

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Hasil Identifikasi Bakteri *Shigella dysenteriae*

Isolat bakteri *Shigella dysenteriae* yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Sebelum digunakan untuk penelitian, dilakukan beberapa uji identifikasi terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* yaitu penggoresan pada media *Mac Conkey*, pewarnaan Gram, dan *Microbact Test*. Hasil dari penggoresan pada media *Mac Conkey* menunjukkan koloni bakteri yang bulat, cembung, dan berwarna pucat (tidak memfermentasikan laktosa, khas pada *Shigella dysenteriae*). Pada uji pewarnaan Gram menunjukkan bakteri berbentuk batang dan berwarna merah, sedangkan dari uji *Microbact Test* diperoleh hasil 95,79% artinya bakteri yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah 95,79% benar-benar bakteri *Shigella dysenteriae*.

6.2 Ekstrak Etanol Daun Pecut Kuda

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun pecut kuda (*Stachytarpheta jamaicensis L. (Vahl)*) yang diekstrak dengan ekstraksi maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Pertimbangan peneliti menggunakan pelarut etanol dibandingkan metanol adalah toksisitas etanol lebih rendah dari metanol (Darmono, 2003). Beberapa penelitian menggunakan pelarut etanol menghasilkan rendaman ekstrak dan bioaktivitas yang lebih tinggi dibanding ekstraksi menggunakan pelarut air (Siregar, 2009). Senyawa flavonoid dan tanin dapat larut dalam pelarut polar seperti methanol, etanol, etil asetat atau pelarut

polar lainnya. Sedangkan saponin dapat larut dalam air dan etanol tetapi tidak larut dalam eter (Paturau *et al.*, 1986; Harbourne, 1984; Yuliana, 2012).

6.3 Hasil Kadar Hambat Minimal (KHM) Ekstrak Etanol Daun Pecut Kuda

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya efek ekstrak etanol daun pecut kuda *Stachytarpheta jamaicensis* L. (Vahl) sebagai antimikroba terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* secara *in vitro*. Penentuan KHM pada penelitian ini menggunakan metode dilusi agar dengan cara mengetahui ada tidaknya pertumbuhan koloni pada media NAP. Konsentrasi ekstrak daun pecut kuda *Stachytarpheta jamaicensis* L. (Vahl) yang digunakan adalah 15%, 16%, 17%, 18%, dan 19%. Konsentrasi ini didapatkan melalui hasil penelitian pendahuluan terlampir.

Pada penelitian pendahuluan, dilakukan percobaan penentuan KHM dengan menggunakan metode dilusi tabung. Penentuan KHM pada dilusi tabung dilakukan dengan cara mengamati tingkat kekeruhan pada masing-masing tabung setelah diinkubasikan selama 18-24 jam pada suhu 35°C (Dzen dkk, 2003). Ekstrak daun pecut kuda berwarna cokelat keruh. Sebelum diinkubasikan warnanya sudah terlihat sangat keruh meskipun apabila dibandingkan dengan konsentrasi lain memiliki tingkat kekeruhan yang berbeda-beda (gambar dapat dilihat dalam lampiran 2). Akibat kekeruhan tersebut, maka penentuan KHM ekstrak etanol daun pecut kuda terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* tidak dapat menggunakan metode dilusi tabung. Kemudian penentuan KHM dicoba dengan menggunakan metode difusi cakram.

Penentuan KHM pada difusi cakram berdasarkan pada zona hambatan pertumbuhan bakteri yang ada di sekeliling kertas cakram yang ditandai dengan zona berwarna jernih, dimana kertas cakram sudah direndamkan terlebih dahulu

dengan ekstrak etanol daun pecut kuda kemudian ditanam pada media NAP yang telah digoreskan dengan bakteri *Shigella dysenteriae* dan diinkubasi pada suhu 35°C selama 18-24jam. Interpretasi daerah hambatan pertumbuhan koloni bakteri mengacu pada standar umum obat asal tanaman yakni diameter daya hambat berukuran 12-24 mm (Departmen Kesehatan, 1998). Berdasarkan hasil uji difusi cakram tidak didapatkan zona hambatan yang berkisar 12-24 mm meskipun ekstrak yang digunakan mencapai 100% (d= 11 mm) (Gambar dapat dilihat pada lampiran 3). Hal ini menyebabkan penentuan KHM ekstrak etanol daun pecut kuda terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* tidak dapat menggunakan metode difusi cakram. Maka, penentuan KHM pada penelitian ini menggunakan metode dilusi agar, dimana perubahan yang diamati adalah adanya pertumbuhan koloni bakteri pada media NAP yang telah ditetesi dengan bakteri *Shigella dysenteriae* dan diinkubasi pada suhu 35°C selama 18-24 jam.

KHM merupakan konsentrasi terkecil yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Peneliti menetapkan konsentrasi 17% sebagai KHM karena pertumbuhan koloni bakteri *Shigella dysenteriae* pada konsentrasi ini sudah tidak terlihat.

Sebelumnya telah dilakukan beberapa penelitian terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* menggunakan berbagai macam ekstrak berbahan herbal untuk mengetahui kadar hambat minimal ekstrak tersebut. Sari (2010) melakukan penelitian dengan menggunakan ekstrak etanol rimpang kunyit sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan *Shigella dysenteriae*. Penelitian tersebut menggunakan metode dilusi tabung dan didapatkan KHM sebesar 25%. Hastuti (2012) meneliti tentang uji efektivitas ekstrak daun dan buah murbei sebagai antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae*. Dalam penelitian tersebut daun murbei

memiliki efek antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae* dengan KHM sebesar 95% sedangkan buah murbei sebesar 85%. Dari ketiga ekstrak diatas, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun pecut kuda lebih efektif dalam menghambat bakteri *Shigella dysenteriae* dengan KHM sebesar 19%.

6.4 Hasil Kadar Bunuh Minimal (KBM) Ekstrak Etanol Daun Pecut Kuda

Setelah menentukan KHM, dilanjutkan dengan menentukan Kadar Bunuh Minimal (KBM) secara kuantitatif. Hasil dilusi tabung digoreskan pada NAP dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. KBM ditentukan dengan cara melihat konsentrasi media NAP yang pertumbuhan koloninya < 0,1% OI (*Original inoculum*). Dalam penelitian ini, didapatkan KBM pada konsentrasi 19%, dimana jumlah koloni < 0,1% dari OI (*Original inoculum* = 336 x 10⁴ CFU/ml). Sebelum menentukan KBM, telah dilakukan perhitungan jumlah koloni bakteri pada masing-masing konsentrasi.

Data jumlah koloni yang diperoleh dengan 4 kali pengulangan untuk mengurangi bias. Data dianalisis dengan uji statistik menggunakan software SPSS 15.0. Uji statistik yang digunakan adalah uji *One Way Anova*, uji multi komparasi *Pos Hoc Tukey*, uji korelasi Parametrik *Pearson*, dan uji regresi linier. Semua analisis dihitung berdasarkan batas kepercayaan 95%, artinya kemungkinan kesalahan hasil penelitian berkisar 5%. Sebelum dilakukan uji *One Way Anova*, dilakukan uji normalitas dan homogenitas sebagai uji prasyarat uji *One Way Anova*. Dari hasil uji *Kolmogorov – Smirnov*, distribusi data jumlah koloni tidak normal ($p = 0,000$) dan dari uji homogenitas menyatakan data tidak homogen ($p = 0,009$). Setelah itu dilakukan transformasi data dalam bentuk logaritma sehingga diperoleh data yang terdistribusi normal (*Kolmogorov-Smirnov*, $p=0,108$) serta homogen ($p=0,065$). Maka uji beda yang dilakukan

adalah uji beda *One Way Anova*. Dari uji beda *One Way Anova* ($p = 0,002$), dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun pecut kuda *Stachytarpheta jamaicensis* L. (Vahl) memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan jumlah koloni bakteri.

Uji komparasi *Pos Hoc Tukey* menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($p = 0,000$) pada semua kelompok perlakuan jika dibandingkan antar kelompok perlakuan dan konsentrasi 19% masih lebih baik dari pada dosis lain dalam menurunkan jumlah koloni secara signifikan.

Uji korelasi Parametrik *Pearson* menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang signifikan antara konsentrasi ekstrak terhadap jumlah koloni bakteri ($p < 0,05$). Hal ini berarti semakin tinggi konsentrasi, maka semakin rendah jumlah koloni (r bernilai negatif).

Uji Regresi Linier memberikan nilai R^2 96,9%, menunjukkan bahwa sebanyak 96,9% jumlah koloni bakteri dipengaruhi oleh paparan ekstrak, sedangkan 3,1% dipengaruhi oleh faktor lain, seperti resistensi bakteri terhadap ekstrak, penyimpanan ekstrak yang lama sehingga menurunkan daya kerjanya, suhu pada saat penyimpanan ekstrak, atau adanya kesalahan lain yang dilakukan saat penelitian.

Penelitian Santoso (2010) mengenai efek ekstrak etanol bunga kamboja sebagai antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae* menggunakan 5 konsentrasi yaitu 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, dan 35%. Dari penelitian ini didapatkan KBM sebesar 35%. Berbeda dengan penelitian yang dilakukan Rinyani (2007) mengenai efek antibakteri ekstrak etil asetat daun sendok terhadap *Shigella dysenteriae*, KBM yang didapatkan sebesar 45%. Ekstrak etanol daun salam

juga digunakan sebagai antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae* yang memberikan hasil KBM sebesar 30% (Wijaya, 2011).

Penurunan pertumbuhan jumlah koloni bakteri *Shigella dysenteriae* dalam penelitian ini diduga karena efek dari ekstrak etanol daun pecut kuda yang mengandung senyawa-senyawa kimia aktif. Senyawa kimia aktif yang dimiliki daun pecut kuda anatara lain, alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin. Masing-masing senyawa tersebut memiliki sifat antimikroba dengan mekanisme berbeda-beda (Ikechukwu, 2010).

Alkaloid mempunyai berbagai macam efek seperti penyimpanan nitrogen, sumber pengatur pertumbuhan seperti merangsang perkecambahan, dan mempertahankan keseimbangan basa mineral dalam mempertahankan keseimbangan ion dalam tumbuhan (Robinson, 1995). Alkaloid juga memiliki kemampuan sebagai antimikroba. Mekanisme ini diduga dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel bakteri tersebut (Juliantina, 2012).

Flavonoid merupakan substansi fenolik yang dapat ditemukan pada hampir semua bagian tumbuhan (Soeka, 2007). Bagian jaringan luar yang berwarna seperti kulit buah, merupakan tempat konsentrasi tertinggi dari flavonoid (Machlin, 1991). Flavonoid diduga memiliki efek antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu integritas membran sel bakteri. Senyawa ini juga mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membrane sel bakteri tanpa dapat diperbaiki lagi (Arsyi, 2008).

Saponin merupakan suatu glikosida yang dapat ditemukan di banyak tanaman dengan konsentrasi tertinggi di beberapa bagian tertentu. Pada tumbuhan, saponin memiliki berbagai fungsi yaitu sebagai bentuk penyimpanan karbohidrat, merupakan *waste product* dari metabolisme, dan sebagai pelindung terhadap serangan serangga. Beberapa jenis saponin digunakan dalam dunia farmasi sebagai antimikroba dengan cara merusak membran sitoplasma dan membunuh sel bakteri (Arsyi, 2008). Saponin juga bekerja dengan menghambat enzim DNA polimerase sehingga terjadi hambatan pada sintesa asam nukleat bakteri (Davidson, 2004).

Tanin adalah senyawa kimiawi golongan fenol yang larut dalam air. Tanin dapat menyebabkan denaturasi protein suatu mikroba dengan membentuk ikatan kompleks pada protein. Hal ini dapat merusak ketersediaan reseptor pada permukaan sel bakteri dengan cara menginaktivasi adhesin bakteri (molekul untuk menempel pada sel inang) yang terdapat pada permukaan sel (Asti, 2009).

Telah dilakukan beberapa penelitian mengenai ekstrak tanaman pecut kuda serta keefektivannya terhadap pertumbuhan bakteri, jamur, dan virus. Idu (2007) meneliti tentang ekstrak alkohol batang pecut kuda terhadap berbagai jenis bakteri gram negatif yaitu *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, dan *Proteus mirabilis*. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa ekstrak alkohol batang pecut kuda terbukti memiliki efek antibakteri dengan KHM sebesar 500mg/ml terhadap bakteri- bakteri gram negatif diatas (*Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, dan *Proteus mirabilis*).

Tidak hanya pada bakteri gram negatif, ekstrak tanaman pecut kuda juga memiliki efek antibakteri terhadap bakteri gram positif. Hal ini terbukti dengan penelitian yang dilakukan oleh Sasidharan (2007) mengenai efek ekstrak metanol

daun pecut kuda sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus epidermidis*. Dari penelitian tersebut, dapat disimpulkan bahwa ekstrak metanol daun pecut kuda memiliki efek antibakteri terhadap *Staphylococcus epidermidis* dengan KHM sebesar 5.00 mg/ml.

Efek dekok daun pecut kuda terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans* telah diteliti oleh Winarsih (2005). Dalam penelitian ini, didapatkan adanya hambatan pertumbuhan jamur yang signifikan dengan KHM sebesar 45%. Tanaman pecut kuda juga memiliki efek antivirus terhadap *Adenovirus ADV-II* walaupun mekanisme hambat tersebut masih belum jelas (Taylor, 2004).

Dari pemaparan di atas, dapat diketahui bahwa tanaman pecut kuda sangat bermanfaat dalam dunia medis. Senyawa kimia seperti alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin dari ekstrak etanol daun pecut kuda *Stachytarpheta jamaicensis* L. (Vahl) berpotensi sebagai antimikroba terhadap *Shigella dysenteriae* secara *in vitro*. Hal ini sesuai dengan hipotesis dan dapat dibuktikan dengan didaptkannya KBM yang signifikan setelah dianalisis secara statistik. Efek ekstrak etanol daun pecut kuda sebagai antimikroba terhadap *Shigella dysenteriae* secara *in vivo* pada manusia serta uji lanjutan mengenai farmakologi, farmakokinetik, dan toksisitas belum di eksplorasi. Perbedaan geografi antar negara dan antar daerah dalam suatu negara juga perlu diperhitungkan. Selain itu, pengujian terhadap efek samping jangka pendek dan jangka panjang juga perlu dilakukan. Cara pengemasan juga perlu diperhatikan. Maka dari itu penelitian ini masih belum bisa diterapkan langsung secara klinis dalam bidang pengobatan.

Penelitian di atas menunjukkan ekstrak etanol daun pecut *Stachytarpheta jamaicensis* L. (Vahl) kuda mempunyai KHM sebesar 17% dan KBM sebesar

19% terhadap *Shigella dysenteriae* serta diperkuat dengan hasil analisis statistik parametrik yang mempunyai nilai kepercayaan yang tinggi. Bila dihubungkan dengan hipotesis yang telah disusun sebelumnya, yaitu ekstrak etanol daun pecut kuda efektif sebagai antimikroba terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*, maka hipotesis dapat diterima dan benar adanya. Maka dari itu, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun pecut kuda terbukti efektif sebagai antimikroba terhadap *Shigella dysenteriae* secara *in vitro*.

