

## BAB VI

### PEMBAHASAN

Penelitian uji antibakteri minyak atsiri pada daun sirih (*Piper betle Linn*) terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dilaksanakan di laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Daun sirih lokal yang digunakan untuk penelitian ini didapatkan dari Pasar Belimbing Kota Malang yang kemudian diidentifikasi sebagai jenis sirih *Piper betle Linn* oleh Fakultas MIPA Universitas Brawijaya Malang. Daun sirih yang sudah diperoleh kemudian dilakukan proses pemisahan minyak atsiri dengan menggunakan metode destilasi uap. Metode destilasi uap dipilih karena merupakan metode yang paling efektif dalam memperoleh minyak atsiri. Metodenya berupa pendidihan cairan yang diikuti dengan pendinginan uap sehingga terbentuk cairan kembali (Koensoemardiyah, 2010).

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental murni (*true experimental design*) dengan *post test only control group design*. Penelitian efek antibakteri minyak atsiri pada daun sirih (*Piper betle Linn*) terhadap bakteri *Streptococcus mutans* ini dilakukan untuk mengukur diameter zona hambat dari berbagai konsentrasi minyak atsiri daun sirih sekaligus mendapatkan nilai KHM (Kadar Hambat Minimum) dan membuktikan efek antibakteri minyak atsiri pada daun sirih (*Piper betle Linn*) dalam menekan pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) adalah konsentrasi terendah suatu bahan dimana masih mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme yang dapat diamati secara visual maupun menggunakan instrument setelah inkubasi

selama 2x24 jam. Pencarian nilai KHM (Kadar Hambat Minimum) dilakukan dengan metode *agar well diffusion*.

Supaya minyak atsiri yang digunakan dapat bercampur dengan media, ditambahkan pensuspensi berupa larutan *Natrium Carboxy Methyl Cellulose* (NaCMC) sebanyak 0,038 g dengan konsentrasi 0,5% (Dewi, 2008). Berdasarkan tabel 5.2 dapat diketahui bahwa minyak atsiri pada daun sirih (*Piper betle Linn*) dengan berbagai konsentrasi menunjukkan adanya zona hambat bakteri yang berbeda-beda. Sedangkan pada kontrol negatif aquades tidak terbentuk zona hambat dan pada kontrol positif *chlorhexidine gluconate* 0,2% terbentuk zona hambat.

Penggunaan *chlorhexidine gluconate* 0,2% sebagai kontrol positif karena telah digunakan sebagai obat standar bagi banyak penyakit rongga mulut dan memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Mekanisme kerja *chlorhexidine gluconate* terhadap *Streptococcus mutans* mengakibatkan perubahan permeabilitas selaput sel bakteri yang akhirnya menyebabkan kebocoran membran sel dari berbagai arah (Nurhidayatun, 2012).

Dari hasil penelitian, didapatkan data besarnya diameter zona hambat minyak atsiri pada daun sirih (*Piper betle Linn*) semakin menurun seiring dengan berkurangnya konsentrasi. Rata-rata diameter zona hambat terbesar terletak pada perlakuan pemberian minyak atsiri pada daun sirih (*Piper betle Linn*) konsentrasi 100% yaitu sebesar 12,325 mm. Sedangkan zona hambat terkecil terletak pada perlakuan pemberian minyak atsiri pada daun sirih (*Piper betle Linn*) konsentrasi 12,5% yaitu sebesar 10,825 mm. Kadar Hambat Minimum (KBM) minyak atsiri daun sirih yang didapat dari penelitian ini ada pada konsentrasi 50%.

Analisis statistik yang dilakukan meliputi uji normalitas dan homogenitas data, tes kolmogrov-smirnov, uji *one way* ANOVA, uji pos-hoc serta uji korelasi-regresi. Pada hasil pengujian statistik didapatkan kesimpulan bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak, semakin besar diameter zona hambat yang terbentuk. Selain itu, dapat dilihat bahwa kelompok yang memiliki nilai zona hambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* terluas adalah obat kumur *Chlorhexidine gluconate* 0,2% yaitu sebesar 13,75 mm, kemudian minyak atsiri pada daun sirih (*Piper betle Linn*) dari konsentrasi 100% hingga 12,5% dan tidak terbentuk zona hambat pada perlakuan kontrol negatif aquades. Penambahan pengencer aquades dapat menurunkan kadar senyawa aktif dalam minyak atsiri pada daun sirih (*Piper betle Linn*) sehingga terjadi penurunan kemampuan antibakteri minyak atsiri pada daun sirih dalam menembus dinding sel *Streptococcus mutans*.

Beberapa penelitian tentang daun sirih telah dilaporkan bahwa ekstrak sirih pada konsentrasi 2,5%, 5%, dan 10% secara *in vitro* dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (Hermawan, 2007). Pada penelitian sebelumnya didapatkan KHM (Kadar Hambat Minimum) ekstrak sirih terhadap *Streptococcus mutans* ada pada konsentrasi 25%, sedangkan KBM (Kadar Bunuh Minimum) sirih ada pada konsentrasi 100% (Dhika, 2007). Pada penelitian sebelumnya didapat seduhan/rebusan daun sirih memiliki efek antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus mutans* yang optimal pada konsentrasi 100% pada waktu kontak 30 detik dengan gigi (Hidayaningtias, 2010). Pada penelitian ini minyak atsiri daun sirih memiliki Kadar Hambat Minimum terhadap *Streptococcus mutans* pada konsentrasi 50%. Dapat ditarik sebuah persamaan dari beberapa penelitian terdahulu yaitu konsentrasi dari daun sirih berupa ekstrak,

seduhan, dan minyak atsiri memiliki daya antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* pada *range* konsentrasi 25%-100%.

Penghambatan pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* ini disebabkan senyawa aktif yang terkandung dalam minyak atsiri pada daun sirih seperti fenol dan turunannya yang mampu mendenaturasi protein sel bakteri. Senyawa fenol memiliki efek inhibit terhadap bakteri gram positif dan ditemukan memiliki aktivitas antifungi (Rahman, 2003). Menurut Kalasha (2010) dalam penelitian uji efektivitas ekstrak etanol daun katuk sebagai antibakteri terhadap MRSA (*Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*) secara *in vitro* mengatakan bahwa aktivitas antibakteri dari senyawa fenol dengan merusak struktur dan merubah mekanisme permeabilitas dari mikrosom, lisosom serta dinding sel sehingga dapat mengganggu struktur dan fungsi dari membran itu sendiri. Salah satu senyawa turunan fenol adalah kavikol yang memiliki daya bakterisidal lima kali lebih kuat dibandingkan dengan fenol. Selain kavikol, turunan dari fenol yang terkandung dalam minyak atsiri adalah p-eugenol, karvakrol, alil pirokatekol, dan kavibetol (Febriyati, 2010).

Minyak atsiri berperan sebagai antibakteri dengan cara mengganggu proses terbentuknya membran atau dinding sel sehingga tidak terbentuk atau terbentuk tidak sempurna. Minyak atsiri yang aktif sebagai antibakteri pada umumnya mengandung gugus fungsi hidroksil (-OH) dan karbonil. Senyawa fenolik pada minyak atsiri dapat berfungsi sebagai antimikroba dan semakin banyak gugus (-OH) yang ada pada senyawa tersebut maka senyawa tersebut semakin beracun bagi mikroba. Turunan fenol berinteraksi dengan sel bakteri melalui proses adsorpsi yang melibatkan ikatan hidrogen (Cowan, 2005). Mekanisme penghambatan bakteri oleh senyawa turunan fenol ditandai oleh

pelepasan ion  $\text{Ca}^{2+}$  dan  $\text{K}^+$  dari dinding sel yang menyebabkan permeabilitas membran sel meningkat sehingga terjadi kebocoran dari DNA-RNA dalam inti sel (Carson, 2002). Pada kadar rendah terbentuk kompleks protein fenol dengan ikatan yang lemah dan segera mengalami peruraian, diikuti penetrasi fenol ke dalam sel dan menyebabkan denaturasi protein. Pada kadar tinggi fenol menyebabkan koagulasi protein dan sel membran mengalami lisis (Hidayaningtias, 2008).

Selain kavikol terdapat pula fenol sederhana dan asam-asam seperti fenolat, sinamat dan kafeat merupakan contoh umum senyawa turunan fenilpropan. Asam kafeat bersifat toksik terhadap virus, bakteri dan fungi. Senyawa turunan seperti katekol yang memiliki dua grup hidroksil dan pirogalol yang memiliki tiga grup hidroksil adalah fenol terhidroksilasi yang bersifat toksik terhadap mikroorganisme. Sisi dan jumlah grup hidroksil pada fenol diduga memiliki hubungan dengan toksisitas relatif terhadap mikroorganisme dengan bukti bahwa hidroksilasi yang meningkat juga menyebabkan tingginya toksisitas zat ini (Naim, 2004).

Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa diameter zona hambat *chlorhexidine gluconate* 0,2% sebagai kontrol positif memiliki ukuran yang lebih besar dibandingkan dengan diameter zona hambat dari minyak atsiri daun sirih konsentrasi 100%. Hal ini menunjukkan bahwa kemampuan menghambat minyak atsiri daun sirih terhadap bakteri *Streptococcus mutans* yang didapat dari penelitian ini tampaknya lebih lemah dibandingkan dengan antiseptik *chlorhexidine gluconate* 0,2%.

Uji lanjutan mengenai farmakokinetik, farmakodinamik, toksisitas, efek samping serta uji secara *in vivo* dari ekstrak ini sendiri masih diperlukan. Begitu

juga dengan metode ekstraksi yang lebih efektif masih perlu dicari. Sehingga penelitian ini masih belum dapat diterapkan secara langsung dalam kasus-kasus infeksi yang disebabkan oleh *Streptococcus mutans*. Oleh karena itu masih diperlukan penelitian yang lebih luas dari penelitian ini agar nantinya dapat diaplikasikan secara klinis pada manusia.

Berdasarkan hasil penelitian ini, yaitu terbentuknya zona hambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* setelah pemberian berbagai konsentrasi minyak atsiri daun sirih kemudian diperkuat dengan hasil analisis data dan kandungan zat aktif minyak atsiri daun sirih yang mempunyai mekanisme antibakteri menunjukkan bahwa hipotesis pada penelitian ini terbukti yaitu minyak atsiri pada daun sirih (*Piper betle Linn*) memiliki efek antibakteri dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* secara *in vitro*.

