

BAB 6

PEMBAHASAN

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui sejauh mana efektivitas ekstrak etanol kulit buah manggis sebagai antimikroba terhadap bakteri *Streptococcus mutans* secara in vitro. Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode dilusi tabung (*tube dilution test*). Metode dilusi tabung ini digunakan untuk menentukan KHM (Kadar Hambat Minimal) dan KBM (Kadar Bunuh Minimal) dari suatu ekstrak (Dzen dkk., 2003).

Bakteri yang digunakan adalah *Streptococcus mutans* yang sudah diidentifikasi terlebih dahulu dengan beberapa tes, yaitu pengecatan gram yang menunjukkan warna ungu (menunjukkan bakteri gram positif) karena kemampuan untuk menyerap dan mempertahankan warna kristal violet yang ditetaskan (Dzen, 2006) serta menunjukkan bakteri berbentuk bulat (*coccus*). Tes katalase menunjukkan hasil negatif. Pada bakteri katalase negatif, tidak ditemukan adanya pembentukan gelembung udara, hal ini berarti H₂O₂ yang diberikan tidak dipecah oleh bakteri katalase – sehingga H₂O₂ meracuni bakteri itu sendiri. Pada bakteri katalase – tidak ditemukan adanya enzim katalase yang dapat menguraikan H₂O₂ (Pelczar and Chan, 2005). Tes ini bertujuan untuk membedakan *Streptococcus* dengan *Staphylococcus*. Kemudian tes optochin menunjukkan hasil negatif (*Streptococcus mutans*) yang membedakannya dengan *Streptococcus pneumoniae*.

Kulit buah manggis yang digunakan pada penelitian didapatkan dari Materia Medika Batu. Sebelum diekstraksi, kulit buah manggis mengalami proses pengeringan terlebih dahulu. Setelah kering, dilakukan proses ekstraksi, kemudian dilakukan evaporasi. Untuk memperoleh efek maksimal zat aktif dari kulit buah manggis maka dilakukan ekstraksi dengan menggunakan bahan pelarut etanol 96%. Pada penelitian ini digunakan etanol sebagai pelarut, dikarenakan sifatnya yang dapat melarutkan seluruh bahan aktif yang terkandung dalam suatu bahan alami, baik bahan aktif yang bersifat polar, semipolar maupun non polar. Selain itu, pelarut etanol diketahui lebih aman (tidak bersifat toksik) jika dibandingkan dengan pelarut metanol (Tensiska *dkk.*, 2003). Meskipun menggunakan etanol, efek antimikroba dari ekstrak kulit buah manggis terhadap *Streptococcus mutans* bukan didapatkan dari pengaruh etanol, karena dalam pembuatan ekstrak telah dievaporasi pada suhu 80°C, sedangkan titik didih etanol adalah 78°C sehingga dengan demikian diharapkan seluruh pelarut etanol telah menguap. Setelah proses tersebut didapatkan ekstrak kulit buah manggis berupa larutan pekat berwarna coklat gelap. Untuk mendapatkan larutan yang benar-benar homogen, sebelum digunakan untuk pengujian efektivitas antimikroba, dilakukan proses sentrifugasi pada ekstrak kulit buah manggis.

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan beberapa macam konsentrasi ekstrak kulit buah manggis, dengan variasi konsentrasi 1%; 0,5%; 0,25%; 0,125%; 0,06% dan diulang sebanyak 4 kali pengulangan. Besarnya konsentrasi tersebut didapatkan dari penelitian pendahuluan (uji eksplorasi) yang sebelumnya telah dilakukan oleh peneliti.

Penentuan nilai KHM ekstrak kulit buah manggis didapatkan dengan melakukan pengamatan secara visual. Kadar Hambat Minimal (KHM) dapat ditentukan dengan tidak adanya kekeruhan pada tabung dengan cara melihat kejernihan tabung yang dibantu garis hitam yang berbeda ketebalannya sebagai latar belakang (Maulidi, 2011). Pada penelitian nilai KHM ekstrak kulit buah manggis tidak dapat diamati karena semakin tinggi konsentrasi ekstrak, hasil dilusi tabung semakin keruh dikarenakan semakin banyak jumlah ekstrak yang digunakan. Kekeruhan ini kemungkinan terjadi dikarenakan ekstrak kulit buah manggis banyak mengandung zat *tanin*. Menurut Kusaldi (2005), tanin dapat mengendapkan protein dan gelatin dalam BHIB sehingga keruh. Nilai KHM sebenarnya bisa didapatkan dengan metode lain seperti dilusi agar, difusi cakram (Kusaldi, 2005), namun metode tersebut membutuhkan waktu yang lama dan kegunaannya terbatas (Brooks *et al.*, 2007) sehingga pada penelitian ini tidak digunakan metode lain selain dilusi tabung dikarenakan keterbatasan waktu dan biaya.

Nilai KBM ekstrak kulit buah manggis didapatkan setelah dilakukan pengamatan visual tingkat kekeruhan tiap konsentrasi ekstrak kulit buah manggis pada tabung. Nilai KBM ditentukan dengan melakukan *streaking* pada media BHIA dan perhitungannya didapatkan $< 0,1\%$ dari jumlah OI (*Original Inoculum*) (Kartono, 2011). Pada penelitian ini didapatkan hasil rata-rata *Original Inoculums* (OI) sebanyak 1014 bakteri *Streptococcus mutans*. Pada konsentrasi 0,5% tidak terdapat pertumbuhan koloni bakteri *Streptococcus mutans* yang merupakan $< 0,1\%$ dari jumlah *Original Inoculums* (OI), sehingga KBM ekstrak kulit buah manggis didapat pada konsentrasi 0,5%. Data yang didapat kemudian di analisa menggunakan SPSS (*Statistical*

Product of Service Solution) versi 16.0 for windows. Analisis statistik yang dilakukan yaitu uji normalitas dan homogenitas data, uji korelasi-regresi dan uji *one-way* ANOVA (Maulidi, 2011). Pada hasil pengujian statistik didapatkan kesimpulan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak kulit buah manggis (*Garcinia mangostana*) yang diberikan maka semakin sedikit jumlah bakteri *Streptococcus mutans* yang tumbuh.

Berbagai penelitian untuk menguji efektivitas antimikroba kulit buah manggis telah dilakukan. Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah manggis memiliki efek antimikroba terhadap *Staphylococcus aureus* dengan nilai KBM terletak pada konsentrasi 6% (Liyana, 2009). Pada penelitian lain didapatkan bahwa ekstrak kulit buah manggis memiliki efek antimikroba terhadap bakteri *Eschericia coli* dengan nilai KBM pada konsentrasi 5% (Astrid, 2009). Berdasarkan penelitian-penelitian yang telah dilakukan, dapat dianalisis bahwa ekstrak kulit buah manggis memiliki daya antimikroba baik terhadap bakteri gram negatif dan bakteri gram positif. Kedua penelitian tersebut menguatkan penelitian yang dilakukan peneliti saat ini yaitu bahwa kulit buah manggis memiliki efek antimikroba dan dalam penelitian ini didapatkan nilai KBM 0,5%. Dilihat dari hasil tersebut bisa dikatakan ekstrak kulit buah manggis lebih efektif sebagai antimikroba terhadap bakteri gram positif.

Penelitian lain mengenai daya antimikroba ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap *Streptococcus mutans* didapatkan nilai Kadar Hambat Minimal (KHM) pada konsentrasi 1% dan Kadar Bunuh Minimal (KBM) pada konsentrasi 1,25% (Laila, 2011). Sedangkan pada penelitian ini, didapatkan kesimpulan bahwa ekstrak etanol kulit buah manggis (*Garcinia*

mangostana) memiliki daya antimikroba terhadap *Streptococcus mutans* nilai 0,5% dan nilai KHM tidak bisa didapatkan. Ekstrak etanol kulit buah manggis (*Garcinia mangostana*) tampak lebih baik jika dilihat dari nilai KBM (Kadar Bunuh Minimal) yang didapatkan dibandingkan dengan ekstrak etanol daun salam (*Syzygium polyanthum*). Lebih rendahnya nilai KBM yang didapat dari ekstrak etanol kulit buah manggis (*Garcinia mangostana*) bisa disebabkan karena berbagai faktor yaitu lama penyimpanan ekstrak dan pemakaian ekstrak etanol kulit buah manggis (*Garcinia mangostana*) yang masih baru serta bisa juga disebabkan karena kulit buah manggis lebih banyak mengandung zat-zat antimikroba daripada daun salam.

Kemampuan ekstrak kulit buah manggis sebagai antimikroba diduga karena peran dari zat-zat aktif yang terkandung didalamnya yaitu *triterpenoid*, *saponin*, *tanin* dan *xanthone*. Walaupun demikian masih terdapat banyak zat aktif lain yang juga terdapat di dalam kulit buah manggis yang turut membantu efek sebagai antimikroba. Menurut Bahri (2012) hasil skrining fitokimia pada simplisia kulit buah manggis dan ekstrak etanol kulit buah manggis mengandung senyawa kimia golongan *xanthone*, *saponin*, *tanin* dan *steroid/triterpenoid*.

Triterpenoid menghambat pertumbuhan bakteri dengan mekanisme penghambatan terhadap sintesis protein karena terakumulasi dan menyebabkan perubahan komponen-komponen penyusun sel bakteri itu sendiri (Siregar, 2012). Menurut Widiyati (2005), mekanisme antimikroba senyawa *triterpenoid* umumnya terjadi melalui pengerusakan membran sel bakteri karena senyawa *triterpenoid* cenderung lipofilik. Kerusakan membran sel dapat terjadi ketika senyawa aktif antimikroba bereaksi dengan sisi aktif

dari membran atau dengan melarutkan konstituen lipid dan meningkatkan permeabilitas. Peningkatan permeabilitas menyebabkan senyawa antimikroba dapat masuk ke dalam sel, setelah dalam sel, senyawa tersebut dapat melisis membran sel atau mengkoagulasi sitoplasma dari sel bakteri tersebut.

Senyawa saponin dapat bekerja sebagai antimikroba, dengan mekanisme kerja yaitu merusak membran sitoplasma dan membunuh sel (Farida *dkk.*, 2007). *Saponin* adalah suatu zat aktif yang dapat meningkatkan permeabilitas membran sehingga terjadi hemolisis sel. Apabila saponin berinteraksi dengan sel bakteri, maka bakteri tersebut akan rusak atau lisis (Poeloengan *dkk.*, 2010). Selain itu *saponin* diketahui dapat merusak membran sel bakteri dengan cara berinteraksi dengan lipid pada membran bakteri. Kerusakan membran sel tersebut bila terjadi terus-menerus akan menimbulkan gangguan pada permeabilitas sel bakteri sehingga bakteri tidak dapat melakukan aktifitas hidup dan akan berakibat terhambatnya pertumbuhan serta kematian bakteri (Bruneton, 2008).

Tanin diduga mampu mengkerutkan dinding sel bakteri sehingga dapat mengganggu permeabilitas sel. Terganggunya permeabilitas sel bakteri menyebabkan sel tersebut tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat atau mati (Ajizah, 2004). Mekanisme aktivitas antimikroba *tanin* secara garis besar adalah sebagai berikut: toksisitas *tanin* dapat merusak membran sel bakteri, senyawa *astringent tanin* dapat menginduksi pembentukan kompleks senyawa ikatan terhadap enzim atau substrat mikroba dan pembentukan suatu kompleks ikatan *tanin* terhadap ion logam yang dapat menambah daya toksisitas *tanin* itu sendiri (Akiyama, 2001).

Xanthone memiliki kemampuan membentuk kompleks dengan protein polipeptida dinding sel bakteri menjadi polimer senyawa amino atau yang disebut mukopeptida sehingga terjadi gangguan pada dinding bakteri sehingga mengakibatkan bakteri lisis (Belladonna, 2009). Menurut Putra (2010), mekanisme antimikroba *xanthone* diduga karena reaksi gugus karbonil pada *xanthone* dengan residu asam amino pada protein membran sel, enzim ekstraselular maupun protein dinding sel yang menyebabkan protein kehilangan fungsinya.

Berdasarkan hasil penelitian yang diperkuat dengan hasil analisis statistik dan pembahasan di atas, bila dihubungkan dengan hipotesis yang telah dikemukakan peneliti sebelumnya, yaitu ekstrak kulit buah manggis (*Garcinia mangostana*) memiliki efek sebagai antimikroba terhadap *Streptococcus mutans* secara in vitro, maka hipotesis ini dapat diterima. Dapat disimpulkan bahwa ekstrak kulit buah manggis terbukti memiliki efek sebagai antimikroba terhadap *Streptococcus mutans* dan ekstrak kulit buah manggis dapat digunakan sebagai pencegahan terhadap timbulnya karies gigi dalam bentuk obat kumur.