

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Pembahasan Hasil Penelitian

Pada penelitian ini adalah untuk menguji potensi antimikroba dari ekstrak lengkuas dan ekstrak lengkuas yang dibuat dalam bentuk sediaan gel terhadap bakteri *S. aureus* secara *in-vitro* dengan menggunakan metode difusi sumuran.

Hasil dari proses ekstraksi diperoleh ekstrak kental berbentuk menyerupai pasta beraroma aromatis lengkuas. Diperoleh ekstrak kental karena sudah dipisahkan dari pelarutnya menggunakan *rotary evaporator* dan dioven selama kurang lebih 24 jam sehingga kadar airnya berkurang. Dari 200 gram simplisia diperoleh ekstrak sebanyak 34,99 gram atau rendemen 17,49 %. Hal ini menunjukkan banyaknya senyawa aktif yang tertarik dari proses maserasi. Pada penelitian lain yang menggunakan bahan lengkuas (*Alpinia galanga*) dan pelarut etanol 70% diperoleh rendemen sebesar 13% (Wibowo, 2013). Perbedaan hasil rendemen bisa terjadi karena banyaknya senyawa aktif dalam suatu tanaman bisa berbeda akibat perbedaan habitatnya (Mayachiew, 2007).

Setelah diperoleh ekstrak dilakukan pengujian kandungan aktif flavonoid pada ekstrak yang didapat karena bahan aktif galangin merupakan senyawa turunan flavonoid. Pengujian secara kualitatif menggunakan

metode KLT. Diperoleh hasil berupa noda kuning pada plat yang menunjukkan adanya flavonoid (Wagner dan Bald, 1996).

Penelitian ini menggunakan kontrol perlakuan berupa larutan ekstrak lengkuas konsentrasi 10%, 15%, dan 20% serta sediaan gel ekstrak lengkuas dengan konsentrasi 10%, 15%, dan 20%. Ketiga konsentrasi ini diperoleh dari uji eksplorasi yang dilakukan sebelumnya, dimana daya hambat antimikroba dari ekstrak dan gel ekstrak lengkuas mulai muncul setelah peningkatan konsentrasi menjadi 10%.

Setelah dilakukan pembuatan gel, dilakukan pula uji evaluasi sediaan gel yang meliputi organoleptis, uji homogenitas, uji pH, uji daya sebar, dan uji daya lekat.

Pada uji organoleptis diperoleh hasil gel berwarna coklat yang bertambah pekat seiring dengan peningkatan konsentrasi. Hal ini dipengaruhi warna dari ekstrak lengkuas yang memang berwarna coklat, dan semakin besar konsentrasinya jumlah ekstrak yang terkandung dalam sediaan gel juga makin banyak sehingga warnanya lebih pekat. Lalu aromanya khas aromatis lengkuas, gel berbentuk kental akibat dari adanya basis gel carbomer setelah didispersikan dengan aquades dan TEA. Hasil uji organoleptis sediaan gel sudah sesuai dengan spesifikasi yang diinginkan peneliti.

Pada pengujian homogenitas diperoleh bahwa gel terdistribusi merata setelah diberi penekanan dan tidak terdapat gumpalan partikel, hal ini menunjukkan bahwa gel dibuat memiliki susunan yang homogen (Panjaitan, 2012).

Pada pengujian pH diperoleh hasil yang tidak berbeda jauh dari keempat konsentrasi gel, semuanya berada pada rentang pH 4-5. Berdasarkan literatur, rentang pH yang diperoleh dinilai masih sesuai dengan pH kulit manusia sehingga bisa diaplikasikan dalam sediaan topikal (Lukman, 2012). Walau demikian nilai pH sediaan gel tidak konsisten terhadap konsentrasinya. Dapat dilihat pada gambar 5.5 yang menunjukkan nilai pH menurun pada konsentrasi 10% dan 15% setelah pada konsentrasi 0% nilai pH nya adalah 4,8, lalu pH beranjak naik pada konsentrasi 20%. Hal kemungkinan terjadi akibat kesalahan peneliti dalam menggunakan alat uji yaitu pH meter.

Pada pengujian daya sebar diperoleh hasil diameter daya sebar berbanding lurus dengan peningkatan konsentrasi, sehingga gel konsentrasi 20% memiliki diameter daya sebar yang lebih tinggi dibandingkan gel konsentrasi 0%, 10%, dan 15%. Hal ini dikarenakan konsistensi gel konsentrasi 20% lebih cair dibandingkan gel yang lain sehingga ketika ditambahkan beban daya sebar nya juga lebih lebar. Berdasarkan literatur daya sebar yang baik untuk sediaan topikal adalah 5-7 cm (Arikumalasari, 2012). Jika dibandingkan dengan literatur daya sebar sediaan gel masih dibawah dari rentang yang diinginkan sehingga perlu dilakukan optimalisasi formula sediaan gel.

Pada pengujian daya lekat diperoleh daya lekat paling lama adalah pada gel konsentrasi 15%. Namun pada pengujian ini memiliki kelemahan yaitu daya yang digunakan untuk melepas kaca tidak bisa terukur dan konstan sehingga pengukuran cenderung subyektif, Akan tetapi, keunggulan

dari pengujian ini adalah tidak dibutuhkan waktu yang lama untuk melakukan semua prosedurnya.

Sebelum dilakukan pengujian antimikroba perlu dilakukan dulu uji identifikasi mikroba untuk membuktikan mikroba yang diuji adalah benar-benar *S. aureus*. Uji identifikasi pertama merupakan pewarnaan Gram, dan diperoleh hasil berupa berbentuk bola dan berwarna ungu (Gambar 5.9). Sehingga disimpulkan bahwa bakteri uji merupakan Gram positif. *S. aureus* adalah bakteri Gram positif berbentuk kokus dan berwarna ungu pada pewarnaan Gram, hal ini disebabkan karena adanya peptidoglikan yang tebal sehingga mampu mempertahankan warna yang pertama yaitu gentian violet (Dewi, 2012).

Pengujian berikutnya adalah uji katalase yang akan membedakan antara *Staphylococcus* dan *Streptococcus* pada bakteri berbentuk kokus. Dan hasilnya berupa munculnya gelembung-gelembung putih, seperti pada Gambar 5.11, yang menunjukkan reaksi katalase positif. Katalase merupakan enzim yang mengkatalisa H_2O_2 yang toksik menjadi H_2O dan O_2 . H_2O_2 terbentuk waktu metabolisme aerob sehingga semua bakteri yang tumbuh pada lingkungan tersebut akan mampu menguraikan bahan tersebut (Dewi, 2013). Dan menurut Schliefer (1986), semua galur *Staphylococcus* merupakan katalase positif (Freeney *et al.*, 1999).

Uji identifikasi berikutnya adalah koagulase yang sangat penting untuk membedakan *S. aureus* dari bakteri *Staphylococcus* lainnya. Hasilnya terbentuk koagulase pada sampel (Gambar 5.10). Koagulase merupakan protein ekstraseluler yang dapat menggumpalkan plasma dengan bantuan protein dalam serum (Dewi, 2013).

Berikutnya adalah menginokulasikan bakteri *S. aureus* pada medium MSA dan diperoleh hasil berupa tumbuhnya koloni berwarna kuning (Gambar 5.8) yang merupakan tanda bakteri dapat memfermentasi manitol. Kemampuan memfermentasikan mannitol merupakan penanda umum *S. aureus* dari jenis *Staphylococcus* lainnya misalnya *S. epidermidis* (Dewi, 2013).

Setelah semua hasil identifikasi menunjukkan bahwa bakteri uji merupakan *S. aureus*, maka dimulailah pengujian daya hambat Gel ekstrak lengkuas (*Alpinia galanga*) dan larutan ekstrak lengkuas (*Alpinia galanga*). Jumlah perlakuan adalah 4 yaitu konsentrasi 0%, 10%, 15%, dan 20%. Sehingga jika dihitung dengan rumus perhitungan jumlah sampel $p(n-1) \geq 15$ akan diperoleh hasil jumlah sampel adalah 5 isolat bakteri. Namun pada penelitian ini digunakan hanya 3 isolat karena jumlah isolat *S. aureus* yang tersedia di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya hanya sejumlah itu. Hasil yang diamati adalah diameter zona bening disekitar sumuran.

Hasilnya pada pengujian dengan gel tanpa ekstrak dan akuades tidak didapati adanya zona hambat pada media sehingga dapat disimpulkan bahwa bahan eksipien dari gel tidak memiliki aktivitas daya hambat terhadap bakteri.

Pada larutan ekstrak dan gel ekstrak diperoleh diameter zona hambat bakteri seperti ditunjukkan pada tabel 5.5, dan terlihat bahwa diameter zona hambat tertinggi adalah pada konsentrasi 20% baik pada larutan ekstrak maupun gel ekstrak hal ini dikarenakan pada konsentrasi tersebut terdapat lebih banyak zat aktif berupa flavonoid yang terkandung

didalamnya sehingga efeknya juga lebih besar. Ekstrak lengkuas terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Klebsiela pneumonia*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Streptococcus pyrogens* (Chudiwal, 2009). Mekanisme antibakterinya adalah dengan merusak membran luar *S. aureus* sehingga menyebabkan hilangnya permeabilitas dinding sel bakteri (Oonmeeta-are *et al.*, 2006). Senyawa dalam lengkuas yang memiliki aktivitas antibakteri salah satunya adalah flavonoid, cincin B dari struktur flavonoid mampu menghambat penyusunan basis asam nukleat sehingga mengganggu sintesa DNA dan RNA *S. aureus* (Chusnie, 2005).

Jika dilihat pada grafik seperti yang ditunjukkan gambar 5.18 didapati bahwa diameter zona hambat bakteri sediaan gel lebih tinggi dari pada larutan ekstrak pada setiap konsentrasinya. Hal ini menunjukkan bahwa sediaan gel lebih bisa menghambat pertumbuhan bakteri. Hal ini karena sediaan gel mampu mempertahankan kondisi zat aktif (ekstrak) selama prosedur pengujian yang diinkubasi pada suhu 40^o C sehingga hasilnya lebih optimal sementara larutan ekstrak cenderung kering dan hanya menyisakan endapan pada dasar tabung.

Pada pengujian dengan menggunakan *independent t-test* untuk mengetahui adanya perbedaan daya hambat antara ekstrak dan gel ekstrak (Parahita, 2013). Dari uji t tersebut dapat disimpulkan tidak ada perbedaan yang bermakna pada rata-rata diameter zona hambat bakteri antara larutan ekstrak dengan gel ekstrak sehingga dapat disimpulkan keduanya memiliki efektivitas yang sama dalam menghambat bakteri *S. aureus*.

Pada uji korelasi Pearson untuk melihat hubungan antara pengaruh konsentrasi ekstrak terhadap daya hambat bakteri *S. aureus* diperoleh R=

0,998 yang artinya terdapat hubungan yang kuat karena nilainya masuk dalam rentang 0,800-1,000, lalu nilai positif menunjukkan adanya peningkatan konsentrasi akan meningkatkan daya hambat bakteri. Hal yang sama juga diperoleh pada hubungan antara gel ekstrak terhadap daya hambat bakteri dengan nilai $R = 0,998$ yang menunjukkan hubungan yang kuat dan bernilai positif sehingga peningkatan konsentrasi akan meningkatkan daya hambat bakteri (Sastroasmoro, 2011).

Hasil pada pengujian dengan cakram amoxiclav menunjukkan rata-rata diameter zona hambat bakteri adalah sebesar 15,17 mm dan lebih besar nilainya dari pada larutan maupun gel ekstrak. Cakram Amoxiclav digunakan sebagai pembanding bagi daya hambat ekstrak dan gel ekstrak lengkuas. Walaupun sediaan Amoxiclav tidak ada yang dipergunakan untuk sediaan topikal namun tetap digunakan Amoxiclav karena cakram antibiotik untuk sediaan topikal seperti Klindamisin tidak tersedia di Laboratorium Mikrobiologi FKUB.

Dari grafik pada gambar 5.17 dan 5.18 diketahui bahwa peningkatan konsentrasi sebanding dengan besarnya diameter zona hambat bakteri, sehingga dapat dibuat persamaan regresi linearnya. Pada larutan ekstrak diperoleh persamaan garis regresinya linearnya adalah $y = 0,440x + 0,867$ dengan nilai $R = 0,952$ dan pada sediaan gel ekstrak diperoleh persamaan garis regresi linearnya adalah $y = 0,504x + 1,07$ dengan nilai $R = 0,945$. Dari persamaan ini dapat digunakan untuk memprediksi berapa konsentrasi gel ekstrak yang diperlukan agar aktivitas daya hambatnya menyerupai cakram antibiotik amoxiclav dengan cara memasukan rata-rata diameter zona hambatnya pada persamaan garis regresi linear gel, $15,17 = 0,504x + 1,07$,

hasilnya adalah 27,98%. Artinya secara matematis untuk mendapatkan diameter zona hambat bakteri seperti amoxiclav dibutuhkan gel ekstrak lengkuas dengan konsentrasi 27,98%.

Pada penelitian ini berhasil membuktikan hipotesis bahwa tidak ada perbedaan efektivitas antimikroba antara ekstrak lengkuas dan gel ekstrak lengkuas. Namun, bentuk sediaan gel memiliki beberapa keunggulan yaitu mampu mempertahankan waktu kontak antara ekstrak lengkuas dengan kulit sehingga penetrasi zat aktif kedalam kulit bisa lebih maksimal, selain itu sediaan gel relatif tidak meninggalkan bekas ketika diaplikasikan dikulit sehingga dari sisi estetika juga lebih baik dibandingkan menggunakan ekstrak secara langsung.

6.2 Implikasi Terhadap Bidang Farmasi

Penanganan terapi bisul pada umumnya adalah dengan dilakukan insisi untuk mengeluarkan pus dari bisul, kemudian diberikan antibiotik baik topikal maupun oral untuk membunuh bakteri (Ferry, 2009). Penanganan ini hanya bisa dilakukan oleh dokter yang tentunya membutuhkan lebih banyak biaya serta penggunaan antibiotik dapat memicu timbulnya resistensi.

Pengembangan terapi alternatif dengan menggunakan bahan alam diharapkan dapat mengatasi permasalahan tersebut, karena penggunaan sediaan dari bahan alam tentunya tidak membutuhkan resep dokter sehingga biaya pengobatannya menjadi lebih murah serta efek sampingnya lebih minimal. Salah satu alternatif bisa digunakan adalah sediaan gel ekstrak lengkuas karena terbukti memiliki aktifitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* secara *in-vitro*. Pemilihan bentuk sediaan gel untuk

meningkatkan akseptabilitas masyarakat karena bentuk sediaan gel memiliki keunggulan yaitu bersifat dingin, mampu mempertahankan zat aktif lebih lama untuk kontak dengan tubuh, dan mampu menghantarkan zat aktif menembus ke dalam kulit.

Evaluasi sediaan gel lengkuas menunjukkan konsistensi sediaan gel yang semakin cair pada peningkatan konsentrasi. Untuk mempertahankan konsistensi sediaan gel yang baik perlu dilakukan pembuatan ekstrak yang lebih padat misalnya dengan metode *freeze drying*. Pada uji daya sebar menunjukkan nilai daya sebar gel kurang dari 5 cm sehingga perlu dilakukan pengembangan formula untuk meningkatkan daya sebar seperti penambahan gliserin.

6.3 Keterbatasan Penelitian

Pada penelitian ini terdapat beberapa keterbatasan yang pertama adalah jumlah isolat bakteri yang digunakan seharusnya adalah 5 isolat, namun pada penelitian ini hanya menggunakan 3 isolat karena jumlah tersebutlah yang tersedia di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Yang kedua adalah tidak dilakukannya uji stabilitas, baik akibat degradasi produk atau stabilitas mikrobiologi, terhadap sediaan sehingga tidak bisa diketahui berapa lama sediaan gel ekstrak lengkuas ini mampu bertahan dalam penyimpanan. Lalu pada pengujian daya lekat cenderung subyektif karena tidak menggunakan alat khusus sehingga akurasi masih kurang akurat. Sangat perlu untuk dilakukan uji penetrasi untuk mengetahui penetrasi kemampuan penetrasi sediaan gel bila diplikasikan pada kulit. Penggunaan antibiotik Amoxiclav sebagai pembanding masih kurang tepat karena penggunaan Amoxiclav bukan untuk

pemakaian topikal melainkan untuk pemakaian oral dan seharusnya lebih tepat bila menggunakan Klindamisin sebagai pembanding sediaan gel.

