang obyektif.

Proses penentuan KHM pada metode dilusi agar, dinilai dengan mengamati derajat pertumbuhan koloni bakteri yang telah diinokulasikan 1×10^4 CFU/ml pada permukaan nutrient agar dengan cara meneteskan 10 μ l dari

konsentrasi 1×10^6 CFU/ml (Forbes, 2011). Berdasarkan penelitian ini, didapatkan bahwa ekstrak daun kastuba dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* secara bermakna dengan KHM 0,5 % v/v.

Hasil dari analisis statistik uji Kruskal-Wallis, didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,002 ($p < 0,005$), Hasil analisis ini, disimpulkan bahwa terdapat perbedaan efek antibakteri pada pemberian ekstrak etanol daun kastuba tiap perlakuan terhadap pertumbuhan koloni *Shigella dysenteriae* pada media NAP. Hasil uji Mann-Whitney menunjukkan bahwa antara pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* yang dihasilkan pada media NAP dengan kontrol (0%) berbeda signifikan dengan kelompok yang diberi perlakuan ekstrak daun kastuba dengan konsentrasi 0,2%; 0,3%; 0,4%; dan 0,5% v/v ($p < 0,05$) dan pada konsentrasi 0,4% berbeda signifikan dengan kelompok yang diberi perlakuan ekstrak daun kastuba dengan konsentrasi 0,5% v/v ($p < 0,05$).

Hanya tiga pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* yang dihasilkan pada media NAP yang tidak berbeda signifikan dengan yang diberi perlakuan ekstrak daun kastuba yakni, konsentrasi 0,2 % tidak berbeda signifikan dengan konsentrasi 0,3 % dan 0,4 % v/v ($p > 0,05$), namun berbeda signifikan pada kelompok dengan konsentrasi 0,5 %v/v ($p < 0,05$). Serta pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* yang dihasilkan pada media NAP konsentrasi 0,3 % tidak berbeda signifikan dengan konsentrasi 0,4 % ($p > 0,05$), tetapi berbeda signifikan pada kelompok dengan konsentrasi 0,5 %v/v ($p < 0,05$). Nilai yang tidak berbeda signifikan ini dimungkinkan karena pada konsentrasi tersebut hampir sama memberikan efek pada penghambatan pertumbuhan bakteri sehingga tidak dapat dibedakan. Selain itu, dimungkinkan karena proses pembuatanya.

Berdasarkan hasil uji korelasi spearman menunjukkan bahwa nilai Signifikan $0,000 < 0,05$ sehingga disimpulkan bahwa terdapat hubungan yang signifikan antara besarnya konsentrasi ekstrak daun kastuba terhadap pertumbuhan koloni *Shigella dysenteriae* yang dihasilkan pada medium NAP. Koefisien korelasi yang terbentuk sebesar $R = -0,909$. Tanda negative mengindikasikan bahwa hubungan yang terjadi antara ekstrak daun kastuba dengan pertumbuhan bakteri (Semakin tinggi ekstrak daun kastuba yang diberikan maka derajat pertumbuhan akan semakin menurun pada medium NAP). Hubungan koefisien korelasi ini terdapat pada kategori sangat kuat karena terletak antara $0,8 - 1,0$.

Hasil penelitian ini dapat diketahui efek antimikroba dari ekstrak daun kastuba terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*. Konsentrasi kandungan zat aktif daun kastuba yang bersifat sebagai antibakteri pada penelitian ini dimungkinkan tidaklah sama dibandingkan dengan daun kastuba yang tumbuh pada daerah lain. Kandungan zat aktif tanaman ditentukan dengan kondisi geografis dimana tanaman tersebut tumbuh, cara penanamannya, perawatan tanamannya, dan cara pemanenan, sehingga perlu dilakukan standarisasi dari segala aspek tersebut.

Kadar kandungan zat aktif yang bersifat sebagai antibakteri yakni flavonoid, tannin, dan saponin juga belum diketahui secara pasti pada ekstrak daun kastuba yang digunakan pada penelitian ini. Pada aplikasi klinis sebagai obat herbal ekstrak daun kastuba sebagai antibakteri terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai dosis yang tepat untuk digunakan sebagai antibakteri dan penelitian secara *in vivo* untuk

mengetahui daya tahan ekstrak terhadap PH saluran pencernaan sampai ke target site.

