

## BAB IV

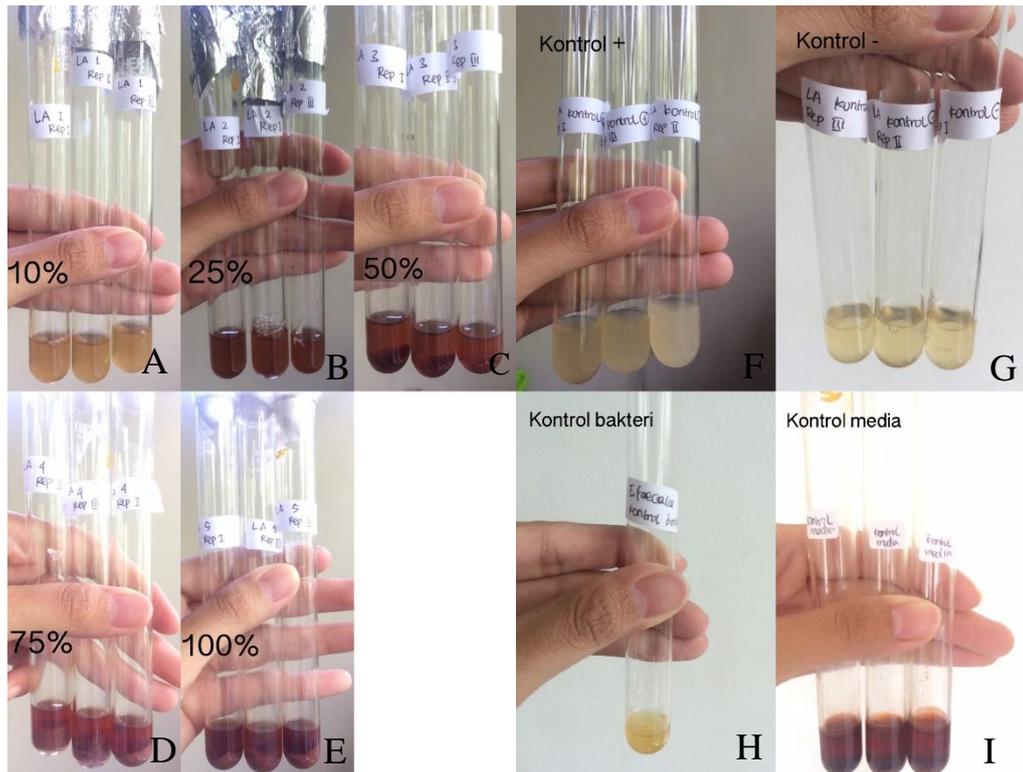
### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### A. Hasil Penelitian

Penelitian obat kumur ekstrak etanol tanaman sarang semut (*Myrmecodia pendens* Merr. & Perry) terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus* secara in vitro merupakan penelitian untuk mengetahui daya antibakteri dari obat kumur ekstrak etanol tanaman sarang semut (*Myrmecodia pendens* Merr. & Perry) dengan cara menentukan kadar hambat minimal (KHM) dan kadar bunuh minimal (KBM). Tanaman sarang semut diperoleh dari perkebunan Papua di Irian Jaya. Identifikasi taksonomi dilakukan di Laboratorium Sistematika Tumbuhan Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

Penelitian uji bakteri dilakukan dengan tiga kali pengulangan, dari masing-masing perlakuan diperoleh kadar hambat minimal didapat dengan mengamati tabung subkultur yang tidak menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri yaitu ditunjukkan dengan warna jernih dengan konsentrasi terendah dan kadar bunuh minimal 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 terhadap bakteri *L. acidophilus* dapat dilihat pada Gambar 5. sebagai berikut:



Gambar 5. Hasil Uji Dilusi Cair

Keterangan gambar:

- A : Tabung berisi 1 ml Formula I (10%) + 1 ml suspensi bakteri *Lactobacillus acidophilus*  $10^6$  CFU/ml
- B : Tabung berisi 1 ml Formula II (25%) + 1 ml suspensi bakteri *Lactobacillus acidophilus* CFU/ml.
- C : Tabung berisi 1 ml Formula III (50%) + 1 ml suspensi bakteri *Lactobacillus acidophilus*  $10^6$  CFU/ml.
- D : Tabung berisi 1 ml Formula IV (75%) + 1 ml suspensi bakteri *Lactobacillus acidophilus*  $10^6$  CFU/ml.
- E : Tabung berisi 1 ml Formula V (100%) + 1 ml suspensi bakteri *Lactobacillus acidophilus*  $10^6$  CFU/ml.
- F : Tabung berisi kontrol positif (*Chlorhexidine gluconate* 0.2%)
- G : Tabung berisi kontrol negatif (Formula dasar obat kumur)
- H : Tabung berisi kontrol bakteri (BHI+*Lactobacillus acidophilus*)
- I : Tabung berisi kontrol media (BHI+ formula obat kumur)

Berdasarkan Gambar 5. menunjukkan bahwa pengamatan hasil uji dilusi cair yang dilakukan pada obat kumur formula I, II, III, IV, dan V serta kontrol positif dan kontrol media tidak terdapat kekeruhan dan sedangkan

pada kontrol negatif dan kontrol bakteri menunjukkan adanya kekeruhan yang dapat dilihat pada tabung reaksi.

Hasil pengujian KHM dari obat kumur ekstrak etanol tanaman sarang semut terhadap bakteri *L. acidophilus* dapat dilihat pada Tabel 2. sebagai berikut:

Tabel 2. Hasil pengujian dilusi cair obat kumur ekstrak etanol tanaman sarang semut terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus in vitro*

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 positif ( <i>Chlorhexidine gluconate</i> 0,2%)	-	-	-
7	Kontrol negative (Formula dasar obat kumur)	+	+	+
8	Kontrol bakteri (BHI+ <i>Lactobacillus acidophilus</i> )	+	+	+
9	Kontrol media (BHI+ Formula obat kumur)	-	-	-

Keterangan tabel :

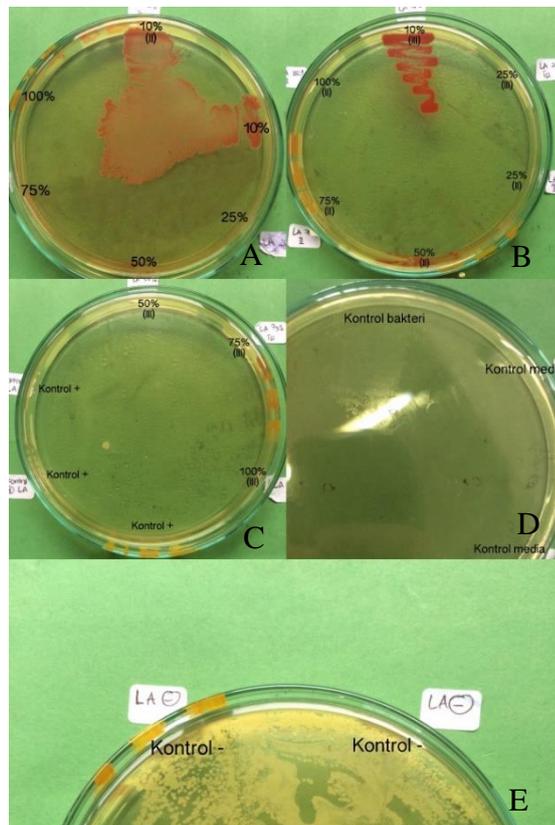
Tanda positif (+) : menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus* ditandai dengan terlihat adanya kekeruhan pada tabung, sehingga obat kumur ekstrak etanol tanaman sarang semut tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus*.

Tanda negatif (-) : menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus* ditandai dengan terlihat adanya kejernihan pada tabung , sehingga obat kumur ekstrak etanol tanaman sarang semut dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus*.

Tabel 2. menunjukkan bahwa pada obat kumur dengan konsentrasi paling kecil yaitu formula I sudah menunjukkan tidak adanya kekeruhan, maka

konsentrasi tersebut menunjukkan KHM dari obat kumur ekstrak etanol tanaman sarang semut. Kadar bunuh minimal (KBM) 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 dilihat pada Tabel 3.

Hasil inokulasi dengan uji dilusi padat obat kumur ekstrak etanol tanaman sarang semut terhadap bakteri *L. acidophilus* dapat dilihat pada Gambar 6. sebagai berikut:



Gambar 6. Hasil Uji Dilusi Padat

Gambar 6. menunjukkan setelah dilakukan pengujian dilusi padat dengan cara menggores ose yang sudah dimasukkan ke dalam tabung reaksi uji dilusi cair pada agar TSA. Pada gambar tersebut obat kumur formula I masih

terdapat pertumbuhan bakteri yang terlihat jelas pada goresan di agar TSA dengan 3 kali pengulangan menunjukkan hasil yang sama sedangkan pada obat kumur formula I, II, III, dan IV dengan 3 kali pengulangan menunjukkan hasil yang sama yaitu tidak tampak pertumbuhan bakteri pada lempeng agar TSA. Hal ini berbeda dengan penelitian dilusi cair, pada pengujian dilusi cair obat kumur formula I sudah terlihat adanya penghambatan bakteri kemungkinan karena adanya faktor media yang berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri.

Hasil pengujian dilusi padat dari obat kumur ekstrak etanol tanaman sarang semut terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus* dilihat pada Tabel 3. sebagai berikut:

Tabel 3. Hasil pengujian dilusi padat obat kumur ekstrak etanol tanaman sarang semut terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus in vitro*

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 positif ( <i>Chlorhexidine gluconate</i> 0.2%)	-	-	-
7	Kontrol negative (Formula dasar obat kumur)	+	+	+
8	Kontrol bakteri (BHI+ <i>Lactobacillus acidophilus</i> 10 <sup>6</sup> CFU/ml)	+	+	+
9	Kontrol media (BHI + Obat kumur ekstrak etanol tanaman sarang semut)	-	-	-

Keterangan tabel :

- Tanda positif (+) : menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus* pada media TSA.
- Tanda negatif (-) : menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus* pada media TSA.

Tabel 3. menunjukkan bahwa pada obat kumur formula I masih terdapat adanya pertumbuhan bakteri *L. acidophilus*, dan pada konsentrasi 25% baru tampak tidak ada pertumbuhan bakteri *L. acidophilus* maka diperoleh hasil kadar bunuh minimal (KBM) pada obat kumur ekstrak etanol tanaman sarang semut terhadap bakteri *L. acidophilus* dapat pada formulasi obat kumur formula II.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa KHM dari obat kumur ekstrak etanol tanaman sarang semut terdapat pada formula I, ditunjukkan dengan tidak adanya kekeruhan pada media cair. Kadar bunuh minimal (KBM) dari obat kumur ekstrak etanol tanaman sarang semut terdapat pada konsentrasi formula II, ditunjukkan dengan tidak ada pertumbuhan bakteri *L. acidophilus* setelah dilakukan inokulasi ulang pada media agar TSA.

## **B. Pembahasan**

Pengaruh suatu obat kumur yang mengandung antibakteri dapat ditunjukkan oleh adanya kemampuan dalam menghambat atau membunuh bakteri tersebut. Hal ini dapat dilihat dari berbagai metode pengujian antibakteri. Pada penelitian ini digunakan metode dilusi cair dan dilanjutkan dengan penggoresan pada agar TSA menunjukkan bahwa KHM dari obat kumur ekstrak etanol tanaman sarang semut terdapat pada formula I ditunjukkan dengan tidak adanya kekeruhan pada media cair. Kadar bunuh minimal (KBM) dari obat kumur ekstrak etanol tanaman sarang semut terdapat

pada konsentrasi formula II, ditunjukkan dengan tidak adanya bakteri *L. acidophilus* yang tumbuh saat inokulasi bakteri pada media agar TSA. Formula obat kumur formula III, IV dan V menunjukkan tidak adanya kekeruhan pada media cair dan tidak ada bakteri *L. acidophilus* yang tumbuh pada media agar TSA.

Sebelum dilakukan pengujian dilusi cair, larutan yang berisi koloni bakteri *L. acidophilus* dihitung menggunakan spektrofotometer untuk penghitungan jumlah koloni bakteri dengan pembacaan melalui cahaya yang diserap dengan panjang gelombang 595 nm hal ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi awal dari larutan koloni bakteri tersebut untuk kemudian dilakukan pengenceran menjadi konsentrasi  $10^6$  CFU/ml sesuai dengan ketentuan pada pengujian dilusi cair. Panjang gelombang didapat dari pengukuran absorbansi dengan menggunakan spektrofotometer pada kisaran panjang gelombang 560 - 620 nm, karena warna yang diserap oleh larutan adalah biru sedangkan warna biru memiliki panjang gelombang antara 580- 595. Hasil menunjukkan bahwa puncak absorbansi tertinggi dicapai pada panjang gelombang 595 nm, setelah itu turun seiring menjauhnya puncak serapan. Serapan yang dihasilkan terjadi karena absorpsi sinar tampak kompleks *commassie brilliant blue-kasein* pada panjang gelombang maksimum akan diperoleh kepekaan analitis yang tinggi (Awwalurrizki dan Putra, 2009).

Pengamatan terhadap hasil pengujian dilusi cair dilakukan dengan melihat jernih atau keruhnya larutan tersebut yang dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan kemudian dilanjutkan dengan melihat hasil goresan pada media

agar TSA dan semuanya menunjukkan hasil yang konsisten. Hal ini diharapkan dapat menghasilkan hasil yang reabilitas untuk menghindari bias, sehingga didapatkan KHM dan KBM dari obat kumur ekstrak etanol tanaman sarang semut terhadap pertumbuhan dari bakteri *L. acidophilus*. Hal tersebut dikarenakan zat aktif yang ada pada tanaman *M. pendens* larut dan bekerja sebagai antibakteri dalam formula obat kumur, sehingga pada formula I sudah dapat diketahui bahwa pada konsentrasi tersebut dapat menghambat bakteri *L. acidophilus*.

Berdasarkan penelitian terbaru mengenai tanaman sarang semut dilakukan oleh Sudiono dkk, (2015) menunjukkan dalam penelitian tersebut didapatkan bahwa air rebusan tanaman sarang semut memiliki kandungan fenolik aktif terutama zat flavonoid dan tidak berefek toksik pada sel. Maksud dari tidak adanya efek toksik yaitu zat yang terkandung dalam tanaman sarang semut tidak menimbulkan efek kerusakan pada sel normal. Sehingga dapat disimpulkan bahwa *M. pendens* dapat dijadikan sebagai obat herbal tanpa menimbulkan efek toksik pada manusia. Alasan tersebut yang mendasari dalam pemilihan tanaman sarang semut spesies *M. pendens* untuk dijadikan bahan dasar pembuatan obat kumur dalam penelitian ini.

Kemampuan dalam menghambat maupun membunuh bakteri dalam pengujian ini karena tanaman sarang semut (*M. pendens*) yang digunakan mengandung senyawa seperti flavonoid, polifenol, dan tanin yang mempunyai fungsi sebagai zat antibakteri yang baik (Subroto & Saputro, 2006). Uji daya antibakteri ekstrak etanol *M. pendens* terhadap bakteri *L. acidophilus* pada

penelitian ini dilakukan tanpa memisahkan senyawa aktif yang ada di dalam tanaman *M. pendens* sehingga tidak diketahui zat aktif yang paling berperan dalam memberikan efek antibakteri.

Flavonoid merupakan salah satu dari senyawa fenol. Aktivitas dari senyawa flavonoid yang terkandung di dalam tanaman sarang semut (*M. pendens*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri adalah dengan cara merusak permeabilitas dinding sel bakteri yang mempunyai mekanisme kerja untuk menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel dan menghambat metabolisme energi (Hendra dkk., 2011). Senyawa antibakteri flavonoid, mampu menghambat lebih besar bakteri gram positif daripada bakteri gram negatif, hal ini terjadi karena ada perbedaan sensitivitas bakteri terhadap antibakteri dipengaruhi oleh struktur dinding sel bakteri (Dewi, 2010).

Tanin juga memiliki efek yang sama dengan senyawa fenolik yaitu daya antibakteri (Sudiono dkk., 2015). Efek antibakteri tanin antara lain melalui reaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim, dan destruksi atau inaktivasi fungsi materi genetik dengan cara mengganggu permeabilitas sel itu sendiri (Noventi dan Carolia, 2016). Kemampuan tanin melewati membran sel karena tanin mampu berpresipitasi pada protein yang terkandung dalam membran sel. Akibat terganggunya permeabilitas, sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati (Masduki, 1996).

Tanin juga dapat berikatan dengan asam lipoteikoat yang berada pada permukaan bakteri gram positif dan menekan enzim *glycosyltransferases*

(Abdollahzadeh dkk., 2011). Asam lipoteikoat adalah salah satu macam asam teikoat yang terdapat pada peptidoglikan yang dapat berikatan dengan tanin, sehingga pertumbuhan bakteri akan lebih mudah dihambat oleh komponen zat antibakteri (Majidah dkk., 2014). Kandungan lain yaitu polifenol berfungsi sebagai antioksidan, mampu melawan radikal bebas, dan juga sebagai antibakteri adalah dengan cara mengganggu pembentukan dinding sel sehingga terjadinya akumulasi senyawa antibakteri dipengaruhi oleh bentuk tak terdisosiasi dan bereaksi dengan membran sel (Kunaepah, 2008).

Kemampuan dari flavonoid, tanin, dan polifenol dalam menghambat dan membunuh bakteri juga dapat dipengaruhi oleh sifat dinding sel yang dimiliki bakteri uji. Pelczar dan Chan (1986) dalam Kusmiyati dan Agustini (2007) menyatakan bahwa bakteri gram positif cenderung lebih peka terhadap komponen antibakteri karena struktur dinding sel bakteri gram positif yang lebih sederhana sehingga mempermudah senyawa antibakteri masuk ke dalam sel dan menemukan target sasaran. Struktur dinding sel bakteri gram negatif lebih kompleks dan berlapis tiga, yaitu lapisan luar berupa lipoprotein, lapisan tengah yang berupa peptidoglikan dan lapisan dalam lipopolisakarida sehingga bakteri gram negatif memiliki ketahanan yang lebih baik dibandingkan bakteri gram positif (Kusmiyati dkk., 2007). Hal tersebut berhubungan dengan hasil pengujian yang dilakukan dengan menggunakan bakteri *L. acidophilus* yang merupakan salah satu bakteri gram positif sehingga memudahkan senyawa antibakteri untuk masuk ke dalam sel bakteri.

Selain kandungan antibakteri alami yang berasal dari tanaman sarang semut itu sendiri terdapat pula bahan tambahan yang digunakan sebagai campuran formula obat kumur ekstrak etanol tanaman sarang semut yang berfungsi sebagai antibakteri yaitu asam benzoat dan *Peppermint oil*. Asam benzoat merupakan bahan tambahan yang diizinkan oleh Departemen Kesehatan, penggunaannya pada produk bahan pangan sebagai bahan pengawet atau sebagai antibakteri. Menurut Desrosier (1988) dalam Rorong (2013) asam benzoat paling banyak digunakan sebagai bahan pengawet pada bahan pangan karena memiliki sifat toksisitas yang relatif rendah. Mekanisme penghambatan oleh asam benzoat yaitu dengan mengganggu permeabilitas membran sel, struktur sistem genetik mikroba, dan mengganggu enzim intraseluler (Siaka, 2009). Uji dilusi cair dan dilusi padat pada kontrol negatif (obat kumur tanpa ekstrak (0%)) menunjukkan 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* tidak memiliki daya antibakteri.

Penggunaan tanaman sarang semut sebagai obat alternatif penyakit gigi dan mulut sudah pernah diteliti sebelumnya oleh Satari dkk. (2017). Penelitian tersebut bertujuan mengisolasi dan menguji aktivitas suatu senyawa dari tumbuhan *Myrmecodia sp* atau lebih dikenal dengan nama “sarang semut”. Hasil penelitian didapatkan dua senyawa flavonoid dan dua terpenoid yang memiliki aktivitas antibakteri. Zat aktif yang ada pada tanaman sarang semut tersebut mempunyai kemampuan sebagai antibakteri dan hal ini sejalan dengan

alasan untuk digunakannya tanaman sarang semut sebagai bahan dasar pembuatan obat kumur yang diujikan pada bakteri penyebab kelanjutan dari proses karies gigi yaitu *L. acidophilus*.

Penelitian lainnya yang menggunakan bahan uji dari obat herbal yaitu penggunaan daun sirih (*Piper crocatum*) dengan bakteri uji yang sama yaitu *L. acidophilus* melaporkan bahwa daun sirih yang digunakan juga sebagai obat herbal mempunyai kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, tanin dan minyak atsiri yang berpotensi sebagai antibakteri. Dari penelitian tersebut didapatkan hasil bahwa cara pengolahan rebusan, seduhan dan jumlah daun sirih merah (*Piper crocatum*) berpengaruh secara signifikan terhadap pertumbuhan *L. acidophilus* yang bermanfaat untuk menghambat pertumbuhan bakteri tersebut. Berdasarkan kesamaan dari kandungan yang terdapat didalam daun sirih dan tanaman sarang semut hal ini membuktikan bahwa kandungan tersebut mampu mempengaruhi pertumbuhan bakteri *L. acidophilus* oleh Bekti Nur Aini (2013).

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan menunjukkan bahwa mekanisme dari flavonoid, tanin, dan polifenol yang terdapat dalam ekstrak etanol tanaman sarang semut (*Myrmecodia pendens Merr. & Perry*) memiliki peran sebagai daya antibakteri terhadap bakteri *L. acidophilus*. Daya antibakteri ini ditunjukkan dengan hasil penelitian yang membuktikan bahwa ekstrak etanol tanaman sarang semut dalam sediaan obat kumur mempunyai KHM pada konsentrasi obat kumur formula I dan KBM pada obat kumur formula II terhadap bakteri *L. acidophilus*. Obat kumur ekstrak etanol tanaman sarang semut dengan formula V mempunyai pengaruh daya hambat dan daya bunuh

paling besar terhadap *L. acidophilus* dibanding dengan formula I, II, III, IV. Sesuai dengan penelitian Sabir (2005) yang menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi suatu bahan antibakteri maka aktivitas dalam menghambat bakteri akan semakin besar pula.