

BAB VI

PEMBAHASAN

Penelitian eksperimental ini bertujuan untuk mengetahui adanya pengaruh ekstrak daun cengkeh (*Syzygium aromaticum*) terhadap *Streptococcus pyogenes* secara *in vitro*. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode dilusi tabung (*tube dilution test*). Metode ini dapat mengukur Kadar Hambat Minimum (KHM) yang diamati secara kualitatif dari tingkat kekeruhan tabung dilusi dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) yang dilihat dari pertumbuhan koloni bakteri pada *Brain Heart Infusion* (BHI) < 0,1 % *original inoculums* (Dzen dkk, 2003) Penelitian ini juga dilakukan sehingga dapat diketahui hubungan konsentrasi ekstrak daun cengkeh terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes*.

Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Tes identifikasi telah dilakukan terhadap bakteri ini yaitu dengan pewarnaan Gram, penanaman pada *Blood Agar Plate*, tes katalase dan tes cakram basitrasin. Pada pewarnaan Gram menunjukkan bakteri berbentuk bulat (*coccus*) dan berwarna ungu, hal ini menunjukkan bahwa bakteri tersebut merupakan bakteri Gram positif. Pada penanaman di *Blood Agar Plate*, koloni *Streptococcus pyogenes* membuat sebagian *plate* tampak bening karena memiliki sifat β -hemolitik (Cunningham, 2000). Pada tes katalase, tidak terdapat adanya gelembung udara saat perbenihan cair pada *object glass* yang ditetesi dengan H_2O_2 3% (negatif). (Marlina, 2008). Tes cakram basitrasin pada koloni ini menunjukkan bahwa

Streptococcus pyogenes membuat zona inhibisi di sekitar cakram di area *plate* yang tampak translusen (Dzen dkk, 2003)

Ekstrak daun cengkeh (*Syzygium aromaticum*) merupakan proses ekstraksi simplisia menggunakan pelarut etanol 96% dengan beberapa kali pengadukan pada suhu ruangan. Dengan metode ini, zat-zat aktif yang tahan terhadap pemanasan maupun yang tidak tahan pemanasan dapat ditarik hingga mendapatkan hasil berupa ekstrak kental. Pada penelitian ini digunakan konsentrasi 0.8%, 1%, 1.2%, 1.4%, 1.6% yang didapatkan dengan metode pengenceran seri. Daun cengkeh (*Syzygium aromaticum*) didapatkan dari Dinas Kesehatan Propinsi Jawa Timur UPT Materia Medica Batu.

Ekstrak daun cengkeh berwarna coklat tua kekuningan dan tampak keruh sebelum diinkubasi. KHM (Kadar Hambat Minimum) ditentukan melalui uji dilusi tabung (Rollins, 2000). KHM ditentukan dengan pengamatan kualitatif untuk mengamati tingkat kekeruhan pada tabung berdasarkan garis hitam yang tampak di balik tabung. Pada konsentrasi ekstrak 1% tabung terlihat mulai jernih dibandingkan konsentrasi ekstrak 0.8% dan semakin bertambah jernih sesuai dengan penambahan konsentrasi ekstrak. Berdasarkan pengamatan dapat disimpulkan nilai KHM (Kadar Hambat Minimum) ekstrak daun cengkeh (*Syzygium aromaticum*) terhadap pertumbuhan *Streptococcus pyogenes* didapatkan pada konsentrasi 1%.

Tiap konsentrasi ekstrak daun cengkeh pada tabung yang sudah ada di-*streaking* penuh dalam BHIA (*Brain Heart Infusion Agar*) setelah tabung-tabung itu diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C dan diamati tingkat kekeruhannya untuk melihat KHM. Sebelum di-*streaking*, tabung dengan konsentrasi 0.8% dan 1% dilakukan pengenceran dengan larutan NaCl

sebanyak 100x dan pada konsentrasi 1.2% dilakukan pengenceran NaCl sebanyak 10x. Hal ini dilakukan karena apabila tidak diencerkan maka akan didapatkan pertumbuhan koloni bakteri yang tidak dapat dihitung (terlalu padat), sehingga pengenceran ini bertujuan untuk memudahkan penghitungan jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada BHI dengan konsentrasi ekstrak yang sebenarnya. BHI diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam dan setelah diinkubasi, dihitung pertumbuhan koloni pada masing-masing *plate*. KBM dari penelitian ini adalah pada konsentrasi 1,6%. Penentuan nilai KBM didasarkan pada jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada konsentrasi perlakuan < 0,1% dari jumlah pada *Original Inoculum* (OI) (Kartono, 2011).

Hasil perhitungan jumlah koloni bakteri ini dianalisis dengan SPSS versi 16 untuk *windows*, menggunakan uji statistik *One way ANOVA*, Uji korelasi dan Uji regresi. Berdasarkan hasil uji *One Way ANOVA*, menunjukkan angka signifikansi 0,000 ($p < 0,05$). Hal ini berarti perubahan konsentrasi ekstrak daun cengkeh terhadap jumlah koloni rata-rata isolat bakteri *Streptococcus pyogenes* adalah berbeda secara signifikan pada taraf kepercayaan 95%. Pada uji korelasi didapatkan nilai signifikan 0,000 dan koefisien korelasi -0,762 yang berarti pemberian ekstrak daun cengkeh mempunyai hubungan (korelasi) yang signifikan dengan jumlah koloni bakteri *Streptococcus pyogenes* dengan arah korelasi negatif, artinya semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun cengkeh cenderung akan menurunkan jumlah bakteri *Streptococcus pyogenes*. Berdasarkan uji regresi dapat diketahui seberapa besar pengaruh pemberian ekstrak daun cengkeh terhadap jumlah koloni bakteri *Streptococcus pyogenes*. Hasil persamaan regresi liniernya adalah $Y = 114924,0 - 8133,62X$, dimana Y adalah jumlah koloni bakteri *Streptococcus pyogenes*, sedangkan X adalah

konsentrasi daun cengkeh. Nilai koefisien determinasi (R^2) yang didapatkan sebesar 58,1% mempunyai arti bahwa pemberian ekstrak daun cengkeh dalam menurunkan jumlah koloni bakteri *Streptococcus pyogenes* sebesar 58,1%, sedangkan sisanya 41,9% disebabkan oleh faktor-faktor lain yang tidak diteliti.

Efek antibakteri daun cengkeh terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes* diperkirakan diperankan oleh zat-zat aktif yang larut dalam etanol, sebab metode ekstraksi dalam penelitian ini menggunakan pelarut etanol. Diperkirakan zat-zat yang larut dalam etanol adalah minyak atsiri, flavonoid dan saponin triterpenoid. Minyak atsiri berperan sebagai antibakteri dengan cara mengganggu proses terbentuknya membran atau dinding sel sehingga tidak terbentuk atau terbentuk tidak sempurna (Khunaifi, 2010). Flavonoid menyebabkan gangguan permeabilitas membran sel atau perubahan fosfolipid sehingga terjadi kebocoran parsial isi sitoplasma (Murhadi, 2010). Saponin triterpenoid dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan mekanisme penghambatan terhadap sintesis protein dan menyebabkan perubahan komponen-komponen penyusun sel bakteri itu sendiri (Rosyidah dkk., 2010). Melihat fakta hasil penelitian yakni adanya penurunan jumlah bakteri *Streptococcus pyogenes* seiring dengan peningkatan konsentrasi perlakuan yang diperkuat dengan adanya data bahwa daun cengkeh mengandung bahan aktif yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes*, maka dapat dikatakan bahwa daun cengkeh berkhasiat sebagai antibakteri terbukti mampu menurunkan jumlah koloni *Streptococcus pyogenes*. Hal ini membuktikan bahwa hipotesis yang telah disusun sebelumnya adalah benar.

KHM dan KBM yang diperoleh dari penelitian ini menunjukkan nilai konsentrasi yang lebih kecil dibandingkan dengan penelitian sebelumnya tentang efek antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak daun cengkeh memberi efek antibakteri mulai konsentrasi 10% (Shirly dkk., 2008). Hal ini menyimpulkan bahwa adanya efektivitas ekstrak daun cengkeh yang lebih tinggi terhadap bakteri *Streptococcus pyogenes*.

Uji lanjutan mengenai farmakokinetik, farmakodinamik, toksisitas, efek samping juga uji secara *in vivo* dari ekstrak ini sendiri masih diperlukan. Selain itu, perbedaan geografi antar negara dan antar daerah dalam satu negara, perlu diperhitungkan. Hal lain yang harus diperhatikan lagi adalah metode ekstraksi yang lebih efektif masih perlu dicari. Akibat berbagai hal di atas, penelitian ini masih belum dapat diterapkan secara langsung dalam kasus-kasus infeksi yang disebabkan oleh *Streptococcus pyogenes*. Oleh karena itu masih diperlukan penelitian yang lebih luas dari penelitian ini agar nantinya dapat diaplikasikan secara klinis pada manusia.