

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN HASIL

A. HASIL

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya anti bakteri ekstrak etanol daun ciplukan (*Physalis angulata* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus*. Penelitian ini meliputi penentuan kadar hambar minimal (KHM) dan kadar bunuh minimal (KBM) dari ekstrak etanol daun ciplukan (*Physalis angulata* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus*. Kadar hambat minimal (KHM) diperoleh dengan metode dilusi cair yaitu dengan mengamati tabung subkultur yang tidak menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri pada konsentrasi terendah pada deret tabung subkultur yang paling akhir yang masih terlihat jernih atau tidak terdapat pertumbuhan bakteri pada permukaan media subkultur tersebut. Penelitian menggunakan metode dilusi cair menunjukkan tidak semua dapat terbaca dengan baik hasilnya karena pada konsentrasi tinggi ekstrak terlalu pekat. Kadar bunuh minimal (KBM) ditentukan melalui metode dilusi padat, yaitu dengan melihat tidak adanya pertumbuhan koloni bakteri pada media padat *Man, Rogosa and Sharpe Agar* (MRS) dengan konsentrasi terendah yang diinokulasikan dengan larutan yang diambil dari tabung-tabung pada penentuan kadar hambat minimal.

Hasil pengamatan kadar hambat minimal (KHM) ekstrak etanol daun ciplukan (*Physalis angulata* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Lactobacillus*

Tabel 1. Hasil Pengamatan Kadar Hambat Minimal (KHM) ekstrak etanol daun ciplukan (*Physalis angulata* L.) terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus* (In vitro).

Tabung ke -	Konsentrasi Bahan Uji	I	II	III
1	100%	TT	TT	TT
2	50%	-	-	-
3	25%	-	-	-
4	12,5%	-	-	-
5	6,25%	-	-	-
6	3,13%	+	+	+
7	1,56%	+	+	+
8	0,78%	+	+	+
9	0,39%	+	+	+
10	0,2%	+	+	+
11	Kontrol Positif (Suspensi bakteri 10^6 CFU/ml)	+	+	+
12	Kontrol Negatif (sisa pengenceran)	-	-	-

Keterangan tabel :

Tanda negatif (-) : dengan melihat adanya kejernihan pada tabung menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus* sehingga ekstrak etanol daun ciplukan dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

Tanda positif (+) : dengan melihatnya kekeruhan pada tabung menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus* sehingga daun ciplukan tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

TT : Ekstrak tidak dapat teramati hasilnya dikarenakan terlalu pekat.

Tabel 1. memperlihatkan bahwa kadar hambat minimal (KHM) dari ekstrak etanol daun ciplukan (*Physalis angulata* L.) terdapat pada konsentrasi 6,25%, sedangkan konsentrasi 100% tidak dapat teramati dengan jelas karena larutan ekstrak yang terlalu pekat.

Hasil pengamatan kadar bunuh minimal (KBM) ekstrak etanol daun ciplukan (*Physalis angulata* L.) terhadap pertumbuhan bakteri

Lactobacillus acidophilus dapat dilihat pada Tabel 2. sebagai berikut:

Tabel 2. Hasil Pengamatan Kadar Bunuh Minimal (KBM) ekstrak etanol daun ciplukan (*Physalis angulata* L.) terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus* (In vitro).

Tabung ke -	Konsentrasi Bahan Uji (%)	I	II	III
1	100%	-	-	-
2	50%	-	-	-
3	25%	-	-	-
4	12,5%	+	+	+
5	6,25%	+	+	+
6	3,13%	+	+	+
7	1,56%	+	+	+
8	0,78%	+	+	+
9	0,39%	+	+	+
10	0,2%	+	+	+
11	Kontrol Positif (Suspensi bakteri 10^6 CFU/ml)	+	+	+
12	Kontrol Negatif (sisa pengenceran)	-	-	-

Keterangan :

Tanda negatif (-) : ditandai dengan tidak adanya pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus* dalam media MRSA.

Tanda positif (+) : ditandai dengan adanya pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus* dalam media MRSA.

Hasil pengamatan mengenai kadar bunuh minimal (KBM) pada Tabel 2. diperoleh kadar bunuh minimal pada konsentrasi 25% dan memiliki kadar bunuh minimal Total pada konsentrasi 100%.

B. PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian, diketahui bahwa ekstrak daun ciplukan (*Physalis angulata* L.) memiliki potensi daya anti bakteri terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus*. Hal ini ditunjukkan pada pengamatan kadar hambat minimal (KHM) seperti pada Tabel 1. memiliki KHM pada konsentrasi terkecil yaitu 6,25% sedangkan pada pengamatan kadar bunuh minimal

(KBM) seperti pada Tabel 2. Menunjukkan adanya daya bunuh pada konsentrasi 25% dan daya bunuh total pada konsentrasi 100%. Daya yang terdapat antibakteri pada daun ciplukan sesuai dengan teori yang dikemukakan oleh Osho *et al.*(2010) menunjukkan bahwa tanaman ciplukan kaya akan senyawa-senyawa aktif yang antara lain *flavonoid* (daun dan tunas), *alkaloid* (akar), *tannin* (buah), *saponin* (pada tunas), *polifenol*, dan *physalin* (daun).

Penelitian Donkor *et al.* (2012) tentang efektifitas daya antibakteri ekstrak buah ciplukan (*Physalis angulata* L.) dan formulasi salep *zinc oxide* pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *P.aeruginosa* dengan metode difusi mampu menghambat *Staphylococcus aureus* pada seluruh konsentrasi yaitu 100 mg^{-1} , 125 mg^{-1} dan 150 mg^{-1} dengan zona hambat sebesar 34.5 dan 50.5 mm, serta diikuti dengan zona hambat sebesar 12.8 dan 20.3 mm pada *P.aeruginosa*. Senyawa aktif yang utama berupa kategori steroid seperti *physalin*, *physagulin* dan *flavonoid*. Steroid, *flavonoid* dan *alkanoid* merupakan komposisi kimia yang terdapat pada daun ciplukan (*Physalis angulata* L.) . Studi yang telah dilakukan menyatakan bahwa ekstrak etanol daun ciplukan memiliki aktifitas anti-inflamasi serta anti-rematik pada konsentrasi 2000 ug/ml menghambat 85.9% pada aktifitas inflamasi dan konsentrasi 2000 ug/ml menghambat 82.9% pada aktifitas anti-rematik (Kumar *et al.*, 2011). Penelitian Caceres *et al.* (1995) melaporkan hasil test aktifitas antibakteri ekstrak etanol daun ciplukan (*Physalis angulata* L.) pada bakteri *Neisseria gonorrhoeae* dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan zona hambat > 9 mm, dengan senyawa aktif kimia berupa steroid, *flavonoid* dan *alkanoid*.

Daun ciplukan (*Physalis angulata* L.) terdapat kandungan senyawa aktif berupa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, glikosida dan steroid berupa physalin. Golongan senyawa flavonoid dan steroid physalin daun ciplukan diduga memiliki aktifitas sebagai antibakteri (Anonim, 2009). Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenol terbesar di alam (Achmad, 1986). Mekanisme kerja flavonoid berdasarkan merusak DNA *girase* dan merusak membran sel bakteri, sehingga memiliki efek antimikroba (Cushnie, 2006). Penelitian Zaenab (2004) melaporkan bahwa aglikon, epigenin, quersetin, kaempferol merupakan flavonoid yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif. Katekin yang juga termasuk salah satu jenis flavonoid, dapat menghambat pertumbuhan dari bakteri. Mekanisme daya hambat pertumbuhan bakteri ini diduga dengan cara polifenol antimikrobal memiliki aktifitas antimikroba melalui penghambatan enzim mikroorganisme yaitu pada enzim *sistolik thiolase*. Terhambatnya enzim *thiolase* menyebabkan tidak terjadinya proses oksidasi gugus sulfhidril. Proses oksidasi gugus sulfhidril berperan dalam pembentukan ikatan disulfida pada struktur sekunder protein. Jika ikatan disulfida tidak terbentuk, maka struktur sekunder protein akan rusak dan menyebabkan denaturasi protein bakteri.

Physalin merupakan senyawa metabolit sekunder golongan sekosteroid yang memiliki banyak turunan. Tanaman ciplukan mengandung *physalin D* dan *physalin F* yang diketahui memiliki karakteristik daya antibakteri khususnya pada bakteri gram negative (Achon, 2011). Penelitian terdahulu mengungkapkan bahwa isolat senyawa *physalin* dari tanaman

Physalis angulata L., telah menunjukkan kemampuan untuk menghambat pertumbuhan *Mycobacterium tuberculosis* (Kathleen, 2012). Spesies tanaman *Physalis* merupakan tanaman yang unik, karena memproduksi tinggi *oxygenated C/D seco-steroids*, yang disebut *physalins*. Ikatan C5-C6 pada *physalin B* memiliki struktur yang berkorelasi dengan aksi *antihepato-toxic* (Chiang *et al.*, 1992). *Physalin B* dapat menghambat aktifitas leukimia pada percobaan *in vivo* pada tikus (Kawai *et al.*, 1987) dan pada penelitian menghambat pertumbuhan beberapa sel leukimia pada manusia dengan metode *in vitro*, *physalin B* dan *F* dilaporkan dapat menghambat (Chiang *et al.*, 1992).

Hasil pengamatan kadar hambat minimal (KHM) dan kadar bunuh minimal (KBM) dilakukan 3 kali pengulangan dengan hasil yang cukup konsisten. Hal ini diharapkan dapat memperoleh hasil yang reabilitas dan untuk menghindari bias, sehingga didapatkan kadar hambat minimal (KHM) dan kadar bunuh minimal (KBM) ekstrak etanol daun ciplukan (*Physalis angulata* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus*.

Untuk mengukur aktifitas antibakteri secara *in vitro* dilakukan dengan menggunakan metode dilusi (pengenceran). Metode ini dipilih karena memiliki kelebihan dibandingkan dengan metode difusi yaitu metode dilusi dapat menguji daya bakteristatik, dan bakterisidal dari antimikroba sekaligus, serta dapat mengetahui adanya kontaminasi dan dapat dilakukan untuk bahan berwarna keruh (Parish dan Davidson, 1993). Selain itu metode dilusi lebih

bakteri, sehingga bahan uji lebih mudah berinteraksi dengan bakteri karena suspensi bakteri tersebar merata.

Berdasarkan pada penelitian sebelumnya dengan perbedaan bahan uji maupun bakteri yang diujikan, akan tetapi kesemuanya itu menggunakan ekstrak uji yang memiliki kandungan yang hampir sama sehingga kandungan yang didapat mempunyai kesamaan adanya senyawa zat aktif di dalamnya yaitu senyawa flavonoid dan physalin. Penelitian Gunawan (2012) tentang efektifitas ekstrak biji kakao sebagai antimikroba terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus* dengan menggunakan dilusi agar didapatkan hasil KHM pada konsentrasi 8% dan KBM pada konsentrasi 10% dimana senyawa flavonoid yang tinggi dimiliki biji kakao merupakan zat antimikroba. Hal ini sama seperti dikemukakan oleh Nezara (2012) tentang ekstrak propolis terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus* pada konsentrasi KHM 7% dan KBM 8% dimana senyawa flavonoid dan terpenoid dapat menurunkan koloni bakteri *Lactobacillus acidophilus*.

Peneliti menggunakan bakteri *Lactobacillus acidophilus* sebagai bakteri uji, yang bersifat patogen yaitu, metabolisme karbohidrat menjadi asam, menurunkan pH plak, dan merusak struktur gigi melalui fermentasi karbohidrat. Bakteri ini juga memiliki kemampuan hidup dan tumbuh pada pH yang sangat rendah (dibawah 4,5) serta dapat juga melakukan proses metabolisme. Sifat kariogenik lainnya adalah bakteri ini mampu memproduksi polisakarida ekstra seluler yang memiliki peran dalam pembentukan plak walaupun perlekatannya tidak seluas yang dihasilkan

oleh *Streptococcus mutans* (Badet dan Thebud, 2008). *Lactobacillus* juga ditemukan pada karies pada email dan dentin. Hal ini disebabkan karena tingginya diet karbohidrat sehingga *Lactobacillus* berhasil membentuk koloni pada matriks dentin lebih awal (Chhour *et al*, 2005).

Bakteri *Lactobacillus acidophilus* merupakan salah satu kelompok bakteri gram positif yang menyebabkan gigi berlubang (Badet dan Thebud, 2008). Dinding sel bakteri gram positif terdiri dari peptidoglikan yang sangat tebal yang memberikan kekuatan untuk mempertahankan keutuhan sel. Jika ada kerusakan pada dinding sel atau ada hambatan dalam pembentukannya dapat terjadi lisis pada bakteri tersebut, sehingga bakteri segera kehilangan kemampuan dalam membentuk koloni diikuti dengan kematian sel tersebut. Setiap senyawa yang menghalangi tahap apapun dalam sintesis peptidoglikan akan menyebabkan dinding sel bakteri diperlemah dan sel menjadi lisis. Lisisnya sel bakteri tersebut dikarenakan tidak berfungsinya lagi dinding sel yang mempertahankan bentuk dan melindungi bakteri (Jawetz *et al*, 1996).

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan diatas terbukti bahwa ekstrak etanol daun ciplukan (*Physalis angulata* L.) mampu menghambat pada konsentrasi 6,25% dan mampu membunuh secara total pada konsentrasi 100%. Hal ini sesuai dengan penelitian Pelezar dan Chan (1986) semakin tinggi konsentrasi zat antimikroorganisme yang digunakan maka semakin tinggi kemampuannya dalam mengendalikan organisme. Hipotesis mengenai Pengaruh daya antibakteri ekstrak etanol daun ciplukan (*Physalis angulata* L.)

terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus* secara *in vitro* telah teraruh