

## BAB V

### HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

#### A. Gambaran Umum Lokasi Penelitian

Lokasi pengambilan sampel daun bakau (*Rhizophora sp.*) dilakukan di Dermaga Kelurahan Lalowaru, Kec. Moramo Utara, Kab. Konawe selatan, Sulawesi Tenggara. Penelitian uji daya hambat ekstrak daun bakau (*Rhizophora sp.*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan dengan menggunakan metode difusi agar cara *Kirby bauer* yang dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Politeknik Bina Husada Kendari Jurusan Teknologi Laboratorium Medis penelitian ini dilaksanakan mulai tanggal 12 Mei s/d 25 Mei 2023 dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 3. Peta Lokasi Pengambilan Sampel

## B. Hasil Penelitian

Hasil penelitian dengan 5 konsentrasi ekstrak daun bakau (*Rhizophora sp.*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan 2 kali pengulangan menggunakan metode kirby bauer diperoleh zona hambat yang disajikan dalam bentuk tabel sebagai berikut :

**Tabel 2.** Hasil pengukuran zona hambat ekstrak daun bakau (*Rhizophora sp.*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

No	Perlakuan	Waktu Pengamatan	Diameter Zona Hambat (mm)		Rata-rata (mm)	Interpretasi
			P1	P2		
1	Konsentrasi 20%	1x24 jam	3,55	3,75	3,65	<i>Resisten</i>
2	Konsentrasi 40%	1x24 jam	6,6	6,3	6,45	<i>Resisten</i>
3	Konsentrasi 60%	1x24 jam	9,2	6,2	7,7	<i>Resisten</i>
4	Konsentrasi 80%	1x24 jam	9,75	7,3	8,52	<i>Resisten</i>
5	Konsentrasi 100%	1x24 jam	12,1	16,1	14,1	<i>Resisten</i>
6	Kontrol Positif ( <i>Tetracycline</i> )	1x24 jam	36,9	75,3	56,1	<i>Sensitif</i>
7	Kontrol Negatif ( <i>Aquadest</i> )	1x24 jam	0	0	0	Negatif

(Sumber : Data Primer)

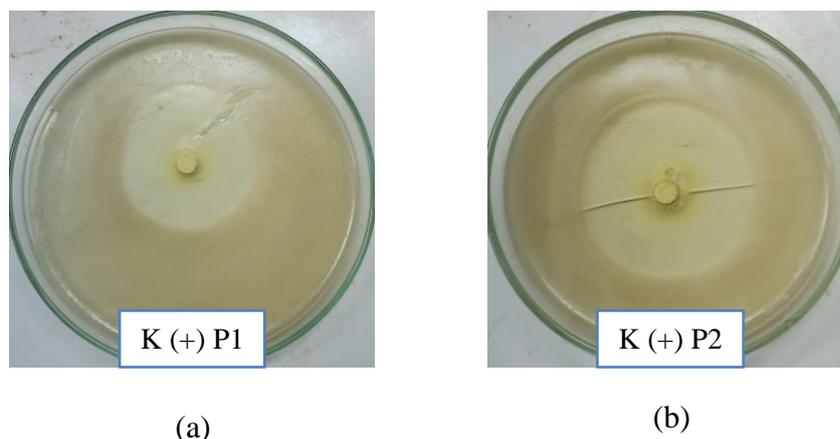
Keterangan :

*Resisten* :  $\leq 14$  mm  
*Intermediate* : 15-18 mm  
*Sensitif* :  $\geq 19$  mm

Berdasarkan tabel diatas, hasil penelitian uji daya hambat ekstrak daun bakau (*Rhizophora sp.*) yang dilakukan dengan dua kali pengulangan, dimana pada konsentrasi 20% rata-rata sebesar 3,65 mm, konsentrasi 40% rata-rata sebesar 6,45 mm, konsentrasi 60% rata-rata sebesar 7,7 mm, konsentrasi 80% rata-rata sebesar 8,52 mm dan konsentrasi 100% rata-rata sebesar 14,1 mm. Sedangkan pada kontrol

positif (+) sebagai pembanding yaitu *Tetracycline* terbentuk zona hambat dengan rata-rata sebesar 56,1 mm. Pada kontrol negatif (-) tidak terbentuk zona hambat. Sehingga hasil zona hambat yang terbentuk di kategorikan sebagai hasil resisten terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* berdasarkan hasil tabulasi data pengamatan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100%.

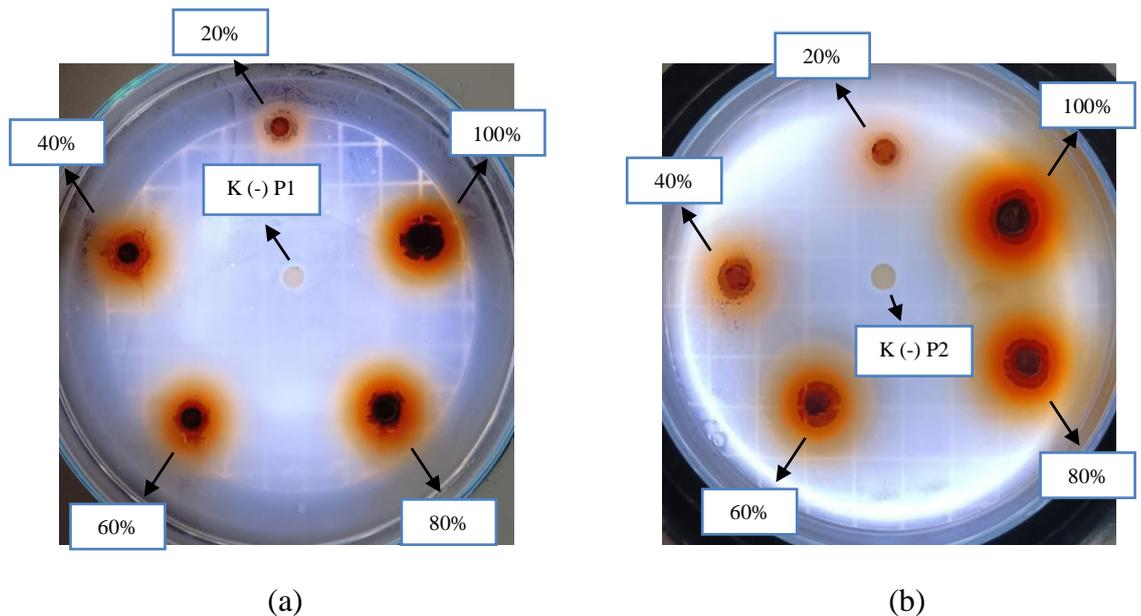
Pada kontrol positif sebagai pembanding yaitu *Tetracycline* menunjukkan zona hambat, dimana di tandai dengan adanya zona bening yang terbentuk pada paper disc pada K (+) P1 sebesar 36,9 mm dan K (+) P2 sebesar 75,3 mm, rata-rata sebesar 56,1 hasil tersebut dapat dilihat pada gambar 4.



**Gambar 4.** Hasil uji daya hambat kontrol positif (+) *Tetracycline* percobaan pertama (a) dan kedua (b)

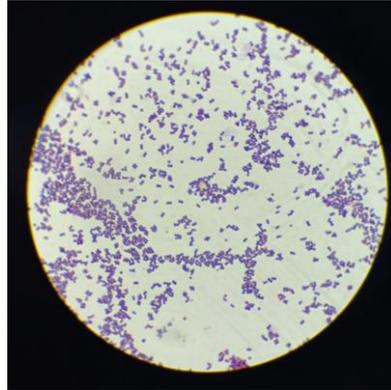
Pada uji daya hambat ekstrak daun bakau (*Rhizophora sp.*) konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% menunjukkan zona hambat, dimana di tandai dengan adanya zona bening yang terbentuk pada paper disc. Pada konsentrasi 20% terbentuk zona hambat pada (P1) sebesar 3,55 mm dan pada (P2) sebesar 3,75 mm, rata-rata 3,65 mm. Konsentrasi 40% zona hambat yang terbentuk pada (P1) sebesar 6,6 mm dan pada (P2) sebesar 6,3 mm, rata-rata 6,45 mm. Konsentrasi 60% zona hambat yang terbentuk pada (P1) sebesar 9,2 mm dan pada (P2) sebesar 6,2 mm, rata-rata 7,7 mm. Konsentrasi 80% zona hambat yang terbentuk pada (P1)

sebesar 9,75 mm dan pada (P2) sebesar 7,3 mm, rata-rata 8,52 mm. Konsentrasi 100% zona hambat yang terbentuk pada (P1) sebesar 12,1 mm dan pada (P2) sebesar 16,1 mm, rata-rata 14,1 mm, sedangkan Pada kontrol negatif yang di gunakan yaitu *aquadest* tidak terbentuk zona hambat. Hasil tersebut dapat dilihat pada gambar 5.



**Gambar 5.** Hasil uji daya hambat ekstrak daun bakau (*Rhizophora sp.*) konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% percobaan pertama (a) dan kedua (b) serta kontrol negatif (-) aquadest percobaan pertama (a) dan kedua (b)

Pada pewarnaan gram pada bakteri *Staphylococcus aureus* hasil identifikasi menunjukkan bakteri tersebut adalah bakteri gram positif berbentuk coccus berwarna ungu berdiameter 0,5-1,0 mm, susunannya bergerombol seperti buah anggur, tidak berspora dan tidak memiliki flagel (Sari, 2021). *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri yang dapat memperbanyak diri dengan cepat pada beberapa tipe media dengan aktif melakukan metabolisme, melakukan fermentasi karbohidrat, dan menghasilkan berbagai pigmen warna seperti warna putih hingga kuning gelap (Kuswiyanto, 2016). Hasil identifikasi dapat dilihat pada gambar 6.



**Gambar 6.** Hasil identifikasi pewarnaan gram bakteri *Staphylococcus aureus*

### C. Pembahasan

Penelitian uji daya hambat ekstrak daun bakau (*Rhizophora sp.*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan dengan beberapa tahap yang dimulai dari pembuatan media, proses maserasi, pembuatan ekstrak pembuatan konsentrasi ekstrak, pembuatan suspensi bakteri sampai dengan pengujian daya hambat bakteri menggunakan metode kirby bauer dengan bahan uji ekstrak daun bakau (*Rhizophora sp.*) yang dibuat menjadi 5 konsentrasi, yaitu konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% yang dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Bina Husada Kendari.

Uji daya hambat ekstrak daun bakau *Rizophora sp.* menggunakan metode ekstraksi mesurasi yaitu proses ekstraksi sederhana yang dilakukan dengan cara merendam simplisia dalam satu atau campuran pelarut selama waktu tertentu pada suhu ruang dan terlindung dari cahaya. Maserasi biasanya dilakukan pada suhu antara 15°C-20°C dalam waktu selama 3 hari sampai zat aktif yang dikehendaki larut. Maserasi dilakukan dengan cara merendam 10 bagian simplisia atau campuran simplisia dengan derajat kehalusan tertentu, dimasukkan ke dalam bejana kemudian dituangi dengan 70 bagian cairan penyari, ditutup dan dibiarkan selama 1-5 hari pada tempat yang terlindung dari cahaya (Marjoni, 2016).

Pengujian daya hambat ini dilakukan dengan metode kirby bauer yang di inkubasi selama 1 x 24 jam didalam inkubator. Pengujian ini dilakukan dengan 2 kali pengulangan dengan menggunakan *Tetracycline* sebagai kontrol positif dan *aquadest* sebagai kontrol negatif.

*Tetracycline* adalah antibiotik bakteriostatik berspektrum luas yang menghambat sintesis protein. *Tetracycline* bekerja aktif terhadap banyak bakteri Gram positif dan Gram negatif, termasuk bakteri anaerob, *riketsia*, *klamidia*, *mikoplasma*, dan bentuk L, dan terhadap beberapa protozoa, misalnya *amoeba* (Agustini, 2018). Sedangkan *aquadest* adalah senyawa netral yang tidak berefek terhadap pertumbuhan bakteri (Khotimah, 2017). Fungsi dari kontrol positif yaitu sebagai pembanding jika terjadi daya hambat pada larutan uji dimana ditandai dengan terbentuknya zona bening disekitar paper disc sebagai indikator zona hambat pada berbagai konsentrasi perlakuan, sedangkan kontrol negatif berfungsi untuk memastikan prosedur yang dilakukan benar dimana ditandai dengan tidak terbentuknya zona bening disekitar paper disc.

Dari hasil pengamatan yang dilakukan, hasil tabulasi data pengamatan pada (Tabel 2) menunjukkan pengujian kontrol positif (+), daya hambat yang terbentuk sebesar 56,1 mm yang dapat dinyatakan sensitif jika merujuk pada CLSI (*The Clinical & Laboratory Standards Institute*) tahun 2020. Pada kontrol negatif (-) tidak terbentuk zona hambat yang menunjukkan kontrol negatif yang digunakan tidak memiliki pengaruh dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Kemudian pada ke 5 konsentrasi yaitu 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% yang di uji, terdapat zona bening disekitar paper disc yakni pada konsentrasi 20% rata-rata sebesar 3,65 mm, konsentrasi 40% rata-rata sebesar 6,45 mm, konsentrasi 60% rata-rata sebesar 7,7 mm, konsentrasi 80% rata-rata sebesar 8,52 mm dan konsentrasi 100% rata-rata sebesar 14,1 mm.

Adanya zona bening yang terbentuk pada paper disc disebabkan adanya aktivitas antibakteri yaitu dapat menghalangi dinding sel bakteri,

dimana terjadi Lisis sel yang disebabkan oleh kerusakan pada dinding sel atau inhibisi dari pembentukannya kemudian mengganggu fungsi membran bakteri dimana terjadi kerusakan atau kematian sel disebabkan oleh makromolekul dan ion yang keluar dari sel akibat integritas dari membran plasma yang terganggu. Selanjutnya dapat mengganggu sintesis protein bakteri apabila tahapan proses pada sintesis protein mengalami gangguan maka akan menghambat sintesis protein pada bakteri itu sendiri. Setelah itu, mengganggu sintesis asam nukleat bakteri jika terjadi gangguan pada metabolisme asam nukleat sel bakteri maka dapat mengubah seluruh fase pertumbuhan dari sel bakteri tersebut.

Namun, walaupun ke 5 konsentrasi tersebut mempunyai zona bening yang terbentuk di sekitar *paper disc* hasilnya tetap resisten atau lemah. Hal ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor seperti kekeruhan dispense bakteri, temperatur inkubasi, ketebalan media dan faktor bahan organik asing yang mengganggu. Jika suspensi kurang keruh maka diameter zona hambat akan lebih besar, dan sebaliknya jika suspensi lebih keruh maka diameter zona hambat akan semakin kecil (Zeniusa, 2019).

Temperatur inkubasi juga dapat menjadi faktor yang mempengaruhi diameter zona hambat pertumbuhan bakteri. Untuk memperoleh pertumbuhan yang optimal, inkubasi dilakukan pada suhu 35°C. Suhu yang kurang dari 35°C. dapat menyebabkan diameter zona hambat yang lebih kecil (Zeniusa, 2019). Pada penelitian ini suhu inkubasi yang digunakan selama proses inkubasi berlangsung adalah 37°C dalam 1×24 jam. Terjadi ketidakstabilan suhu selama proses inkubasi dikarenakan adanya pemadaman listrik secara tiba-tiba pada saat penelitian berlangsung.

Penelitian terdahulu telah dilakukan oleh Kurniawan (2021), dengan judul Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun *Rhizophora apiculata* terhadap Bakteri *Edwardsiella tarda* Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol *Rhizophora apiculata* mampu menghambat pertumbuhan

bakteri *E.tarda* mulai dari konsentrasi 1000 ppm, dan daya hambat yang terbentuk tergolong kategori sedang.

Penelitian terdahulu telah dilakukan oleh Kurnianingsih & Setiyabudi (2020), dengan judul Uji Efektivitas Sediaan Krim Kombinasi Ekstrak Daun Bakau Hitam (*Rhizophora mucronata*) Dan Jeruk Purut (*Citrus Hystrix*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* hasil penelitian menunjukkan bahwa Ekstrak etanol daun *R. mucronata* dan minyak atsiri *C. hystrix* dapat diformulasikan menjadi krim kombinasi tipe M/A. Ketiga formula krim kombinasi dari ekstrak *R. mucronata* dengan variasi konsentrasi 5%, 10%, dan 15%, serta minyak atsiri *C. hystrix* 5%, mempunyai aktivitas antibakteri secara in vitro terhadap bakteri *S. aureus*, dan aktivitas antibakteri paling optimal ditunjukkan pada konsentrasi 10%. Ketiga formula krim setelah dilakukan pengujian stabilitas *cycling test* mengalami penurunan stabilitas tapi tidak secara signifikan, sehingga dapat disimpulkan bahwa ketiga sediaan krim memiliki stabilitas baik.

Penelitian terdahulu juga telah dilakukan oleh Santoso & posangi (2015) dengan judul Uji efek antibakteri daun mangrove *Rhizophora apiculata* terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* hasil penelitian menunjukkan bahwa jamur endofit yang diisolasi dari tumbuhan mangrove *Rhizophora apiculata* kemungkinan mempunyai efek dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Pada penelitian ekstrak daun bakau (*Rhizophora sp.*) mampu memberi daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* namun dengan hasil *resisten* hal ini disebabkan oleh kemampuan metabolit sekunder yang terdapat pada daun bakau (*Rhizophora sp.*) diantaranya *flavonoid*, *alkaloid*, *saponin* dan *tannin*.

Tinggi dan rendahnya nilai diameter zona hambat bakteri pada ekstrak daun bakau diduga dipengaruhi oleh jumlah kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada daun tersebut (Egra dkk, 2019). Setiap senyawa metabolit sekunder memiliki peranan tersendiri dalam

menghambat pertumbuhan bahkan membunuh bakteri sesuai dengan jumlah dosis yang diberikan (Maftucha dkk, 2018).

Senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada ekstrak daun yaitu flavonoid. Senyawa ini dapat merusak membran sel mikroba serta membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler terlarut pada dinding sel mikroba sehingga senyawa ini dapat digolongkan sebagai senyawa antimikroba. Flavonoid juga dapat menimbulkan efek toksik terhadap bakteri, dengan mekanisme merubah transport nutrisi dan komponen organik, proses perubahan tersebut disebabkan oleh gugus hidroksil yang terkandung pada senyawa flavonoid (Sungkar dkk, 2018).

Senyawa alkaloid memiliki unsur toksik yang berpengaruh terhadap mikroba, sehingga dapat menyebabkan kematian terhadap bakteri dan virus (Ningrum dkk., 2016). Selain itu senyawa alkaloid juga dapat merusak komponen penyusun peptidoglikan yang menyebabkan lapisan dinding sel tidak terbentuk sempurna dan mengakibatkan kematian sel (Suhartati & Dodi, 2017).

Senyawa saponin dapat menyebabkan kematian pada sel bakteri dengan mekanisme merusak kestabilan pada membran sel, yang mengakibatkan terhambatnya perkembangan sel serta menyebabkan kebocoran pada sitoplasma, sehingga menyebabkan senyawa intraseluler keluar dari dalam sel dan menyebabkan kematian sel bakteri (Suryani dkk, 2019).

Senyawa tanin dapat membuat dinding sel bakteri menjadi mengerut hal tersebut mengakibatkan aktivitas hidup bakteri menjadi terganggu bahkan mengalami kematian, karena permeabilitas sel yang mengalami gangguan akibat dari mengerutnya dinding sel. Selain itu tanin juga memiliki gugus hidroksil yang memiliki nilai polaritas yang berbeda dengan lipid, semakin tinggi nilai lipid pada bakteri maka diperlukan dosis yang lebih tinggi lagi untuk menghancurkan bakteri (Babychan & Jk, 2017).