

## BAB VI

### PEMBAHASAN

#### 6.1 Pembahasan Hasil Penelitian

Penelitian eksperimental murni (*True Experimental Design*) yang dilakukan secara *in vitro* ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan efektivitas antibakteri ekstrak etanol kulit apel malang dan apel washington terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. Metode penelitian ini menggunakan metode dilusi tabung. Metode dilusi tabung digunakan untuk mengetahui Kadar Hambat Minimum (KHM) dengan cara mengamati kekeruhan tabung pada tiap-tiap konsentrasi secara kualitatif dengan menggunakan kertas putih yang sudah diberikan garis hitam dengan ketebalan berbeda yang diletakkan di belakang tabung untuk menilai tingkat kekeruhan secara kualitatif. Pada dilusi tabung tampak bahwa pada ekstrak etanol kulit apel malang dan apel washington konsentrasi 3%, sudah tidak ditemukan adanya kekeruhan, sehingga dapat disimpulkan bahwa konsentrasi ekstrak kulit apel malang sebesar 3% dan ekstrak kulit apel washington sebesar 3% adalah KHM.

Kadar Bunuh Minimum (KBM) diketahui dengan cara mengamati pertumbuhan koloni bakteri *Streptococcus mutans* pada media *Brain Heart Infusion Agar* dengan menggunakan *colony counter*, KBM merupakan konsentrasi paling rendah dimana tidak ada pertumbuhan dari bakteri *Streptococcus mutans* dan dapat diketahui hubungan antara konsentrasi ekstrak etanol kulit apel malang dan apel Washington dengan pertumbuhan koloni bakteri *Streptococcus mutans*. Untuk mengetahui KBM, setiap tabung dari konsentrasi yang ada dilakukan *streaking* sebanyak satu ose pada media *Brain Heart Infusion Agar* yang selanjutnya diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu

37°C. Selanjutnya KBM ditentukan dengan cara mengamati hasil perhitungan koloni dimana tidak adanya pertumbuhan koloni pada konsentrasi paling rendah, dalam penelitian ini terdapat pada konsentrasi 4% untuk ekstrak kulit apel malang dan konsentrasi 5% untuk ekstrak kulit apel washington. Pertumbuhan koloni bakteri *Streptococcus mutans* masih didapatkan sampai dengan konsentrasi 3% untuk ekstrak kulit apel malang dan konsentrasi 4% untuk ekstrak kulit apel washington. Sehingga dapat disimpulkan bahwa Kadar Bunuh Minimum (KBM) terdapat pada konsentrasi 4% untuk ekstrak kulit apel malang dan 5% untuk ekstrak kulit apel washington.

Efek antibakteri dari ekstrak etanol kulit apel malang dan apel washington disebabkan karena kandungan di dalam kulit apel malang dan apel washington, seperti flavonoid dan fenolik. Flavonoid ditemukan secara in vitro dapat menjadi substansi antimikroba yang efektif dalam melawan mikroorganisme spektrum luas. Flavanoid lipofilik juga dapat merusak membran mikroba. Sebuah perubahan fluiditas membran di daerah hidrofilik dan hidrofobik dapat dikaitkan dengan efek antimikroba yang menunjukkan bahwa flavonoid mungkin mengurangi fluiditas lapisan luar dan dalam membran. Korelasi antara aktivitas antibakteri dan gangguan membran mendukung teori bahwa flavonoid dapat menunjukkan aktivitas antibakteri dengan mengurangi fluiditas membran sel bakteri. Osawa *et al.*, menunjukkan bahwa 5-hidroksiflavanon dan 5-hidroksisoflavanon dengan satu, dua, atau tiga tambahan grup hidroksil pada posisi 7, 2', dan 4' menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* dan *Streptococcus sobrinus*. (Kumar & Pandey, 2013).

Salah satu flavonoid yang paling penting adalah kuersetin. apel juga mengandung kuersetin dalam jumlah tinggi. Dalam 100 gram buah apel, terkandung sekitar 4,42 mg aglikon kuersetin dan 13,2 mg glikosida kuersetin. Kandungan kuersetin ini bervariasi tiap buahnya dipengaruhi oleh perbedaan

varietas, nutrisi tanaman yang dipakai, kondisi pertumbuhan, proses pengolahan, dan penyimpanan. Rata-rata kadar kuersetin tertinggi terdapat pada apel segar varian Rome beauty yaitu sebesar 477.96 mg/Kg. Rerata kadar kuersetin pada varietas apel impor (Fuji dan Red delicious) pada masing-masing perlakuan lebih rendah dibandingkan rerata kadar kuersetin pada varietas apel lokal (Rome beauty dan Manalagi). Analisis hubungan perbedaan kadar kuersetin pada masing-masing varietas apel lokal dan impor berbeda secara bermakna ( $p=0,000$ ). Berdasarkan hasil tersebut, dapat diartikan bahwa varietas apel yang berbeda mengandung kadar kuersetin yang berbeda pula. Hal ini dikarenakan varietas apel yang berbeda akan mengandung total fenol dan total flavonoid yang berbeda pula. Selain itu, perbedaan warna kulit apel pada semua varietas apel diduga juga berperan terhadap perbedaan kadar kuersetinnya. Patrick Barry, 2011, menjelaskan bahwa warna dari buah apel didapat dari polifenol yang terkandung di dalamnya. Secara umum, semakin cerah warna kulit apel, maka semakin tinggi pula kadar polifenolnya. Faktor lain yang diduga juga ikut mempengaruhi perbedaan kandungan kuersetin antara apel lokal dan impor adalah adanya jangka waktu penyimpanan tertentu ( $\pm 2$  bulan) pada apel impor untuk sampai ke Indonesia. Bastian, 2004, menyatakan bahwa penyimpanan memberikan dampak pada penurunan zat gizi buah apel Red delicious (Cempaka *dkk.*, 2014).

Dapat dilihat perbandingan jumlah total kandungan fenol dan flavonoid dari kulit apel malang dan apel washington. Total kandungan fenol dari kulit apel malang sangat tinggi mencapai ( $p<0,05$ )  $500.02 \pm 13.7$ mg dari asam galat/100 g kulit. Dan kulit apel malang juga mempunyai kandungan flavonoid yang sangat tinggi, yaitu  $306.1 \pm 6.7$  dari katekin/100 g kulit. (Wolfe *et al.*, 2003). Apel 'Red Delicious', ekstrak kulitnya menunjukkan kandungan fenol tertinggi sebesar (110.90 mg/100 g dari berat buah segar) (Fattouch *et al.*, 2008).

Mekanisme toksisitas polifenol terhadap mikroba mungkin berhubungan dengan inhibisi dari enzim-enzim hidrolitik (protease dan karbohidrolase) atau aktivitas interaksi lain untuk menonaktifkan adhesi dari bakteri, transportasi protein dari membrane sel bagian dalam dan dinding sel, dan interaksi nonspesifik dengan karbohidrat (Swadas *et al.*, 2016). Senyawa fenolik juga dapat mengubah permeabilitas dari membran sel yang mengakibatkan pelepasan fosforilasi oksidatif, inhibisi transport aktif, dan hilangnya metabolisme karena membrane sitoplasma terganggu (Herrera *et al.*, 2014).

Banyak peneliti telah mengisolasi dan mengidentifikasi struktur flavonoid dalam perannya sebagai antifungal, antiviral, dan antibakteri. Sebagai contoh, aktivitas kuersetin, telah menyebabkan inhibisi dari DNA girase. Ditemukan juga, soforaflavon G dan (-)-epigalokatekin galat menghambat fungsi dari membrane sitoplasma, dan likokalkon A dan C menghambat metabolisme energi. Flavonoid menghambat sintesis DNA dengan sangat kuat pada *Proteus vulgaris*, sementara sintesis RNA paling dipengaruhi pada bakteri *S. aureus*. Flavonoid yang berperan dalam aktivitas ini adalah robinetin, myrisetin, dan (-)-epigallokatekin. Sintesis protein dan lemak juga terpengaruh tetapi tidak sebesar pada sintesis DNA. Menurut penulis, cincin B flavonoid dapat berperan dalam mengikat oksigen dengan menyusun asam nukleat dan hal ini dapat menjelaskan aktivitas inhibisi dari sintesis DNA dan RNA (Cushnie & Lamb, 2005).

Peneliti sebelumnya telah menemukan bahwa soforaflavanon G mempunyai aktivitas antibakteri yang sangat intensif melawan MRSA dan streptokokus. Efek dari soforaflavanon G pada fluiditas membran diteliti menggunakan model membrane liposom dan dibandingkan dengan flavanon naringenin yang kurang aktif, dimana kekurangan 8-lavandulyl dan 2'-grup hidroksil. Pada konsentrasi yang sesuai dari nilai MIC, soforaflavanon G menunjukkan peningkatan polarisasi fluoresens dari liposom secara signifikan.

Peningkatan ini mengindikasikan adanya perubahan terhadap fluiditas membran pada area hidrofilik dan hidrofobik, menunjukkan bahwa Soforavlavanon G mereduksi fluiditas membran dalam dan membran luar. (Cushnie & Lamb, 2005).

Katekin juga termasuk dalam grup flavonoid yang ternyata mempunyai aktivitas yang lebih efektif dalam melawan bakteri gram positif dibandingkan dengan gram negatif. Likokalkon dapat mengganggu metabolisme energy dengan cara yang sama seperti *respiratory-inhibiting antibiotics*, yang mana energy dibutuhkan dalam penyerapan aktif dari berbagai macam metabolisme dan untuk makromoleku biosintesis (Cushnie & Lamb, 2005)..

Berdasarkan pada hasil penelitian dan analisis data dari kulit apel malang dan apel washington, didapatkan penurunan jumlah koloni bakteri *Streptococcus mutans* seiring dengan peningkatan konsentrasi dari masing-masing ekstrak, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak kulit apel malang dan apel washington memiliki efek antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* yang diuji secara *in vitro*. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol kulit apel malang lebih efektif namun tidak terdapat perbedaan signifikan dibandingkan dengan kulit apel washington. Hal ini bisa disebabkan karena kandungan flavonoid dan fenol yang lebih tinggi terkandung dalam kulit apel malang dibandingkan dengan kulit apel washington.

Dalam penelitian ini memiliki beberapa kelemahan diantaranya tidak diketahui dengan pasti kandungan bahan aktif yang ada dalam ekstrak etanol kulit apel malang dan apel washington dan jumlah pasti dari masing-masing kandungan bahan aktif yang dihasilkan dari proses ekstraksi, maka dari itu masih diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kandungan aktif, batasan dosis aman untuk ekstrak etanol kulit apel malang dan apel washington sebagai antibakteri *Streptococcus mutans*, dan perlu dilakukannya uji toksisitas dan efek samping agar dapat diaplikasikan secara klinis oleh masyarakat.