BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui efektivitas ekstrak etanol daun tahi ayam (*Lantana camara* L.) sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode difusi sumuran. Metode ini digunakan untuk mengetahui konsentrasi ekstrak etanol daun tahi ayam yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat pertumbuhan bakteri setelah diberi ekstrak. Adapun zona hambat tersebut berbentuk suatu lingkaran yang diameternya dapat dihitung sebagai nilai zona hambat.

Metode difusi sumuran hanya bisa menunjukkan efektivitas antimikroba suatu obat terhadap mikroba, yang dalam penelitian ini menggunakan jenis mikroba berupa bakteri gram positif. Metode difusi sumuran tidak bisa digunakan untuk menentukan Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM). Untuk penentuan KHM dan KBM menggunakan metode dilusi tabung, dimana hanya bisa digunakan untuk ekstrak yang larut air. Pada penelitian ini tidak dapat menggunakan metode dilusi tabung karena ekstrak daun tahi ayam tidak larut air. Hal tersebut dibuktikan dengan terbentuknya endapan saat ekstrak etanol daun tahi ayam dicampur dengan aquades, terbentuknya endapan dapat memungkinkan bakteri ikut mengendap juga dan tidak dapat diamati kekeruhan masing – masing tabung.

Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari pus dengan kode isolat P 257 yang merupakan koleksi Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Sedangkan bahan yang digunakan

untuk pembuatan ekstrak etanol daun tahi ayam adalah serbuk daun tahi ayam dari UPT Materi Medika Batu dan sudah memiliki kunci determinasi yang menunjukkan bahwa benar tanaman tersebut adalah tanaman tahi ayam (*Lantana camara* L.). Adapun proses ekstraksi daun tahi ayam dilakukan di Laboratorium Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Langkah awal dari penelitian ini adalah merendam 200 gram serbuk daun tahi ayam di dalam 200 ml etanol 96%. Sambil menunggu waktu perendaman tersebut, dilakukan identifikasi koloni bakteri *Staphylococcus aureus* pada *Nutrient Agar Plate* (NAP), kemudian identifikasi secara mikroskopis dengan cara pewarnaan Gram untuk membuktikan bahwa bakteri tersebut adalah bakteri Gram positif, tes katalase dan tes koagulase untuk membuktikan bahwa bakteri tersebut merupakan spesies *Staphylococcus aureus*. Dari hasil identifikasi bakteri diperoleh hasil bahwa bakteri yang diuji adalah benar *Staphylococcus aureus*.

Langkah selanjutnya adalah melakukan pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun tahi ayam terhadap *Staphylococcus aureus*. Langkah awalnya adalah menyiapkan koloni segar bakteri *Staphylococcus aureus*, yaitu dengan menanam *Staphylococcus aureus* di media cair *Nutrient Broth* lalu diinkubasi pada suhu 37^{O}C untuk keesokan harinya dapat diuji antibakteri. Kemudian keesokan harinya, sebanyak 2 ml suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* dengan konsentrasi 10^{8} CFU/ml dicampur dengan 20 ml *Mueller Hinton Agar* yang masih cair dengan suhu hangat yang masih bisa ditoleransi oleh bakteri pada *plate*. Setelah dicampur, kemudian diaduk – aduk pelan agar bakteri dan *Mueller Hinton Agar* tercampur dengan baik, lalu dibiarkan agar mengeras. Setelah agar mengeras, dibuat lubang sumuran 5,5 mm pada agar dengan

mengunakan pelubang sumuran. Konsentrasi ekstrak etanol daun tahi ayam yang digunakan adalah 10%, 20%, 30%, 40%, dan 50% sebanyak 45 µL untuk dimasukkan ke dalam masing – masing lubang sumuran. Kemudian, *plate* dimasukkan ke dalam inkubator dengan suhu 37^{O}C selama 18-24 jam. Setelah kurang lebih 23 jam, diameter zona hambat yang terbentuk di sekitar lubang sumuran diukur menggunkan jangka sorong dalam satuan milimeter (mm). Zona hambat merupakan area dimana tidak terdapat pertumbuhan bakteri sama sekali yang menunjukkan adanya pengaruh pemberian ekstrak etanol daun tahi ayam terhadap hambatan pertumbuhan bakteri uji (*Staphylococcus aureus)*. Dari hasil pengujian tersebut dapat diketahui bahwa zona hambat terbentuk di sekitar lubang sumuran pada konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, dan 50%, dengan konsentrasi 0% sebagai kontrol. Diamater zona hambat terkecil terbentuk pada konsentrasi 10%, yaitu rata – rata sebesar 6,32 mm. Hal tersebut menunjukkan bahwa terjadi penghambatan pertumbuhan bakteri uji dengan adanya perlakuan berupa pemberian ekstrak etanol daun tahi ayam.

Analisis hasil penelitian menunjukkan bahwa adanya pengaruh nyata pemberian ekstrak etanol daun tahi ayam terhadap pertumbuhan koloni *Staphylococcus aureus*. Selain itu, semakin tingggi konsentrasi menghasilkan zona hambat yang semakin lebar pula, tetapi juga terdapat dosis dimana dengan ditambah konsentrasi tidak memperlihatkan perbedaan yang signifikan terhadap terbentuknya zona hambat pertumbuhan bakteri, yaitu terbatas hanya pada konsentrasi 20% yang memberikan perbedaan signifikan dibanding konsentrasi – konsentrasi lainnya.

Efek antibakteri ekstrak daun tahi ayam telah diteliti sebelumnya terhadap *Staphylococcus aureus* menggunakan pelarut yang berbeda dan

metode sama, yaitu difusi sumuran. Penelitian yang dilakukan oleh Dini *et al*. (2011) menggunakan beberapa jenis pelarut untuk mengekstrak daun tahi ayam, diantaranya menggunakan n-heksana, kloroform, etil asetat, dan metanol. Pada penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak kloroform daun tahi ayam terbukti paling efektif dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* yang ditunjukkan dengan paling luasnya zona hambat (mm) yang terbentuk akibat perlakuan pemberian ekstrak kloroform daun tahi ayam dibanding pemberian ekstrak - ekstrak dengan jenis pelarut selain kloroform dalam penelitian ini. Kloroform memang terbukti efektif dalam membuat senyawa bioaktif yang bersifat antibakteri dalam daun tahi ayam keluar, tetapi kloroform bersifat toksik karena akan memberikan efek buruk terhadap hepar dan ginjal. Pada proses metabolisme kloroform dalam tubuh, kloroform dikonversi menjadi klorometanol, *phosgene*, dan CO_2 + HCl. *Phosgene* secara normal dikonversi menjadi *gluthatione* untuk ekskresi, tetapi *gluthatione* dideplesi, ikatan kovalen terhadap protein dapat menimbulkan nekrosis ginjal dan liver. Metilen klorida dimetabolisme menjadi CO_2 + CO. Racun karbon monoksida menimbulkan pembentukan karboksihemoglobin. Selain itu, kloroform merupakan contoh dari trihalometana yang kelarutannya dalam lemak tinggi sehingga dapat terakumulasi dalam jaringan adiposa paling banyak, otak, ginjal, dan darah (Philp, 2013). Dengan demikian penelitian yang dilakukan penulis menggunakan etanol sebagai pelarut karena dianggap paling aman dan tingkat toksisitasnya rendah untuk dijadikan bahan pelarut senyawa bioaktif atau fitokimia simplisia yang dijadikan obat. Setelah dilakukan uji fitokimia terhadap ekstrak etanol daun tahi ayam dalam penelitian ini, menunjukkan bahwa terdapat kandungan

flavonoid, saponin, alkaloid dan minyak atsiri. Untuk uji kandungan terpenoid tidak dilakukan karena tidak ada pereaksi yang khusus.

Ekstrak etanol daun tahi ayam mempunyai efek antibakteri karena adanya kandungan senyawa bioaktif yang bersifat antibakteri, seperti flavonoid, terpenoid, saponin, dan minyak atsiri di dalamnya. Mekanisme flavonoid sebagai antibakteri adalah merusak membran bakteri melalui pembentukan hidrogen peroksida, menghambat faktor virulensi bakteri, dan menghambat kunci enzim bakteri, dengan demikian sintesa DNA, metabolisme energi, sintesis dinding sel, dan sintesis membran sel terhambat sehingga pertumbuhan koloni bakteri akan terhambat (Swanson, 2016). Saponin juga dapat bekerja sebagai antibakteri dengan menimbulkan kekacauan pada membran sehingga menyebabkan peningkatan permeabilitas membran (Villa and Crespo, 2014). Selain itu, alkaloid juga memiliki kerja sebagai antibakteri yaitu diduga dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada dinding sel bakteri sehingga lapisan dinding tidak terbentuk secara utuh, terganggunya sintesis peptidoglikan sehingga terbentuknya sel tidak sempurna karena tidak mengandung peptidoglikan dan dinding sel hanya meliputi mebran sel. Mekanisme tersebut dapat menyebabkan sel mengalami lisis dan menyebabkan kematian sel (Retnowati *et al*., 2011). Untuk mekanisme minyak atsiri sebagai antibakteri adalah dengan mengganggu kerja enzim - enzim yang terikat pada membran sel, sehingga mengganggu pembentukan membran sel (Ridawati *et al*., 2011).

Penelitian sebelumnya mengenai efek antibakteri ekstrak daun tahi ayam juga telah dilakukan oleh Nagumathri *et al*. (2012) terhadap *Staphylococcus aureus* menggunakan metode difusi sumuran yang dalam penelitian tersebut disebut sebagai difusi agar dan proses ekstraksinya

menggunakan metode sokhletasi dengan pelarut etil asetat. Pada penelitian tersebut metode yang dimaksudkan hampir sama dengan metode difusi sumuran yang penulis lakukan dalam penelitian, perbedaannya hanya di volume agar, bakteri, dan konsentrasi ekstrak yang digunakan, serta diameter lubang sumurannya. Hasil penelitian tersebut menunjukkan zona hambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* yang terbentuk akibat pemberian ekstrak etil asetat daun tahi ayam adalah 1,5 ± 0,2 mm. Zona hambat yang terbentuk lebih kecil dibanding dengan zona hambat hasil dari penelitian yang telah dilakukan penulis menggunakan konsentrasi ekstrak paling rendah (10%), yaitu 6,32 mm. Adanya perbedaan metode dalam ekstraksi, jenis pelarut yang digunakan, dan metode uji antibakteri yang digunakan diduga menjadi faktor penyebab perbedaan hasil ini.

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data secara statistik, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun tahi ayam mempunyai efek sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* secara *in vitro* dengan metode difusi sumuran. Zona hambat di sekitar lubang sumuran terbentuk pada konsentrasi ekstrak etanol daun tahi ayam 10%, 20%, 30%, 40% dan 50%. Konsentrasi terbesar dimana menghasilkan zona hambat yang berbeda secara signifikan dengan zona hambat yang dihasilkan oleh pemberian konsentrasi – konsentrasi lain adalah 20% dengan lebar diameter zona hambat 9,22 mm.

Dari uraian di atas, dapat diketahui bahwa daun tahi ayam dapat dimanfaatkan dalam bidang medis, terutama untuk terapi alternatif mastitis atau infeksi lain karena infeksi bakteri *Staphylococcus aureus*. Akan tetapi, metode difusi sumuran tidak dapat menentukan Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM) dari ekstrak etanol daun tahi ayam terhadap *Staphylococcus aureus*. Untuk penetuan KHM dan KBM suatu obat dapat

bermanfaat untuk mengetahui dosis sesuai suatu obat untuk menghindari penggunaan yang berlebihan dan meminimalkan terjadinya reaksi toksis yang dapat ditimbulkan pada konsentrasi obat yang lebih tinggi.

Penelitian lebih lanjut menggunakan hewan uji atau secara *in vivo*, maupun pengujian pada manusia atau uji klinik diperlukan sebelum obat dapat diaplikaiskan secara klinis. Penelitian *in vivo* pada hewan uji bertujuan untuk mengetahui sifat farmakodinamik, farmakokinetik, efek toksik, dosis efektif, serta memperkecil risiko penelitian pada manusia jika langsung dilakukan penelitian pada manusia tanpa dilakukan penelitian pada hewan uji terlebih dahulu. Sedangkan penelitian pada manusia atau uji klinik bertujuan untuk memastikan keamanan dan gambaran efek samping yang dapat muncul akibat dari penggunaan terapi obat pada manusia. Jadi, penelitian ini masih sangat dini untuk dapat diterapkan secara klinis dalam terapi alternatif mastitis atau infeksi karena *Staphylococcus aureus* di masyarakat.

Tidak hanya itu, penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan, salah satunya adalah karena hanya menggunakan satu isolat bakteri *Staphylococcus aureus* yang berasal dari pus sehingga kurang kuat untuk dilakukan generalisasi *strain* bakteri *Staphylococcus aureus*. Yang kedua adalah daun tahi ayam yang digunakan dari beberapa tanaman tahi ayam yang memiliki warna daun berbeda, meskipun semua tanaman yang digunakan masih satu spesies, tetapi bisa jadi terdapat kemungkinan bahwa berbeda warna bunga juga berbeda efek. Keterbatasan - keterbatasan tersebut dikarenakan adanya keterbatasan biaya dari peneliti dan waktu untuk menyelesaikan penelitian.