

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### A. Hasil

Setelah diadaptasi selama tujuh hari mencit kelompok 1, 2 dan 3 diinfeksi dengan bakteri *Shigella dysenteriae* 0,5 ml secara oral pada hari kedelapan dan hari kedua belas. Dari perhitungan angka bakteri isolat hepar mencit diperoleh hasil yang tercantum pada tabel berikut ini:

Tabel 3. Jumlah angka bakteri isolat hepar mencit dengan berbagai perlakuan

No	Angka Bakteri Isolat Hepar Mencit (CFU/ml)			
	Kelompok			
	1	2	3	4
1	3.970	830	790	460
2	1.510	10.180	3.900	430
3	490	620		3.690
<b>Rata-rata</b>	<b>1.990</b>	<b>3.877</b>	<b>2.345</b>	<b>1.527</b>

#### Keterangan:

1. K1: hanya diberi pakan standar (kontrol negatif)
2. K2: mencit diinfeksi *Shigella dysenteriae* + obat Nodiar + pakan standar (kontrol standar)
3. K3: mencit diinfeksi *Shigella dysenteriae* + infusa belimbing wuluh konsentrasi 50% + pakan standar
4. K4: mencit diinfeksi *Shigella dysenteriae* + infusa belimbing wuluh konsentrasi 25% + pakan standar

Pada Tabel 3 tersebut didapatkan jumlah angka bakteri tertinggi pada kelompok 2 dengan rata-rata bakteri 3.877 CFU/gr. Jumlah angka bakteri terendah terdapat pada kelompok 4 dengan rata-rata bakteri 1.527 CFU/gr. Pada mencit kelompok 1 tetap ditemukan adanya angka bakteri pada hepar.

Tabel 4. Hasil uji statistik perbandingan kelompok kontrol, nodiar, infusa 50% dan infusa 25%

Kelompok	Mean Rank	P
K1	6,67	
K2	7,00	0,560
K3	7,00	
K4	3,67	

Tabel 4 menunjukkan hasil perhitungan statistik dengan metode *Kruskal- wallis* dari data angka bakteri diperoleh  $p > 0,05$ . Hal ini berarti bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan. Jadi infusa buah belimbing wuluh tidak mampu menurunkan angka bakteri isolat hepar mencit yang diinfeksi bakteri *Shigella dysenteriae* (Hipotesis 1 ditolak).

Untuk mengetahui perbedaan angka bakteri antara 2 kelompok perlakuan dilakukan uji *Mann whitney*. Pertama dilakukan perbandingan antara mencit pada kelompok 1 dengan mencit pada kelompok 2, kelompok 3 dan kelompok 4. Dari uji tersebut didapatkan

hasil  $p > 0,05$  yang berarti tidak terdapat perbedaan angka kuman yang bermakna antara kelompok 1 (kelompok kontrol negatif) dengan kelompok 2, 3 dan 4. Selanjutnya dilakukan perbandingan antara mencit pada kelompok 2 dengan mencit pada kelompok 3 dan kelompok 4. Dari uji tersebut didapatkan hasil  $p > 0,05$  yang berarti tidak terdapat perbedaan angka kuman yang bermakna antara kelompok 2 dengan kelompok 3 dan 4. Berikut merupakan hasil selengkapnya dari uji statistik dengan metode *Mann whitney*.

Tabel 5. Hasil uji statistik *Mann whitney*

P	K1	K2	K3	K4
K1	-	0,275	0,564	0,127
K2	0,275	-	0,564	0,827
K3	0,564	0,564	-	0,564
K4	0,127	0,827	0,564	-

Jadi konsentrasi efektif infusa buah belimbing wuluh yang mampu menurunkan angka bakteri isolat hepar mencit yang diinfeksi bakteri *Shigella dysenteriae* lebih dari 50% (Hipotesis 2 ditolak).

## B. Pembahasan

Dari penelitian yang telah dilakukan diketahui bahwa pemberian infusa buah belimbing wuluh tidak dapat menurunkan angka bakteri isolate hepar mencit yang diinfeksi *Shigella dysenteriae* karena data

angka bakteri antar kelompok mencit yang diperoleh secara statistik tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan.

Data yang tercantum pada Tabel 3 menunjukkan adanya angka bakteri *Shigella dysenteriae*, yang berarti invasi dari bakteri *Shigella dysenteriae* sudah mencapai hepar setelah serangkaian perlakuan diberikan pada mencit. Pada kelompok 1 kontrol negatif tetap ditemukan adanya angka bakteri *Shigella dysenteriae*. Hal serupa juga dialami oleh Monneffi dan Suryani (2010), peningkatan rata-rata angka bakteri pada kelompok 1 kontrol negatif dapat disebabkan oleh adanya kontaminasi pada kandang tempat pemeliharaan, pakan ataupun air minum mencit selama penelitian berlangsung. Kontaminasi dapat terjadi akibat proses pencucian alat yang digunakan untuk kepentingan penelitian. Pencucian alat disini terkait air yang digunakan untuk mencuci. Air dapat menjadi medium pembawa mikroorganisme patogenik yang berbahaya bagi kesehatan. Patogen yang sering ditemukan di dalam air terutama adalah bakteri-bakteri penyebab infeksi saluran pencernaan seperti *Vibrio cholerae* penyebab penyakit kolera, *Shigella dysenteriae* penyebab disentri basiler, *Salmonella typosa* penyebab tifus, *S. Paratyphi* penyebab paratifus, virus polio dan hepatitis serta *Entamoeba histolytica* penyebab disentri amuba (Ondania, *et al.*, 2014).

Bakteri *Shigella dysenteriae* dapat menimbulkan penyakit yang sangat menular (Jawetz,*et al.*, 2005). Penyebaran bakteri *Shigella*

*dysenteriae* dapat terjadi melalui rute fekal-oral, hewan yang terinfeksi mengeluarkan bakteri *Shigella dysenteriae* bersama dengan fesesnya, kemudian mencemari lingkungan. Individu yang terinfeksi, mengeluarkan bakteri *Shigella dysenteriae* di dalam fesesnya dengan konsentrasi lebih dari  $10^9$  bakteri per gram tinja (Said, 2008) dan menurut Sureshababu (2010), transmisi akan terus berlanjut selama masih ditemukan bakteri di feses.

Antibiotik ialah zat yang dihasilkan oleh mikroorganisme atau dihasilkan secara sintetik yang dapat membunuh atau menghambat perkembangan mikroorganisme. Selain dari hasil metabolisme mikroorganisme, antibiotik juga dapat dibuat dari bahan alam yaitu dari beberapa hewan dan tanaman. Berdasarkan mekanisme kerjanya, antibiotik umumnya dibagi menjadi lima kelompok yaitu antibiotik yang menghambat sintesis dinding sel, antibiotik yang mengurangi permeabilitas atau fungsi membran sel, antibiotik yang menghambat sintesis protein sel mikroba, antibiotik yang menghambat metabolisme sel mikroba dan antibiotik yang menghambat sintesis asam nukleat sel mikroba (Pratama, 2014).

Obat yang dipilih sebagai kontrol standar adalah Nodiar yang termasuk dalam golongan fitofarmaka. Fitofarmaka merupakan jamu dengan kasta tertinggi karena khasiat, keamanan serta standar proses pembuatan dan bahannya telah diuji secara klinis. Jamu yang berstatus

sebagai fitofarmaka juga dijual di apotek dan sering diresepkan oleh dokter (Yuliarti, 2008).

Nodiar dipilih karena berkhasiat sebagai anti-diare dengan bahan baku daun jambu biji (*Psidium guajava*) dan kunyit (*Curcuma domestica*) yang mempunyai efek antibakteri (Hermanto, 2007). Daun jambu biji memiliki kandungan flavonoid yang sangat tinggi. Flavonoid bekerja dengan menghambat pertumbuhan dari bakteri (Rosidah, 2012). Kandungan daun jambu biji lainnya yaitu saponin, minyak atsiri, tanin, anti mutagenic dan alkaloid. Kunyit juga memiliki khasiat sebagai antibakteri karena mengandung senyawa kurkumin yang bekerja dengan merusak membran sel bakteri dan mendenaturasi protein dari bakteri (Rahmawati, 2015).

Senyawa flavonoid dan saponin juga terdapat pada buah belimbing wuluh yang digunakan dalam penelitian ini. Flavonoid adalah senyawa yang terdiri dari 15 atom karbon yang umumnya tersebar di dunia tumbuhan (Ayuni, 2012). Flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol dan memiliki mekanisme kerja dalam menghambat pertumbuhan bakteri (Rinawati, 2010).

Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri dapat dibagi menjadi tiga yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel dan menghambat metabolisme energi. Mekanisme antibakteri flavonoid dalam menghambat sintesis asam nukleat adalah cincin A dan B yang memegang peran penting dalam proses interkelas

atau ikatan hidrogen dengan menumpuk basa pada asam nukleat yang menghambat pembentukan DNA dan RNA. Letak gugus hidroksil di posisi 2',4' atau 2',6' dihidroksilasi pada cincin B dan 5,7 dihidroksilasi pada cincin A berperan penting pada aktivitas antibakteri flavonoid. Hal ini menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri dan lisosom (Cushnie, 2005).

Kedua, mekanisme antibakteri flavonoid dengan cara menghambat fungsi membran sel yaitu dengan membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler sehingga dapat merusak membran sel dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler. Flavonoid mengganggu permeabilitas membrane sel dan menghambat ikatan enzim ATPase dan fosfolipase. Ketiga, mekanisme antibakteri flavonoid dengan cara menghambat metabolisme energi yaitu dengan menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri. Flavonoid menghambat sitokrom C reduktase sehingga proses metabolisme dan biosintesis makromolekul terhambat (Cushnie, 2005).

Saponin dapat bekerja sebagai antibakteri dengan cara menyebabkan kebocoran protein dan enzim di dalam sel. Saponin dapat berdifusi melalui membran luar dinding sel yang rentan kemudian mengikat membran sitoplasma sehingga mengganggu dan mengurangi kestabilan membran sel. Hal ini menyebabkan sitoplasma bocor keluar dari sel yang mengakibatkan kematian sel. Agen antimikroba yang mengganggu membran sitoplasma bersifat bakterisida (Cavalieri, 2005).

Menurut Noer dan Nurhayati (2006), senyawa saponin dapat melakukan mekanisme penghambatan dengan cara membentuk senyawa kompleks dengan membran sel melalui ikatan hidrogen, sehingga dapat menghancurkan sifat permeabilitas dinding sel dan akhirnya dapat menimbulkan kematian sel.

Senyawa yang terkandung dalam buah belimbing wuluh lainnya yang juga memiliki efek antibakteri yaitu triterpenoid. Mekanisme triterpenoid sebagai antibakteri adalah bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri dan mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Cowan, 1999). Flavonoid, saponin dan triterpenoid memiliki mekanisme kerja serupa dalam perannya sebagai antibakteri yaitu mengganggu kestabilan membrane sel dan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri.

Kemampuan bahan dalam menghambat pertumbuhan bakteri juga dapat dipengaruhi oleh sifat dinding sel bakteri itu sendiri. Perbedaan struktur dinding sel menentukan penetrasi, ikatan dan aktivitas senyawa antibakteri (Jawetz, *et al.*, 2005). Bakteri gram positif mempunyai struktur dinding sel sederhana sehingga senyawa aktif lebih mudah masuk ke dalam sel dan menemukan sasarannya. Sedangkan *Shigella*,



yang termasuk ke dalam kelompok bakteri gram negatif, memiliki struktur dinding sel yang lebih kompleks dan berlapis tiga yaitu lapisan luar berupa lipoprotein, lapisan tengah yang berupa peptidoglikan dan lapisan dalam berupa lipopolisakarida (Santoso, 2012). Dinding sel *Shigella dysenteriae* lebih tahan terhadap kerusakan karena dinding sel bakteri gram positif tidak mengandung asam teikoat dan hanya memiliki sejumlah kecil peptidoglikan, sedangkan dinding sel bakteri gram negatif memiliki banyak lapisan peptidoglikan (*murein*) dan asam teikoat (Hengsa, 2014).

Hasil pengujian yang dilakukan oleh Dewi (2010) menunjukkan diameter zona penghambatan pada bakteri gram positif secara umum cenderung lebih besar daripada bakteri gram negatif. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri gram positif lebih rentan oleh senyawa antibakteri daripada bakteri gram negatif. Perbedaan sensitivitas bakteri terhadap antibakteri tersebut dipengaruhi oleh struktur dinding sel bakteri. Bakteri gram positif cenderung lebih sensitif terhadap antibakteri, karena struktur dinding sel bakteri gram positif lebih sederhana dibandingkan struktur dinding sel bakteri gram negatif sehingga memudahkan senyawa antibakteri untuk masuk ke dalam sel bakteri gram positif.

Proses ekstraksi senyawa antibakteri juga berpengaruh terhadap aktivitasnya (Kusmayati & Agustini, 2007). Pemisahan pelarut didasarkan pada kaidah '*like dissolved like*' yang artinya suatu senyawa

polar akan larut dalam pelarut polar (Noerono dalam Pratiwi, 2009). Flavonoid cenderung bersifat polar sehingga lebih banyak terekstrak dalam pelarut akuades, metanol dan etanol. Pada penelitian yang dilakukan oleh Lathifah (2008) didapatkan bahwa senyawa flavonoid lebih dominan ditemukan pada ekstrak etanol dan metanol.

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Elifah (2010) menunjukkan diameter zona hambat cenderung meningkat sebanding dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak. Menurut Pelczar dan Chan (1986) dalam Sabir (2005:140) aktivitas suatu antibakteri akan semakin besar dalam menghambat bakteri apabila konsentrasinya tinggi pula, hal ini disebabkan masih banyaknya senyawa-senyawa antibakteri yang aktif. Penurunan jumlah koloni bakteri pada penelitian Setyohadi dkk. (2011) dan Noorhamdani dkk. (2012) dikarenakan pada konsentrasi yang semakin tinggi mengandung senyawa antibakteri yang lebih banyak sehingga semakin banyak senyawa antibakteri yang diserap oleh bakteri dan menyebabkan pertumbuhan koloni bakteri menjadi terhambat. Menurut Dewi dkk. (2013), sirup belimbing wuluh yang setara dengan kontrol positif *cyprofloxacin* adalah konsentrasi 70%. Pemberian infusa buah belimbing wuluh konsentrasi 50% terhadap angka bakteri isolat hepar mencit memiliki potensi yang sama dengan infusa buah belimbing wuluh konsentrasi 25%. Selain itu, pemberian Nodiar dan infusa buah belimbing wuluh juga memiliki potensi yang sama dalam menurunkan angka bakteri isolat hepar mencit.

Hasil perhitungan statistik dalam penelitian ini membuktikan bahwa infusa belimbing wuluh tidak berpengaruh terhadap angka bakteri isolat hepar mencit yang diinfeksi *Shigella dysenteriae*. Hal ini disebabkan karena beberapa hal, antara lain:

- 1) *Shigella dysenteriae* merupakan bakteri gram negatif yang memiliki karakteristik dinding sel yang kompleks dan berlapis tiga yaitu lipoprotein, peptidoglikan dan lipopolisakarida. Akibatnya kerja senyawa flavonoid, saponin dan triterpenoid untuk menghancurkan dinding sel bakteri lebih sulit karena harus menembus membran pelindung yang terdiri atas tiga lapisan tersebut.
- 2) Pelarut yang digunakan untuk membuat infusa belimbing wuluh dalam penelitian ini adalah akuades, sedangkan senyawa flavonoid didalam belimbing wuluh lebih dominan ditemukan di dalam pelarut etanol dan metanol sehingga aktifitas antibakteri dalam infusa yang digunakan dalam penelitian ini kurang.
- 3) Infusa buah belimbing wuluh yang digunakan belum mencapai konsentrasi efektif yang setara dengan obat antibiotik.
- 4) Terjadinya kontaminasi yang menjadi penyulit dalam pengolahan data hasil perhitungan angka bakteri isolat hepar mencit dalam penelitian ini.