

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. HASIL

Penelitian ekstrak etanol buah ciplukan (*Physalis angulata* L.) terhadap bakteri *Streptococcus mutans* secara in vitro merupakan penelitian untuk mengetahui daya antibakteri dari buah ciplukan (*Physalis angulata* L.) dengan cara menentukan kadar hambat minimal (KHM) dan kadar bunuh minimal (KBM). Kadar hambat minimal (KHM) dapat ditentukan dengan cara mengamati pertumbuhan bakteri pada konsentrasi terkecil dimana bakteri tersebut masih dapat tumbuh. Kadar bunuh minimal dapat ditentukan dengan cara mengamati tidak adanya pertumbuhan bakteri pada media agar. Bakteri uji yang digunakan adalah bakteri *Streptococcus mutans*.

Penelitian ini dilakukan dengan tiga kali pengulangan, dari masing - masing perlakuan dapat diperoleh kadar hambat minimal (KHM) dan kadar bunuh minimal (KBM) dari ekstrak etanol buah ciplukan (*Physalis angulata* L.) terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. Metode dilusi cair diujikan untuk mengetahui pertumbuhan bakteri pada konsentrasi terkecil yaitu deret tabung terakhir yang masih tampak jernih. Pemilihan metode dilusi cair dikarenakan lebih peka dan terjamin homogenitasnya antara media, bahan uji dan suspensi bakteri, sehingga bahan uji lebih mudah berinteraksi dengan bakteri karena suspensi tersebar merata. Hasil penelitian menggunakan metode dilusi cair dengan 10 tabung konsentrasi tetapi pada beberapa tabung konsentrasi tidak dapat terbaca hasilnya

dikarenakan mengalami kekeruhan yang diakibatkan oleh senyawa zat aktif tanin yang terkandung dalam buah ciplukan (*Physalis angulata* L.). Pengamatan selanjutnya yaitu dengan menggunakan metode dilusi padat untuk mengetahui kadar bunuh minimal (KBM) dengan melihat konsentrasi terkecil dari bahan uji yang masih dapat membunuh bakteri. Metode ini merupakan lanjutan dari metode dilusi cair.

Hasil penelitian pengaruh daya antibakteri ekstrak etanol buah ciplukan (*Physalis angulata* L.) terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dapat dilihat pada Tabel 1. dan Tabel 2.

Tabel 1. Kadar Hambat Minimal (KHM) Ekstrak Etanol Buah Ciplukan (*Physalis angulata* L.) Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans* (In vitro).

Tabung ke -	Konsentrasi Bahan Uji	I	II	III
1	100%	TT	TT	TT
2	50%	TT	TT	TT
3	25%	TT	TT	TT
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 (-) : dengan melihat adanya kejernihan pada tabung menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* sehingga ekstrak etanol buah ciplukan dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

Tanda positif (+) : dengan melihatnya kekeruhan pada tabung menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* sehingga buah ciplukan tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

TT : Ekstrak tidak dapat teramati hasilnya dikarenakan terlalu pekat dan keruh.

Berdasarkan Tabel 1. menunjukkan hasil kadar hambat minimal dari ekstrak etanol buah ciplukan (*Physalis angulata* L.) pada konsentrasi 0,2%. Pada konsentrasi 100% hingga konsentrasi 25% tidak dapat teramati hasilnya dikarenakan terlalu pekat dan keruh.

Tabel 2. Kadar Bunuh Minimal (KBM) Ekstrak Etanol Buah Ciplukan (*Physalis angulata* L.) Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans* (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 *Streptococcus mutans* dalam media agar.

Tanda positif (+) : ditandai dengan adanya pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dalam media agar.

Berdasarkan Tabel 2. diketahui daya bunuh minimal dari ekstrak etanol buah ciplukan (*Physalis angulata* L.) dengan konsentrasi bunuh minimal sebesar 25%.

Pada Tabel 1. diketahui nilai kadar hambat minimal (KHM) ekstrak etanol buah ciplukan (*Physalis angulata* L.) 100% terhadap bakteri *Streptococcus mutans* adalah pada konsentrasi 0,2%, tetapi pada konsentrasi 100%, 50% dan 25% tidak dapat diamati karena ekstrak keruh dan pekat. Hal ini dikarenakan kandungan tanin yang mengakibatkan pewarnaan pekat pada ekstrak, tetapi pada konsentrasi 12,5% sudah mulai dapat diamati kembali karena hasilnya tidak terlalu keruh dan pekat dan semakin jernih. Ekstrak etanol buah ciplukan (*Physalis angulata* L.) 100% terbukti memiliki daya hambat terhadap bakteri *Streptococcus mutans*.

Berdasarkan data pada Tabel 2. memperlihatkan nilai kadar bunuh minimal (KBM) ekstrak etanol buah ciplukan (*Physalis angulata* L.) 100% terhadap bakteri *Streptococcus mutans* terdapat pada konsentrasi 25%.

B. PEMBAHASAN

Hasil penelitian ini menunjukkan adanya kemampuan daya antibakteri ekstrak etanol buah ciplukan (*Physalis angulata* L.) yaitu kadar hambat minimal (KHM) dengan konsentrasi 0,2% dan kadar bunuh minimal (KBM) dengan 25%. Senyawa aktif pada buah ciplukan (*Physalis angulata* L.) yang diduga dapat menghambat dan membunuh bakteri *Streptococcus mutans* adalah flavonoid dan tanin.

Penelitian lain yang menggunakan bakteri *Streptococcus mutans* sebagai bakteri uji tetapi menggunakan ekstrak tanaman yang berbeda adalah penelitian yang dilakukan oleh Ayuningtyas (2013) tentang “Efek ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) sebagai penghambat pembentukan biofilm pada *Streptococcus mutans* secara *in vitro*”, didapatkan hasil bahwa ekstrak buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terbukti dapat menghambat pembentukan biofilm pada bakteri *Streptococcus mutans*. Kandungan pada buah mahkota dewa yang berperan dalam menghambat pembentukan biofilm pada *Streptococcus mutans* adalah alkaloid, saponin, flavonoid, polifenol dan terpenoid. Salah satu fungsi alkaloid adalah sebagai antibakteri. Mekanisme antibakteri alkaloid adalah dengan mengubah susunan rantai DNA pada inti sel dan mengubah susunan dan struktur asam amino.

Budiarti (2012) melakukan penelitian yang berjudul “Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Kulit Buah Jeruk Perut (*Citrus hystrix* DC.) Sebagai Antibakteri Terhadap *Streptococcus mutans* Secara *In Vitro*”. Penelitian Budiarti menyatakan bahwa kulit buah jeruk purut diketahui memiliki bahan-bahan aktif yang

mempunyai efek antibakteri. Kulit buahnya mengandung zat saponin, tannin, terpenoid dan minyak atsiri. Aktivitas tanin sebagai antibakteri mungkin menjadi penyerap racun dan dapat menggumpalkan protein esensial bakteri. Tanin diduga mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara menginaktivasi adhesin enzim, *envelope cell protein transport* dan berikatan dengan polisakarida dari mikroba.

Penelitian yang dilakukan oleh Larasati (2012) tentang “*Efektivitas Ekstrak Etanol Kulit Buah mahkota dewa (Phaleria papuana) Sebagai Antibakteri Terhadap Streptococcus mutans Secara In Vitro*”. Ekstrak etanol buah Mahkota Dewa (*Phaleria papuana*) mengandung flavonoid, alkaloid, dan saponin dengan mekanisme zat aktif masing-masing dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Flavonoid mempunyai efek antimikroba dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein intraseluler yang dapat mengganggu integritas membran sel bakteri. Hal ini akan merusak integritas dinding sel *Streptococcus mutans* dan pada akhirnya dinding sel *Streptococcus mutans* tersebut akan rusak. Ekstrak buah mahkota dewa memiliki efek antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* dengan konsentrasi kadar bunuh minimal (KBM) sebesar 9%.

Lasmayanty (2007) melakukan penelitian yang diberi judul “*Potensi Antibakteri Propolis Lebah Madu Trigona spp. terhadap Bakteri Kariogenik (Streptococcus mutans)*”, menyatakan bahwa ekstrak propolis mengandung golongan senyawa flavonoid, tanin, alkaloid, saponin, triterpenoid, dan saponin berdasarkan analisis fitokimia yang memiliki antibakteri. Pada penelitian ini

Lasmayanty (2007) memilih pembuatan ekstrak dengan metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol. Metode maserasi ini tepat digunakan untuk mengekstraksi sampel yang tidak tahan panas. Sedangkan etanol 70% merupakan senyawa yang bersifat semipolar sehingga zat aktif yang terdapat dalam tanaman tersebut dengan nilai kepolaran yang beragam dapat terekstraksi lebih sempurna. Golongan senyawa flavonoid dapat diekstraksi dengan baik dengan menggunakan etanol 70%. Oleh sebab itu, penggunaan pelarut etanol 70% dapat meningkatkan jumlah senyawa aktif yang terekstraksi.

Asdyaksa (2013) dalam penelitiannya yang diberi judul "*Efektivitas Ekstrak Etanol Biji Pinang (Areca catechu Linn) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Streptococcus mutans Secara In Vitro*", menyebutkan bahwa ekstrak etanol biji pinang (*Areca catechu Linn*) terbukti dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Hal tersebut diduga karena biji pinang (*Areca catechu Linn*) mengandung senyawa bioaktif yaitu flavonoid di antaranya tanin. Tanin diduga dapat mengkerutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri. Akibat terganggunya permeabilitas, sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati.

Penelitian lain yang menggunakan ekstrak buah ciplukan (*Physalis angulata L.*) sebagai bahan uji tetapi menggunakan bakteri yang berbeda adalah penelitian yang dilakukan oleh Donkor *et al.*, (2012) yang berjudul "*Antibacterial activity of the fruit extract of Physalis angulata and its formulation*". Menurut Donkor *et al.*, (2012) buah ciplukan (*Physalis angulata L.*) memiliki steroid yang dikenal sebagai physalin, physagulin dengan anolides dan flavonoid. Penelitian ini

dilakukan untuk mengetahui bahwa salep seng oksida dalam kombinasi dengan ekstrak *Physalis angulata* L. akan mengakibatkan peningkatan daya hambat antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Berdasarkan penelitian ini terbukti bahwa salep seng oksida dalam kombinasi dengan ekstrak *Physalis angulata* L. menghambat *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 100 mg/g.

Kandungan zat aktif pada buah ciplukan yang memiliki antibakteri adalah flavonoid dan tanin (Sabir, 2003). Selain itu senyawa aktif pada buah ciplukan (*Physalis angulata* L.) antara lain saponin, flavonoid, tannin, alkaloid, asam malat, kriptoxantin, vitamin C dan gula (Agoes, 2010; Sudarsono, *et al.*, 2002). Menurut Pelezar dan Chan (2005) senyawa yang bersifat sebagai antimikroba antara lain adalah alkohol, fenolik, klor, iodium, dan etilen oksida. Flavonoid, senyawa fenolik hidrokuinon, dan tanin termasuk golongan senyawa fenol. Ketiga senyawa ini bersifat sebagai antibakteri. Flavonoid, fenolik hidrokuinon, lignin, melanin, dan tanin termasuk dalam senyawa fenol.

Flavonoid mempunyai aktivitas penghambatan lebih besar terhadap bakteri gram positif dikarenakan senyawa flavonoid merupakan bagian yang bersifat polar sehingga lebih mudah menembus lapisan peptidoglikan yang bersifat polar daripada lapisan lipid yang nonpolar, sehingga menyebabkan aktivitas penghambatan pada bakteri gram positif lebih besar daripada bakteri gram negatif. Aktivitas penghambatan dari kandungan flavonoid pada bakteri Gram positif menyebabkan terganggunya fungsi dinding sel sebagai pemberi bentuk sel dan melindungi sel dari lisis osmotik. Dengan terganggunya dinding sel akan

menyebabkan lisis pada sel (Dewi, 2010). Flavonoid mempunyai efek antimikroba dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein intraseluler yang dapat mengganggu integritas membran sel bakteri. Hal ini akan merusak integritas dinding sel bakteri dan pada akhirnya dinding sel bakteri tersebut akan rusak. Aktivitas antimikroba flavonoid disebabkan oleh kemampuan untuk mengikat adhesin, membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler yang dapat larut, dan juga membentuk kompleks dengan dinding sel mikroba (Cowan, 1999).

Kandungan senyawa aktif ekstrak etanol buah ciplukan (*Physalis angulata* L.) selain flavonoid adalah tanin. Tanin adalah senyawa polifenol yang larut dalam air dan umumnya berasal dari senyawa-senyawa fenol alam yang memiliki kemampuan mengendapkan protein-protein seperti gelatin (Harborne, 2006). Mekanisme penghambatan tanin terhadap bakteri menurut Brannen dan Davidson (1993) adalah dengan cara bereaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim-enzim esensial, dan destruksi atau inaktivasi fungsi material genetik. Tanin memiliki aktivitas antibakteri, secara garis besar mekanisme kerja tanin adalah sebagai berikut : toksisitas tanin dapat merusak membran sel bakteri, senyawa astringent tanin dapat menginduksi pembentukan kompleks senyawa ikatan terhadap enzim atau substrat mikroba dan pembentukan suatu kompleks ikatan tannin terhadap ion logam yang dapat menambah daya toksisitas tanin itu sendiri. Tanin diduga dapat mengkerutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri. Akibat terganggunya permeabilitas, sel tidak dapat melakukan

aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati (Ajizah, 2004).

Selain mengandung flavonoid dan tanin, ekstrak etanol buah ciplukan (*Physalis angulata* L.) juga mempunyai kandungan zat aktif antara lain Saponin dan alkaloid. Saponin merupakan senyawa dalam bentuk glikosida yang tersebar luas pada tumbuhan tingkat tinggi. Saponin membentuk larutan koloidal dalam air dan membentuk busa yang mantap jika dikocok dan tidak hilang dengan penambahan asam (Harborne, 2006). Saponin memiliki aktivitas antifungi dan antibakterial berspektrum luas, gugus lipofilik pada saponin dapat merusak membran sel (Cowan, 1999). Saponin juga dapat meningkatkan permeabilitas membran sel bakteri, menyebabkan denaturasi protein membran sehingga membran sel akan rusak dan lisis (Siswandono & Soekarjo, 1995). Mekanisme kerja saponin adalah mengganggu permeabilitas membran sel bakteri yang mengakibatkan kerusakan membran sel dan menyebabkan keluarnya berbagai komponen dari dalam sel bakteri seperti protein, asam nukleat dan nukleotida (Ganiswarna, 1995).

Sedangkan alkaloid merupakan suatu senyawa yang bersifat basa, mengandung satu atau lebih atom nitrogen yang terdapat pada cincin heterosiklis dan disintesa dalam tumbuhan dari asam amino atau turunannya (Harborne, 2006). Menurut Gunawan (2009), menyatakan bahwa cara kerja dari alkaloid yaitu di dalam senyawa alkaloid terdapat gugus basa yang mengandung nitrogen akan bereaksi dengan senyawa asam amino yang menyusun dinding sel bakteri dan DNA bakteri. Reaksi ini mengakibatkan terjadinya perubahan struktur dan

susunan asam amino. Sehingga akan menimbulkan perubahan keseimbangan genetik pada rantai DNA sehingga akan mengalami kerusakan akan mendorong terjadinya lisis sel bakteri yang akan menyebabkan kematian sel pada bakteri.

Zat antibakteri adalah zat yang dapat mengganggu pertumbuhan atau bahkan mematikan bakteri dengan cara mengganggu metabolisme mikroba tersebut (Pelezar dan Chan, 2005). Antibakteri ini hanya digunakan jika mempunyai sifat toksisitas, artinya dapat membunuh bakteri yang menyebabkan penyakit tetapi tidak beracun bagi inangnya. Berdasarkan aktivitasnya, zat antibakteri dibedakan menjadi dua jenis, yaitu yang memiliki aktivitas bakteriostatik (menghambat pertumbuhan bakteri) dan yang memiliki aktivitas bakterisidal (membunuh bakteri). Beberapa zat antibakteri bersifat bakteriostatik pada konsentrasi rendah dan bakterisidal pada konsentrasi tinggi (Schunack *et al.*, 1990).

Senyawa antibakteri bekerja merusak mikroba dengan berbagai cara, yaitu merusak dinding sel, merusak membran plasma yang mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel atau matinya sel, mendenaturasi protein dan asam-asam nukleat, menghambat kerja enzim, menghambat sintesis asam nukleat dan protein. Banyak faktor dan keadaan yang dapat mempengaruhi kerja antibakteri, antara lain konsentrasi antibakteri, jumlah bakteri, spesies bakteri, adanya bahan organik, suhu, dan pH lingkungan (Pelezar dan Chan, 2005).

Menurut Michalek & Mc Ghee (1982 *cit* Pratama, 2005) *Streptococcus mutans* menghasilkan dua enzim, yaitu *glikosiltransferase* dan *fruktosiltransferase*. Enzim-enzim ini bersifat spesifik untuk substrat sukrosa yang

digunakan untuk sintesa glukukan dan fruktan. Pada metabolisme karbohidrat, enzim *glikosiltransferase* menggunakan sukrosa untuk mensintesa molekul glukosa dengan berat molekul tinggi yang terdiri dari ikatan glukosa alfa (1-6) dan alfa (1-3). Ikatan glukosa alfa (1-3) bersifat sangat pekat seperti lumpur, lengket dan tidak larut dalam air. Dinding sel bakteri gram positif tersusun dari peptidoglikan. Komponen ini memberikan kekuatan yang diperlukan untuk mempertahankan keutuhan sel. Peptidoglikan adalah molekul yang sangat besar yang terbentuk polisakarida sebagai kerangka utama. Bakteri gram positif mempunyai lapisan peptidoglikan yang lebih tebal dari bakteri gram negatif. Peptidoglikan terdiri dari asam terikoat yang terdiri dari polimer yang larut air. (Jawetz *et al.*, 2008; Pelezar dan Chan, 2005).

Pada bakteri gram positif memiliki kandungan lipid yang rendah yaitu hanya sebesar 1- 4% (Pelezar dan Chan, 2005). Bakteri Gram positif hanya memiliki satu lapis membran peptidoglikan yang tebal (Brock, *et al.*, 1994). Sehingga hal tersebut memungkinkan dinding sel bakteri *Streptococcus mutans* lebih mudah ditembus oleh zat antibakteri dibandingkan dengan bakteri gram negatif lainnya (Jawetz *et al.*, 1986). Daya tahan dinding bakteri sangat dipengaruhi oleh adanya sintesis peptidoglikan, penghambatan sintesis peptidoglikan mengakibatkan dinding bakteri menjadi mudah lisis (Jawetz *et al.*, 2001). Selain itu, efek antibakteri yang diberikan oleh zat antibakteri terhadap *Streptococcus mutans* melalui pengerusakan membran sel bakteri dan penghambatan proses metabolisme bakteri dengan menghambat aktivitas enzim GTF (*glukosiltrasferase*) (Larasati, 2013).

Hasil penelitian tentang daya antibakteri ekstrak etanol buah ciplukan (*Physalis angulata* L.) dengan menggunakan metode maserasi telah terbukti teruji secara in vitro mampu menjawab hipotesis awal bahwa pemberian ekstrak etanol buah ciplukan (*Physalis angulata* L.) berpengaruh menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*.