

BAB 5

HASIL PENELITIAN

5.1 Hasil Uji Identifikasi Fitokimia

Hasil uji identifikasi fitokimia yang dilakukan pada keempat jenis ekstrak menunjukkan hasil yang beragam. Pada ekstrak etanol-lidah buaya dan infusum lidah buaya terdeteksi adanya kandungan zat aktif antibakteri yaitu fenol, tannin, dan antrakuinon, sedangkan hasil uji pada ekstrak lidah buaya dengan pelarut heksan dan etil asetat hanya menunjukkan adanya senyawa antrakuinon. Senyawa aktif lain yang terkandung dalam tanaman lidah buaya dan diduga bersifat antibakteri seperti saponin dan sterol tidak terdeteksi dalam semua sampel (Tabel 5.1).

Tabel 5.1. Hasil Uji Identifikasi Fitokimia Ekstrak Heksan-Lidah Buaya, Ekstrak Etil asetat-Lidah Buaya, Ekstrak Etanol-Lidah Buaya, dan Infusum Lidah Buaya

Jenis Ekstrak / Uji kandungan	Ekstrak Heksan-Lidah Buaya	Ekstrak Etil asetat-Lidah Buaya	Ekstrak Etanol-Lidah Buaya	Infusum Lidah Buaya	Keterangan
Fenol	-	-	+	+	Coklat kehitaman
Tannin	-	-	+	+	Coklat kehitaman
Antrakuinon	+	+	+	+	Merah
Saponin	-	-	-	-	Busa menetap
Sterol	-	-	-	-	Biru-hijau

Berdasarkan hasil uji identifikasi fitokimia terhadap keempat jenis ekstrak tersebut, maka ekstrak yang digunakan dalam penelitian ini untuk diuji efek antibakterinya terhadap *Porphyromonas gingivalis strain* standar ATCC 33277 adalah infusum lidah buaya.

5.2 Konfirmasi *Porphyromonas gingivalis* dengan Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram terhadap *Porphyromonas gingivalis* yang diteliti dengan mikroskop menghasilkan konfirmasi bahwa sampel bakteri yang digunakan adalah bakteri *P. gingivalis*. Hal ini dibuktikan dengan terlihatnya bakteri berbentuk batang pendek dan memiliki bercak hitam sebagai karakteristik khasnya. Warna merah akibat pewarnaan gram menunjukkan bahwa bakteri merupakan bakteri negatif Gram.

5.3 Hasil Uji Antibakteri dengan Metode Dilusi

Tabel 5.2. Hasil Uji Antibakteri Infusum Lidah Buaya terhadap *Porphyromonas gingivalis* strain standar ATCC 33277 melalui Metode Dilusi

Konsentrasi Uji Dilusi	Konsentrasi									K (+)	K (-)
	20%	30%	40%	50%	60%	70%	80%	90%			
I	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	
II	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	

Keterangan : K(+) = kontrol positif
 K(-) = kontrol negatif
 + = larutan keruh, menandakan adanya pertumbuhan bakteri
 - = larutan jernih, menandakan tidak ada pertumbuhan bakteri

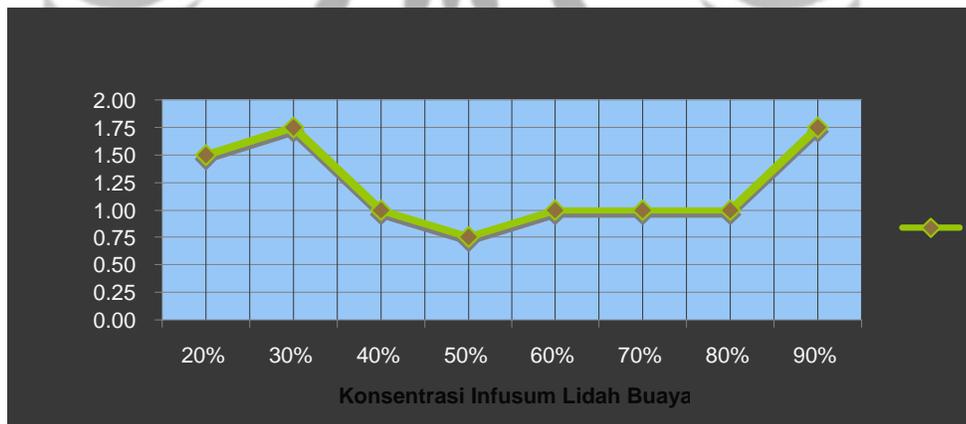
Pada penelitian menggunakan metode dilusi diperoleh hasil positif untuk konsentrasi 20%, 30%, 40%, 50%, dan 60%, yang ditunjukkan dengan adanya kekeruhan larutan. Hal ini menandakan masih adanya pertumbuhan bakteri. Sedangkan pada konsentrasi 70%, 80% dan 90% diperoleh hasil negatif, yang ditunjukkan oleh warna larutan yang tampak jernih. (Tabel 5.2). Untuk memastikan masih ada atau tidak adanya pertumbuhan bakteri pada larutan dengan konsentrasi 70 % – 90 %, maka larutan digoreskan kembali pada media agar. Ternyata setelah pengeraman selama 3 x 24 jam, ditemukan adanya koloni bakteri. Hal ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi 70 % - 90 % masih terdapat pertumbuhan bakteri.

5.4 Hasil Uji Antibakteri dengan Metode Difusi

Hasil pengujian efek antibakteri berbagai konsentrasi infusum lidah buaya terhadap *Porphyromonas gingivalis strain* standar ATCC 33277 dengan metode difusi, melalui pengukuran diameter zona hambatan, memberikan hasil rata-rata sebagai berikut : konsentrasi 20 % menunjukkan zona hambatan sebesar 1,5 mm, konsentrasi 30 % sebesar 1,75 mm, konsentrasi 40 % sebesar 1 mm, konsentrasi 50 % sebesar 0,75 mm, konsentrasi 60 %, 70 %, dan 80 % sebesar 1 mm, dan konsentrasi 90 % sebesar 1,75 mm (Tabel 5.3).

Tabel 5.3 Hasil Pengukuran Diameter Zona hambatan (mm) Infusum Lidah Buaya terhadap *Porphyromonas gingivalis, strain* standar ATCC 33277 dengan pengenceran 500x

Konsentrasi Uji Difusi	20 %	30 %	40 %	50 %	60 %	70 %	80 %	90 %	Penicillin
I	1.5	1.5	1	1	0.5	0.5	1.5	1.5	
II	1.5	2	1	0.5	1.5	1.5	0.5	2	1.5
Rata-rata	1.5	1.75	1	0.75	1	1	1	1.75	



Gambar 5.1 Rata-rata Diameter Zona Hambatan Infusum Lidah Buaya terhadap *Porphyromonas gingivalis*

BAB 6

PEMBAHASAN

Tanaman lidah buaya yang digunakan dalam penelitian ini merupakan spesies *Aloe barbadensis*, Miller yang diperoleh dari hasil budidaya di pabrik Kavera, Laboratorium Parang Topo, Kampus UI Depok. Penelitian ini menggunakan tanaman lidah buaya yang dibudidayakan dengan cara penanaman dan perawatan yang terstandarisasi. Bagian tanaman yang digunakan adalah keseluruhan lidah buaya yang terdiri atas kulit dan daging lidah buaya. Kedua komponen tersebut diketahui mengandung senyawa aktif yang diduga bersifat antibakteri. Dengan demikian, ekstraksi keseluruhan daun lidah buaya diharapkan dapat melarutkan semua kandungan senyawa aktif tersebut di dalam ekstrak.

Pada penelitian ini, digunakan dua metode ekstraksi berbeda untuk mengetahui metode yang paling efektif dalam melarutkan senyawa-senyawa aktif antibakteri yang terkandung dalam lidah buaya, yaitu metode infundasi dan maserasi bertingkat. Pada metode maserasi bertingkat, digunakan beberapa cairan pelarut yang berbeda sifat kepolaritasannya. Hal ini disebabkan karena belum diketahuinya kepolaritasan senyawa-senyawa aktif antibakteri yang terkandung dalam lidah buaya, sehingga digunakan cairan pelarut yang bersifat nonpolar hingga polar. Pelarut heksan yang bersifat nonpolar diharapkan akan melarutkan senyawa aktif yang bersifat non-polar, pelarut etil asetat yang bersifat semipolar diharapkan akan melarutkan senyawa aktif yang bersifat polar dan nonpolar, dan pelarut etanol yang bersifat polar diharapkan akan melarutkan senyawa aktif yang bersifat polar. Pada metode infundasi pelarut menggunakan air. Metode ini sering digunakan untuk mengekstraksi bahan-bahan nabati karena selain peralatannya murah dan mudah ditemukan, juga cara pengerjaannya yang singkat, sederhana dan mudah dilakukan.

Setelah didapat ekstrak, hasil ekstraksi dari metode infundasi dan maserasi lalu diperiksa kandungannya menggunakan uji identifikasi fitokimia untuk memeriksa ada atau tidak adanya kandungan senyawa aktif fenol, tannin,

antrakuinon, saponin dan sterol. Uji identifikasi fitokimia digunakan untuk mengetahui kandungan kimia dalam suatu bahan secara kualitatif. Uji ini menggunakan peralatan yang umum dan sederhana serta hanya memakan waktu yang singkat untuk tiap pengujian.

Dari hasil uji identifikasi fitokimia, diketahui bahwa ekstrak heksan-lidah buaya dan ekstrak etil asetat-lidah buaya hanya mengandung senyawa antrakuinon dari seluruh senyawa aktif antibakteri. Pada ekstrak etanol-lidah buaya terdeteksi adanya senyawa fenol, tanin, antrakuinon dan senyawa terpenoid yang merupakan golongan besar dari senyawa sterol. Sedangkan pada infusum lidah buaya terdeteksi adanya senyawa fenol, tanin dan antrakuinon (Tabel 5.1). Hasil dari pemeriksaan ini menandakan bahwa senyawa antrakuinon dapat dilarutkan di dalam seluruh hasil ekstraksi dengan pelarut polar maupun nonpolar karena sifatnya yang sedikit larut dalam air dan mudah larut dalam lemak, sedangkan fenol dan tannin merupakan senyawa aktif yang bersifat polar, sehingga hanya dapat terlarut dalam pelarut yang bersifat polar. Hasil uji ini juga membuktikan bahwa metode infundasi dan maserasi bertingkat dengan pelarut etanol memiliki kemampuan yang sama dalam menarik kandungan senyawa aktif fenol, tannin, dan antrakuinon dalam lidah buaya, meskipun kadar dari tiap zat belum dapat ditentukan.

Senyawa saponin yang seharusnya terkandung dalam lidah buaya ternyata tidak terdeteksi. Hal ini ditunjukkan dengan tidak terbentuknya busa menetap setelah diberikan pereaksi. Begitu juga pada pemberian pereaksi untuk senyawa sterol yang tidak menunjukkan adanya perubahan warna. Hal ini mungkin disebabkan karena kedua senyawa tersebut telah mengalami reaksi hidrolisis akibat pemanasan selama proses ekstraksi, sehingga kadarnya terlampaui sedikit dan tidak dapat terdeteksi melalui uji identifikasi fitokimia.

Berdasarkan kandungan senyawa aktif antibakteri yang ditemukan pada seluruh jenis ekstrak, maka infusum lidah buaya yang dihasilkan dengan metode infundasi, merupakan jenis ekstrak yang akan diuji antibakteri terhadap *Porphyromonas gingivalis strain* standar ATCC 33277. Ditemukannya senyawa fenol yang telah dikenal sebagai zat antibakteri kuat di dalam infusum, dianggap cukup untuk mewakili sifat antibakteri lidah buaya.

Hasil uji antibakteri dengan metode dilusi yang dapat dilihat pada tabel 5.2, menunjukkan bahwa infusum lidah buaya memiliki nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) pada konsentrasi 70 %, yang merupakan konsentrasi terendah dengan hasil negatif. Sedangkan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) tidak dapat ditentukan karena dari hasil penggoresan pada medium agar masih terdapatnya pertumbuhan bakteri pada seluruh sampel yang diuji. KBM hanya bisa ditentukan jika pada medium agar tidak ada koloni bakteri sama sekali.

Metode difusi berfungsi untuk menunjukkan interaksi antara infusum lidah buaya dengan *Porphyromonas gingivalis* dan memastikan apakah memang benar terdapat aktivitas antibakteri dari infusum yang ditunjukkan melalui zona hambatan yang terbentuk di sekeliling cakram. Berdasarkan hasil uji antibakteri dengan metode difusi yang tercantum pada tabel 5.3, diameter zona hambatan infusum lidah buaya terhadap *Porphyromonas gingivalis* mengalami peningkatan dan penurunan yang tidak konsisten pada seluruh konsentrasi. Zona hambatan paling besar terlihat pada konsentrasi 30% dan 90%, yaitu 1,75 mm. Sedangkan pada konsentrasi 40% sampai dengan 80% memiliki zona hambatan yang lebih rendah, yaitu berkisar antara 0,75 – 1 mm, dengan pola yang tidak teratur. Fenomena ini dapat disebabkan oleh banyaknya faktor yang berpengaruh terhadap besar zona hambatan yang dihasilkan pada metode difusi. Zona hambatan yang dihasilkan bergantung pada beberapa faktor, antara lain kecepatan difusi, ukuran molekul dan stabilitas bahan antibakteri, sifat media agar yang digunakan, jumlah organisme yang diinokulasi, kecepatan tumbuh bakteri, konsentrasi bahan kimia, serta kondisi pada saat inkubasi sehingga diperlukan adanya standarisasi keadaan untuk memperoleh hasil yang dapat dipercaya.⁶¹⁻⁶² Meskipun demikian, masih dapat ditarik kesimpulan bahwa senyawa aktif antibakteri dalam infusum memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *P. gingivalis*, dengan terbentuknya zona hambatan di sekeliling cakram.

Bila hasil uji antibakteri dengan metode dilusi dihubungkan dengan metode difusi, maka aktivitas antibakteri yang ditemukan pada hasil uji dilusi konsentrasi 70 % - 90 %, juga dapat terlihat dengan adanya zona hambatan pada metode difusi, meskipun tergolong relatif kecil. Hal ini membuktikan bahwa infusum

lidah buaya hanya memiliki efek bakteriostatik terhadap *P.gingivalis strain* standar ATCC 33277, dan tidak memiliki efek bakterisid.

Mekanisme yang menyebabkan penghambatan dalam pertumbuhan bakteri diduga disebabkan adanya interaksi senyawa fenol dan turunannya dengan sel bakteri. Senyawa – senyawa ini berikatan dengan protein pada bakteri melalui ikatan non-spesifik membentuk kompleks protein-fenol. Pada konsentrasi rendah, terbentuk kompleks protein-fenol dengan ikatan yang lemah dan segera mengalami peruraian. Fenol kemudian merusak membran sitoplasma dan menyebabkan kebocoran isi sel, sehingga pertumbuhan bakteri pun terhambat. Sedangkan pada konsentrasi tinggi, zat tersebut berkoagulasi dengan protein seluler dan membran sitoplasma mengalami lisis. Senyawa fenol bersifat bakteriostatik atau bakterisid tergantung dari konsentrasinya.^{35,63} Selain itu, berdasarkan penelitian lidah buaya yang sebelumnya pernah dilakukan terhadap bakteri *E.coli*⁶⁴, senyawa antrakuinon dalam lidah buaya dengan aloin sebagai komponen aktif utamanya memiliki efek antibakteri dengan merubah morfologi sel dan merusak struktur luar bakteri. Senyawa ini diketahui membentuk kompleks ireversibel dengan asam amino nukleofilik yang menyebabkan inaktivasi protein dan kehilangan fungsi. Protein sasaran dari senyawa tersebut adalah adhesin yang terdapat pada permukaan sel, polipeptida dinding sel, dan enzim yang terikat pada membran sel.⁶⁴ Senyawa tannin juga diketahui dapat menurunkan proliferasi sel dengan menghalangi enzim utama dalam metabolisme bakteri.⁶⁵

Meskipun senyawa-senyawa aktif antibakteri yang terkandung dalam infusum memiliki potensi untuk membunuh bakteri, namun terdapat beberapa faktor yang diduga mengurangi daya antibakterinya, antara lain adanya interaksi antara senyawa aktif antibakteri dengan kandungan senyawa lain di dalam infusum sehingga mempengaruhi kerja antibakteri dari senyawa – senyawa tersebut dan kadar senyawa aktif dalam infusum yang diduga tidak cukup besar untuk melakukan penetrasi ke dalam dinding sel bakteri dan memberikan efek bakterisid. Besarnya kadar senyawa aktif yang ditemukan dalam infusum mungkin dipengaruhi oleh metode infundasi yang digunakan. Senyawa aktif yang terkandung dalam lidah buaya kemungkinan mengalami lisis dan ikut menguap

bersama pelarut pada saat pemanasan selama ekstraksi, sehingga kadar yang tertinggal dalam infusum terlampau kecil untuk menembus pertahanan sel bakteri. Kandungan air yang masih relatif banyak pada sediaan infusum juga diduga menghambat aktivitas antibakteri dari senyawa-senyawa aktif tersebut.

Aktivitas antibakteri senyawa aktif juga dapat dihambat oleh mekanisme resistensi bakteri negatif Gram terhadap bahan antibakteri. Bakteri negatif Gram memiliki cara untuk melindungi membran selnya dari penetrasi bahan antibakteri, karena bakteri tersebut mempunyai membran luar yang unik, dinding peptidoglikan yang relatif lebih tipis, dan ruang periplasmik di antara dinding sel dan membran. Struktur membran luar ini mengandung Lipopolisakarida (LPS) atau endotoksin, suatu struktur kompleks yang terdiri dari Lipid A, rantai pendek gula dan rantai panjang karbohidrat yang disebut sebagai antigen O. Antigen O dan polisakarida yang terdapat pada membran luar bakteri berperan dalam mencegah penetrasi senyawa hidrofobik, seperti senyawa antrakuinon, ke dalam membran sel, sedangkan penetrasi senyawa hidrofilik, seperti senyawa fenol dan tannin, ke dalam membran sel dicegah oleh sifat lipid yang dimilikinya. Pada membran luar bakteri juga terdapat saluran (*channel*) porin memungkinkan penetrasi senyawa berukuran molekul kecil dan hidrofilik seperti gula, asam amino dan ion-ion tertentu, namun senyawa aktif antibakteri di dalam infusum lidah buaya diduga tidak memiliki kadar yang cukup untuk dapat menembus saluran (*channel*) tersebut. Adanya struktur membran luar yang kompleks ini membatasi akses senyawa aktif antibakteri ke dalam membran sel dan menjadikan bakteri *Porphyromonas gingivalis* lebih resisten terhadap antibakteri.⁶⁵⁻⁶⁷

Dari hasil yang diperoleh pada penelitian ini, tampaknya metode infundasi merupakan metode yang kurang tepat untuk digunakan dalam mengekstraksi lidah buaya karena terbukti kurang efektif menarik kandungan senyawa-senyawa aktif antibakteri dalam kadar yang adekuat untuk memberikan efek antibakteri yang berarti terhadap *Porphyromonas gingivalis*, mengingat nilai KHM baru tampak pada konsentrasi 70 %, sedangkan nilai KBM tidak dapat ditentukan. Oleh karena itu, diperlukan senyawa-senyawa aktif dalam kadar yang jauh lebih besar agar dapat menembus mekanisme pertahanan bakteri. Penggunaan metode maserasi

bertingkat atau metode ekstraksi lain mungkin akan menghasilkan ekstrak lidah buaya dengan kandungan senyawa aktif antibakteri dalam kadar yang lebih besar, sehingga dapat menunjukkan efek antibakteri yang lebih berarti.

