

BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk membuktikan bahwa ekstrak rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata K.Schum*) memiliki efek antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* secara *in vitro* yang dilakukan dengan metode dilusi agar. Metode ini digunakan untuk mengetahui kadar bunuh minimal (KBM). Penentuan KBM dengan melihat secara langsung ada atau tidaknya pertumbuhan koloni bakteri *Staphylococcus aureus* yang terlihat, yang diinokulasi pada medium dilusi agar pada suhu 37⁰C selama 18-24 jam.

Isolat bakteri *Staphylococcus aureus* yang digunakan berasal dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Sebelum digunakan bakteri diidentifikasi terlebih dahulu dengan pengecatan gram, uji katalase, uji koagulase dan penanaman bakteri ke media *Manitol Salt Agar (MSA)*. Dari hasil pengecatan didapatkan bakteri gram positif (berwarna ungu), berbentuk *coccus*, dan bergerombol. Dari uji katalase didapatkan hasil positif yang ditandai dengan munculnya gelembung udara pada suspensi bakteri yang ditetesi H₂O₂ 3%, hal ini sesuai dengan sifat bakteri *Staphylococcus aureus* yang menghasilkan enzim katalase. Enzim tersebut mengurai H₂O₂ menjadi H₂O dan O₂ sehingga muncul gelembung udara. Dari uji koagulase didapatkan hasil positif yang ditandai dengan terbentuknya gumpalan-gumpalan putih (*clumping*) pada objek yang ditetesi *staphaurex* dan suspensi bakteri. Hal ini sesuai dengan sifat bakteri *Staphylococcus aureus* yang mempunyai hasil enzim koagulase dan ini membedakan antara *Staphylococcus aureus* dengan *Staphylococcus sp* yang lain. Dari penanaman bakteri pada medium MSA diperoleh gambaran daerah

terang berwarna kuning yang menggambarkan sifat bakteri *Staphylococcus aureus* memfermentasi manitol.

Senyawa aktif ekstrak rimpang lengkuas merah didapatkan melalui proses ekstraksi dengan cara maserasi dari 100 gram serbuk rimpang lengkuas merah dan menggunakan pelarut etanol 96%. Etanol digunakan sebagai bahan pelarut karena senyawa aktif (eugenol dan galangin) antibakteri yang tergantung dalam rimpang lengkuas merah bersifat larut etanol. Meskipun menggunakan etanol, efek antimikroba ekstrak rimpang lengkuas merah terhadap *Staphylococcus aureus* diperkirakan bukan dari etanol karena dalam proses pembuatannya ekstrak telah mengalami proses evaporasi untuk memisahkan bahan aktif dari etanol dan pemanasan menggunakan oven pada suhu 80°C selama 2 jam, sedangkan titik didih etanol 78°C sehingga diperkirakan sisa etanol yang masih ada telah menguap. Hasil ekstrak yang didapatkan berupa 13,21 ml cairan pekat berwarna merah kecoklatan, mengandung endapan dan berbau khas rimpang lengkuas merah.

Konsentrasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak rimpang lengkuas merah dengan variasi 0,2%; 0,4%; 0,6%; 0,8%; 1%; dan 2%. Besarnya konsentrasi tersebut ditentukan berdasarkan penelitian pendahuluan yang dilakukan sebelumnya.

Dalam menentukan KBM, yang diamati adalah ada atau tidaknya pertumbuhan koloni yang terlihat pada media yang ditetesi 10^4 CFU/10 μ l bakteri *Staphylococcus aureus* dan diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Nilai KBM dari ekstrak rimpang lengkuas merah pada penelitian ini didefinisikan sebagai konsentrasi dimana tidak ada pertumbuhan yang terlihat dari bakteri *Staphylococcus aureus*. Kemudian dari *plate* yang masih ditemukan adanya

pertumbuhan koloni bakteri dilakukan pengamatan menggunakan histogram pada program Corel Photo Paint X6 untuk menilai ketebalan koloni dari tingkat kecerahannya, karena ketebalan suatu objek berkorelasi positif dengan tingkat kecerahannya. Dari hasil pengamatannya didapatkan bakteri tidak tumbuh pada konsentrasi 2% pada pengulangan 1, 2, 3, dan 4. Hasil dari histogram untuk melihat rata-rata tingkat keterangannya yang ada dalam koloni konsentrasi 0,2%; 0,4%; 0,6%; 0,8%; 1%; dan 2% saling dibandingkan dan menunjukkan adanya perbedaan rata-rata tingkat keterangan, yaitu makin berkurang seiring kenaikan konsentrasi.

Berdasarkan uji analisis Kruskal Wallis, nilai (p) dari perlakuan ekstrak terhadap bakteri adalah $<0,05$ yang berarti terdapat perbedaan efek dari setiap pemberian konsentrasi ekstrak rimpang lengkuas merah terhadap pertumbuhan koloni bakteri, kemudian dilakukan uji Mann Whitney yang merupakan analisis *post hoc* untuk uji Kruskal Wallis dan hasilnya juga nilai (p) $<0,5$. Untuk menguji kekuatan hubungan antara variabel koloni dilakukan uji korelasi Spearman. Hasil dari uji korelasi ini menunjukkan adanya korelasi yang sangat kuat dan berkebalikan antara dua variabel tersebut. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak menyebabkan semakin sedikit koloni yang tumbuh.

Pada penelitian yang dilakukan Yulinar, dkk, tahun 2013, mengenai penggunaan ekstrak etanol rimpang lengkuas merah sebagai antibakteri pada bakteri *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dengan metode difusi agar, menunjukkan bahwa ekstrak etanol rimpang lengkuas merah efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dengan daya hambatan yang efektif pada konsentrasi 20% yakni 18,5-17,2 mm untuk *Bacillus cereus* dan 18,7-19,3 mm untuk *Pseudomonas*

aeruginosa. Jika dibandingkan, maka pada penelitian ini, efektivitas ekstrak rimpang lengkuas merah jauh lebih tinggi daripada penelitian tersebut. Dimana kadar konsentrasi yang dibutuhkan untuk menghambat pertumbuhan bakteri uji pada penelitian ini, hanya pada konsentrasi 2 %.

Sedangkan pada penelitian yang berkaitan dengan penggunaan ekstrak tanaman sebagai antibakteri pada bakteri MRSA, rimpang lengkuas merah bisa dibandingkan dengan daun jambu biji, yang diteliti oleh Ekoputro pada tahun 2010. Pada penelitian itu, digunakan 5 konsentrasi uji ekstrak, yaitu 1%; 1,5%; 2%; 2,5%; dan 3%. Metode penelitian yang digunakan yaitu dilusi tabung. Dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) nya pada konsentrasi 3%. Dengan demikian, ekstrak rimpang lengkuas merah, masih lebih efektif sebagai antibakteri daripada ekstrak daun jambu biji, dengan KBM 2 %.

Efek bunuh ekstrak rimpang lengkuas merah terhadap *Staphylococcus aureus* diperankan oleh eugenol dan galangin yang memiliki efek antibakteri. Yang mana keduanya menyebabkan dinding sel dan membran sel bakteri *Staphylococcus aureus* rusak.

Keterbatasan penelitian ini antara lain pada metode pembuatan ekstrak yang bersifat acak dan kasar, sehingga tidak diketahui secara pasti bahan aktif antibakteri apa saja yang terkandung di dalamnya. Selain itu, jumlah pasti masing-masing bahan aktif yang dihasilkan dari proses ekstraksi tidak diketahui secara pasti. Bahan aktif tersebut dapat bekerja sendiri-sendiri ataupun bersama-sama untuk membunuh bakteri MRSA. Selain itu, tidak ada standarisasi pembuatan ekstrak bahan alam, sehingga apabila dilakukan pembuatan ekstrak di laboratorium yang berbeda, maka bisa jadi akan didapatkan hasil yang berbeda-beda. Adanya variasi biologis dari masing-masing tanaman lengkuas

merah juga dapat mempengaruhi jumlah bahan aktif antibakteri. Sebagai misal, kelor yang tumbuh di daerah tertentu bisa jadi memiliki kandungan yang berbeda dengan yang tumbuh di daerah lain. Faktor lain yang dapat mempengaruhi adalah lamanya masa penyimpanan ekstrak. Semakin lama disimpan, maka sensitifitas ekstrak biasanya akan menurun. Akan tetapi ada beberapa ekstrak yang mengalami peningkatan efek.

Walaupun demikian, dengan melihat fakta hasil penelitian, yaitu tidak ada koloni yang terlihat pada konsentrasi ekstrak rimpang lengkuas merah 2% dan didapatkan efek antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* yang meningkat seiring dengan kenaikan konsentrasi perlakuan, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata K.schum*) terbukti memiliki antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*.

Namun, aplikasi klinis ekstrak rimpang lengkuas merah sebagai antibakteri untuk manusia masih memerlukan penelitian lebih lanjut untuk mencari kandungan spesifik yang berperan sebagai antibakteri. Penelitian dosis efektif, dosis lethal dan efek samping juga perlu dilakukan untuk bisa mengaplikasikannya dalam praktik klinis.