

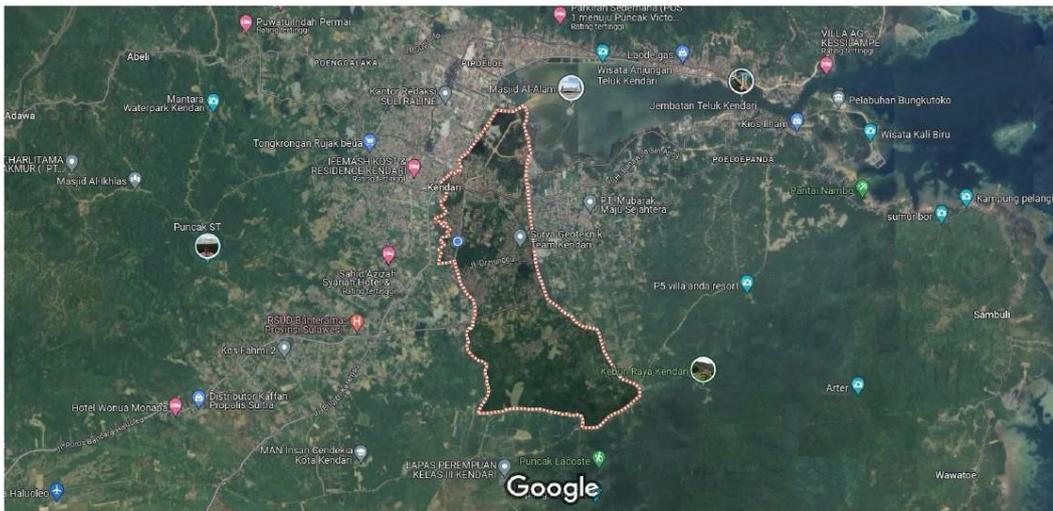
BAB V

HASIL PENELITIAN

A. Gambaran Umum Lokasi Penelitian

Lokasi Pengambilan sampel daun bidara (*Ziziphus mauritiana lam*) dilakukan di Kambu, Kecamatan Kambu Kota Kendari. Penelitian uji daya hambat ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana lam*) terhadap bakteri *Proteus mirabilis* dilakukan dengan menggunakan metode difusi agar atau metode sebar yang dilakukan di Laboratorium Farmasi Universitas Haluoleo Kendari. Penelitian ini dilaksanakan mulai tanggal 07 Juni s/d 04 Juli 2024.

PETA LOKASI PENGAMBILAN SAMPEL



Gambar 3. Peta Lokasi Pengambilan Sampel

B. Hasil Penelitian

Pada tahap awal penulis mengumpulkan daun bidara (*Ziziphus mauritiana lam*), kemudian daun tersebut dibersihkan dari kotoran yang menempel lalu dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 60°C selama \pm 4 jam. Setelah itu, daun dihaluskan dengan blander dan diayak hingga menjadi serbuk. Serbuk daun sintrong kemudian ditimbang sebanyak 500 gram dan dimaserasi selama 3x24 jam menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 1000 ml. Maserat yang telah didapatkan kemudian disaring dan dipisahkan

adalah diperolehnya 100 ml ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana lam*).



Gambar 4. Ekstrak daun bidara
(Dokumentasi Pribadi, 2024)

Ekstrak daun Bidara yang telah diperoleh dibuat menjadi 5 variasi konsentrasi yaitu 20%, 40%, 60%, 80% dan 100%. Pada konsentrasi 20% diisi dengan 4 ml ekstrak daun bidara dan 16 ml aquadest. Konsentrasi 40% merupakan campuran antara 8 ml ekstrak daun bidara dan 12 ml aquadest. Konsentrasi 60% yaitu campuran antara 12 ml ekstrak daun bidara dan 8 ml aquadest. Konsentrasi 80% ialah 16 ml ekstrak daun bidara yang dilarutkan dengan 4 ml aquadest. Konsentrasi 100% yaitu 20 ml ekstrak daun bidara tanpa pelarut apapun. Lima variasi konsentrasi yang telah dibuat digunakan untuk uji daya hambat metode *kirby bauer* dengan difusi kertas cakram atau *paper disc*.

Hasil penelitian dengan 5 varian konsentrasi ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana lam*) terhadap *Proteus mirabilis* dengan menggunakan metode difusi agar secara *in vitro* di Laboratorium Farmasi Universitas Haluoleo Kendari diperoleh zona hambat yang disajikan dalam bentuk tabel sebagai berikut :

Tabel 2. Hasil Pengukuran zona hambat ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana lam*) terhadap *proteus mirabilis*

Perlakuan	P1		P2		Lebar Cakram (mm)	Rata-Rata Zona Hambat (mm)	Kategori Zona Hambat
	DH	DV	DV	DH			
Kontrol(+)	31,2	33,4	32,80	33,20	6	26,65	<i>Sensitif</i>
Kontrol(-)	-	-	-	-	6	-	-
20%	14,10	14,80	14,20	15,00	6	8,53	<i>Resistant</i>
40%	14,30	15,00	14,80	15,30	6	8,85	<i>Resistant</i>
60%	14,90	15,80	14,50	15,60	6	9,20	<i>Resistant</i>
80%	16,30	17,00	16,30	16,90	6	10,63	<i>Resistant</i>
100%	17,20	18,00	17,00	17,60	6	11,45	<i>Resistant</i>

(Sumber : Data Primer)

Keterangan :

- 1) P1 : Percobaan Pertama
P2 : Percobaan Kedua
DH : Daerah Horizontal
DV : Daerah Vertikal
Kontrol (+) : *Gentamicin*
Kontrol (-) : Aquades
- 2) Efektif terbentuk zona hambat bening. Nilai diameter zona hambat dikategorikan berdasarkan CLSI 2021 yakni :
Resistant : ≤ 12 mm
Intermediet : 13 -14 mm
Sensitif : ≥ 15
- 3) Tidak Efektif apabila tidak terbentuk daerah zona hambat bening.

Berdasarkan tabel di atas yakni hasil uji daya hambat ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana lam*) terhadap *Proteus mirabilis*, dilakukan pengukuran menggunakan jangka sorong pada kontrol positif (*gentamicin*) Rata-rata zona hambat yang terbentuk pada P1 dan P2 sebesar 26,65 mm. Pada kontrol negatif tidak terbentuk zona hambat. Pada Konsentrasi 20% rata-rata zona hambat yang terbentuk pada P1 dan P2 sebesar 8,53 mm. Pada Konsentrasi 40% rata-rata

zona hambat yang terbentuk pada P1 dan P2 sebesar 8,85 mm. Pada Konsentrasi 60% rata-rata zona hambat yang terbentuk pada P1 dan P2 sebesar 9,20 mm. Pada Konsentrasi 80% rata-rata zona hambat yang terbentuk pada P1 dan P2 sebesar 10,63 mm. Pada Konsentrasi 100% rata-rata zona hambat yang terbentuk pada P1 dan P2 sebesar 11,45 mm. Sehingga dari ke 5 konsentrasi terbentuk daerah bening disekitar *paper disc* yang disebut sebagai zona hambat.

Zona hambat yang terbentuk dikategorikan *resistant* dan berdasarkan hasil tabulasi data pengamatan pada konsentrasi 100% dinyatakan paling tinggi namun belum bisa dapat dikatakan efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Proteus mirabilis*, meskipun memiliki daya hambat yang paling besar dengan ditandai luasnya zona bening yang terbentuk dengan rata rata zona hambat 11,45 mm yang mana nilai daya hambat ini sesuai CLSI 2021 tidak dapat menghambat bakteri dengan baik, meskipun dihasilkan paling mendekati zona hambat yang dihasilkan oleh kontrol positif (*gentamicin*) yang digunakan pada pengujian daya hambat ini yaitu dengan nilai rata-rata sebesar 26,65 mm.

Hasil penelitian yang disajikan pada gambar 5 menunjukkan zona hambat paling tinggi yaitu pada konsentrasi 100% dan yang paling rendah pada konsentrasi 20% yang menunjukkan terjadinya kenaikan pada setiap konsentrasi yang disebabkan oleh faktor perlakuan dari kadar ekstrak yang terus diberikan jumlah kadar yang bertingkat pada setiap masing-masing konsentrasi. Sehingga adanya kenaikan yang signifikan meski belum mencapai kata sensitif seperti pada kontrol (+) pada diagram yang ada.

Tabel 3. Hasil Uji Pertama Diameter Zona Hambat Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana lam*) Terhadap Bakteri *Proteus mirabilis*

NO	Gambar Zona Hambat	Keterangan
1	<p>Kontrol Positif, Negatif Konsentrasi 20%, 40%, dan 60%</p> 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Kontrol Positif terbentuk zona bening dan kontrol negatif tidak terbentuk zona bening. 2. Konsentrasi 20%, 40%, dan 60% ekstrak daun bidara ditemukan zona hambat yang kecil dan mengalami kenaikan zona hambat secara signifikan.
2	<p>Kontrol Positif, Negatif, Konsentrasi 80%, dan 100%</p> 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Kontrol Positif terbentuk zona bening dan kontrol negatif tidak terbentuk zona bening. 2. Konsentrasi 20%, 40%, dan 60% ekstrak daun bidara ditemukan zona hambat yang kecil dan mengalami kenaikan zona hambat secara signifikan.

(Sumber : Data Primer)

Tabel 4. Hasil Uji Kedua Diameter Zona Hambat Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana lam*) Terhadap Bakteri *Proteus mirabilis*

NO	Gambar Zona Hambat	Keterangan
1	Kontrol Positif, Negatif Konsentrasi 20%, 40%, dan 60%	<ol style="list-style-type: none"> 1. Kontrol Positif terbentuk zona bening yang besar dan kontrol negatif tidak terbentuk zona bening. 2. Konsentrasi 20%, 40%, dan 60% ekstrak daun bidara ditemukan zona hambat yang kecil dan mengalami kenaikan zona hambat secara signifikan.
2	Kontrol Positif, Negatif, Konsentrasi 80%, dan 100%	<ol style="list-style-type: none"> 1. Kontrol Positif terbentuk zona bening yang besar dan kontrol negatif tidak terbentuk zona bening. 2. Konsentrasi 20%, 40%, dan 60% ekstrak daun bidara ditemukan zona hambat yang kecil dan mengalami kenaikan zona hambat secara signifikan.

(Sumber : Data Primer)

Pengamatan hasil penelitian dilakukan dengan melihat daerah zona bening pada cawan petri yang mengelilingi *paper disc* yang menunjukkan daya hambat pertumbuhan bakteri *Proteus mirabilis*.

C. Pembahasan

Penelitian uji daya hambat ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana lam*) terhadap *Proteus mirabilis* yang dilakukan dengan beberapa tahap yaitu dimulai tahap pemilihan daun bidara tua yang sesuai kriteria kebutuhan, daun dibersihkan lalu dilakukan pembuatan ekstraksi dengan tahap pengeringan menggunakan oven pada suhu 60⁰ selama 4 jam, dihaluskan menggunakan blender dan terbentuklah simplisia yang halus dan siap di ekstrak menggunakan etanol 96% selama 3 × 24 jam. Tahap selanjutnya melakukan pembuatan media peremajaan bakteri yakni NA (*Nutrient Agar*), penanaman suspensi bakteri, pembuatan kontrol positif hingga tahap pengujian daya hambat menggunakan *paper disc* metode *kirby beaur* dengan menggunakan media uji daya hambat ialah MHA (*Mueller-Hinton Agar*). Yang selanjutnya dibuat dalam 5 varian konsentrasi yaitu konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% yang dilakukan di Laboratorium Farmasi Universitas Haluoleo Kendari.

Uji daya hambat ekstrak daun bidara menggunakan metode ekstraksi maserasi yaitu teknik ekstraksi yang dilakukan dengan merendam bahan yang akan diekstraksi dalam pelarut organik selama periode tertentu. Proses perendaman ini memungkinkan pelarut atau cairan penyari untuk menembus dinding sel tanaman yang sedang diekstraksi, masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif dan melarutkannya. Dalam proses maserasi pelarut yang digunakan adalah etanol 96%. Pelarut etanol 96% merupakan pelarut polar yang sangat efektif mengekstrak bahan lebih banyak dibandingkan dengan etanol konsentrasi rendah. Penggunaan pelarut etanol 96% dapat mempermudah proses identifikasi karena ekstrak yang dihasilkan memiliki tingkat kekentalan dan kemurnian yang tinggi. Kelebihan lainnya dari penggunaan etanol 96% yaitu mudah menguap, murah, mudah didapat dan cukup aman (Torar dkk, 2015).

Pada metode peremajaan bakteri yang digunakan adalah media *Nutrien Agar* (NA) sebagai media untuk peremajaan bakteri uji yakni *Proteus mirabilis*. Media NA ini memiliki nutrisi cukup untuk mendukung pertumbuhan berbagai jenis bakteri, komposisi yang seimbang antara pepton, ekstrak daging,

dan agar menyediakan sumber nitrogen, karbon, dan energi yang diperlukan untuk aktivitas metabolisme bakteri, Media NA Mudah disimpan dan tersedia secara komersial, sehingga praktis untuk digunakan kapan saja diperlukan. Hal ini memudahkan peneliti untuk selalu siap melakukan peremajaan mikroorganisme sesuai kebutuhan. Parameter yang digunakan adalah pertumbuhan bakteri *Proteus mirabilis*, yang akan tumbuh dan menimbulkan kekeruhan pada media NA di plate setelah di inkubasi pada inkubator selama 1x24 jam pada suhu 37⁰ C.

Pada metode uji daya hambat ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana lam*) digunakan media *Mueller Hinton Agar* (MHA) untuk melihat ada atau tidaknya zona bening pada daerah kertas cakram yang telah diberi ekstrak daun bidara berdasarkan 5 varian konsentrasi yang nantinya menjadi penilaian apakah ekstrak daun bidara dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Proteus mirabilis*. Komposisi media MHA terstandarisasi dan terdefinisi dengan baik, sehingga memberikan hasil yang konsisten, dan penggunaan media MHA untuk uji daya hambat direkomendasikan oleh *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) DAN *European Commuttee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST).

Pengujian daya hambat terhadap bakteri *Proteus mirabilis* dengan menggunakan metode difusi agar diinkubasi selama 1 × 24 jam di dalam inkubator dengan zona hambat ditandai dengan terbentuknya daerah bening disekitar *paper disc*. Pengujian dilakukan dengan 2 kali pengulangan (duplo) dengan menggunakan antibiotik *gentamicin* sebagai kontrol positif dan aquades sebagai kontrol negatif.

Gentamicin adalah antibiotik yang memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Proteus mirabilis* sesuai CLSI 2021. Sedangkan aquades adalah senyawa netral yang tidak berefek terhadap pertumbuhan bakteri. Fungsi dari kontrol positif yaitu sebagai pembanding jika terjadi daya hambat pada larutan uji yang ditandai dengan adanya zona bening disekitar *paper disc*. Sedangkan kontrol negatif berfungsi untuk memastikan prosedur yang dilakukan sudah benar atau belum yang ditandai dengan tidak

adanya zona bening yang terbentuk disekitar *paper disc*. Kontrol positif dan negatif ini berada pada satu *plate* yang sama dengan sampel uji daun bidara (*Ziziphus mauritiana lam*), sehingga saat pengukuran hasil dapat langsung dibandingkan perbedaan hasil yang didapatkan.

Dalam Percobaan uji daya hambat ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana lam*) ini nilai rata rata yang dihasilkan terhadap percobaan pertama dan percobaan kedua seperti yang tertera pada tabel 2, kontrol (+) daya hambat yang terbentuk sebesar 26,65, pada kontrol (-) tidak terbentuk daya hambat, pada konsentrasi 20% daya hambat yang terbentuk sebesar 8,53 mm, konsentrasi 40% daya hambat yang terbentuk sebesar 8,85 mm, konsentrasi 60% daya hambat yang terbentuk sebesar 9,2 mm, konsentrasi 80% daya hambat yang terbentuk sebesar 10,63 mm, konsentrasi 100% daya hambat yang terbentuk sebesar 11,45 mm yang menunjukkan bahwa pada setiap konsentrasi mengalami kenaikan nilai rata rata zona hambat yang peningkatan ini dipengaruhi oleh kadar ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana lam*).

Adanya hambatan yang terbentuk disebabkan oleh senyawa yang terkandung di dalam daun bidara (*Ziziphus mauritiana lam*). Setiap senyawa tersebut mampu berperan sebagai antibakteri dengan mekanisme yang berbeda. Mekanisme kerja yang terbentuk dapat berupa perusakan dinding sel dengan cara menghambat pembentukannya atau memperlambat kerja enzim, dan sudah digunakan sebagai obat-obat herbal di beberapa negara dan telah diteliti secara klinis kandungan yang terdapat didalamnya (Kusriani, 2015).

Menurut Kusriani dkk (2015) daun bidara memiliki kandungan senyawa alkaloid yang dapat mengganggu sintesis dinding sel bakteri, yang sangat penting untuk integritas struktural dan perlindungan bakteri, terpenoid memiliki kandungan senyawa antimikroba, antiinflamasi dan juga dapat mengganggu jalur metabolik penting dalam sel bakteri, misalnya dapat mengganggu biosintesis asam nukleat atau metabolisme asam amino esensial (Karlina 2018). Flavanoid sendiri menjadi kandungan yang paling dominan dan dapat mengganggu replikasi dan transkripsi bakteri atau pemutusan untai DNA, yang berakibat fatal bagi bakteri (Vannesa dkk, 2014). Jika diamati

terjadi perubahan diameter zona bening pada saat percobaan 1 dan percobaan 2. Perbedaan yang dihasilkan dapat dipengaruhi beberapa faktor yakni saat proses pembuatan media pengujian terjadi kesalahan atau kontaminasi sehingga media tidak memadat dengan baik. Kedalaman medium dalam cawan petri juga mempengaruhi ukuran zona hambatan karena semakin tebal medium pada cawan petri maka zona hambat akan semakin kecil dan pengaruh suhu ruang juga dapat mempengaruhi media dan dapat terjadi kontaminasi (Kusuma dkk, 2017).

Temperatur inkubasi 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. Pada penelitian ini suhu inkubasi yang digunakan selama proses inkubasi berlangsung adalah 37°C dalam 1x24 jam. Terjadi ketidakstabilan suhu selama proses inkubasi dikarenakan pintu inkubator yang di buka tutup dan penumpukan cawan petri di inkubator (Anwar dkk, 2018).

Penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Yuningsih dkk (2019) dengan judul “Uji bioaktivitas daun bidara terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*” menunjukkan bahwa pada konsentrasi 20% bakteri tersebut *resistant* dengan rata rata 10,5 mm, pada konsentrasi 40% dan 60% dengan rata-rata 14 mm dan 16 mm tergolong *intermediet*, pada konsentrasi 80% dan 100% dengan rata rata 18 mm dan 24 mm tergolong sebagai *sensitif*. Berdasarkan penelitian terdahulu membuktikan bahwa penelitian ini tidak sepenuhnya selaras dengan penelitian terdahulu, karena hasil yang memiliki beberapa perbedaan. Pada konsentrasi 20% - 60% memiliki kesamaan hasil yakni *resistant*, namun pada konsentrasi selanjutnya yakni 80% dan 100% memiliki perbedaan dimana pada penelitian ini tergolong *Resistant*.

Menurut hasil penelitian ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana lam*) pada percobaan pertama dan kedua pada penelitian ini baik pada konsentrasi 20% hingga 100% tidak terjadi selisih angka yang begitu besar sehingga penelitian ini dapat dikatakan presisi.

Berdasarkan penelitian-penelitian sebelumnya menyatakan bahwa ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana lam*) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Salmonella*, dan *E.coli* yang mencapai tingkat yang tergolong *sensitif* sesuai landasan CLSI 2021 (Daris & Sukainah, 2023; Shufyani & Dominica, 2022; Khairani, 2019). Namun pada penelitian ini tidak ditemukan hasil yang sejalan dengan penelitian sebelumnya, dengan hasil yang didapatkan masuk dalam kategori *resistant* sesuai landasan CLSI 2021.

Hal-hal yang dapat saja mempengaruhi hasil yang *resistant* ialah bakteri yang dikirim dari luar kota sehingga masa waktu perjalanan yang dilalui dapat mempengaruhi pertumbuhan bakteri pada media biakan karena terpapar dengan suhu yang bervariasi selama waktu pengiriman, suhu yang tidak stabil dapat mempengaruhi viabilitas dan pertumbuhan bakteri (Sari dkk, 2014). Suhu penyimpanan biakan juga dapat mempengaruhi kelayakan media saat digunakan, kontaminasi udara pada ruangan yang bisa saja menjadi penyebab dari hasil yang kurang presisi dengan penelitian sebelumnya (Siburian & Martuti, 2015).

Proses pengeringan daun bidara juga dapat menjadi salah satu faktor yang signifikan, proses pemanasan yang terlalu lama atau suhu yang terlalu tinggi dan bervariasi juga dapat merusak kandungan senyawa kimia dalam daun sehingga saat pembuatan ekstrak kandungan pada daun tidak lagi stabil dan optimal dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Proteus mirabilis* (Adhamatika dan Murtini 2021).

Dari hasil pengamatan pada penelitian ini zona hambat yang terbentuk dikategorikan *resistant* dan berdasarkan hasil tabulasi data pengamatan pada tabel 2 konsentrasi 100% dinyatakan memiliki zona bening yang paling besar dalam menghambat bakteri *Proteus mirabilis* karena memiliki daya hambat yang paling besar yaitu dengan rata-rata 11,45 mm. Jika merujuk pada panduan CLSI 2021 yang mengatakan bahwa *sensitif* pada ≥ 15 mm menyatakan bahwa pada konsentrasi 100% yang cukup tinggi masih tergolong *resistant*.

Pada penelitian ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana lam*) ini tidak

terbukti mampu memberi daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Proteus mirabilis* hal ini bisa di disebabkan juga oleh kemampuan bakteri *Proteus mirabilis* yang sudah bermutasi dan tidak terlalu terpengaruh oleh perlakuan yang diberikan dari ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana lam*). Jadi dikatakan bahwa bakteri *Proteus mirabilis* tidak begitu rentan terhadap ekstrak daun bidara dan masih dapat bertahan hidup setelah terpapar ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana lam*). Meskipun terbentuknya zona bening yang signifikan pada setiap konsentrasi yang diberikan, namun tidak mencapai kondisi yang *sensitif* sesuai aturan dari CLSI 2021.