

BAB 6

PEMBAHASAN

Bakteri *S.aureus* yang digunakan berasal dari 4 isolat bakteri *S.aureus* yang berbeda dari *stock culture* yang dimiliki Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Keempat isolat berasal dari pasien di Malang. Isolat pertama, kedua, ketiga, dan keempat memiliki nomor registrasi masing- masing sebagai berikut 2103, 20536, 20732, dan 20734. Sebelum digunakan, bakteri tersebut diidentifikasi terlebih dahulu dengan penanaman pada media MSA, pengecatan Gram, tes katalase, dan tes koagulasi. Dari penanaman *S.aureus* pada media MSA didapatkan warna terang (halo) berwarna kuning disekitar koloni *S.aureus* yang menunjukkan sifat bakteri ini dapat memfermentasikan manitol. Dari hasil pengecatan Gram didapatkan gambaran bakteri berbentuk kokus, bergerombol, dan berwarna ungu (Gram Positif). Dari tes koagulasi didapatkan hasil positif yang ditandai terbentuknya gumpalan- gumpalan putih (*clumping*) pada gelas objek yang telah diberi koloni *S.aureus* dan ditetesi dengan *Staphaurex*. Hal ini sesuai dengan sifat kuman *S.aureus* itu sendiri yang mampu menghasilkan enzim koagulasi dan membedakan bakteri ini dengan bakteri *Staphylococcus sp.* yang lain. Sedangkan dari tes katalase juga didapatkan hasil positif yang ditandai dengan timbulnya gelembung udara pada koloni bakteri *S.aureus* yang ditetesi dengan larutan H₂O₂ 3%. Hal ini juga sesuai dengan sifat bakteri *S.aureus* yang mampu menghasilkan enzim katalase, sehingga dapat dibedakan dengan bakteri *Streptococcus sp.*

Konsentrasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak kulit anggur Bali dengan variasi 3%, 2,5%, 2%, 1,5%, 1 % $\frac{v}{v}$, dan kelompok kontrol tanpa diberi ekstrak kulit anggur Bali (konsentrasi 0%). Besarnya konsentrasi tersebut berdasarkan pada eksplorasi yang dilakukan sebelumnya dengan menggunakan dilusi *agar plate*. Eksplorasi awal menggunakan 4 konsentrasi ekstrak kulit anggur Bali yaitu 10%, 5%, 1% $\frac{v}{v}$, dan kontrol bakteri (konsentrasi 0%). Dari hasil penelitian eksplorasi tersebut, konsentrasi terendah dimana tidak didapatkan pertumbuhan bakteri adalah pada konsentrasi 5% $\frac{v}{v}$ sementara pada konsentrasi 1% $\frac{v}{v}$ masih didapatkan pertumbuhan bakteri. Sehingga dilakukan eksplorasi berikutnya konsentrasi-konsentrasi yang dipilih sebagai konsentrasi perlakuan adalah antara konsentrasi 1% dan 5% $\frac{v}{v}$ yaitu konsentrasi 1%, 2%, 3%, 4%, 5% $\frac{v}{v}$, dan kontrol bakteri (konsentrasi 0%) dan hasilnya ialah konsentrasi terendah yang tidak didapatkan pertumbuhan bakteri ialah pada konsentrasi 3% $\frac{v}{v}$, sedangkan pada konsentrasi 1% dan 2% $\frac{v}{v}$ masih didapatkan pertumbuhan bakteri. Untuk menentukan konsentrasi selanjutnya ialah dengan memperkecil konsentrasi untuk mengetahui konsentrasi terkecil yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus* yaitu dengan menggunakan konsentrasi 1%, 1,5%, 2%, 2,5%, 3% $\frac{v}{v}$, dan kontrol bakteri (konsentrasi 0%).

Kadar hambat minimum (KHM) dapat ditentukan dari konsentrasi yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan koloni bakteri *S.aureus* yaitu pada konsentrasi 2,5% $\frac{v}{v}$ pada keempat isolat pasien bakteri *S.aureus*, sedangkan pada konsentrasi 2% $\frac{v}{v}$ hanya pada isolat pasien keempat. Dimana pada *agar plate* dengan konsentrasi ekstrak 1% dan 1,5% $\frac{v}{v}$ masih didapatkan pertumbuhan bakteri *S.aureus* pada keempat isolat pasien dan konsentrasi 2% $\frac{v}{v}$

pada isolat pasien pertama, kedua, dan ketiga saja. Perbedaan Kadar Hambat Minimum pada keempat isolat bakteri *S.aureus* mungkin karena daya tahan dari galur *S.aureus* yang berbeda-beda yang disebabkan bakteri ini didapatkan dari empat pasien yang berbeda sehingga paparan pengobatan terhadap antibiotik yang telah diberikan berbeda-beda pula.

Pada penelitian ini hanya dapat menentukan Kadar Hambat Minimum ekstrak kulit anggur Bali terhadap *S.aureus* dikarenakan pada penelitian ini menggunakan metode dilusi agar, sedangkan Kadar Bunuh Minimum (KBM) tidak dapat ditentukan dengan metode ini. Metode dilusi agar dipilih karena ekstrak kulit anggur Bali yang digunakan untuk penelitian ini berwarna ungu yang terlalu pekat sehingga dapat mengganggu visualisasi untuk menentukan KHM dengan metode dilusi tabung.

Data hasil penelitian dianalisis menggunakan Uji Kruskal Wallis adalah H_0 (perlakuan tidak berpengaruh secara signifikan pada hasil) ditolak dan H_1 (perlakuan berpengaruh secara signifikan pada hasil) diterima. Setelah itu, dari hasil Uji Mann Whitney terdapat perbedaan yang signifikan pada pemberian ekstrak kulit anggur Bali antara masing-masing konsentrasi terhadap jumlah koloni bakteri *S.aureus* meskipun pada beberapa konsentrasi menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan. Selanjutnya, hasil uji korelasi *Spearman* menunjukkan bahwa antara kedua variabel terdapat korelasi bernilai negatif yang artinya bahwa semakin tinggi konsentrasi kulit anggur Bali yang digunakan, maka semakin rendah pertumbuhan koloni bakteri *Staphylococcus aureus*.

Fakta penurunan pertumbuhan koloni bakteri *S.aureus* dalam penelitian ini diduga karena efek dari senyawa – senyawa kimia aktif yang berasal dari ekstrak kulit anggur Bali. Hasil ekstraksi kulit anggur Bali mengandung beberapa

senyawa- senyawa kimia bahan aktif seperti antosianin, tanin, dan saponin. Senyawa- senyawa tersebut memiliki sifat antibakteri dengan mekanisme yang berbeda- beda terhadap struktur bakteri. Dinding sel bakteri maupun materi genetik dari bakteri dapat dipengaruhi oleh senyawa tanin, pada membran sel dipengaruhi oleh senyawa saponin dan tanin, sedangkan pada protein dan enzim dipengaruhi oleh adanya senyawa antosianin (Akiyama *et al*, 2001; Limiyati, 2008; Zahro *et al*, 2013).

Untuk mendapatkan senyawa aktif dari ekstrak kulit anggur Bali dilakukan proses ekstraksi dengan cara maserasi dari ± 250 gram serbuk kulit anggur Bali dan menggunakan pelarut etanol 96%, dikarenakan semua senyawa aktif yaitu antosianin, tanin, maupun saponin dapat larut dalam pelarut polar seperti etanol. Meskipun menggunakan etanol, efek antibakteri dari ekstrak kulit anggur Bali terhadap *S.aureus* diperkirakan bukan disebabkan oleh etanol, karena pada proses pembuatannya ekstrak telah mengalami evaporasi dan di oven pada suhu 80°C sedangkan titik didih etanol adalah 78°C , sehingga dengan demikian dapat diasumsikan seluruh pelarut etanol sudah menguap. Sedangkan metode maserasi digunakan karena metode ini relatif lebih sederhana yaitu tidak memerlukan alat-alat yang rumit, relatif mudah, murah sehingga lebih mudah diaplikasikan ke masyarakat dan metode ini dapat menghindari rusaknya komponen senyawa akibat panas. Hasil ekstrak yang didapatkan dari proses ekstraksi dan evaporasi berupa ± 120 ml cairan kental yang pekat berwarna ungu kehitaman.

Adanya beberapa bahan yang memiliki efek antibakteri tersebut memberikan efek yang sinergis terhadap penurunan pertumbuhan bakteri *S.aureus* pada penelitian ini. Adapun senyawa aktif utama yang memiliki efek

sebagai antibakteri belum dapat ditentukan karena proporsi dari masing-masing kandungannya masih belum diketahui.

Penelitian efek antibakteri ekstrak kulit anggur Bali dengan metode dilusi tabung ataupun dilusi agar masih belum pernah dilakukan di Indonesia. Namun demikian, sudah pernah dilakukan penelitian efek antibakteri infusa kulit anggur varietas Probolinggo biru di Indonesia, ekstrak anggur maupun kulit anggur varietas lain di luar negeri terhadap bakteri *S.aureus* ataupun bakteri Gram positif lainnya, diantaranya ialah penelitian yang telah dipublikasikan di jurnal *Food and Nutrition Science* bahwa ekstrak anggur merah (*Vitis vinifera L.*) dari berbagai varietas mempunyai aktivitas antibakteri terhadap Gram negatif (*E.Coli* dan *S.arizonae*), Gram positif (*Leisteria monocytogenes*) dan sebagai anti jamur terhadap *C. albicans* akan tetapi berdasarkan hasil kesimpulan dari penelitian ini menunjukkan bahwa bakteri Gram positif lebih sensitif terhadap kandungan fenol dari ekstrak anggur merah (*Vitis vinifera L.*) tersebut daripada Gram negatif dan jamur (Darra *et al*, 2012). Dalam beberapa penelitian lain juga menyebutkan bahwa *wine extract* mempunyai aktivitas antibakteri untuk menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus*, *E.coli*, dan *C.albicans* hasilnya menunjukkan bahwa bakteri *S.aureus* lebih sensitif terhadap *wine extract* yang kemudian diikuti oleh *E.coli* dan sedikit menghambat pertumbuhan dari *C.albicans* (Papadopoulou *et al*, 2005). Berdasarkan penelitian oleh Manggiasih metaliri dari Universitas Indonesia yang meneliti infusa kulit anggur varietas Probolinggo biru terhadap Gram positif *Streptococcus mutans* dapat menunjukkan bahwa ekstrak kulit anggur varietas Probolinggo biru tersebut mempunyai efek antibakteri yang menunjukkan Kadar Hambat Minimum (KHM) pada bakteri *S.mutans* berada pada konsentrasi 50% dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) berada pada

konsentrasi 60%. Dan terdapat pula penelitian yang menunjukkan bahwa ekstrak kulit anggur dari 14 varietas anggur (*Vitis vinifera L.*) di Negara Dalmatia (Crotia) menunjukkan bahwa ke 14 ekstrak kulit anggur (*Vitis vinifera L.*) tersebut mampu menghambat pertumbuhan dari bakteri Gram positif (*S.aureus*, *Bacillus cereus*) maupun bakteri Gram negatif (*E.coli*, *Campylobacter coli*) (Katalinik et al, 2010). Dan pada penelitian lain juga menunjukkan bahwa kulit anggur (*Vitis vinifera L.*) mampu menghambat pertumbuhan dari bakteri *S.aureus*, *E.coli*, *K.pneumoniae*, *E.faecalis*, dan *P.aeroginosa* (Narendhirakannan et al, 2011).

Berdasarkan hasil penelitian ini yang telah diuji secara statistik dapat dilihat efek antibakteri ekstrak kulit anggur Bali terhadap bakteri *S.aureus*. Namun, penelitian ini masih terbatas pada lingkup *in vitro*, sehingga aplikasi klinis selanjutnya masih memerlukan penelitian lebih lanjut mengenai efeknya melalui studi *in vivo* pada hewan coba. Penelitian *in vivo* bertujuan untuk memperkirakan toksisitas, dosis efektif, dosis letal, dan memperkecil resiko penelitian pada manusia. Pengujian pada manusia bertujuan untuk memastikan efektivitas, keamanan, dan gambaran efek samping yang timbul dari pemakaian pada manusia.