

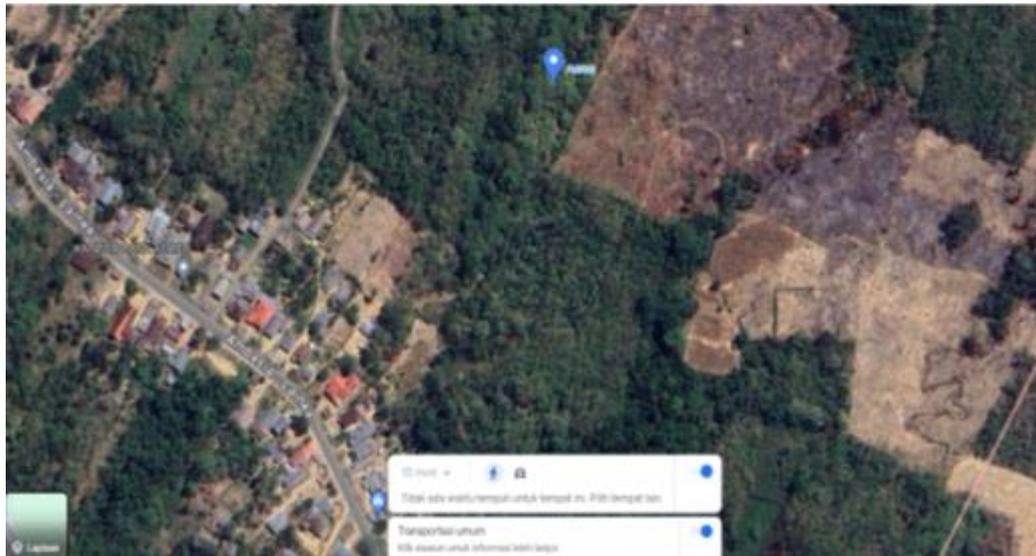
BAB V

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Gambaran Umum Lokasi Penelitian

Pengambilan sampel daun sintrong (*Crassocephalum crepidioides*) dilakukan di Kelurahan Aoreo, Kecamatan Lainea, Kabupaten Konawe Selatan, Sulawesi Tenggara. Penelitian untuk menguji efektivitas ekstrak daun sintrong terhadap bakteri *Pseudomonas* sp. dilaksanakan dengan metode difusi sumuran di Laboratorium Mikrobiologi Politeknik Bina Husada Kendari, pada Jurusan Teknologi Laboratorium Medis. Penelitian ini dimulai pada tanggal 26 juni 2024

PETA LOKASI PENGAMBILAN SAMPEL



Gambar 2.4 Peta Lokasi Pengambilan Sampel.

B. Hasil Penelitian

Hasil penelitian yang menggunakan lima konsentrasi ekstrak daun sintrong (*Crassocephalum crepidioides*) terhadap bakteri *Pseudomonas* sp., dengan dua kali pengulangan, diperoleh zona hambat melalui metode difusi sumuran. Hasil tersebut disajikan dalam tabel berikut:

Tabel 2. Pengukuran Zona Hambat Ekstrak Daun Sintrong (*Crassocephalum crepidioides*) terhadap Bakteri *Pseudomonas sp.*

No	Perlakuan	Waktu Pengamatan	Diameter zona Hambat (mm)		Rata-rata (mm)	Intrepretasi
			P1	P2		
1	Kosentrasi 20%	1 x 24 jam	0	0	0	Negatif
2	Kosentrasi 40%	1 x 24 jam	0	0	0	Negatif
3	Kosentrasi 60%	1 x 24 jam	0,725	0,9	0,81	<i>Resisten</i>
4	Kosentrasi 80%	1 x 24 jam	1,925	1,725	1,82	<i>Resisten</i>
5	Kosentrasi 100%	1 x 24 jam	2,4	3,95	3,17	<i>Resisten</i>
6	Kontrol Positif (<i>Ciprofloxacin</i>)	1 x 24 jam	25,15	28,17	26,66	<i>Sensitif</i>
7	Kontrol Negatif (Aquadest)	1 x 24 jam	0	0	0	Negatif

(Sumber:Data Primer)

Keterangan :

Resisten : $\leq 18 \text{ mm}$

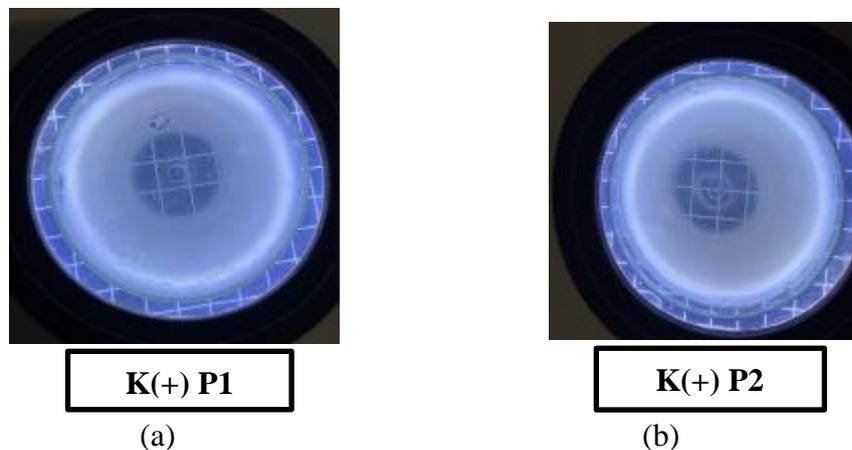
Intermediate : intermediate 19 – 24 mm

Sensitif : $\geq 25 \text{ mm}$.

Berdasarkan tabel di atas, hasil penelitian uji daya hambat ekstrak daun sintrong (*Crassocephalum crepidioides*) dengan dua kali pengulangan menunjukkan bahwa pada konsentrasi 20% dan 40% tidak terdapat zona hambat. Pada konsentrasi 60%, rata-rata zona hambat yang terbentuk adalah sebesar 0,81 mm; pada konsentrasi 80%, rata-rata zona hambat adalah 1,81 mm; dan pada konsentrasi 100%, rata-rata zona hambat mencapai 3,17 mm. Sebagai perbandingan, kontrol positif (+) menggunakan *Ciprofloxacin* menunjukkan zona hambat rata-rata sebesar 26,66 mm, sementara kontrol negatif (-) tidak menunjukkan zona hambat sama sekali. Dengan demikian, berdasarkan hasil tabulasi data, ekstrak daun sintrong dikategorikan sebagai resisten terhadap bakteri *Pseudomonas sp.* pada konsentrasi 60%, 80%, dan 100%.

Pada kontrol positif sebagai pembanding, *Ciprofloxacin* menunjukkan zona hambat, ditandai dengan terbentuknya zona bening pada sumuran. Pada K

(+) P1, zona hambat mencapai 25,15 mm, sedangkan pada K (+) P2 sebesar 28,17 mm, dengan rata-rata 26,66 mm. Hasil ini dapat dilihat pada gambar 4.

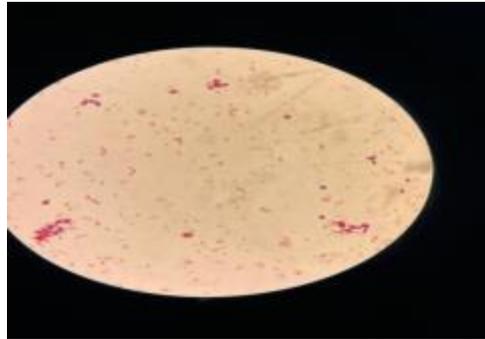


Gambar 2.5 Hasil uji daya hambat control positif (+)*Ciprofloxacin* percobaan pertama (a) dan kedua (b) .

Pada uji daya hambat ekstrak daun sintrong (*Crassocephalum crepidioides*) terhadap bakteri *Pseudomonas sp.*, konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% menunjukkan adanya zona hambat, yang ditandai dengan terbentuknya zona bening pada sumuran. Pada konsentrasi 20% dan 40%, tidak ditemukan zona hambat. Pada konsentrasi 60%, zona hambat terbentuk dengan ukuran 0,725 mm pada P1 dan 0,9 mm pada P2, dengan rata-rata 0,81 mm. Konsentrasi 80% menghasilkan zona hambat sebesar 1,925 mm pada P1 dan 1,725 mm pada P2, dengan rata-rata 1,82 mm. Pada konsentrasi 100%, zona hambat yang terbentuk berukuran 2,4 mm pada P1 dan 3,95 mm pada P2, dengan rata-rata 3,17 mm. Sedangkan pada kontrol negatif *aquadest* tidak terbentuk zona hambat.

Pada pewarnaan gram bakteri *Pseudomonas aeruginosa* hasil identifikasi menunjukkan bakteri tersebut adalah bakteri gram positif berbentuk bacillus berwarna ungu berdiameter 0,5-1,0 mm, susunanya bergerombol seperti rantai, tidak menghasilkan spora dan tidak dapat menfermentasi karbohidrat. *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri yang dapat hidup pada kondisi berbeda dan dapat menyesuaikan diri dengan kondisi oksigen dan suplemen

rendah serta dapat mengisi ruang lingkup suhu 4-42°C (Pang et al., 2019). Hasil identifikasi dapat dilihat pada gambar 6.



Gambar 2.6 Hasil identifikasi pewarnaan gram bakteri *Pseudomonas aureginosa*

C. Pembahasan

Penelitian uji daya hambat ekstrak daun sintrong (*Crassocephalum crepidioides*) terhadap bakteri *Pseudomonas sp.* yang 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 difusi sumuran dengan bahan uji ekstrak daun sintrong (*Crassocephalum crepidioides*) yang di buat menjadi 5 konsentrasi, yaitu konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% yang dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Bina Husada Kendari.

Pengujian daya hambat ekstrak daun sintrong (*Crassocephalum crepidioides*) dilakukan dengan metode ekstraksi maserasi, yaitu proses sederhana yang melibatkan perendaman simplisia dalam campuran pelarut selama periode tertentu pada suhu ruang yang terlindung dari cahaya. Maserasi biasanya berlangsung pada suhu 15-20°C. Simplisia dihaluskan, ditimbang, dan hasil penimbangan dicatat. Sebanyak 500 gram serbuk simplisia kemudian dimaserasi dengan etanol 96% dalam perbandingan 1:5. Proses maserasi berlangsung selama 3x24 jam dengan pengadukan berkala. Larutan hasil maserasi disaring untuk memisahkan filtrat dari residu. Residu kemudian dimaserasi ulang (remaserasi) dengan etanol 96% dalam perbandingan yang

sama selama 1x24 jam. Filtrat dari maserasi dan remaserasi digabungkan dan diuapkan menggunakan rotary evaporator untuk memisahkan ekstrak dari pelarut serta senyawa aktif yang terkandung dalam sampel, menghasilkan ekstrak kental berwarna kehijauan (Wulandari, A., & Mahbub, K. 2024).

Pengujian daya hambat dilakukan dengan metode difusi sumuran yang diinkubasi selama 1 x 24 jam di dalam incubator. pengujian ini dilakukan dengan 2 kali pengulangan dengan menggunakan *Ciprofloxacin* sebagai bahan control positif dan *aquadest* sebagai kontrol negatif. untuk kedalaman sumuran yang digunakan yaitu 4 mm.

Untuk media yang digunakan adalah MHA yaitu dengan cara ditimbang terlebih dahulu sebanyak 9,5 gr kemudian dilarutkan dengan aquadest sebanyak 250 ml, kemudian dipanaskan menggunakan hot plate hingga bening. setelah itu di diamkan dan d sterilisasikan menggunakan autoclave dengan suhu 121 derajat selama 15 menit. kemudian di tuangkan kedalam masing masing cawan petri sebanyak 20 ml dengan ketebalan 4 mm. setelah MHA memadat maka diambil suspense bakteri sebanyak 1 ml dan dituangkan diatas media dan diratakan menggunakan drigalsky. setelah itu di bungkus menggunakan kertas dengan posisi sumuran diatas dan di taruh kedalam incubator selama 1x24 jam dengan suhu 37°C.

Mekanisme kerja ciprofloxacin adalah dengan menghambat aktivitas enzim DNA girase pada bakteri, bersifat bakterisida, dan memiliki spektrum luas yang efektif terhadap bakteri gram negatif maupun positif. Resistensi terhadap golongan fluoroquinolon biasanya muncul akibat satu atau lebih mutasi titik pada daerah ikatan kuinolon pada enzim target, atau karena perubahan permeabilitas organisme. Resistensi terhadap satu fluoroquinolon, terutama pada tingkat resistensi tinggi, umumnya menyebabkan resistensi silang terhadap anggota lain dari golongan obat ini (Yunita, 2021). Sementara itu, aquadest merupakan senyawa netral yang tidak mempengaruhi pertumbuhan bakteri (Khotimah, 2017). Fungsi kontrol positif adalah sebagai pembanding dalam pengujian zona hambat, yang ditandai dengan adanya zona hambat bening di sekitar sumuran sebagai indikator hambatan pada berbagai

konsentrasi perlakuan. Sebaliknya, kontrol negatif berfungsi untuk memastikan bahwa prosedur telah dilakukan dengan benar, yang ditandai dengan tidak adanya zona hambat atau zona bening di sekitar sumuran.

Hasil pengamatan pada Tabel (2) menunjukkan bahwa zona hambat yang terbentuk pada kontrol positif (+) mencapai 26,6 mm. Ini merupakan hasil yang baik jika dibandingkan dengan standar CLSI (Clinical & Laboratory Standards Institute) tahun 2020. Tidak adanya zona hambat pada kontrol negatif (-) mengindikasikan bahwa kontrol negatif tidak mempengaruhi pertumbuhan bakteri **Pseudomonas aeruginosa**. Pengujian konsentrasi (20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%) menunjukkan bahwa konsentrasi tersebut menghasilkan zona hambat yang bervariasi. Pada konsentrasi 20% dan 40%, tidak terbentuk zona hambat, sedangkan pada konsentrasi 60%, rata-rata zona hambat adalah 0,81 mm. Pada konsentrasi 80%, zona hambat meningkat menjadi 1,82 mm, dan pada konsentrasi tertinggi 100%, zona hambat mencapai 3,17 mm.

Zona bening yang terbentuk di sekitar sumuran menunjukkan adanya aktivitas antibakteri, yang dapat menghambat dinding sel bakteri. Proses ini menyebabkan lisis sel akibat kerusakan atau kematian sel, yang disebabkan oleh kerusakan pada dinding sel atau penghambatan pembentukannya. Selain itu, fungsi membran bakteri juga terganggu, di mana kerusakan pada membran menyebabkan keluarnya makromolekul dan ion dari sel, akibat terganggunya integritas membran plasma. Aktivitas antibakteri juga dapat mengganggu sintesis protein bakteri; jika proses sintesis protein terganggu, maka bakteri akan mengalami hambatan dalam memproduksi protein yang diperlukan untuk pertumbuhannya. Selanjutnya, gangguan pada sintesis asam nukleat bakteri akan menghambat metabolisme asam nukleat, yang pada akhirnya dapat mengubah seluruh fase pertumbuhan sel bakteri tersebut.

Faktor sifat bakteri yang memungkinkan organisme mengatasi pertahanan tubuh normal dan menyebabkan penyakit adalah keberadaan pili, yang berfungsi melekat dan merusak membran basalis sel. Polisakarida pada bakteri juga berperan dalam meningkatkan perlekatan pada jaringan, tetapi tidak menghambat fagositosis. Selain itu, bakteri dapat menghasilkan

hemolisin yang memiliki aktivitas fosfolipase, kolagenase, elastase, serta flagel yang berfungsi membantu pergerakan bakteri (Palupi, R. 2016).

Meskipun ketiga konsentrasi tersebut membentuk zona bening di sekitar sumuran, hasilnya tetap menunjukkan sifat resisten atau lemah. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh beberapa faktor penghambat. Perbedaan dalam ukuran zona hambat dipengaruhi oleh berbagai faktor, termasuk sensitivitas organisme, kepadatan bakteri, pH, jenis mikroba, jenis bahan antimikroba yang digunakan, media kultur, serta kecepatan difusi agar. Faktor-faktor yang mempengaruhi kecepatan difusi agar meliputi konsentrasi mikroorganisme, komposisi media, pemberian konsentrasi yang terlalu rendah, serta potensi zat antibakteri, yaitu kemampuan zat tersebut dalam menghambat atau membunuh bakteri (Siregar et al., 2019).

Temperatur inkubasi juga merupakan faktor yang mempengaruhi diameter zona hambat pertumbuhan bakteri. Untuk mendapatkan pertumbuhan yang optimal, inkubasi biasanya dilakukan pada suhu 37°C. Suhu di bawah 37°C dapat menyebabkan diameter zona hambat menjadi lebih besar, yang mungkin terjadi jika lempeng-lempeng kultur (plate) ditumpuk lebih dari dua lapis selama inkubasi. Plate yang berada di tengah mungkin mengalami suhu kurang dari 37°C. Sebaliknya, inkubasi pada suhu lebih tinggi dari 37°C dapat menghambat difusi ekstrak. Dalam penelitian ini, suhu inkubasi yang digunakan adalah 37°C. Selain itu, ketebalan media agar juga mempengaruhi diameter zona hambat. Ketebalan agar yang efektif adalah sekitar 4 mm. Jika agar kurang dari 4 mm, difusi ekstrak akan menjadi lebih cepat, sedangkan jika lebih dari 4 mm, difusi ekstrak akan melambat (Siregar et al., 2019).

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Malik N (2022) dengan judul Analisis Metabolit Sekunder dan Antibakteri Daun Sintrong (*Crassocephalum crepidioides* (Benth) S.Moore) terhadap Bakteri *Escherichia coli** menunjukkan bahwa daun sintrong mengandung flavonoid dan tanin. Uji aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* dengan konsentrasi ekstrak daun sintrong sebesar 5%, 10%, 20%, dan 30% menunjukkan hasil yang kuat dalam menghambat bakteri. Pada konsentrasi 5% hingga 20%, zona hambat masing-

masing sebesar 12,20 mm, 12,67 mm, dan 19,15 mm. Pada konsentrasi 30%, terbentuk zona hambat sebesar 20,85 mm, yang dikategorikan sangat kuat. Perbedaan dalam penelitian saya dibandingkan dengan penelitian sebelumnya terletak pada metode yang digunakan. Penelitian terdahulu menggunakan metode Kirby-Bauer, dan sebelum melakukan uji antibakteri, peneliti tersebut menguji kandungan flavonoid dan tanin terlebih dahulu setelah proses maserasi. Oleh karena itu, hasil yang didapatkan dikategorikan sangat kuat. Berdasarkan referensi penelitian terdahulu oleh Suci et al., daun sintrong memang diketahui memiliki potensi sebagai antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*.

Penelitian terdahulu oleh Suci (2020) dengan judul Formulasi dan Uji Efektivitas Antibakteri Daun Sintrong (*Crassocephalum crepidioides* (Benth) S. Moore) pada *Salmonella typhi* menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak daun sintrong sebesar 30% menghasilkan zona hambat rata-rata 10,82 mm, yang dikategorikan sedang dalam menghambat bakteri *Salmonella typhi*, dengan menggunakan metode skrining fitokimia dan KLT (Kromatografi Lapis Tipis).

Penelitian lain yang menguji aktivitas antibakteri daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth) dan daun sintrong (*Crassocephalum crepidioides* (Benth) S. Moore) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat daun sintrong menghasilkan zona hambat sebesar 14,5 mm terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan 14,0 mm terhadap *Staphylococcus aureus*.

Senyawa metabolik sekunder yang terkandung dalam ekstrak daun sintrong, seperti alkaloid, memiliki sifat toksik yang dapat mempengaruhi mikroba, sehingga dapat menyebabkan kematian bakteri dan virus. Alkaloid juga dapat merusak komponen penyusun peptidoglikan dalam dinding sel bakteri, mengakibatkan lapisan dinding sel tidak terbentuk dengan sempurna dan menyebabkan kematian sel (Suhartini & Dodi, 2017).

Selain itu, tanin dapat menyebabkan pengerutan dinding sel atau membran sel, yang mengganggu permeabilitas sel. Akibatnya, sel tidak dapat

melakukan aktivitas hidup dengan baik, sehingga pertumbuhannya terhambat (Marfu'ah et al., 2019)..

Saponin berfungsi sebagai antibakteri dengan menurunkan tegangan permukaan sel, yang mengakibatkan peningkatan permeabilitas atau kebocoran sel. Hal ini menyebabkan senyawa intraseluler keluar dari sel, sehingga mengganggu fungsi sel bakteri (Marfu'ah et al., 2019).

Flavonoid juga memiliki aktivitas antibakteri dengan merusak permeabilitas dinding sel bakteri, serta mempengaruhi mikrosom dan lisosom. Interaksi antara flavonoid dan DNA bakteri dapat menyebabkan kerusakan, mengganggu fungsi vital sel dan menghambat pertumbuhan bakteri (Marfu'ah et al., 2019).