

BAB VI PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan, dengan tujuan untuk mengetahui adanya pengaruh pemberian ekstrak etanol kulit buah manggis (*Garcinia mangostana L*) terhadap pertumbuhan bakteri *Acinetobacter baumannii* secara *in vitro*. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode agar *dilution* untuk menentukan Kadar Hambat Minimal (KHM) dan metode dilusi tabung atau *tube dilution* untuk menentukan Kadar Bunuh Minimal (KBM). Dalam menentukan besarnya KHM, parameter yang digunakan adalah konsentrasi terkecil yang tidak terdapat koloni bakteri, sedangkan untuk menentukan KBM menggunakan parameter penghitungan jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada media *Nutrient Agar Plate* (NAP). Pada penelitian ini didapatkan KHM pada konsentrasi 0,5% dan KBM pada konsentrasi 0,7%.

6.1 Bakteri *Acinetobacter baumannii*

Bakteri *Acinetobacter baumannii* adalah bakteri gram negatif, yang pada pewarnaan gram dan pengamatan dibawah mikroskop *Acinetobacter baumannii* akan menunjukkan gambaran batang dan berwarna merah (Gram negatif). Koloni bakteri ini berukuran kurang lebih 1 - 2mm, tidak berwarna, berbentuk bulat, mukoid dan permukaan yang halus. Bakteri tersebut tidak dapat mereduksi nitrat. *Acinetobacter baumannii* merupakan bakteri patogen oportunistik atau patogen nosokomial yang mudah tumbuh di segala macam media, khususnya media yang cocok untuk bakteri gram negatif. Salah satu contoh media yang dapat digunakan adalah media agar *MacConkey*, ketika bakteri dibiakkan pada

media tersebut maka akan tumbuh koloni yang tidak berwarna (tidak memfermentasikan laktosa) (Kurcik *and* Trajkovska, 2009).

Pada penelitian ini, bakteri *Acinetobacter baumannii* yang digunakan berasal dari spesimen darah yang diisolasi dari pasien di Rumah Sakit Saiful Anwar Malang yang dibiakkan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Sebelum digunakan dalam penelitian ini, isolat bakteri dilakukan uji identifikasi untuk memastikan kemurnian *Acinetobacter baumannii*. Uji identifikasi bakteri sangat penting dilakukan untuk memastikan kemurnian *Acinetobacter baumannii* yang akan digunakan pada penelitian ini. Identifikasi mikroskopis berupa pengecatan gram, kemudian identifikasi makroskopis berupa pembiakan bakteri pada media agar *MacConkey*, serta identifikasi biokimia menggunakan *Microbact*.

Hasil identifikasi secara mikroskopis dengan pengecatan gram didapatkan gambaran bakteri berbentuk batang dan berwarna merah (Gram negatif). Pada uji identifikasi makroskopis pada agar *MacConkey*, didapatkan bentukan koloni tidak berwarna (pucat) yang dapat disimpulkan bahwa bakteri ini tidak memfermentasikan laktosa. Serta, hasil identifikasi biokimia yang dilakukan menggunakan *Microbact* menunjukkan bahwa bakteri ini merupakan bakteri *Acinetobacter baumannii* dengan tingkat kepercayaan 94,11%. Oleh karena itu, dapat dipastikan bahwa isolat bakteri yang digunakan pada penelitian ini merupakan bakteri *Acinetobacter baumannii* murni.

6.2 Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana L*)

Kulit buah manggis (*Garcinia mangostana L*) diketahui memiliki kandungan xanton, saponin, tanin, flavonoid, steroid/triterpenoid dan kuinon serta

unsur natrium, kalium, magnesium, kalsium, besi, zink dan tembaga. Kulit buah manggis juga mengandung sejumlah zat warna kuning yang berasal dari dua metabolit sekunder yaitu alpha mangostin dan beta mangostin (Poeloengan dan Pratiwi, 2010). Kandungan tersebut tidak didapatkan pada bagian manggis yang lain. Kulit buah manggis merupakan sumber terbesar senyawa xanton (Martin, 2007).

Ekstrak kulit buah manggis dibuat dengan cara mengekstrak kulit buah manggis dengan metode maserasi menggunakan etanol 96% sebagai penyarinya. Serbuk kulit buah manggis didapat dari Materia Medika Batu, sedangkan proses pengekstrakan dilakukan di Laboratorium Kimia Politeknik Negeri Malang.

Zat aktif dari kulit buah manggis yaitu xanton, saponin, flavonoid, terpenoid dan tanin bersifat larut dalam alkohol. Etanol merupakan salah satu jenis alkohol yang mengandung dua gugus karbon. Etanol digunakan sebagai pelarut bahan aktif pada kulit buah manggis karena sifat toksisitasnya yang relatif lebih rendah daripada metanol ataupun isopropanol (Darmono, 2003).

Oleh karena itu, penyarian bahan yang dilakukan dalam penelitian ini menggunakan metode ekstraksi dengan pelarut etanol 96%. Tetapi pengekstraksian bahan yang digunakan dalam penelitian masih bersifat kasar, sebab belum dapat diketahui secara pasti kandungan bahan aktif dan persentase kadar masing-masing bahan aktif yang terkandung dalam ekstrak kulit buah manggis, sehingga belum dapat diketahui secara pasti bahan aktif mana yang paling berperan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Acinetobacter baumannii*. Untuk itu nantinya perlu dilakukan penelitian lebih lanjut agar dapat

diketahui secara pasti bahan aktif yang mana yang mempunyai peran tertinggi sebagai antibakteri.

6.3 Mekanisme Kerja dan Efek Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis

6.3.1 Mekanisme Kerja Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis

Mekanisme kerja antibakteri dapat dilakukan dengan berbagai macam cara. Tempat kerja antibakteri antara lain dinding sel, membran sel, ribosom, inti dan metabolisme bakteri. Mekanisme pengendalian bakteri dapat melalui berbagai cara seperti melalui hambatan sintesis dinding sel, kerusakan membran sel, hambatan sintesa protein, denaturasi protein, hambatan sintesa asam nukleat, dan gangguan reaksi enzim dengan substratnya (Neu *and* Thomas, 2001).

Kulit manggis diketahui memiliki beberapa senyawa yang bersifat sebagai antibakteri diantaranya xanton, saponin, terpenoid, tanin, dan flavonoid. Xanton merupakan senyawa dengan kemampuan antibakteri yang kuat dan memiliki mekanisme dalam menghambat replikasi sel pada bakteri (Joffrion, 2007). Saponin bekerja sebagai antibakteri dengan mengganggu stabilitas membran sel bakteri sehingga menyebabkan sel bakteri lisis. Mekanisme kerja saponin termasuk dalam kelompok antibakteri yang berfungsi menurunkan tegangan permukaan sehingga meningkatkan permeabilitas sel bakteri, yang mengakibatkan kerusakan membran sel dan menyebabkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel bakteri yaitu protein, asam nukleat, dan nukleotida (Darsana dkk, 2012).

Terpenoid merupakan senyawa fenol yang bersifat lipofilik, mekanisme kerja dari terpenoid adalah merusak membran sel. Mekanisme kerja tanin

sebagai antibakteri berhubungan dengan kemampuan tanin dalam menginaktivasi adhesin sel mikroba (molekul yang menempel pada sel inang) yang terdapat pada permukaan sel. Tanin yang mempunyai target pada polipeptida dinding sel akan menyebabkan kerusakan pada dinding sel (Naim, 2004).

Flavonoid merupakan sebuah senyawa polar yang pada umumnya mudah larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol dan aseton. Flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol yang mempunyai sifat efektif menghambat pertumbuhan virus, bakteri dan jamur. Senyawa-senyawa flavonoid umumnya bersifat antioksidan dan banyak yang telah digunakan sebagai salah satu komponen bahan baku obat-obatan (Darsana dkk, 2012).

Dari uraian tersebut, dapat disimpulkan bahwa kulit buah manggis mengandung bahan aktif yang bersifat sebagai antibakteri sehingga kombinasi dari bahan aktif tersebut diharapkan mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Acinetobacter baumannii* dengan potensi antibakteri yang kuat.

6.3.2 Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis

Sebelum dilakukan penelitian, terlebih dahulu dilakukan penelitian pendahuluan untuk mendapatkan gambaran dari metode dan kisaran konsentrasi yang akan digunakan dalam penelitian. Berdasarkan penelitian pendahuluan yang menguji efektivitas ekstrak etanol kulit buah manggis sebagai antibakteri terhadap *Acinetobacter baumannii* dengan metode dilusi agar dan dilusi tabung. Metode dilusi agar digunakan sebagai metode dalam mencari KHM (Kadar Hambat minimal), sebab ekstrak etanol kulit buah manggis tampak keruh, namun demikian dalam mencari KBM (Kadar Bunuh Minimal) tetap menggunakan metode dilusi tabung. Penelitian pendahuluan dilakukan dengan konsentrasi

yang diturunkan secara serial yaitu : 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, dan 3,125%. Dari penelitian pendahuluan tersebut tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri *Acinetobacter baumannii*, sehingga penelitian berikutnya menggunakan konsentrasi dibawah 1% (Lampiran 3.2). Konsentrasi ekstrak etanol kulit buah manggis yang digunakan dalam penelitian ini adalah 0,3%, 0,4%, 0,5%, dan 0,6% dengan konsentrasi 0% digunakan sebagai kontrol kuman dan konsentrasi 100% digunakan sebagai kontrol bahan.

Uji antibakteri ekstrak etanol kulit buah manggis terhadap *Acinetobacter baumannii* diukur dengan tingkat ketebalan dari koloni bakteri yang tampak pada media NAP untuk menentukan nilai KHM (Kadar Hambat Minimal) dan penghitungan jumlah koloni bakteri pada media NAP (*Nutrient Agar Plate*) untuk menentukan nilai KBM (Kadar Bunuh Minimal). Nilai KHM merupakan konsentrasi terendah yang tidak tampak adanya pertumbuhan koloni bakteri pada media NAP dengan diawali oleh gradasi ketebalan bentukan koloni dari *Acinetobacter baumannii* pada konsentrasi dibawah nilai KHM yang didapatkan. Sedangkan nilai KBM adalah konsentrasi terendah dengan jumlah koloni bakteri *Acinetobacter baumannii* yang ada $<0,1\%$ dari *original inoculum*. *Original inoculum* pada penelitian ini adalah sebanyak 4168 koloni sehingga konsentrasi yang pertumbuhan koloninya $<0,1\%$ OI (0 koloni) pada pengulangan 1, 2, 3, dan 4 adalah konsentrasi 0,7% (Gambar 5.5 dan Tabel 5.2). Oleh karena itu, nilai KBM pada penelitian ini adalah pada konsentrasi 0,7%.

Nilai KHM dan KBM dari ekstrak etanol kulit buah manggis terhadap *Acinetobacter baumannii* menunjukkan potensi antibakteri yang kuat. Sebagai perbandingan, dari penelitian lain yang telah dilakukan untuk menguji efektivitas antibakteri dari bahan alam lain terhadap *Acinetobacter baumannii* didapatkan

nilai KHM, dan KBM yang lebih besar. Penelitian mengenai efektivitas antibakteri ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) terhadap *Acinetobacter baumannii* didapatkan nilai KHM 8,5 mg/ml dan KBM 8,5 mg/ml (Srisukh *et al*, 2012). Sedangkan KHM dan KBM dari ekstrak etanol kulit buah manggis dalam penelitian ini masing-masing adalah 6,0 dan 8,4 mg/ml (Lampiran 5.8). Perbandingan nilai KBM dari bahan alam tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit buah manggis memiliki efek antibakteri yang lebih kuat terhadap *Acinetobacter baumannii* dibandingkan dengan ekstrak daun jeruk purut.

Pada penelitian sebelumnya juga telah dibuktikan bahwa ekstrak kulit buah manggis (*Garcinia mangostana L*) juga efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yang merupakan bakteri gram positif (Kurniawan, 2012). Ekstrak kulit buah manggis (*Garcinia mangostana L*) juga efektif sebagai antifungal pada *Pityrosporum ovale* (Ni'maa, 2011).

Hasil penghitungan jumlah koloni bakteri kemudian dianalisis dengan menggunakan uji *One-way ANOVA*, uji korelasi *pearson*, dan uji regresi linier. Sebelum dilakukan analisis data dari hasil penelitian dengan menggunakan *One-way ANOVA*, maka diperlukan pemenuhan atas beberapa asumsi data yaitu data harus mempunyai sebaran (distribusi) normal dan mempunyai ragam yang homogen (Dahlan, 2010).

Hasil uji *Kolmogorov-Smirnov* pada data awal diperoleh nilai signifikansi sebesar 0,898 ($p > 0,05$) sehingga disimpulkan data variabel tersebut berdistribusi normal (Lampiran 5.1). Hasil uji homogenitas ragam (*Levene test*) didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,390 ($p > 0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa ragam data jumlah koloni *Acinetobacter baumannii* pada media NAP relatif homogen (Lampiran 5.2). Berdasarkan hasil analisis *One-way ANOVA* (Tabel

5.4) diperoleh nilai signifikansi sebesar 0,000 ($p < 0,05$) sehingga H1 diterima dan dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan efek antibakteri pada masing-masing konsentrasi ekstrak kulit buah manggis terhadap jumlah koloni *Acinetobacter baumannii* yang tumbuh pada media NAP (Lampiran 5.3). Pada analisis *Post Hoc (Tukey) test* didapatkan hasil bahwa konsentrasi 0,7% merupakan konsentrasi terkecil yang paling efektif dalam menurunkan jumlah koloni *Acinetobacter baumannii* hingga tidak ada koloni yang tumbuh (Lampiran 5.4).

Berdasarkan hasil analisis uji Korelasi (Tabel 5.7), didapatkan $p = 0,000$ dan $r = -0,823$ (Lampiran 5.6). Hal ini berarti terdapat hubungan (korelasi) yang signifikan ($p < 0,05$) dengan kekuatan korelasi yang sangat kuat (r antara 0,80 – 1,00) dan arah korelasi yang negatif (koefisien r negatif) artinya apabila semakin naik konsentrasi ekstrak kulit buah manggis maka jumlah koloni *Acinetobacter baumannii* akan semakin menurun. Berdasarkan hasil analisis uji Regresi diperoleh model persamaan regresi $Y = 120020,4 - 221852 X$, koefisien Y adalah jumlah koloni *Acinetobacter baumannii* yang tumbuh pada media NAP, sedangkan koefisien X adalah pemberian ekstrak etanol kulit buah manggis dengan konsentrasi tertentu. Selain itu, juga didapatkan nilai koefisien determinasi (R^2) sebesar 67,7% yang menyatakan besarnya pengaruh pemberian ekstrak kulit buah manggis terhadap jumlah koloni *Acinetobacter baumannii* yang tumbuh pada media NAP. Sedangkan sisanya ($1 - R^2$) sebesar 32,3% yang artinya keragaman jumlah koloni *Acinetobacter baumannii* yang tumbuh pada media NAP tersebut dipengaruhi faktor lain (Tabel 5.8). berdasarkan grafik linieritas didapatkan hubungan linieritas yaitu peningkatan

konsentrasi ekstrak kulit buah manggis cenderung akan menurunkan jumlah koloni *Acinetobacter baumannii* yang tumbuh pada media NAP (Gambar 5.6).

Adapun fakta mengenai penurunan jumlah koloni *Acinetobacter baumannii* seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak kulit buah manggis yang diperoleh dari hasil penelitian dan analisis data menggunakan statistik, serta diperkuat dengan adanya teori bahwa kulit buah manggis mengandung bahan aktif yang bersifat antibakteri, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak kulit buah manggis terbukti efektif bersifat antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan dan membunuh *Acinetobacter baumannii*. Sehingga hal ini membuktikan bahwa hipotesis yang disusun sebelumnya adalah benar.

6.4 Aplikasi Klinis Ekstrak Kulit Buah Manggis sebagai Antibakteri

Aplikasi klinis yang diharapkan dapat diterapkan dimasa mendatang dari penelitian ini adalah pemanfaatan ekstrak kulit buah manggis sebagai bahan dasar industri obat herbal berupa sediaan obat oral yang dapat digunakan sebagai alternatif penggunaan antibakteri terhadap infeksi bakteri *Acinetobacter baumannii*. Namun, dalam membuat dan menemukan suatu antibakteri dari bahan alam dibutuhkan proses yang kompleks sehingga nantinya didapatkan obat yang efektif, aman dan dengan toksisitas yang rendah.

Penelitian secara *in vivo* pada hewan coba bertujuan untuk memperkirakan dosis yang efektif (uji farmakologi) dan memperkecil resiko penelitian pada manusia (uji toksisitas). Selain untuk menentukan dosis efektif, uji farmakologi yang lain juga diperlukan untuk menguji zat-zat aktif yang terkandung dalam ekstrak kulit buah manggis dengan pelarut etanol yang dapat bersifat sebagai antibakteri atau menimbulkan efek samping yang berbahaya bagi manusia. Selain uji farmakologi, dan toksisitas, juga diperlukan uji klinis untuk menguji

efeknya pada manusia yang bertujuan untuk memastikan efektivitas, keamanan dan gambaran efek samping yang sering muncul dari pemakaian ekstrak kulit buah manggis (Ganiswarna dkk, 2005).

