

BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek ekstrak daun kenanga sebagai antimikroba terhadap *Vibrio cholera* secara *in vitro*, yang dapat ditunjukkan dengan menentukan Kadar Hambat Minial (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM). Dalam penelitian ini metode yang digunakan adalah metode dilusi tabung dengan menggunakan media cair Nutrient Broth untuk menentukan Kadar Hambat Minial (KHM) dan Nutrient Agar Plate (NAP) untuk menentukan nilai dari Kadar Bunuh Minimal (KBM).

Penelitian ini menggunakan bakteri *Vibrio cholerae* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Sebelum bakteri digunakan untuk penelitian, dilakukan beberapa uji identifikasi ulang terhadap *V. cholerae*. Dari uji pewarnaan Gram, didapatkan sel bakteri berbentuk batang bengkok (koma) gram negatif dan berwarna merah, sedangkan dari uji *Microbact Test* diperoleh hasil 98,40% artinya bakteri yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah 98,40% benar-benar *V. cholerae*.

Ekstrak daun kenanga diperoleh melalui proses ekstraksi *soxhlet* dengan etanol 96 %, berbentuk cair, dengan konsentrasi 100% yang setara dengan 1000 mg/ml. Konsentrasi ekstrak daun kenanga yang digunakan adalah 20%, 21%, 22%, 23%, dan 24%. Kisaran konsentrasi ini didapat melalui hasil penelitian pendahuluan.

Berdasarkan penelitian pendahuluan, pada metode dilusi tabung didapatkan pengurangan jumlah bakteri pada konsentrasi 21% yang ditandai dengan mulai jernihnya tabung dan garis-garis hitam mulai kelihatan. Pada

metode NAP, didapatkan hasil yang sama, yaitu pada konsentrasi 21% koloni bakteri berkurang secara signifikan dan konsentrasi 24% sudah tidak ada koloni yang tumbuh. Berdasarkan penelitian pendahuluan, diduga bahwa konsentrasi efektif ekstrak daun kenanga terhadap *V.cholera* berkisar antara 21% hingga 23%.

Semakin jernih tabung berarti semakin sedikit jumlah bakteri yang tumbuh di sana, ini menunjukkan adanya aktivitas hambatan pertumbuhan bakteri oleh ekstrak daun kenanga dengan cara menghambat sintesis protein, adhesin, enzim *reverse transcriptase* dan DNA *topoisomerase*, metabolisme energi, dan menurunkan kekentalan membran, sedangkan tabung yang keruh menunjukkan tidak adanya aktivitas hambatan pertumbuhan bakteri. KHM merupakan konsentrasi terkecil yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri sehingga peneliti menetapkan konsentrasi 21% sebagai KHM karena kejernihan tabung mulai tampak pada konsentrasi ini meskipun tidak sejernih konsentrasi 22% atau 23%. Konsentrasi 21% menunjukkan kekeruhan yang mulai berkurang jika dibandingkan dengan konsentrasi 20% dan kontrol bakteri (0%), artinya pada konsentrasi 21% sudah mulai tampak aktivitas hambatan pertumbuhan bakteri.

Pada konsentrasi 20% dapat dilihat pertumbuhan koloni yang sangat banyak, sedangkan konsentrasi 21% jumlah koloni menurun secara signifikan. Hal ini dikarenakan pada konsentrasi 21% ekstrak daun kenanga baru bisa bekerja dengan baik pada dinding sel yang mengakibatkan lisisnya dinding sel dan berakhir pada lisisnya bakteri itu sendiri. Pada konsentrasi 20%, aktivitas senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak daun kenanga belum maksimal mempengaruhi dinding sel bakteri.

Setelah menentukan KHM, dilanjutkan dengan menentukan Kadar Bunuh Minimal (KBM) secara kuantitatif dengan perhitungan koloni *V.cholera* pada NAP. Hasil dilusi tabung digoreskan pada NAP dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil penggoresan digunakan untuk menentukan KBM (Kadar Bunuh Minimal). KBM ditentukan dengan melihat pertumbuhan koloni < 0,1% dari OI (*original inoculum*). Dari penanaman pada NAP, didapatkan KBM 24% di mana tidak didapatkan pertumbuhan koloni sama sekali atau jumlah koloni < 0,1% dari OI (*original inoculum* = 257×10^3 CFU/mL). Sebelum menentukan KBM, telah dilakukan perhitungan jumlah koloni pada masing-masing konsentrasi.

Data penelitian berupa hasil penghitungan jumlah koloni *Vibrio cholera* dari setiap konsentrasi ekstrak etanol biji pare, dianalisis dengan uji statistik *one-way* ANOVA dan dilanjutkan dengan uji korelasi dan regresi.

Penelitian ini menggunakan variable berupa perbedaan jumlah koloni bakteri *Vibrio cholera* pada tiap perlakuan pemberian ekstrak daun kenanga dengan variasi konsentrasi. Untuk mengetahui adanya perbedaan pengaruh dari berbagai konsentrasi ekstrak daun kenanga terhadap jumlah koloni bakteri *Vibrio cholera* yang dilakukan analisis dengan *one-way* ANOVA.

Hasil uji ANOVA dari jumlah koloni bakteri *Vibrio cholera* pada setiap perlakuan menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0.000 ($p < 0,05$), sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan bermakna dari efek antimikroba pada pemberian ekstrak daun kenanga terhadap jumlah koloni bakteri *Vibrio cholera*.

Kemudian untuk mengetahui konsentrasi ekstrak daun kenanga yang menyebabkan jumlah koloni bakteri *Vibrio cholera* cenderung berbeda secara signifikan atau tidak, dapat dilihat menggunakan metode *Post Hoc test* (*Tukey's*

Test). Berdasarkan hasil *Post Hoc test (Tukey's Test)* antara setiap perlakuan, yakni ($p > 0,05$), menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada jumlah koloni bakteri *Vibrio cholera* antara berbagai konsentrasi ekstrak daun kenanga.

Kemudian untuk mengetahui arah hubungan dari pemberian ekstrak daun kenanga sebagai antimikroba terhadap jumlah koloni bakteri *Vibrio cholera*, maka digunakan uji korelasi-regresi. Berdasarkan hasil analisa, dapat diketahui bahwa pemberian ekstrak daun kenanga sebagai antimikroba terhadap jumlah koloni bakteri *Vibrio cholera* ($R = -0.983$, $p = 0,000$) mempunyai hubungan (korelasi) yang kuat dan signifikan. Artinya peningkatan konsentrasi ekstrak daun kenanga cenderung akan menurunkan jumlah koloni bakteri *Vibrio cholera*.

Uji regresi digunakan untuk memperkirakan seberapa besar pengaruh pemberian ekstrak daun kenanga terhadap jumlah pertumbuhan koloni bakteri *Vibrio cholera* pada media NAP. Hasil pengujian dengan menggunakan analisis regresi linier, menghasilkan persamaan regresi pada setiap konsentrasi yakni $Y = 1999385,24 - 90152,47 X$ (Y: jumlah koloni bakteri *Vibrio Cholera* ; X: Konsentrasi ekstrak daun kenanga).

Berdasarkan hasil uji regresi tersebut, didapatkan nilai R Kuadrat yang menyatakan besarnya pengaruh dari pemberian ekstrak daun kenanga terhadap jumlah koloni bakteri *Vibrio cholera* dalam bentuk persentase, dan persentase sisanya ($1 - R$ Kuadrat) ditentukan oleh faktor lain. Jadi dapat dikatakan bahwa pemberian ekstrak daun kenanga berpengaruh terhadap jumlah koloni bakteri *Vibrio Cholera* sebesar 95 %, sedangkan 5 % keragaman jumlah koloni bakteri *Vibrio Cholera* tersebut dipengaruhi oleh faktor lain, selain dari pemberian ekstrak daun kenanga.

Persamaan regresi dari pengaruh pemberian ekstrak daun kenanga terhadap jumlah koloni bakteri *Vibrio Cholera* yaitu $Y = 1999385,24 - 90152,47 X$, dimana Y adalah jumlah koloni bakteri *Vibrio Cholera*, sedangkan X adalah perlakuan pemberian ekstrak daun kenanga. Dapat diartikan bahwa tanpa dipengaruhi oleh pemberian ekstrak daun kenanga, maka jumlah koloni bakteri *Vibrio Cholera* akan cenderung meningkat secara konstan 1999385,24 koloni bakteri. Namun jika mempertimbangkan pengaruh dari perlakuan pemberian ekstrak daun kenanga, akan didapatkan setiap peningkatan 1 mg/ml konsentrasi ekstrak daun kenanga akan menurunkan jumlah koloni bakteri *Vibrio Cholera* sebanyak 90152,47 koloni bakteri. Sehingga semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun kenanga yang diberikan, maka akan berpengaruh signifikan dalam menurunkan jumlah koloni bakteri *Vibrio Cholera*.

Kandungan senyawa kimia daun kenanga mengandung alkaloid, saponin, flavonoid, fenol (IOSR Journal, 2012). Aktivitas flavonoid kemungkinan disebabkan oleh kemampuannya untuk mengikat adesi, membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler terlarut, dan membentuk kompleks dengan dinding sel bakteri, serta sifat lipofilik flavonoid yang mungkin dapat merusak membran mikroba (Cowan, 1999). Aktivitas biologis senyawa flavonoid terhadap bakteri dilakukan dengan merusak dinding sel dari bakteri yang terdiri atas lipid dan asam amino akan bereaksi dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid sehingga dinding sel akan rusak dan senyawa tersebut dapat masuk ke dalam inti sel bakteri. Selanjutnya dengan inti sel bakteri juga senyawa ini akan kontak dengan DNA pada inti sel bakteri dan melalui perbedaan kepolaran antara lipid penyusun DNA dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid akan dapat terjadi reaksi sehingga akan merusak struktur lipid dari DNA bakteri sehingga inti

sel bakteri juga akan lisis dan bakteri juga akan mengalami lisis dan mati (Chambell, 2002). Saponin termasuk dalam fitokimia yang memiliki spektrum aktivitas sebagai antijamur dan antimikroba. Hal ini didasarkan pada kemampuannya untuk membentuk kompleks dengan protein dan dinding sel sehingga terjadi denaturasi protein dan rusaknya dinding sel yang berakibat sel menjadi lisis (Davidson, 2005). Mekanisme kerja dari ketiga bahan aktif di atas mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan bakteri *V. cholerae*.

