

BAB 6

PEMBAHASAN

Saat ini pemanfaatan bahan alami sering dilakukan oleh masyarakat karena dianggap lebih aman, mudah diperoleh, dan lebih murah dibandingkan bahan kimiawi. Salah satu bahan alami yang berpotensi adalah apel manalagi. Apel manalagi berpotensi sebagai bahan alternatif untuk mencegah kegagalan perawatan saluran akar yang disebabkan oleh bakteri *Enterococcus faecalis*. Biasanya masyarakat mengonsumsi buah apel manalagi beserta kulitnya, bisa dimakan langsung maupun dibuat jus.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek antibakteri ekstrak etanol kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) terhadap *Enterococcus faecalis* yang dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Kulit apel manalagi yang digunakan untuk penelitian ini didapatkan dari Materia Medika Batu. Kulit apel manalagi diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi. Metode maserasi dipilih karena metodenya sederhana serta untuk mengurangi kemungkinan adanya zat aktif yang terkandung dalam kulit apel manalagi oleh pengaruh suhu, karena dalam maserasi tidak ada proses pemanasan (Savitri, 2014). Penelitian ini menggunakan etanol sebagai pelarut, karena etanol memiliki polaritas yang tinggi dibandingkan dengan jenis pelarut organik lain. Etanol mempunyai titik didih yang rendah, cenderung aman, tidak beracun dan berbahaya (Janan dkk., 2013). Hasil penelitian ini diperoleh dengan cara melihat kekeruhan pada tabung untuk mendapatkan konsentrasi KHM dan dilanjutkan *streaking* pada agar untuk

menghitung jumlah koloni bakteri menggunakan *colony counter* untuk mendapatkan konsentrasi KBM.

Konsentrasi ekstrak etanol kulit apel manalagi yang digunakan pada penelitian pendahuluan adalah 0%; 3,125%; 6,25%; 12,5%; 25%; 50%; dan 100%. Setelah diinkubasi, bakteri sama sekali tidak tumbuh pada perlakuan ekstrak konsentrasi 100%, tetapi pada konsentrasi 50% bakteri tumbuh sangat sedikit bila dibandingkan konsentrasi lainnya. Berdasarkan hasil tersebut dilakukan perapatan konsentrasi sehingga konsentrasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah 0%; 42,5%; 45%; 47,5%; 50%; 52,5%; dan 55%.

Pada uji antibakteri ekstrak etanol kulit apel manalagi terhadap bakteri *Enterococcus faecalis* dengan metode dilusi tabung tidak dapat ditentukan nilai Kadar Hambat Minimal (KHM) karena larutan keruh dan mengendap sehingga KHM tidak bisa diamati. Sedangkan pada *colony counter*, didapatkan rata-rata pertumbuhan bakteri pada konsentrasi 0% adalah 1086,75 koloni bakteri, konsentrasi 42,5% adalah 284,25 koloni bakteri, konsentrasi 45% adalah 243 koloni bakteri, konsentrasi 47,5% adalah 147,5 koloni bakteri, konsentrasi 50% adalah 76,75 koloni bakteri, konsentrasi 52,5% adalah 4 koloni bakteri, sedangkan pada konsentrasi 55% tidak ada pertumbuhan koloni bakteri. Dari hasil uji tersebut dapat diketahui bahwa Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM) adalah 55%.

Data penelitian kemudian diuji menggunakan uji *One-way ANOVA*. Berdasarkan uji *One-way ANOVA*, menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,000 ($p < 0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan dari jumlah koloni *Enterococcus faecalis* pada masing-masing kelompok. Hal ini

menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) cukup efektif terhadap bakteri *Enterococcus faecalis*.

Hasil Uji *Post Hoc* Tukey menunjukkan kelompok konsentrasi yang dikelompokkan berdasarkan jumlah bakteri yang tumbuh. Pada konsentrasi 42,5% dan 45% dikelompokkan menjadi satu subset karena antar konsentrasi tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Pada konsentrasi 47,5% dan 50% juga dikelompokkan menjadi satu subset karena antar konsentrasi tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Pada konsentrasi 50%; 52,5%; dan 55% dikelompokkan menjadi satu subset karena antar konsentrasi tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Salah satu faktor yang menyebabkan dalam satu subset konsentrasi menunjukkan perbedaan jumlah pertumbuhan bakteri yang tidak signifikan adalah karena dalam satu subset selisih perbedaan konsentrasinya ekstraknya kecil, yaitu sebesar 2,5%. Peningkatan konsentrasi ekstrak sebesar 2,5% tidak mempengaruhi efektifitas pemberian ekstrak terhadap penurunan jumlah bakteri karena terdapat sedikit peningkatan kandungan polifenol dan flavonoid. Sedangkan pada ekstrak dengan dengan konsentrasi 0% menunjukkan perbedaan yang signifikan terhadap semua subset konsentrasi yang lain karena tidak mengandung senyawa antibakteri polifenol dan flavonoid, serta selisih perbedaan konsentrasi ekstrak yang besar dengan konsentrasi lainnya (Jannata dkk., 2014; Nilamsari dkk., 2012).

Uji korelasi *Pearson* juga dilakukan dan didapatkan besar koefisien adalah $R = -0,992$. Tanda negatif menunjukkan hubungan terbalik, yaitu semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) maka semakin sedikit jumlah pertumbuhan koloni bakteri.

Efek antibakteri ekstrak etanol kulit apel manalagi terhadap pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis* ini disebabkan senyawa aktif yang terkandung pada kulit apel manalagi. Kandungan utamanya adalah polifenol dan flavonoid (Moersidi, 2015). Selain itu, terhambatnya pertumbuhan bakteri-bakteri tersebut juga disebabkan oleh adanya zat aktif yang terkandung dalam kulit apel manalagi seperti beberapa fitokimia turunan dari polifenol, antara lain katekin, kuersetin, *phloridzin*, dan asam klorogenik. Berdasarkan hasil penelitian ini dapat diketahui bahwa ekstrak etanol kulit apel manalagi konsentrasi 55% merupakan konsentrasi bunuh minimal (KBM). Efek antibakteri ekstrak etanol kulit apel manalagi konsentrasi 55% ini yang mampu membunuh bakteri, kemungkinan disebabkan terdapat senyawa yang aktif seperti polifenol dan flavonoid yang bekerja maksimal dikarenakan konsentrasi kandungannya yang besar (Jannata dkk., 2014). Berdasarkan penelitian ini dapat dikatakan bahwa ekstrak etanol kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) mampu membunuh bakteri *Enterococcus faecalis* pada konsentrasi 55%.

Pertumbuhan bakteri ini dipengaruhi oleh besarnya zat aktif dalam suatu konsentrasi larutan. Semakin besar konsentrasi larutan, maka jumlah kandungan zat aktif yang dikeluarkan akan semakin tinggi sehingga mengakibatkan jumlah pertumbuhan bakteri menurun. Sebaliknya apabila konsentrasi larutan rendah, maka kandungan zat aktif yang dikeluarkan sedikit, sehingga jumlah pertumbuhan bakteri meningkat (Surjowardojo dkk., 2015). Ekstrak etanol kulit apel mengandung polifenol lebih banyak daripada flavonoid (Massini *et al.*, 2013).

Senyawa polifenol mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme, karena polifenol mempunyai kemampuan denaturasi protein sel mikroorganisme

dan merusak membran sel mikroorganisme (Fajriani dan Andriani, 2014). Apabila protein dalam sel didenaturasi, akan menimbulkan gangguan terhadap aktivitas sel dan kemungkinan sel bisa mati (Aditya dkk., 2015).

Flavonoid dapat menghambat pertumbuhan bakteri karena flavonoid bersifat polar sehingga mudah menembus lapisan peptidoglikan yang bersifat polar daripada lapisan lipid yang non polar (Puspitasari dkk., 2013). Flavonoid yang termasuk dalam golongan fenol ini dapat merusak struktur protein yang terkandung dalam dinding sitoplasma bakteri dan dapat pula mengubah sifat fisik dan kimiawi sitoplasma yang mengandung protein dan mendenaturasi dinding sel bakteri dengan cara berikatan dengan protein melalui ikatan hidrogen. Aktivitas ini akan mengganggu fungsi permeabilitas selektif, fungsi pengangkutan aktif, dan pengendali susunan protein yang mengakibatkan fungsi dinding sel sebagai pemberi bentuk sel dan melindungi sel dari lisis osmotik akan terganggu. Dengan terganggunya fungsi dinding sel, akan menyebabkan lisis pada sel (Puspitasari dkk., 2013; Kameswari dkk., 2013).

Katekin adalah golongan metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tumbuhan dan termasuk golongan flavonoid. Katekin menghambat bakteri dengan cara merusak membran sitoplasma bakteri. Kerusakan tersebut dapat mencegah masuknya nutrisi yang diperlukan bakteri untuk menghasilkan energi, akibatnya bakteri akan terhambat pertumbuhannya dan mengalami kematian (Jannata dkk., 2014).

Kuersetin juga merupakan salah satu golongan dari flavonoid. Kuersetin memiliki aktivitas antibakteri dengan mengikat *Gyrase B* (GyrB), yaitu sub unit enzim *gyrase* yang berperan dalam replikasi DNA bakteri. Pada proses replikasi DNA terjadi pemisahan rantai berbentuk heliks ganda. Enzim *gyrase* berfungsi

membuka pilinan rantai DNA. Ikatan kuersetin dengan GyrB menyebabkan terhambatnya pembukaan pilinan tersebut, sehingga replikasi DNA terganggu (Nilamsari dkk., 2012).

Phloridzin termasuk dalam kelompok *dihydrochalcones*, sejenis flavonoid. Senyawa ini merusak dinding sel bakteri melalui perbedaan kepolaran antara lipid penyusun DNA bakteri dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid, sehingga dinding sel akan rusak dan senyawa tersebut dapat masuk ke dalam inti sel bakteri. Asam klorogenik juga mempunyai sifat antibakteri. Asam klorogenik menghambat enzim tertentu yang terlibat dalam sintesis asam lemak bakteri. Asam klorogenik juga secara signifikan meningkatkan permeabilitas membran plasma bakteri yang mengakibatkan kebocoran sitoplasma termasuk nukleotida (Jannata dkk., 2014).

Efek antibakteri ekstrak etanol kulit apel manalagi telah didukung oleh beberapa penelitian yang sudah pernah dilakukan sebelumnya. Pada penelitian Jannata (2014), disebutkan bahwa ekstrak etanol kulit apel manalagi menunjukkan bahwa konsentrasi terendah yang masih dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* adalah 25% (Jannata dkk., 2014).

Selain itu, pada penelitian yang dilakukan oleh Nilamsari (2012), disebutkan bahwa ekstrak kulit buah apel manalagi memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus viridians* dengan konsentrasi ekstrak terkecil adalah konsentrasi 25%. Hasil dari kedua penelitian tersebut sejalan dengan penelitian ini, sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol kulit apel manalagi memiliki efek antibakteri (Nilamsari dkk., 2012).

Keterbatasan yang ditemui dalam penelitian ini antara lain adalah metode pembuatan ekstrak yang digunakan (maserasi) tidak dapat menunjukkan

proporsi jumlah bahan aktif yang terkandung di dalam ekstrak tersebut. Lama penyimpanan ekstrak dapat mempengaruhi sensitivitas ekstrak sebagai antibakteri. Semakin lama ekstrak disimpan, sensitivitas ekstrak akan menurun. Berdasarkan keterbatasan yang telah disebutkan, perlu dilakukan standardisasi dalam pemilihan kulit apel manalagi yang digunakan, penggunaan alat ekstraksi, serta lamanya masa penyimpanan ekstrak, sehingga apabila dilakukan penelitian yang sama di tempat yang berbeda akan didapatkan hasil yang sama.

Penelitian ini dapat digunakan sebagai dasar untuk penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh antibakteri ekstrak etanol kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) terhadap bakteri lain. Aplikasi klinis penggunaan ekstrak etanol kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) sebagai antibakteri terhadap bakteri *Enterococcus faecalis* masih memerlukan penelitian lebih lanjut secara *in vivo*. Hal yang masih perlu diteliti melalui penelitian medis antara lain dosis efektif, toksisitas, dan efek samping yang ditimbulkan oleh ekstrak etanol kulit apel manalagi. Berdasarkan hal tersebut, perlu dilakukan penelitian *in vivo* mengenai hal-hal di atas pada hewan coba yang ke depannya dapat diaplikasikan pada manusia.