

## BAB 6

### PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk membuktikan bahwa ekstrak etanol daun kayu putih (*Melaleuca leucadendra*) memiliki efek antibakteri terhadap *Vibrio cholerae* secara *in vitro* yang dilakukan dengan metode dilusi agar. Efek antibakteri dapat dilihat dari nilai kadar hambat minimum (KHM) dan kadar bunuh minimum (KBM). Pada penelitian ini tidak bisa dilakukan dengan menggunakan metode dilusi tabung untuk menilai KBM karena sifat dari ekstrak daun kayu putih ini sangat keruh yang dapat menghalangi pengamatan dan berpengaruh terhadap degradasi kekeruhan bakteri pada dilusi tabung. Ekstrak ini memiliki endapan yang sangat banyak sehingga mudah sekali mengendap, hal tersebut dapat menyebabkan hasil yang tidak valid dikarenakan bakteri tetap bisa bersembunyi dibalik endapan. Untuk itu, dalam penelitian kali ini, digunakan metode dilusi agar guna mencari nilai KHM dari ekstrak etanol daun kayu putih.

Senyawa aktif dari daun kayu putih diperoleh dengan cara mengekstraksi daun kayu putih menggunakan metode maserasi dengan pelarut ethanol 96%. Ethanol digunakan karena beberapa zat aktif dalam daun kayu putih dapat larut didalamnya.

Pada penelitian ini, digunakan 7 macam konsentrasi ekstrak daun kayu putih yaitu 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6% dan 0% sebagai kontrol positif. Penentuan besar konsentrasi ini berdasarkan pada penelitian explorasi awal yang dilakukan pertama kali untuk mencari range konsentrasi ekstrak. Pada penelitian pendahuluan menggunakan konsentrasi awal 0%, 1%, 5%, 10%, 15%. Dari hasil explorasi awal, didapatkan hasil 1% koloni tebal, 5%, 10% dan 15% tidak ada

pertumbuhan koloni bakteri, sehingga rentang tersebut dipersempit agar proses berkurangnya jumlah koloni pada setiap peningkatan konsentrasi dapat teramati dengan baik. Ditentukanlah konsentrasi ekstrak yakni 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, dan 6%. Kemudian diamati ketebalan koloni yang tumbuh pada media agar yang mengandung berbagai variasi konsentrasi ekstrak. Nilai KHM pada metode dilusi agar didefinisikan sebagai konsentrasi dimana bakteri tidak tumbuh.

Dalam menentukan derajat pertumbuhan bakteri *V. cholerae*, digunakanlah sistem skoring untuk memudahkan analisa dengan parameter ketebalan koloni bakteri *Vibrio cholerae*. Berdasarkan hasil penelitian, pengurangan pertumbuhan koloni bakteri atau bisa dilihat dari perubahan koloni dari tebal menjadi tipis mulai terjadi pada konsentrasi 3%, yakni 4 dari 4 pengulangan pertumbuhan koloninya sama tipis bisa dilihat adanya perbedaan bila dibandingkan dengan konsentrasi 2%. Sedangkan pada konsentrasi 4%, 3 dari 4 pengulangan menunjukkan pertumbuhan koloni hampir tidak terlihat dan sangat tipis. Pada konsentrasi 5%, 4 dari 4 pengulangan, tidak ada pertumbuhan koloni yang tampak. Maka dapat disimpulkan nilai KHM ekstrak etanol daun kayu putih terhadap *Vibrio cholerae* adalah 5%.

Hasil penelitian ini diperkuat dengan adanya referensi dari beberapa penelitian sebelumnya, bahwa terdapat beberapa senyawa aktif yang terkandung pada daun kayu putih dimana beberapa dari senyawa tersebut memiliki daya antimikroba. Pada penelitian sebelumnya telah dibuktikan bahwa ekstrak daun kayu putih dapat menghambat pembentukan biofilm staphylococcus aureus dengan MBIC sebesar 8 g/dL (Aditya, 2006).

Sedangkan penelitian efektifitas ekstrak lain yang pernah ada terhadap bakteri *V. cholerae* adalah ekstrak etanol kulit buah manggis (*Garcinia*

*mangostana. L*) yang memiliki konsentrasi hambat 5% (Maristin,2013). Penelitian lain yakni ekstrak etanol kulit buah delima ( *Punica granatum L*) memiliki dosis hambat invitro sebesar 8.6 mg/ml. (Sundari *et al.*, 1999). Penelitian lain yang dilakukan oleh Hasyim, Rauf dan Uteri mengenai ekstrak cacing biru ( *Peryonix excavates* ) dengan pelarut kloroform memiliki konsentrasi hambat sebesar 10% (Hasyim *et al.*, 2012 ). dan juga penelitian oleh Sohadi Warya, Yarti dan Widiutami dari UNPAD terhadap ekstrak rimpang teki (*Cyperus rotundus L*), memiliki konsentrasi hambat sebesar 6.25%. (Warya, 2010). Jika dibandingkan, maka ekstrak etanol daun kayu putih lebih poten dengan memiliki konsentrasi hambat 5%.

Daun kayu putih mengandung flavonoid, tannin, dan minyak atsiri ( 1,8-cineole, terpenoid dan limonene). Menurut penelitian, mekanisme antibakteri minyak atsiri (*volatile oil*) diperkirakan melalui proses destruksi membran sel bakteri oleh komponen lipofiliknya (Cowan, 1999). 1,8-cineole dapat merusak stabilitas structural dari sel bakteri, bekerja dengan cara meningkatkan permeabilitas membrane sel dan mengubah struktur dinding bakteri. secara biologis dan kimia Cineole dapat menghentikan reproduksi bakteri dan bisa pula sebagai bakterisidal yakni membunuh bakteri. Limonene bisa berakumulasi pada membrane plasma mikroba sehingga menyebabkan bakteri kehilangan integritas membrane dan gaya pergerakan oleh proton. Sedangkan terpenoid adalah senyawa alami yang dikenal aman untuk digunakan. Senyawa terpenoid bisa diekstraksi menggunakan pelarut etanol (Arifin *et al*, 2006). Senyawa terpenoid menekan aktivitas bakteri dan sekaligus merusak membran sel bakteri (Togashi, *et al* 2008).

Tanin merupakan salah satu senyawa kimiawi yang termasuk dalam golongan polifenol memiliki kemampuan menginaktivasi adhesin, enzim, protein, transport dinding sel, merusak substrat, dan berikatan dengan polisakarida dinding sel bakteri. Pendapat lain mengatakan bahwa tanin diduga dapat mengerutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel, terganggunya permeabilitas sel menyebabkan sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati (Cowan, 1999).

Senyawa aktif lain yang terdapat pada daun kayu putih adalah flavonoid. Flavonoid merupakan senyawa fenol terbesar di alam, terdapat pada semua tumbuhan hijau, termasuk pada ekstrak temu-temuan yang banyak dikonsumsi masyarakat sebagai obat tradisional. Flavonoid telah dikenal luas memiliki aktivitas sebagai senyawa antioksidan, antimelanogenesis, dan antimikroba yang potensi (Sulistyo and Soeka, 1999). Penelitian secara *In vitro* maupun *in vivo* menunjukkan aktivitas biologis dan farmakologis dari senyawa flavonoid sangat beragam. Tanin memiliki kemampuan menginaktivasi enzim, protein, transport dinding sel, dan merusak ikatan polisakarida dinding sel bakteri (Cowan, 1999).

Dari penelitian ini bisa dibuktikan bahwa hipotesa yang telah disusun adalah benar, bahwa ekstrak etanol daun kayu putih menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio cholerae*. Faktor yang dapat memengaruhi hasil dari penelitian ini adalah lamanya penyimpanan ekstrak daun kayu putih. Makin lama disimpan, maka sensitifitas ekstrak mungkin akan menurun, bisa juga dikarenakan adanya kesalahan dalam melakukan penelitian tersebut.

Aplikasi klinis ekstrak etanol daun kayu putih sebagai antibakteri pada manusia masih memerlukan penelitian lebih lanjut seperti penelitian tentang farmakokinetik, farmakodinamik, uji toksisitas secara *invivo* dan bila memungkinkan dilakukan *clinical trial* pada manusia.

