

BAB V

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Gambaran Umum Lokasi Penelitian

1. Gambaran Umum Lokasi Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dalam penelitian ini dilakukan di Kecamatan Ranomeeto, Kabupaten Konawe Selatan. Secara geografis, Ranomeeto adalah sebuah kecamatan dengan luas wilayah 96,57 km² yang berbatasan langsung dengan Kota Kendari. Letak geografis ini penting untuk mempertimbangkan faktor-faktor lingkungan yang mungkin mempengaruhi kualitas sampel yang diambil.

Tanaman bidara (*Ziziphus mauritiana*) dikenal sebagai tanaman yang dapat tumbuh di berbagai kondisi iklim dan jenis tanah, namun biasanya lebih cocok di daerah dengan iklim kering atau semi-kering. Kecamatan Ranomeeto memiliki topografi bergunung dan berbukit, serta dataran rendah yang potensial untuk pertanian. Kondisi ini cukup baik untuk penanaman bidara terutama jika ada area yang memiliki tanah dengan drainase baik dan tidak terlalu tergenang air, sehingga daun bidara banyak ditemukan pada Kecamatan Ranomeeto.

2. Gambaran Umum Lokasi Pengujian Sampel

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Farmasi Universitas Halu Oleo Kendari, yang terletak di Kampus Hijau Bumi Tridharma Anduonohu, Kendari, Sulawesi Tenggara, di Jalan H.E.A Mokodompit. Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Farmasi Universitas Halu Oleo Kendari ini dirancang khusus untuk praktikum dan penelitian yang berhubungan dengan mikroorganisme, termasuk bakteri. Kegiatan yang dapat dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi jurusan Farmasi Universitas Halu Oleo Kendari mencakup uji aktivitas antibakteri, uji jumlah cemaran bakteri, serta analisis bakteri patogen.

B. Hasil Penelitian

Telah dilakukan penelitian mengenai uji daya hambat ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana*) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* pada tanggal 7-30 Juli 2024 di laboratorium mikrobiologi jurusan farmasi Universitas Halu Oleo Kendari, hasil pengujian menggunakan 5 varian konsentrasi dan larutan kontrol diperoleh dari pengukuran diameter zona hambat yang disajikan dalam bentuk tabel, sebagai berikut :

Tabel 3. Hasil Pengukuran Daya Hambat Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana*) Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*.

No	Perlakuan	Waktu Pengamatan	Diameter Zona Hambat (mm)		Rata-Rata (mm)	Interpretasi
			P1	P2		
1.	Konsentrasi 20%	1.× 24.Jam	7,9	8,05	7,98	<i>Resisten</i>
2.	Konsentrasi 40%	1.× 24.Jam	8,2	8,65	8,43	<i>Resisten</i>
3.	Konsentrasi 60%	1.× 24.Jam	8,7	9,2	8,95	<i>Resisten</i>
4.	Konsentrasi 80%	1.× 24.Jam	10,6	9,6	10,35	<i>Resisten</i>
5.	Konsentrasi 100%	1.× 24.Jam	11,95	10,95	11,45	<i>Resisten</i>
6.	Kontrol Positif	1.× 24.Jam	25,3	29,6	27,45	<i>Sensitif</i>
7.	Kontrol Negatif	1.× 24.Jam	-	-	-	Negatif

Sumber : (Data Primer, 2024)

Keterangan :

Resisten : ≤ 18 mm P1: Pengulangan 1

Intermediet : 19 - 22 mm P2: Pengulangan 2

Sensitif : ≥ 23 mm (CLSI, 2021)

Berdasarkan tabel di atas, hasil penelitian uji daya hambat ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana*) terhadap bakteri *Streptococcus mutans* menunjukkan bahwa ekstrak pada kelima konsentrasi (20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%) memiliki respon daya hambat yang *resisten*, setelah dilakukan dua

kali pengulangan (*duplo*). Sebagai pembanding, kontrol positif (+) yang menggunakan antibiotik tetrasiklin menunjukkan respon daya hambat yang sensitif terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Hal ini mengindikasikan bahwa ekstrak daun bidara kurang efektif dibandingkan dengan tetrasiklin dalam menghambat pertumbuhan bakteri tersebut.

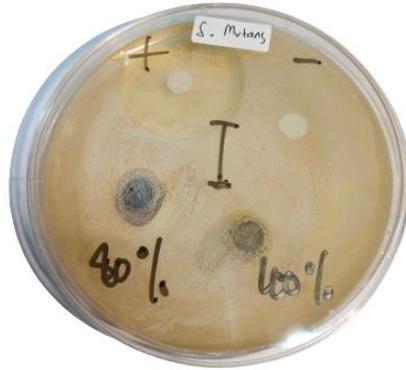
Sehingga semua varian konsentrasi ekstrak daun bidara dikatakan tidak efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Sebaliknya, antibiotik tetrasiklin efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*.

Pengamatan hasil penelitian dilakukan dengan memperhatikan zona bening di sekitar kertas cakram yang menunjukkan adanya daya hambat terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. Zona bening ini mengindikasikan bahwa ekstrak daun bidara memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Hasil pengamatan dapat dilihat pada gambar berikut:

Tabel 4. Hasil Uji Diameter Zona Hambat Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans*.

No	Gambar Zona Hambat	Keterangan	Interpretasi
1.		Zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi 20% sebesar 7,9 mm pada pengulangan pertama (P1)	<i>Resisten</i>
2.		Zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi 40% sebesar 8,2 mm dan konsentrasi 60% sebesar 8,7 mm pada pengulangan pertama (P1)	<i>Resisten</i>

3.



Zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi 80% sebesar 10,6 mm dan konsentrasi 100% sebesar 11,95 mm pada pengulangan pertama (P1)

Resisten

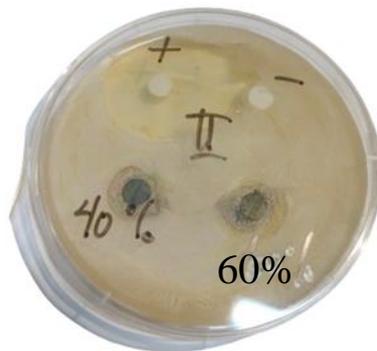
4.



Zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi 20% sebesar 8,05 mm pada pengulangan kedua (P2)

Resisten

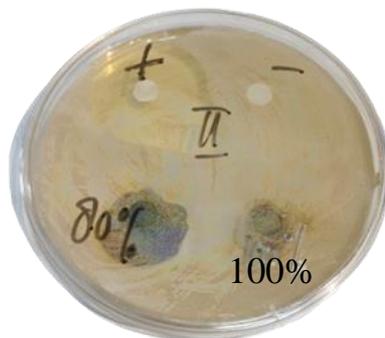
5.



Zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi 40% sebesar 8,65 mm dan konsentrasi 60% sebesar 9,2 mm pada pengulangan kedua (P2)

Resisten

6.



Zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi 80% sebesar 9,6 mm dan konsentrasi 100% sebesar 10,95 mm pada pengulangan kedua (P2)

Resisten

C. Pembahasan

Penelitian mengenai uji daya hambat ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana*) terhadap *Streptococcus mutans* dilakukan melalui beberapa tahap. Dimulai dari pemilihan daun bidara tua yang segar sesuai dengan kriteria yang dibutuhkan, daun dibersihkan dan kemudian dilakukan pembuatan simplisia dengan cara pengeringan menggunakan oven pada suhu 60°C selama 4 jam. Setelah itu, daun dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi simplisia yang halus dan siap untuk dimaserasi dengan etanol 96% selama 3 × 24 jam. Tahap selanjutnya adalah pembuatan media peremajaan bakteri dengan *Nutrient Agar* (NA), penanaman suspensi bakteri, pembuatan kontrol positif, hingga pengujian daya hambat menggunakan metode cakram kertas (*paper disk*) dengan media uji *Mueller-Hinton Agar* (MHA). Ekstrak tersebut diuji dalam 5 variasi konsentrasi yaitu 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Universitas Halu Oleo Kendari.

Uji daya hambat ekstrak daun bidara dilakukan dengan metode maserasi, yaitu teknik ekstraksi yang melibatkan perendaman bahan yang akan diekstraksi dalam pelarut organik selama waktu tertentu. Proses perendaman ini memungkinkan pelarut untuk menembus dinding sel tanaman memasuki rongga sel yang mengandung zat aktif dan melarutkannya. Pada proses maserasi ini, pelarut yang digunakan adalah etanol 96%. Etanol dengan konsentrasi 96% adalah pelarut polar yang sangat efektif dalam mengekstrak bahan lebih banyak dibandingkan dengan etanol yang lebih rendah konsentrasinya. Penggunaan etanol 96% mempermudah proses identifikasi karena ekstrak yang dihasilkan memiliki kekentalan dan kemurnian yang tinggi. Kelebihan lain dari etanol 96% adalah sifatnya yang mudah menguap, harganya yang relatif terjangkau, ketersediaannya yang luas, serta tingkat keamanannya yang cukup baik (Torar dkk, 2015).

Pada metode peremajaan bakteri, digunakan media *Nutrien Agar* (NA) sebagai media untuk peremajaan bakteri uji, yaitu *Streptococcus mutans*.

Nutrien Agar (NA) ini mengandung nutrisi yang 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 metabolik bakteri. Media *Nutrien Agar* (NA) juga 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 *Streptococcus mutans*, yang akan tumbuh dan menyebabkan kekeruhan pada media *Nutrien Agar* (NA) yang diletakkan di cawan petri setelah diinkubasi pada incubator selama 1×24 jam pada suhu 37° C.

Pada metode uji daya hambat ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana*), digunakan media *Mueller-Hinton Agar* (MHA) untuk mengamati ada atau tidaknya zona bening di sekitar kertas cakram yang telah diberi ekstrak daun bidara dengan 5 konsentrasi. Penilaian ini bertujuan untuk menentukan apakah ekstrak daun bidara dapat menghambat pertumbuhan bakteri yang dimaksud. Komposisi media *Muelle-Hinton Agar* (MHA) telah terstandarisasi dan terdefinisi dengan baik, sehingga memberikan hasil yang konsisten. Penggunaan media *Mueller-Hinton Agar* (MHA) untuk uji daya hambat direkomendasikan oleh *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) dan *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST).

Pada variasi konsentrasi ekstrak daun bidara digunakan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%. Dalam penentuan variasi konsentrasi ekstrak daun bidara menggunakan variasi konsentrasi dengan kelipatan 20, variasi konsentrasi terkecil yaitu 20% dan terbesar yaitu 100%. Menggunakan kelipatan yang konsisten, seperti 20 memungkinkan peneliti untuk lebih mudah mendeteksi perubahan eksponensial dalam aktivitas antimikroba dan dapat lebih mudah membandingkan efektifitas ekstrak dengan penelitian sebelumnya secara langsung.

Pengujian daya hambat terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dilakukan menggunakan metode difusi agar, sampel diinkubasi selama 1×24 jam dalam inkubator. Zona hambat diidentifikasi dengan adanya daerah bening di sekitar kertas cakram yang mengindikasikan adanya hambatan terhadap pertumbuhan bakteri. Pengujian dilakukan sebanyak dua kali (*duplo*) untuk memastikan konsistensi hasil. Antibiotik tetrasiklin digunakan sebagai kontrol positif untuk membandingkan efektivitas ekstrak daun bidara, sedangkan aquades digunakan sebagai kontrol negatif.

Tetrasiklin adalah salah satu antibiotik yang diketahui dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*, sesuai dengan pedoman CLSI 2021. Sementara itu, aquades adalah senyawa netral yang tidak memengaruhi pertumbuhan bakteri. Kontrol positif yaitu tetrasiklin digunakan sebagai pembanding untuk mengevaluasi efektivitas larutan uji, yang ditandai dengan adanya zona bening di sekitar kertas cakram jika terdapat daya hambat. Sebaliknya, kontrol negatif yaitu aquades bertujuan untuk memastikan bahwa prosedur yang dilakukan sudah benar, yang ditandai dengan tidak adanya zona bening di sekitar kertas cakram.

Pada penelitian uji daya hambat ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana*), nilai rata-rata yang diperoleh dari percobaan pertama dan kedua sebagaimana tertera dalam tabel 3, menunjukkan hasil pada konsentrasi 20% diameter yang terbentuk adalah 7,98 mm, pada konsentrasi 40% diameter yang terbentuk adalah 8,45 mm, pada konsentrasi 60% diameter yang terbentuk adalah 8,95 mm, pada konsentrasi 80% diameter yang terbentuk adalah 10,35 mm dan pada konsentrasi 100% diameter yang terbentuk adalah 11,45 mm. Hal ini menunjukkan bahwa setiap peningkatan konsentrasi ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana*) mengakibatkan peningkatan nilai rata-rata zona hambat, yang dipengaruhi oleh kadar ekstrak daun bidara tersebut. Adanya hambatan yang terbentuk disebabkan oleh senyawa yang terkandung dalam daun bidara (*Ziziphus mauritiana*), setiap senyawa dapat berfungsi sebagai antibakteri dengan mekanisme yang berbeda-beda. Mekanisme kerja ini dapat berupa

perusakan dinding sel melalui penghambatan pembentukannya atau perlambatan kerja enzim (Kusriani, 2015).

Hasil dari penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Shufyani & Dominica (2022), tentang uji daya hambat Ekstrak daun bidara terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi seluruh konsentrasi ekstrak daun bidara tidak efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*, sebab pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, dan 80% zona hambat yang dihasilkan masuk dikategori *resisten*. Proses pengeringan daun bidara menjadi salah satu faktor yang mempengaruhi hasil uji sebab pada pengujian ini menggunakan pengeringan secara langsung dengan sinar matahari.

Hasil penelitian berbeda yang dilakukan oleh Yulianingsih dkk, (2019) yang menggunakan daun bidara terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil uji zona hambat menunjukkan bahwa daun bidara pada konsentrasi 80% dan 100% efektif dalam menghambat bakteri *Staphylococcus aureus*, zona hambat yang terbentuk dikategorikan sensitif. Sedangkan zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi 20%, 40%, dan 60% tidak efektif dalam menghambat bakteri *Staphylococcus aureus*, sebab konsentrasi 20% dikategorikan *resisten*, konsentrasi 40% dan 60% dikategorikan *intermediet*. Sehingga hasil penelitian yang telah diperoleh tidak sepenuhnya sejalan dengan penelitian terdahulu, karena terdapat beberapa perbedaan. Penelitian sebelumnya menunjukkan hasil dengan kategori zona hambat *intermediet* dan *sensitif*, sedangkan dalam penelitian ini hasil yang diperoleh pada semua varian konsentrasi tergolong resisten.

Dalam penelitian ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana*) ini, tidak terbukti bahwa ekstrak tersebut mampu memberikan daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Hal ini mungkin disebabkan oleh kemampuan bakteri *Streptococcus mutans* yang sudah mengalami mutasi dan tidak terlalu terpengaruh oleh perlakuan ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana*). Dengan demikian, bakteri *Streptococcus mutans* tidak begitu

rentan terhadap ekstrak daun bidara dan masih dapat bertahan hidup setelah terpapar ekstrak tersebut. Meskipun terbentuk zona bening yang signifikan pada setiap konsentrasi yang diberikan, namun tidak mencapai tingkat sensitivitas sesuai dengan pedoman CLSI 2021.

Beberapa faktor dapat memengaruhi diameter zona hambat bakteri, salah satunya adalah suhu inkubasi. Suhu inkubasi yang ideal untuk memperoleh pertumbuhan bakteri yang optimal adalah 37°C (Zenius dkk, 2019). Suhu penyimpanan kultur juga dapat memengaruhi kelayakan media saat digunakan. Selain itu, kontaminasi udara di ruangan dapat menjadi penyebab hasil yang kurang presisi dibandingkan dengan penelitian sebelumnya (Zeniusa dkk, 2019).

Ketebalan media agar adalah faktor penting yang dapat mempengaruhi diameter zona hambat dalam pertumbuhan bakteri. Ketebalan media agar yang paling efektif untuk difusi adalah sekitar 4 mm. Jika ketebalan media agar lebih dari 4 mm, difusi ekstrak menjadi lebih lambat, sedangkan ketebalan kurang dari 4 mm akan mempercepat difusi ekstrak (Zeniuzza dkk, 2019). Dalam penelitian ini, tidak dilakukan pengukuran ketebalan media agar, sehingga ketebalan yang tepat dari media agar yang digunakan tidak diketahui secara pasti.

Proses pengeringan daun bidara juga dapat menjadi faktor signifikan. Pemanasan yang terlalu lama atau suhu yang terlalu tinggi serta bervariasi dapat merusak kandungan senyawa kimia dalam daun. Akibatnya, saat pembuatan ekstrak, kandungan dalam daun tidak lagi stabil dan optimal dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* (Adhamatika dan Murtini, 2021).