

BAB IV

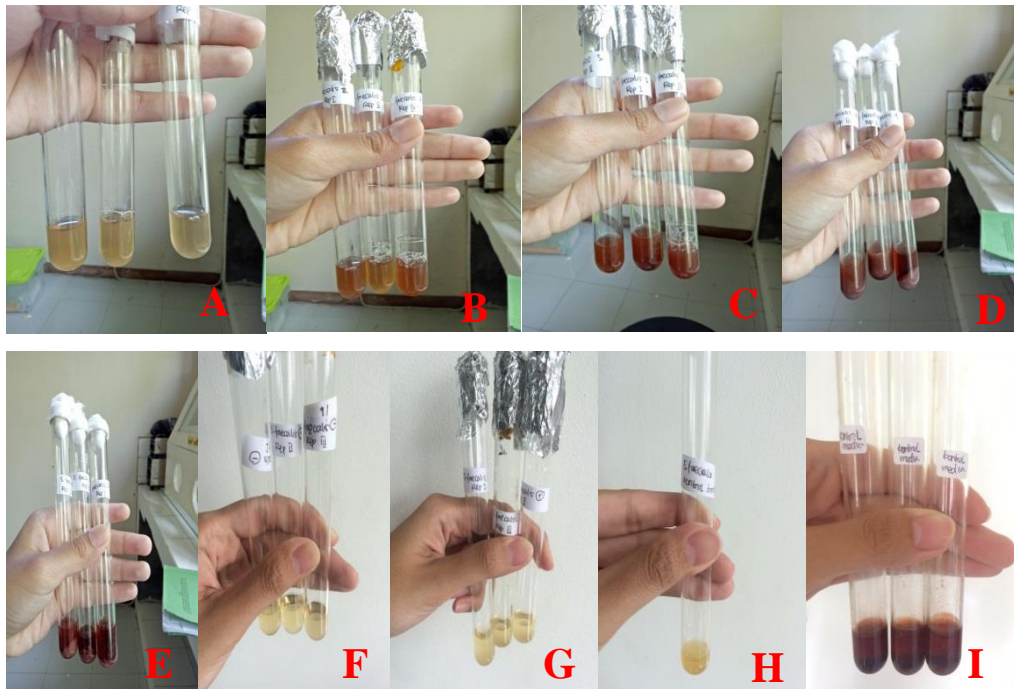
HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

Penelitian mengenai obat kumur ekstrak etanol tanaman sarang semut (*Myrmecodia pendens* Merr. & Perry) terhadap bakteri *Enterococcus faecalis* secara *in vitro* merupakan penelitian yang dilakukan untuk mengetahui daya antibakteri dari obat kumur ekstrak etanol tanaman *M. pendens* dengan cara menentukan kadar hambat minimal (KHM) dan kadar bunuh minimal (KBM). Sediaan bakteri diperoleh dari Balai Laboratorium Kesehatan (BLK) dan pembuatan ekstrak etanol tanaman *M. pendens* serta pembuatan obat kumur ekstrak etanol tanaman *M. pendens* dilakukan di Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada.

Penelitian ini dilakukan dengan tiga pengulangan, dari masing-masing perlakuan diperoleh KHM didapat dengan mengamati tabung subkultur yang tidak menunjukkan adanya pertumbuhan yaitu ditunjukkan dengan warna jernih dengan konsentrasi terendah. KBM dilihat dengan tidak adanya pertumbuhan bakteri pada media TSA pada konsentrasi terendah yang diinokulasikan dengan larutan yang diambil dari tabung-tabung jernih pada penentuan KHM.

Hasil pengujian dilusi cair obat kumur ekstrak etanol tanaman sarang semut (*M. pendens*) terhadap bakteri *Enterococcus faecalis* dapat dilihat pada Gambar 5. sebagai berikut:



Gambar 5. Hasil uji dilusi cair

Keterangan gambar :

- Tabung A : 1 ml Formula I (10%) + 1 ml suspensi bakteri *E. faecalis* 10^6 CFU/ml
- Tabung B : 1 ml Formula II (25%) + 1 ml suspensi bakteri *E. faecalis* 10^6 CFU/ml
- Tabung C : 1 ml Formula III (50%) + 1 ml suspensi bakteri *E. faecalis* 10^6 CFU/ml
- Tabung D : 1 ml Formula IV (75%) + 1 ml suspensi bakteri *E. faecalis* 10^6 CFU/ml
- Tabung E : 1 ml Formula V (75%) + 1 ml suspensi bakteri *E. faecalis* 10^6 CFU/ml
- Tabung F : 1 ml Formula Obat Kumur Tanpa Ekstrak (0%) + 1 ml suspensi bakteri *E. faecalis* 10^6 CFU/ml (Kontrol Negatif)
- Tabung G : 1 ml *Chlorhexidine gluconate* 0,2% + 1 ml suspensi bakteri *E. faecalis* 10^6 CFU/ml (Kontrol Positif)
- Tabung H : 1 ml BHI + 1 ml suspensi bakteri *E. faecalis* 10^6 CFU/ml (Kontrol Bakteri)
- Tabung I : 1 ml BHI + 1 ml Formula Obat Kumur Ekstrak Etanol Tanaman Sarang Semut (100%) (Kontrol Media)

Hasil pengujian tentang KHM dari obat kumur ekstrak etanol tanaman *M. pendens* terhadap bakteri *E. faecalis* dapat dilihat pada Tabel 2. sebagai berikut

Tabel 2. Hasil pengujian dilusi cair obat kumur ekstrak etanol tanaman sarang semut (*Myrmecodia pendens* Merr. & Perry) terhadap bakteri *Enterococcus faecalis*

Tabung Ke-	Bahan Uji	Pengulangan Ke-		
		1	2	3
1	Formula V (100%)	-	-	-
2	Formula IV (75%)	-	-	-
3	Formula III (50%)	-	-	-
4	Formula II (25%)	-	-	-
5	Formula I (10%)	+	+	+
6	Kontrol Negatif (Obat Kumur Tanpa Ekstrak (0%))	+	+	+
7	Kontrol Positif (<i>Chlorhexidine gluconate</i> 0,2%)	-	-	-
8	Kontrol Media	-	-	-
9	Kontrol Bakteri	+	+	+

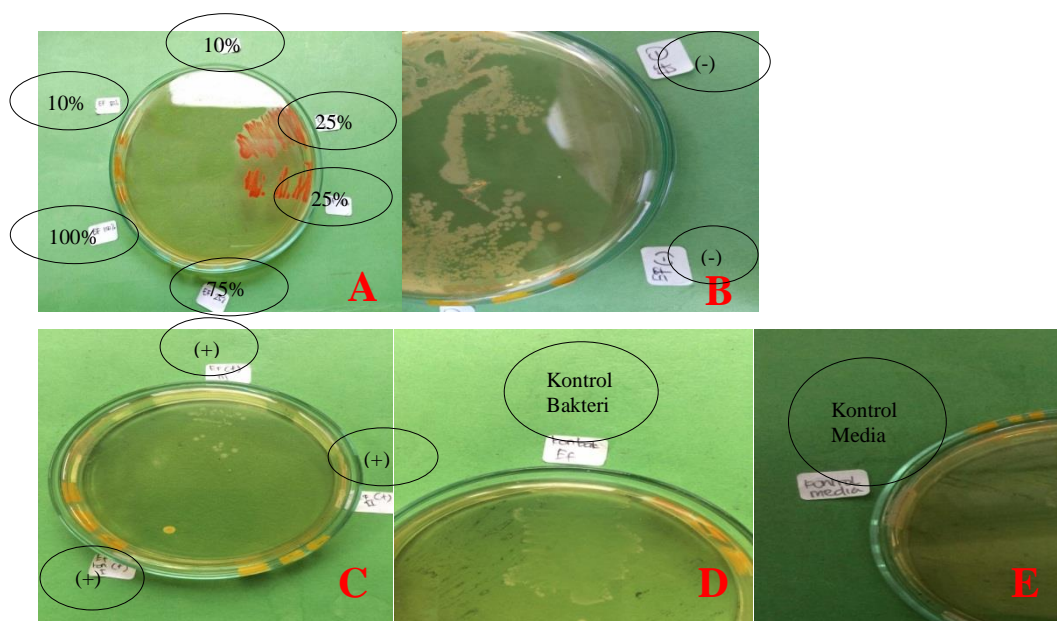
Keterangan tabel :

- a. Tanda negatif (-) : dengan melihat adanya kejernihan pada tabung menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis* sehingga obat kumur ekstrak etanol tanaman sarang semut (*Myrmecodia pendens*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri.
- b. Tanda positif (+) : dengan melihat adanya kekeruhan pada tabung menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis* sehingga obat kumur ekstrak etanol tanaman sarang semut (*Myrmecodia pendens*) tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

Berdasarkan Tabel 2. menunjukkan bahwa pada konsentrasi paling kecil yaitu konsentrasi 10% menunjukkan adanya kekeruhan, maka konsentrasi tersebut menunjukkan tidak adanya KHM dari obat kumur ekstrak etanol tanaman *M. pendens*. Konsentrasi selanjutnya yaitu pada konsentrasi 25% sudah menunjukkan

tidak adanya kekeruhan, maka konsentrasi tersebut menunjukkan KHM dari obat kumur ekstrak etanol tanaman *M. pendens*. Konsentrasi 50%, 75% dan 100% pada tabel menunjukkan tidak adanya kekeruhan. Kadar Bunuh Minimal ditentukan dengan melakukan inokulasi larutan dari tabung tersebut dengan menggunakan ose steril pada media agar TSA yang kemudian diinkubasi kembali selama 18-24 jam . Hasil dari penanaman ini dapat dilihat pada Tabel 3. formula ke-5 yaitu pada konsentrasi 100% adanya kejernihan pada larutan tersebut, dimana tidak adanya pertumbuhan bakteri pada konsentrasi 100%..

Hasil inokulasi dengan uji dilusi padat obat kumur ekstrak etanol tanaman *M. pendens* terhadap bakteri *E. faecalis* dapat dilihat pada Gambar 6. sebagai berikut.



Gambar 6. Hasil uji dilusi padat

Keterangan Gambar :

Gambar A: Hasil inokulasi dari tabung I (Formula 10%)

Gambar A: Hasil inokulasi dari tabung II (Formula 25%)

Gambar A: Hasil inokulasi dari tabung III (Formula 50%)

Gambar A: Hasil inokulasi dari tabung IV (Formula 75%)

Gambar A: Hasil inokulasi dari tabung V (Formula 100%)

Gambar B: Hasil inokulasi dari kontrol (-), formula dasar 0%

Gambar C: Hasil inokulasi dari kontrol (+)

Gambar D: Hasil inokulasi dari kontrol bakteri, formula bakteri *E. faecalis* murni

Gambar E: Hasil inokulasi control media, obat kumur + BHI

Hasil pengujian dilusi padat dari obat kumur ekstrak etanol tanaman *Myrmecodia pendens* Merr. & Perry terhadap bakteri *Enterococcus faecalis* dapat dilihat pada Tabel 3. sebagai berikut.

Tabel 3. Hasil pengujian dilusi padat obat kumur ekstrak etanol tanaman *M. pendens* terhadap bakteri *E. faecalis*

Tabung ke-	Bahan Uji	Cakram ke-		
		1	2	3
1.	Formula V (100%)	-	-	-
2.	Formula IV (75%)	-	-	-
3.	Formula III (50%)	-	-	-
4.	Formula II (25%)	-	-	-
5.	Formula I (10%)	+	+	+
6	Kontrol Negatif (Obat Kumur Tanpa Ekstrak (0%))	+	+	+
7.	Kontrol Positif (<i>Chlorhexidine gluconate</i> 0,2%)	-	-	-
8.	Kontrol Media	-	-	-
9.	Kontrol Bakteri (Bakteri <i>E. faecalis</i> murni)	+	+	+

Keterangan tabel :

Tanda positif (+) : menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri *E. faecalis* pada media agar TSA

Tanda negatif (-) : menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri *E. faecalis* pada media agar TSA

Berdasarkan Tabel 3. menunjukkan bahwa pada konsentrasi 10% KBM tidak bisa ditentukan pada obat kumur ekstrak etanol tanaman *M. pendens* terhadap bakteri *E. faecalis*. Sedangkan pada konsentrasi 25% KBM sudah dapat ditentukan, karena pada konsentrasi tersebut tidak adanya pertumbuhan bakteri *E. faecalis*, maka diperoleh hasil KBM pada obat kumur ekstrak etanol tanaman *M. pendens* terhadap bakteri *E. faecalis* terdapat pada formulasi obat kumur pada konsentrasi 25%. Hasil yang sama pada konsentrasi 25% didapat pula pada konsentrasi 50%, 75%, dan 100%, dimana pada konsentrasi tersebut tidak adanya pertumbuhan bakteri. Kontrol negatif yang mengandung obat kumur dengan tanpa ekstrak *M. pendens* didapatkan masih adanya pertumbuhan bakteri, hasil tersebut sesuai bahwa kontrol negatif seharusnya masih ada pertumbuhan bakteri. Kontrol positif pada tabel menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri, kandungan dari kontrol positif adalah *chlorhexidine gluconate* 0,2% dimana memang seharusnya pada kontrol positif tidak ada pertumbuhan bakteri. Kontrol media pada tabel menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri, sedangkan pada kontrol bakteri menunjukkan masih ada pertumbuhan bakteri.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa KHM dari obat kumur ekstrak etanol tanaman *M. pendens* terdapat pada konsentrasi 25% (Formula II), ditunjukkan dengan tidak adanya kekeruhan pada media cair. KBM obat kumur ekstrak etanol tanaman *M. pendens* terdapat pada konsentrasi 25% (Formula II), ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan bakteri *E. faecalis* setelah dilakukan inokulasi ulang pada media agar TSA. Hasil KBM dan KHM sama dikonsentrasi 25%.

B. Pembahasan

Berdasarkan hasil penelitian, diketahui bahwa obat kumur ekstrak etanol tanaman *M. pendens* mempunyai daya antibakteri terhadap bakteri *E. faecalis*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa KHM dari obat kumur ekstrak etanol tanaman *M. pendens* terdapat pada Formula II, ditunjukkan dengan tidak adanya kekeruhan pada media cair. KBM dari obat kumur ekstrak etanol tanaman *M. pendens* terdapat pada Formula II, ditunjukkan dengan tidak ada pertumbuhan bakteri *E. faecalis* setelah dilakukan inokulasi ulang pada media agar TSA.

Formula I, II, III, IV dan V dapat teramati dengan baik kekeruhan atau kejernihan pada tiap tabung formula, dengan dilihat dari cahaya matahari warna dari masing-masing formula dapat terlihat dan dapat teramati yaitu apakah jernih, hitam jernih, hitam keruh, dan hitam pekat (tidak bisa teramati). Hal ini kemungkinan karena tambahan Tween 80 dimana fungsi dari Tween 80 dalam larutan menyebabkan turunnya tegangan permukaan larutan sehingga setelah mencapai konsentrasi tertentu, tegangan permukaan akan konstan walaupun konsentrasi surfaktan ditingkatkan, oleh karena itu komposisi zat aktif yang ada pada tanaman *M. pendens* larut secara sempurna dalam formula obat kumur, sehingga pada Formula I sudah dapat diketahui bahwa pada konsentrasi tersebut belum dapat menghambat bakteri *E. faecalis*. Penurunan konsentrasi bakteri dari 10^8 CFU/ml menjadi 10^6 CFU/ml dilakukan dengan pengukuran panjang gelombang dengan spektrofotometer, panjang gelombang yang digunakan pada penelitian ini adalah $\lambda 595$. Larutan yang diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer akan terjadi panjang gelombang kisaran 560-620 nm, karena

warna yang diserap oleh larutan adalah biru sedangkan warna biru memiliki panjang gelombang antara 580-595. Puncak absorbansi tertinggi dicapai pada panjang gelombang 595 nm, setelah itu turun seiring menjauhnya puncak serapan. Serapan ini dihasilkan karena terjadi absorbansi sinar tampak oleh kompleks *commassie brilliant blue-kasein* pada panjang gelombang maksimumnya akan diperoleh kepekaan analitis yang tinggi (Nuzula & Surya, 2009).

Daya antibakteri adalah kemampuan untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri. Daya antibakteri suatu zat, diketahui dengan dilakukan uji kepekaan bakteri terhadap zat tersebut secara *in vitro* dengan menentukan Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM) dari zat antibakteri tersebut (Nurkalimah, 2011). Hasil uji KHM dan KBM pada penelitian ini menunjukkan adanya kesamaan pada Formula II . Pelczar dan Chan (2009) menyatakan bahwa semakin besar konsentrasi suatu zat antibakteri maka semakin besar kemampuan zat antibakteri dalam mengendalikan suatu bakteri.

Penelitian daya antibakteri ekstrak etanol obat kumur tanaman *M. pendens* sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Dwi dkk., 2014 bahwa kandungan fitokimia banyak terdapat pada tanaman sarang semut (*Myrmecodia pendens*) yaitu bahan aktif flavonoid, tanin dan saponin yang dilaporkan memiliki aktivitas antimikroba yang cukup baik. Berdasarkan aktivitasnya, zat antimikroba dibedakan menjadi 2 jenis, yaitu memiliki aktivitas bakteriostatik atau menghambat pertumbuhan bakteri dan yang memiliki aktivitas bakterisidal atau membunuh bakteri (Saskiawan & Hasanah, 2015). Uji daya antibakteri ekstrak etanol *M. pendens* terhadap bakteri *E. faecalis* dilakukan tanpa memisahkan senyawa tertentu

yang terkandung di dalam tanaman *M. pendens* sehingga tidak diketahui zat aktif yang paling berperan dalam memberikan efek antibakteri.

Flavonoid yang terkandung dalam ekstrak etanol tanaman *M. pendens* memiliki kemampuan berperan langsung sebagai antibakteri dengan mengganggu fungsi dari mikroorganisme dengan jalan terlarut dan berkaitan dengan protein ekstraseluler dan protein integral (Ballitro & Manoi, 2008). Mekanisme kerjanya dengan mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sitoplasma. Senyawa flavonoid dapat merusak membran sitoplasma yang dapat menyebabkan bocornya metabolit penting dan menginaktifkan sistem enzim bakteri. Kerusakan ini memungkinkan nukleotida dan asam amino merembes keluar dan mencegah masuknya kandungan flavonoid yang masuk ke dalam sel, keadaan ini menyebabkan kematian bakteri (Retnowati dkk., 2011).

Polifenol dengan konsentrasi tinggi bekerja dengan cara berkoagulasi dengan protein sel bakteri sehingga polifenol dapat dengan mudah merusak isi sel bakteri dan menyebabkan kematian sel bakteri. Konsentrasi terbesar yaitu pada Formula V, hasil KHM dan KBM terdapat kejernihan pada tabung dengan uji dilusi cair dan tidak adanya pertumbuhan pada goresan TSA dengan uji dilusi padat. Artinya semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol tanaman *M. pendens* yang terkandung pada oabt kumur, maka semakin mudah bakteri terhambat dan terbunuh. Polifenol dengan konsentrasi rendah bekerja dengan cara merusak membran sitoplasma sehingga menyebabkan kebocoran sel. Konsentrasi terendah pada penelitian ini pada Formula I, hasil KHM dan KBM pada konsentrasi tersebut belum

memperlihatkan adanya hambatan atau kematian bakteri. Kemungkinan yang terjadi pada Formula I belum terjadi kebocoran sel (Pambayun dkk., 2007).

Saponin memiliki fungsi antibakteri karena sifat saponin yang menyerupai detergen (Robinson, 1995). Saponin dapat menurunkan tegangan permukaan dinding sel bakteri yang mengakibatkan dinding sel bakteri menjadi tidak selektif dan menghalangi fungsi normal bakteri sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Oey, 2002). Saponin mengandung bahan pembersih yang mudah larut dalam air, lemak dan molekul steroid. Saponin bekerja dengan cara mengganggu stabilitas membran sel bakteri sehingga mengakibatkan keluarnya protein, asam nukleat, nukleotida dan lain-lain dari tubuh bakteri.

Kandungan antibakteri lain yang terdapat dalam obat kumur ekstrak etanol tanaman sarang semut *M. pendens* yang berfungsi sebagai antibakteri yaitu asam benzoat dan *Peppermint oil*. Asam benzoat sering digunakan sebagai bahan pengawet pada makanan. Menurut (Kaunang dkk., 2012) bahan pengawet benzoat digunakan untuk mencegah pertumbuhan dan membunuh berbagai mikroorganisme seperti kapang, khamir dan bakteri. Mekanisme penghambatan mikroba oleh benzoat yaitu mengganggu permeabilitas membran sel, struktur sistem genetik mikroba dan mengganggu enzim intraseluler (Siaka, 2009). Benzoat yang umumnya digunakan adalah benzoat dalam bentuk garamnya karena lebih mudah larut dibanding dengan asamnya. Bahan pangan, garam benzoat terurai menjadi bentuk efektif yaitu bentuk asam benzoat yang tidak terdisosiasi (Cahyadi, 2006). Namun pada kontrol negatif (obat kumur tanpa ekstrak (0%)) didapat dari uji dilusi cair dan dilusi padat, tidak terdapat daya antibakteri KHM maupun KBM. Artinya

kandungan daya antibakteri yang terdapat pada obat kumur ekstrak etanol tanaman *M. pendens* seperti asam benzoat dan *Peppermint oil* belum berpengaruh terhadap obat kumur ekstrak etanol tanaman *M. pendens* terhadap bakteri *E. faecalis*.

Enterococcus faecalis merupakan bakteri fakultatif anaerob gram positif berbentuk kokus yang memiliki dinding sel dengan peptidoglikan tebal, namun apabila terjadi kerusakan maupun ada hambatan pada pembentukannya maka akan terjadi kematian sel tersebut banyak ditemukan pada lesi periapikal dan merupakan bakteri paling resisten didalam rongga mulut. Tingginya prevalensi *E. faecalis* disebabkan karena kemampuan bakteri tersebut dalam bertahan sebagai bakteri patogen di dalam saluran akar.

Perbedaan sensitivitas dinding sel bakteri terhadap antibakteri dipengaruhi oleh 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. Dinding sel bakteri gram positif mengandung (asam teikoat). Asam teikoat merupakan polimer yang larut dalam air berfungsi sebagai transport ion positif. Sifat larut inilah yang menunjukkan bahwa dinding sel bakteri gram positif bersifat lebih polar. Senyawa flavonoid yang bersifat polar lebih mudah menembus peptidoglikan yang bersifat polar daripada lapisan lipid yang bersifat non polar, sehingga menyebabkan aktivitas penghambatan pada bakteri gram positif lebih besar daripada gram negatif. Mekanisme kerja flavonoid sebagai bakterisidal terhadap pertumbuhan *E. faecalis* yaitu mengganggu fungsi dinding sel sebagai pelindung dari lisis osmotik sehingga berakibat pada kematian sel bakteri (Chaerunisa dkk., 2015).

Mekanisme kerja polifenol pada mikroorganisme adalah sebagai inhibitor enzim oleh senyawa yang teroksidasi, kemungkinan melalui reaksi dengan grup sulfhidril atau melalui interaksi non-spesifik dengan protein. Hambatan pada enzim tersebut akan mengganggu fungsi enzim dan substratnya. Apabila fungsi enzim dan substrat terganggu lambat laun akan mengakibatkan kematian sel. Fenol berikatan dengan protein melalui ikatan hidrogen sehingga mengakibatkan struktur protein menjadi rusak, oleh karena sebagian besar struktur dinding sel dan membran sitoplasma bakteri mengandung protein dan lemak, sehingga fenol diduga juga memiliki kemampuan untuk mendenaturasikan protein dan membran sel bakteri. Ketidakstabilan pada dinding sel dan membran sitoplasma bakteri menyebabkan fungsi permeabilitas selektif, fungsi pengangkutan aktif, pengendalian susunan protein dari sel bakteri menjadi terganggu (Chaerunisa dkk., 2015).

Penelitian sebelumnya mengenai Pengaruh Daya Antibakteri Obat Kumur Ekstrak Etanol Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.) Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans* *In Vitro*, menunjukkan bahwa obat kumur ekstrak etanol daun ciplukan (*Physalis angulata* L.) memiliki Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM) pada konsentrasi yang sama yaitu 5% Chaerunisa dkk. (2015). Hasil ini sama dengan penelitian yang telah dilakukan pada obat kumur ekstrak etanol *M. pendens* terhadap bakteri *E. faecalis*, penelitian ini menunjukkan KHM dan KBM pada Formula II. Ekstrak etanol tanaman *M. pendens* dan ekstrak etanol daun ciplukan (*Physalis angulata* L.) berdasarkan uraian diatas memiliki kemiripan cara kerja dalam menghambat pertumbuhan bakteri sehingga pada uji efektivitas daya antibakteri terhadap bakteri *E. faecalis* tidak terdapat perbedaan

efektivitas antara ekstrak etanol tanaman *M. pendens* dan ekstrak etanol daun ciplukan (*Physalis angulata* L.). Ekstrak etanol tanaman *M. pendens* dan ekstrak etanol daun ciplukan (*Physalis angulata* L.) bekerja dengan cara mengganggu sistem metabolisme bakteri, dinding sel bakteri dan menghambat kerja enzim yang mengakibatkan terjadinya kematian sel bakteri.

Penelitian lain tentang Aktivitas Antibakterial Ekstrak Etanol Dan Rebusan Tanaman Sarang Semut (*Myrmecodia* sp.) Terhadap Bakteri *Escherichia coli*, menunjukkan bahwa ekstrak etanol pada konsentrasi 25% dan 50% dan rebusan sarang semut memiliki efektivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* Roslizawaty dkk., (2013). Ekstrak etanol memiliki zona hambat lebih besar dibandingkan dengan rebusan sarang semut dibandingkan dengan rebusan sarang semut. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol *M. pendens* maka semakin luas zona hambat yang terbentuk, oleh sebab itu pada Formula I pada obat kumur ekstrak etanol tanaman *M. pendens* belum ditemukan adanya daya hambat. Sedangkan pada Formula II, III, IV dan V adanya daya hambat.

Berdasarkan pembahasan menunjukkan bahwa mekanisme dari flavonoid, tanin dan plofenol sebagai bahan alami yang terkandung dalam tanaman sarang semut *M. pendens* memiliki peran sebagai daya antibakteri terhadap bakteri *E. faecalis*. Mekanisme kerja dari zat aktif tersebut dengan menghambat sintesis dinding sel, menghambat fungsi membran sel, dan menghambat sintesis protein. Daya antibakteri ini ditunjukkan dengan hasil penelitian yang membuktikan bahwa ekstrak etanol tanaman sarang semut *M. pendens* dalam sediaan obat kumur mempunyai kadar hambat minimal (KHM)

dan kadar bunuh minimal (KBM) pada Formula II terhadap bakteri *E. faecalis*. Konsentrasi daya hambat dan daya bunuh pada bakteri *E. faecalis* sama yaitu pada Formula II, hal tersebut kemungkinan karena daya hambat pada obat kumur ekstrak etanol tanaman *M. pendens* berada diantara Formula I-II untuk mendapatkan nilai daya hambat yang lebih kecil dari daya bunuh.

