

BAB V

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Gambaran Umum Lokasi Penelitian

Penelitian Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Sintrong (*Crassocephalum crepidioides* (Benth.) S.Moore) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dilakukan pada tanggal 26 Mei s/d 30 Juni 2024.

1. Pengambilan sampel daun sintrong (*Crassocephalum crepidioides* (Benth.) S.Moore) dilakukan di Desa Lemobajo, Kecamatan Wawolesea, kabupaten Konawe Utara, Sulawesi Tenggara.
2. Pengeringan daun sintrong (*Crassocephalum crepidioides* (Benth.) S.Moore) menggunakan oven dry vacuum yang dilakukan di Poltekkes Kemenkes Kendari pada tanggal 27 Mei s/d 3 Juni 2024.
3. Proses maserasi dilakukan di Laboratorium Farmasi Politeknik Bina Husada Kendari pada tanggal 11 Juni s/d 14 Juni 2024.
4. Pembuatan ekstrak kental, pembuatan media *Mueller Hinton Agar* (MHA), pewarnaan gram bakteri, peremajaan bakteri, pembuatan konsentrasi ekstrak, penempelan kertas cakram, inkubasi media, pengamatan dan pengukuran hasil di Laboratorium Mikrobiologi Terpadu Politeknik Bina Husada Kendari.

B. Hasil Penelitian

Hasil penelitian dengan lima varian konsentrasi ekstrak daun sintrong (*Crassocephalum crepidioides* (Benth.) S.Moore) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* menggunakan metode *kirby bauer* di Laboratorium Mikrobiologi Terpadu Politeknik Bina Husada Kendari Jurusan Teknologi Laboratorium Medis diperoleh zona hambat yang disajikan dalam bentuk tabel sebagai berikut :

Tabel 3. Hasil Pengukuran Zona Hambat Ekstrak Daun Sintrong (*Crassocephalum crepidioides* (Benth.) S.Moore) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*

No	Konsentrasi Ekstrak Daun Sintrong	Waktu Pengamatan	Diameter Zona Hambat (mm)		Rata-rata (mm)	Interpretasi
			P1	P2		
1	20%	2 x 24 jam	0	0	0	0
2	40%	2 x 24 jam	0	0	0	0
3	60%	2 x 24 jam	0	0	0	0
4	80%	2 x 24 jam	0	0	0	0
5	100%	2 x 24 jam	2,8	3,37	3,08	Resisten
6	Kontrol positif	2 x 24 jam	27,55	22,75	25,15	Sensitif
7	Kontrol negatif	2 x 24 jam	0	0	0	0

Sumber : (Data Primer, 2024)

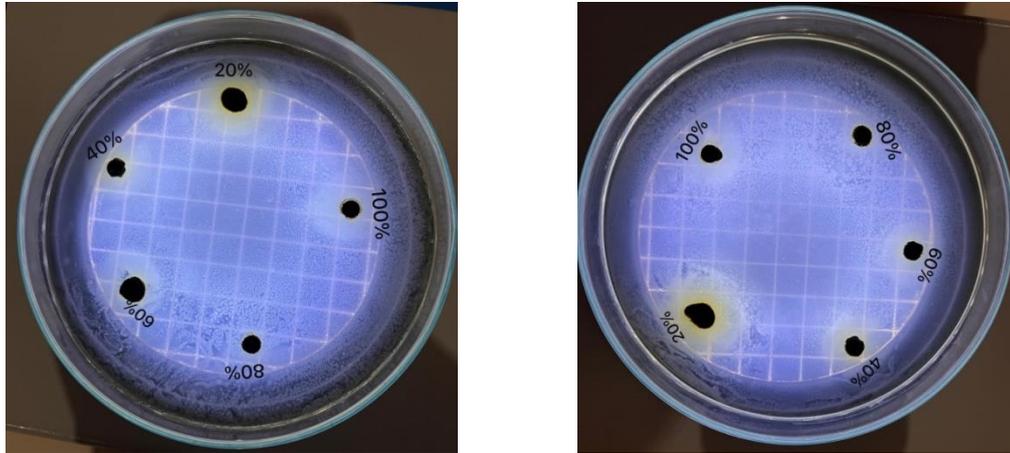
Keterangan :

- Resisten : <17 mm
 Intermediet : 18-20 mm
 Sensitif : >21 mm
 P1 : Pengulangan Pertama (1)
 P2 : Pengulangan Kedua (2)

Hasil uji daya hambat ekstrak sintrong (*Crassocephalum crepidioides* (Benth.) S. Moore) ditunjukkan dalam Tabel 2 di atas. Dalam percobaan pertama (P1) zona hambat tidak terbentuk pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, dan 80%. Pada konsentrasi 100%, konsentrasi percobaan pertama (P1) adalah 2,8 mm dan percobaan kedua (P2) adalah 3,375 mm dengan rata-rata 3,0875 mm. Dengan penggunaan *Chloramphenicol*, zona hambat pada percobaan pertama (P1) sebesar 27,55 mm, zona hambat pada percobaan kedua (P2) sebesar 22,75 mm, dan zona hambat rata-rata sebesar 25,15 mm. untuk kontrol negatif tidak terbentuk zona hambat.

Untuk mengamati hasil penelitian, zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram diamati untuk menunjukkan zona yang melindungi bakteri

Escherichia coli, yang diukur dengan jangka sorong, seperti yang ditunjukkan pada gambar berikut:

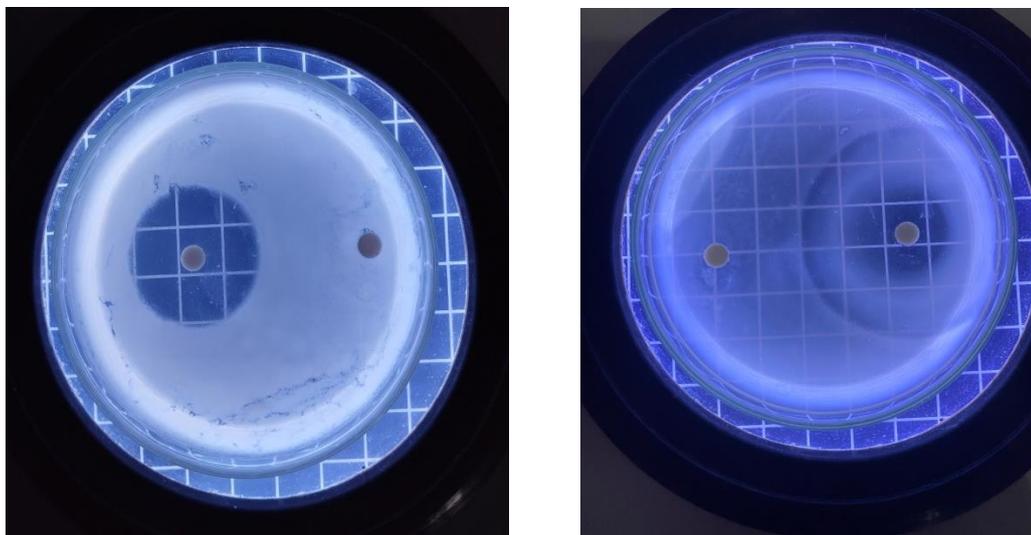


(a)

(b)

Gambar 5. Hasil uji daya hambat ekstrak sintrong (*Crassocephalum crepidioides* (Benth.) S.Moore) konsentrasi 20%,40%, 60%, 80%, dan 100% percobaan pertama (a) dan kedua (b)

Sumber : (Data Primer, 2024)



(a)

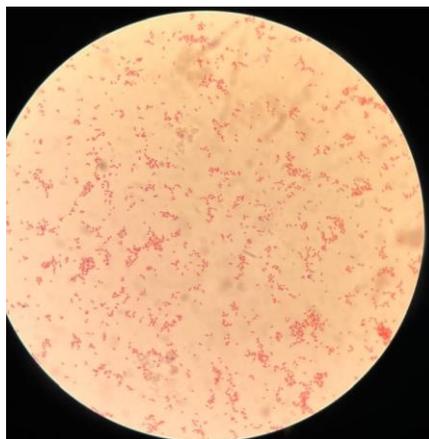
(b)

Gambar 6. Hasil uji daya hambat kontrol positif dan negatif percobaan pertama (a) dan kedua (b)

Sumber : (Data Primer,2024)

Sebelum melakukan uji penghambatan ekstrak daun Sintrong (*Crassocephalum crepidioides* (Benth.) S. Moore) untuk pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, terlebih dahulu dilakukan purifikasi bakteri untuk memastikan

bahwa bakteri *Escherichia coli* telah dibudidayakan tanpa ada kontaminasi oleh mikroba lain, dan pewarnaan Gram dilanjutkan untuk melihat morfologi bakteri *Escherichia* (Ismail dkk., 2017).



Gambar 7. Hasil identifikasi pewarnaan gram bakteri *Escherichia coli* dibawah mikroskop perbesaran 100x

Sumber: (Data Primer, 2024)

C. Pembahasan

Metode *Kirby-Bauer* digunakan untuk menguji daya hambat ekstrak daun Sintrong (*Crassocephalum crepidioides* (Benth.) S. Moore) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*; uji ini menggunakan lima variasi konsentrasi. Setiap variasi konsentrasi dilakukan dua kali (duplo). *Chloramphenicol* merupakan antibiotik berspektrum luas menghentikan pembentukan protein bakteri gram positif dan gram negatif. Sehingga efektif dalam pengobatan infeksi seperti diare.

Senyawa organosulfur tidak berwarna *dimetil sulfoksida* (DMSO) adalah pelarut aprotik. DMSO adalah senyawa yang memiliki toksisitas rendah dan memiliki efek anti-inflamasi dan analgesik. Selain itu, DMSO merupakan pelarut ekstrak yang baik tanpa mempengaruhi efek penghambatan bakteri uji, sehingga dapat digunakan dengan baik untuk melarutkan ekstrak dan fraksi daun. Fungsi kontrol negatif memastikan bahwa prosedur dilakukan dengan benar, yang ditandai dengan terbentuknya zona bening yang jelas di sekitar cakram dan menunjukkan zona penghambatan pada berbagai konsentrasi pengobatan. Di sisi

lain, fungsi kontrol positif berfungsi untuk membandingkan ketika terbentuk penghambatan dalam larutan uji.

Pada penelitian daya hambat ekstrak daun sintrong (*Crassocephalum crepidioides* (Benth.) S. Moore), nilai rata-rata menunjukkan bahwa pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, dan 80% tidak ada zona hambat yang terbentuk pada area disk kertas. Pada konsentrasi 100% daya hambat, area disk kertas berdiameter 3,0875 mm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, dan 80% tidak ada zona hambat yang terbentuk. Hasil pengujian menunjukkan bahwa diameter zona hambat yang terbentuk tidak sesuai dengan ketentuan CLSI (2020): nilai zona hambat lebih dari 21 mm diklasifikasikan sebagai respons daya hambat yang sangat kuat (*Sensitive*), zona hambat 18-20 mm diklasifikasikan sebagai respons daya hambat sedang (*Intermediet*) dan zona hambat <17 dikategorikan respon daya hambat lemah (*Resisten*). jika dilihat berdasarkan respon daya hambat tersebut, pada kelima konsentrasi yaitu 20 %, 40 %, 60 %, 80 %, dan 100 % tidak mampu menghentikan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun sintrong (*Crassocephalum crepidioides* (Benth.) S. Moore) pada konsentrasi yang paling tinggi memiliki daya hambat yang jauh lebih kecil daripada antibiotik *Chloramphenicol*. Oleh karena itu, ekstrak ini dianggap tidak efektif atau resisten terhadap penghambatan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Tidak terbentuknya zona hambat bakteri pada konsentrasi yang rendah disebabkan juga pengaruh oleh sifat bakteri *Escherichia coli* itu sendiri. Bakteri gram negatif *Escherichia coli* memiliki dinding sel yang lebih kompleks daripada bakteri gram positif lainnya.. Dinding sel yang lebih kompleks menyebabkan senyawa antimikroba sulit masuk ke dalam sel bakteri sehingga zona hambat yang terbentuk lebih kecil atau bahkan tidak membentuk zona hambat (Kasim, 2020).

Adanya zona hambat yang terbentuk di daerah sekitar kertas cakram disebabkan oleh mekanisme kerja senyawa antibakteri meliputi kerusakan pada dinding sel bakteri dengan cara mencegah sintesis atau mengubah strukturnya pasca pembentukan, perubahan permeabilitas sitoplasma, inhibisi aktivitas enzim,

serta menghentikan sintesis protein dan asam nukleat. Antibakteri adalah senyawa yang relatif aman bagi manusia karena mampu menghentikan pertumbuhan atau menghancurkan bakteri. Kemampuan untuk menghentikan biosintesis dinding sel bakteri—seperti yang dilakukan penisilin—adalah salah satu karakteristik utamanya sebagai antibakteri. Antibiotik alami dapat berasal dari tumbuhan. Sebagai contoh, tanaman sintrong sering dimanfaatkan sebagai nutrasetikal dan diyakini mengandung senyawa aktif yang efektif melawan bakteri (Malik, 2022)

Karena adanya senyawa metabolit sekunder seperti *flavonoid* dan *tanin* dalam ekstrak etanol daun sintrong, diyakini dapat menghentikan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Senyawa polar seperti *flavonoid* dapat dengan mudah menembus lapisan peptidoglikan. Hal ini dilakukan karena *flavonoid* membentuk senyawa kompleks yang mengikat protein, yang menghambat fungsi membran sel. Ini merusak membran sel bakteri dan mengeluarkan senyawa dari sel. *Tanin* dapat mengganggu membran plasma dan menghentikan enzim bekerja. Jika enzim tidak berfungsi dengan baik, metabolisme bakteri mempengaruhi pertumbuhan bakteri. Mekanisme penghambatan mempengaruhi bagian sel bakteri seperti dinding sel, ribosom, kromosom, metabolisme folat, dan membran sel.

Penelitian ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Choirah (2020) dengan judul uji daya hambat ekstrak daun sintrong (*Crassocephalum crepidioides* (Benth.) S.Moore) terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella Typhi* yang dimana pada konsentarsi terendah yaitu konsentrasi 10% dengan rata-rata zona hambat 9,2 mm sedangkan pada konsentrasi tertinggi yaitu konsentrasi 30% dengan rata-rata zona hambat 10,82 mm.

Penelitian ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Situmorang (2021) dengan judul uji daya hambat ekstrak etanol daun sintrong (*Crassocephalum crepidioides* (Benth.) S.Moore) terhadap pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes* yang dimana pada konsentarsi terendah yaitu konsentrasi 20% dengan rata-rata zona hambat 6,83 mm sedangkan pada konsentrasi tertinggi yaitu konsentrasi 60% dengan rata-rata zona hambat 10,5 mm.

Dari hasil penelitian ini dengan judul uji daya hambat ekstrak daun sintrong (*Crassocephalum crepidioides* (Benth.) S.Moore) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dibandingkan dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan Mayasari (2020) yang menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sintrong terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan metode cakram pada masing-masing konsentrasi dimana pada konsentrasi tertinggi yaitu pada konsentrasi 10% didapatkan rata-rata zona hambat 6,5 mm. hasil ini jauh berbeda dengan hasil penelitian yang telah dilakukan dimana didapatkan hasil pada konsentrasi 20%, 40%, 60% dan 80% tidak terbentuk zona hambat dan pada konsentrasi tertinggi yaitu 100% didapatkan hasil rata-rata zona hambat 3,0875mm. hal tersebut dapat disebabkan oleh sifat bakteri yang berbeda. Bakteri *Streptococcus aureus* adalah bakteri gram positif, tetapi *Escherichia coli* adalah bakteri gram negatif dalam penelitian ini. Bakteri gram positif dan bakteri gram negatif memiliki dinding sel yang berbeda. Bakteri gram positif lebih rentan terhadap kerusakan dinding sel. karena dinding sel pada bakteri gram positif memiliki membrane sel yang hanya terdiri atas satu lapisan saja yaitu fosfolipid sehingga diameter zonan hambat yang dihasilkan lebih besar. Namun, dinding sel bakteri gram negatif lebih kompleks. tersusun oleh 20% lipoprotein, 80% polisakarida, fosfolipid dan ruang periplasmik. Zat antibakteri menghentikan pembentukan lapisan peptidoglikan di dalam dinding sel, yang melindungi bakteri secara utama. yang tersusun atas senyawa glikoprotein yang berfungsi sebagai sistem pertahanan diri bagi bakteri gram negative seperti *Escherichia coli* serta melindungi sel bakteri dari zat asing atau zat antimikroba. Hal tersebut yang menyebabkan bakteri *Escherichia coli* yang merupakan bakteri gram negative sulit untuk dirusak oleh zat antimikroba sehingga senyawa seperti saponin, flavonoid dan tanin yang biasanya ada dalam ekstrak daun sintrong tidak dapat menghentikan perkembangan bakteri *Escherichia coli* dan diameter zona hambat yang dihasilkan lebih kecil (Nurhayati, 2018)

Kekurangan dari penelitian ini yaitu proses pengeringan yang terlalu lama menggunakan oven dapat mengurangi kandungan flavonoid dalam tanaman atau bahan alam yang digunakan sebagai sumber flavonoid. Pengeringan yang

berlebihan dapat menyebabkan dekomposisi atau kehilangan senyawa aktif, sehingga mengurangi efektivitasnya dalam menghentikan perkembangan *Escherichia coli*. Maka dari itu, penting demi mengoptimalkan metode pengeringan yang sesuai untuk mempertahankan kandungan *flavonoid* yang maksimal, sehingga meningkatkan potensi senyawa ini sebagai agen antimikroba alami dalam aplikasi pengobatan.

Purwanti dkk (2016) menyatakan bahwa Suhu dan durasi proses pengeringan memiliki efek nyata terhadap kandungan *flavonoid*, sehingga bahan aktif hilang. Hal ini dapat terjadi karena enzim *fenolase*, yang ditemukan pada tumbuhan, membantu memecah senyawa fenolik., sehingga dapat mempengaruhi kadar *flavonoid*. Enzim *fenolase* adalah enzim yang bertanggung jawab untuk proses pencoklatan. Semakin lama proses pengeringan berlangsung, semakin aktif enzim *fenolase* dalam menguraikan senyawa fenolik.

Kekeruhan suspensi bakteri juga dapat mempengaruhi diameter zona penghambatan pertumbuhan bakteri; untuk pertumbuhan yang optimal, inkubasi dilakukan pada suhu 37°C, dan ketebalan media agar-agar juga dapat mempengaruhi diameter zona penghambatan pertumbuhan bakteri. Ketebalan efektif media agar-agar adalah sekitar 4 mm. Jika ketebalan media kurang dari itu, difusi ekstrak akan lebih cepat, tetapi jika lebih dari itu, difusi ekstrak akan lebih lambat. (Zeniusa, 2019). Serta, perlu dilakukan uji lanjutan dengan menggunakan satu cawan yang berbeda pada setiap konsentrasi yang dibuat.