

## **BAB IV**

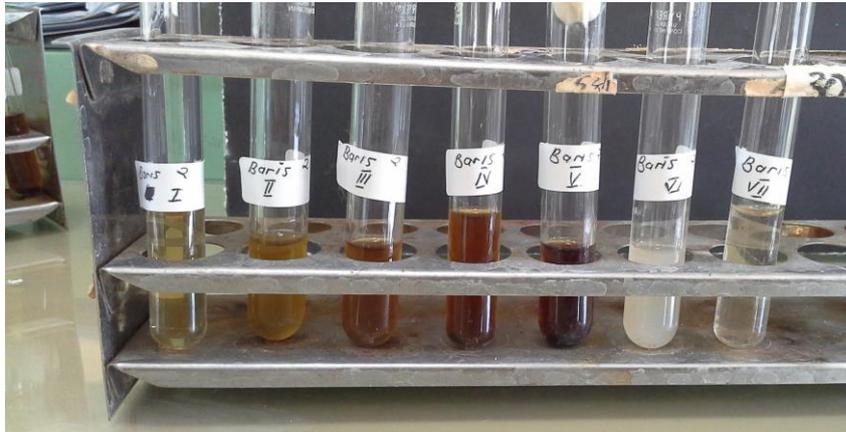
### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **A. Hasil**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh daya antibakteri ekstrak etanol daun ciplukan (*Physalis angulata* L.) dalam bentuk sediaan obat kumur terhadap bakteri *Streptococcus mutans in vitro* dengan metode dilusi cair dan dilanjutkan dengan uji inokulasi pada media *Trypticase Soy Agar* (TSA) untuk menentukan KHM dan KBM.

Kadar hambat minimal dapat ditentukan dengan mengamati tingkat kekeruhan dan kejernihan pada tabung yang menunjukkan ada tidaknya pertumbuhan bakteri pada konsentrasi terkecil dimana bakteri tersebut masih dapat tumbuh. Kadar bunuh minimal ditentukan dengan cara mengamati tidak adanya pertumbuhan bakteri pada media TSA. Penelitian uji bakteri ini dilakukan pengulangan sebanyak empat kali supaya diperoleh hasil yang realibilitas dan valid.

Hasil dilusi cair obat kumur ekstrak etanol daun ciplukan (*Physalis angulata* L.) terhadap bakteri *Streptococcus mutans* seperti terlihat pada Gambar 5. Sebagai berikut :



Gambar 5. Hasil Uji Dilusi Cair Obat Kumur Ekstrak Etanol Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.) terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*.

Keterangan gambar:

- Tabung I : 1 ml Formula I (5%) + 1 ml suspensi bakteri *Streptococcus mutans*  $10^6$  CFU/ml
- Tabung II : 1 ml Formula II (10%) + 1 ml suspensi bakteri *Streptococcus mutans*  $10^6$  CFU/ml.
- Tabung III : 1 ml Formula III (15%) + 1 ml suspensi bakteri *Streptococcus mutans*  $10^6$  CFU/ml.
- Tabung IV : 1 ml Formula IV (20%) + 1 ml suspensi bakteri *Streptococcus mutans*  $10^6$  CFU/ml.
- Tabung V : 1 ml Formula V (25%) + 1 ml suspensi bakteri *Streptococcus mutans*  $10^6$  CFU/ml.
- Tabung VI : kontrol negatif (*Chlorhexidine gluconate* 0.2%)
- Tabung VII : kontrol positif (Formula dasar 0%)

Berdasarkan Gambar 5. hasil uji dilusi cair pada tabung 1, tabung 2, dan tabung 3 yaitu konsentrasi 5%, 10%, dan 15% menunjukkan bahwa tidak terdapat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* pada ketiga tabung tersebut yang ditandai dengan tidak adanya kekeruhan pada tabung. Konsentrasi paling rendah yaitu konsentrasi 5% menunjukkan bahwa KHM terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. Tabung 4 dan tabung 5 yaitu konsentrasi 20% dan 25% tidak dapat teramati dikarenakan bahan uji yang terlalu pekat.

Tabel 2. Hasil pengujian dilusi cair ekstrak daun ciplukan (*Physalis angulata L.*) dalam bentuk sediaan obat kumur terhadap bakteri *Streptococcus mutans*.

Tabung ke -	Bahan Uji	I	II	III	IV
1	Formula I (5%)	-	-	-	-
2	Formula II (10%)	-	-	-	-
3	Formula III (15%)	-	-	-	-
4	Formula IV (20%)	TT	TT	TT	TT
5	Formula V (25%)	TT	TT	TT	TT
6	Kontrol -	-	-	-	-
7	Kontrol +	+	+	+	+

Keterangan:

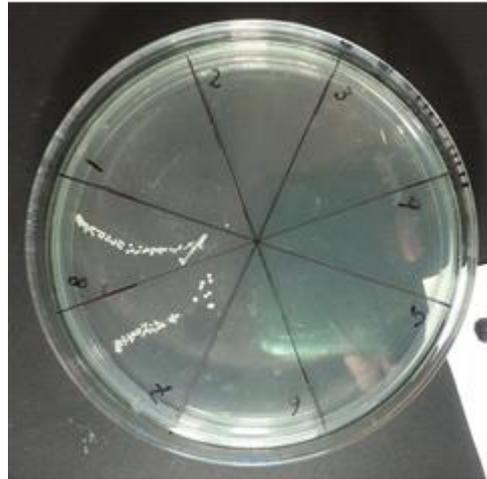
TT : hasil tidak dapat teramati dikarenakan terlalu pekat.

Positif (+) : adanya kekeruhan pada tabung menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*, sehingga obat kumur ekstrak etanol daun ciplukan (*Physalis angulata L.*) tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*.

Negatif (-) : tidak adanya kekeruhan pada tabung menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*, sehingga obat kumur ekstrak etanol daun ciplukan (*Physalis angulata L.*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*.

Berdasarkan Tabel 2. hasil uji dilusi cair obat kumur ekstrak etanol daun ciplukan (*Physalis angulata L.*) pada konsentrasi 5% menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri yang ditandai dengan kejernihan pada konsentrasi tersebut sehingga untuk menguatkan hasil pengamatan kadar hambat minimal dilakukan inokulasi pada media padat. Konsentrasi 25% dan 20% tidak dapat teramati dikarenakan terlalu pekat.

Hasil pengujian dilusi padat obat kumur ekstrak etanol daun ciplukan (*Physalis angulata L.*) terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dapat diamati dalam Gambar 6. Sebagai berikut :



Gambar 6. Hasil Uji Dilusi Padat Obat Kumur Ekstrak Etanol Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.) terhadap bakteri *Streptococcus mutans*

Keterangan gambar:

- 1 : hasil inokulasi dari tabung I (konsentrasi 5%)
- 2 : hasil inokulasi dari tabung II (konsentrasi 10%)
- 3 : hasil inokulasi dari tabung III (konsentrasi 15%)
- 4 : hasil inokulasi dari tabung IV (konsentrasi 20%)
- 5 : hasil inokulasi dari tabung V (konsentrasi 25%)
- 6 : hasil inokulasi dari tabung VI (kontrol negatif)
- 7 : hasil inokulasi dari tabung VII (kontrol positif, Formula dasar 0%)
- 8 : hasil inokulasi bakteri *Streptococcus mutans* murni

Berdasarkan Gambar 6. hasil uji dilusi padat menunjukkan bahwa daerah nomor 1, 2, 3, 4, 5, dan 6 (kontrol -) menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri pada media agar. Daerah nomor 7 (kontrol +) dan nomor 8 (suspensi bakteri *Streptococcus mutans* murni) menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* pada media agar. Berdasarkan hasil pengamatan uji dilusi padat pada konsentrasi 5% sudah menunjukkan kadar bunuh minimal (KBM) terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. Hasil pengamatan uji dilusi padat obat kumur ekstrak etanol daun ciplukan (*Physalis angulata* L.) terhadap bakteri *Streptococcus mutans* didiskripsikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Pengujian dilusi padat ekstrak etanol daun ciplukan (*Physalis angulata* L.) dalam bentuk sediaan obat kumur terhadap bakteri *Streptococcus mutans*.

Tabung ke -	Bahan Uji	I	II	III	IV
1	Formula I (5%)	-	-	-	-
2	Formula II (10%)	-	-	-	-
3	Formula III (15%)	-	-	-	-
4	Formula IV (20%)	-	-	-	-
5	Formula V (25%)	-	-	-	-
6	Kontrol -	-	-	-	-
7	Kontrol +	+	+	+	+
8	Suspensi Bakteri	+	+	+	+

Keterangan:

Positif (+) :adanya pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* pada media agar

Negatif (-) :tidak adanya pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* pada media agar

Berdasarkan Tabel 3. diperoleh hasil pengamatan bahwa pada konsentrasi paling rendah sudah menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri pada media padat sehingga kadar bunuh minimal (KBM) obat kumur ekstrak daun ciplukan (*Physalis angulata* L.) terhadap bakteri *Streptococcus mutans* terdapat pada konsentrasi 5%.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa KHM dan KBM obat kumur ekstrak etanol daun ciplukan (*Physalis angulata* L.) terhadap *Streptococcus mutans* terdapat pada konsentrasi 5% dikarenakan pada konsentrasi 5% pada media cair dan media padat sudah menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri. Kadar hambat minimal pada media cair ditunjukkan dengan tidak ada kekeruhan pada tabung sedangkan pada kadar bunuh minimal (KBM) ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*

pada media agar. Kemungkinan KHM obat kumur ekstrak daun ciplukan (*Physalis angulata* L.) terdapat di bawah konsentrasi 5% dikarenakan konsentrasi 5% pada media padat sudah menunjukkan KBM.

## **B. Pembahasan**

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun ciplukan (*Physalis angulata* L.) dalam bentuk sediaan obat kumur memiliki pengaruh daya antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. Kadar hambat minimal adalah konsentrasi terendah yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan diamati berdasarkan tingkat kekeruhan pada tabung. Kadar bunuh minimal adalah konsentrasi terendah yang dapat membunuh pertumbuhan bakteri dan diamati berdasarkan tidak adanya pertumbuhan koloni bakteri pada media agar.

Kadar hambat minimal (KHM) diamati dengan metode dilusi cair yang ditentukan berdasarkan tingkat kekeruhan pada tabung dimana pada konsentrasi 5% menunjukkan kejernihan pada tabung atau tidak terdapat pertumbuhan bakteri kemudian dilakukan inokulasi pada media agar dan diinkubasi selama 18-24 jam. Hasil pengamatan dilusi padat pada konsentrasi 5% sudah menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri pada media agar sehingga kemungkinan KHM terdapat pada konsentrasi di bawah 5%. Pengamatan hasil uji dilusi padat menunjukkan bahwa konsentrasi 5% merupakan KBM.

Pengamatan kadar hambat minimal pada tabung uji dilusi cair tidak dapat teramati karena terlalu pekat. Larutan pekat pada tabung dikarenakan adanya klorofil dan bahan lainnya yang terekstraksi. Seharusnya dalam mengisolasi suatu senyawa tersebut bebas dari bahan atau komponen lain yang tidak berguna dan dapat mengganggu analisis. Penghilangan klorofil, lemak daun, dan bahan pengotor lain harus dilakukan pada tahap awal sebelum pemekatan, dengan cara mencuci ekstrak berulang-ulang menggunakan n-heksana. Pemisahan kandungan dalam daun ciplukan (*Physalis angulata* L.) yang tidak digunakan dapat dilakukan dengan metode fraksinasi.

Uji dilusi padat merupakan uji yang dilakukan pada media agar untuk menentukan KBM dan menguatkan hasil dari uji dilusi cair. Kadar bunuh minimal terhadap bakteri *Streptococcus mutans* pada konsentrasi 5% didapatkan dengan cara mengamati pertumbuhan bakteri hasil dilusi cair yang diinokulasi pada media agar ditandai dengan tidak ditemukan pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* pada media agar.

Penelitian yang dilakukan oleh Wijayanti (2014), yang berjudul “Efektifitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Ciplukan (*Physalis angulata* L.) terhadap Bakteri *Lactobacillus acidophilus* (In Vitro)”, penelitian ini menggunakan metode dilusi cair untuk menentukan kadar hambat minimal (KHM) dan metode dilusi padat untuk menentukan kadar bunuh minimal (KBM). Konsentrasi yang digunakan pada penelitian ini yaitu serial pengenceran dengan konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12.5%, 6.25%, 3.13%, 1.56%, 0.78%, 0.39%, dan 0.2%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak

etanol daun ciplukan (*Physalis angulata* L.) memiliki kadar hambat minimal (KHM) pada konsentrasi 6.25% dan kadar bunuh minimal (KBM) terdapat pada konsentrasi 25%.

Penelitian yang dilakukan oleh Puspitasari (2012), tentang “ *Uji Daya Antibakteri Perasan Buah Mengkudu Matang (Morinda citrifolia) terhadap Bakteri Methicillin Resistan Staphylococcus aureus (MRSA) M.2036.T secara In Vitro*”, penelitian ini menggunakan metode *tube dilution* dengan konsentrasi perasan buah mengkudu matang 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, dan 40%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar hambat minimal (KHM) perasan buah mengkudu matang terhadap bakteri *MRSA* terdapat pada konsentrasi 30% yang menggunakan metode dilusi tabung, sedangkan kadar bunuh minimal (KBM) terdapat pada konsentrasi 35% yang ditentukan melalui perhitungan jumlah koloni. Berdasarkan hasil perhitungan jumlah koloni untuk menentukan kadar bunuh minimal (KBM), pengamatan melalui media NAP pada konsentrasi 30% masih terdapat pertumbuhan bakteri *MRSA* sedangkan pada konsentrasi 35% tidak terdapat pertumbuhan bakteri *MRSA* pada media NAP.

Salah satu bakteri utama penyebab karies gigi adalah *Streptococcus mutans* yang memproduksi enzim *glucosyltransferase* (GTF), sehingga bakteri ini dapat membentuk koloni yang melekat dengan erat pada permukaan gigi. *Streptococcus mutans* menghasilkan polisakarida ekstraseluler lengket dari karbohidrat makanan dan mampu memfermentasi karbohidrat menjadi asam (Rifdayani dkk., 2014). *Streptococcus* merupakan bakteri gram positif (+),

bersifat nonmotil, diameter 1-2  $\mu\text{m}$ , bakteri anaerob fakultatif, berbentuk bulat yang secara khas membentuk pasangan atau rantai selama masa pertumbuhannya, beberapa diantaranya merupakan flora normal pada manusia (Samaranayake, 2006). Dinding sel bakteri berfungsi melindungi membran sitoplasma, memelihara bentuk sel, dan mencegah lisis karena tekanan osmosis. Jika dinding sel rusak atau tidak terbentuk sel akan lisis atau tidak dapat membelah. Lisisnya sel terjadi karena cairan disekitar yang hipoosmosis berdifusi ke dalam sel menyebabkan pembengkakan (*swell*) dan diikuti lisis (Priyanto, 2010).

Kandungan fitokimia banyak terdapat pada bagian daun ciplukan (*Physalis angulata* L.) diantaranya bahan aktif *polifenol*, *flavonoid*, dan *alkaloid* yang larut dalam alkohol. Etanol merupakan salah satu jenis alkohol yang mengandung dua gugus karbon. Etanol digunakan sebagai pelarut daun ciplukan karena sifat toksisitasnya yang relatif lebih rendah daripada methanol atau isopropanol (Noorhamdani dkk., 2014).

*Flavonoid* yang terkandung di dalam ekstrak etanol daun ciplukan memiliki kemampuan untuk membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut, dan dengan dinding sel, serta memiliki sifat lipofilik. Aktivitas tersebut menyebabkan kerusakan membran sitoplasma sehingga sel bakteri akan rusak dan mati, juga membran sel akan rusak. *Alkaloid* merupakan suatu senyawa hasil akhir dari reaksi detoksifikasi yang merupakan hasil metabolit akhir dari komponen yang membahayakan bagi tanaman. *Alkaloid* memiliki fungsi sebagai antibakteri dengan cara

mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian bakteri (Noorhamdani, 2014).

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 nonpolar, sehingga menyebabkan aktivitas penghambatan pada bakteri gram positif lebih besar daripada gram negatif (Dewi, 2010). Mekanisme kerja *flavonoid* sebagai bakterisidal terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* yaitu mengganggu fungsi dinding sel sebagai pelindung dari lisis osmotik sehingga berakibat pada kematian sel bakteri (Rifdayani dkk., 2014).

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 (Fitrianti dkk., 2010).

Penelitian yang dilakukan oleh Lasmayanty (2007), tentang “*Potensi Antibakteri Propolis Lebah Madu Trigona spp. terhadap Bakteri Kariogenik (Streptococcus mutans)*”, menyatakan bahwa ekstrak propolis mengandung golongan senyawa *flavonoid*, *tannin*, *alkaloid*, saponin, triterpenoid dan saponin memiliki antibakteri berdasarkan analisis fitokimia. Penelitian ekstrak propolis lebah madu diperoleh dengan menggunakan teknik maserasi dan menggunakan etanol 70% sebagai pelarut. Etanol merupakan senyawa yang bersifat semipolar sehingga zat aktif yang terdapat dalam propolis dengan nilai kepolaran yang beragam dapat terekstraksi lebih sempurna. Senyawa *flavonoid* dapat diekstraksi dengan baik dengan menggunakan etanol 70%. Oleh karena itu penggunaan pelarut etanol 70% dapat meningkatkan jumlah senyawa aktif yang terekstraksi. Selain itu, etanol 70% memiliki titik didih yang rendah dan mudah menguap sehingga jumlah etanol yang terbawa dalam ekstrak lebih sedikit.

Hasil penelitian tentang pengaruh daya antibakteri obat kumur ekstrak etanol daun ciplukan (*Physalis angulata* L.) dengan menggunakan metode maserasi telah terbukti teruji secara *in vitro* memiliki pengaruh daya antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus mutans*.