

## BAB 5 HASIL PENELITIAN

### 5.1 Hasil Uji Identifikasi Fitokimia

Hasil uji identifikasi fitokimia yang tersaji pada tabel 5.1 membuktikan bahwa dalam ekstrak maserasi n-heksan dan etil asetat lidah buaya campur terdapat senyawa antrakuinon yang ditunjukkan dengan adanya perubahan warna menjadi warna merah. Pada ekstrak maserasi etanol lidah buaya campur diperoleh bukti adanya senyawa fenol dan tanin dengan terjadinya perubahan warna menjadi kecoklatan serta senyawa antrakuinon dengan tampilan warna merah. Pada infusum lidah buaya campur, ditemukan adanya senyawa fenol dan tanin yang ditunjukkan dengan warna kecoklatan, serta senyawa antrakuinon yang ditunjukkan dengan warna merah, serupa dengan hasil yang ditunjukkan pada ekstrak etanol lidah buaya campur. Senyawa saponin dan sterol tidak terbukti terkandung dalam ekstrak n-heksan, etil asetat dan etanol lidah buaya campur serta infusum lidah buaya campur karena tidak adanya pembentukan busa setelah pengocokkan larutan serta tidak terlihat adanya perubahan warna yang terjadi.

Pada penelitian ini, infusum daging lidah buaya akan digunakan untuk menguji sensitivitasnya terhadap bakteri *Porhyromonas gingivalis* ATCC 33277. Hasil uji infusum daging lidah buaya menunjukkan adanya senyawa fenol dan tanin yang ditunjukkan dengan warna kecoklatan, dan tidak terdapat senyawa sterol dan antrakuinon karena tidak adanya perubahan warna yang terjadi, serta tidak terkandung senyawa saponin karena tidak terlihat pembentukan busa setelah larutan dikocok.

Tabel 5.1 Hasil Uji Identifikasi Fitokimia Pelbagai Ekstrak Lidah Buaya

Teknik		Kandungan	Fenol	Tanin	Sterol	Saponin	Antrakuinon
Maserasi	Ekstrak Heksan	-	-	-	-	-	+
	Ekstrak Etil Asetat	-	-	-	-	-	+
	Ekstrak Etanol	+	+	-	-	-	+
Infundasi	Infusum Campur	+	+	-	-	-	+
	Infusum Daging	+	+	-	-	-	-

Keterangan : Tanda (+) menandakan adanya senyawa tersebut dalam ekstrak

## 5.2 Konfirmasi Bakteri Negatif Gram dengan Pewarnaan Gram

Konfirmasi bakteri *Porphyromonas gingivalis* strain standar ATCC 33277 dilakukan di bawah mikroskop dengan pembesaran 100 x setelah dilakukan pewarnaan Gram. Pada pemeriksaan mikroskopik, ditemukan adanya bakteri batang negatif Gram.

## 5.3 Hasil Uji Antibakteri *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 terhadap Infusum Daging Lidah Buaya dengan Metode Dilusi

Dari hasil penelitian yang ditunjukkan pada tabel 5.2, diperoleh data bahwa infusum daging lidah buaya bernilai positif pada konsentrasi 20% hingga 70%, yang dilihat dari kekeruhan larutan dalam tabung reaksi yang menunjukkan masih terdapatnya pertumbuhan bakteri. Sedangkan, pada konsentrasi 80% hingga 90% menunjukkan nilai negatif dengan tampilan jernih, dan pada konsentrasi 80% dianggap sebagai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM). Setelah itu, dilakukan konfirmasi untuk menentukan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) melalui penggoresan infusum dengan konsentrasi 80% dan 90% pada agar. Bila hasil pada konsentrasi tersebut positif yang berarti masih terdapatnya pertumbuhan bakteri, maka Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) tidak dapat ditentukan.

Tabel 5.2 Hasil Uji Antibakteri *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 terhadap Infusum Daging Lidah Buaya dengan Metode Dilusi

Uji Dilusi	Konsentrasi (%/ml)								Kontrol	Kontrol
	20	30	40	50	60	70	80	90	(+)	(-)
<b>I</b>	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-
<b>II</b>	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-

Keterangan : + = keruh (ada pertumbuhan bakteri)  
- = jernih (tidak ada pertumbuhan bakteri)

Kontrol positif yaitu *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 yang diinokulasi dalam media cair BHI tanpa diberi infusum, digambarkan sebagai tampilan keruh, pertanda adanya pertumbuhan bakteri dalam media tersebut. Sedangkan, kontrol negatif yang merupakan infusum daging lidah buaya dalam media cair BHI digambarkan sebagai tampilan jernih, menandakan tidak adanya pertumbuhan bakteri di dalam infusum.

#### 5.4 Hasil Uji Antibakteri *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 dengan Pengenceran 500 x terhadap Infusum Daging Lidah Buaya melalui Metode Difusi

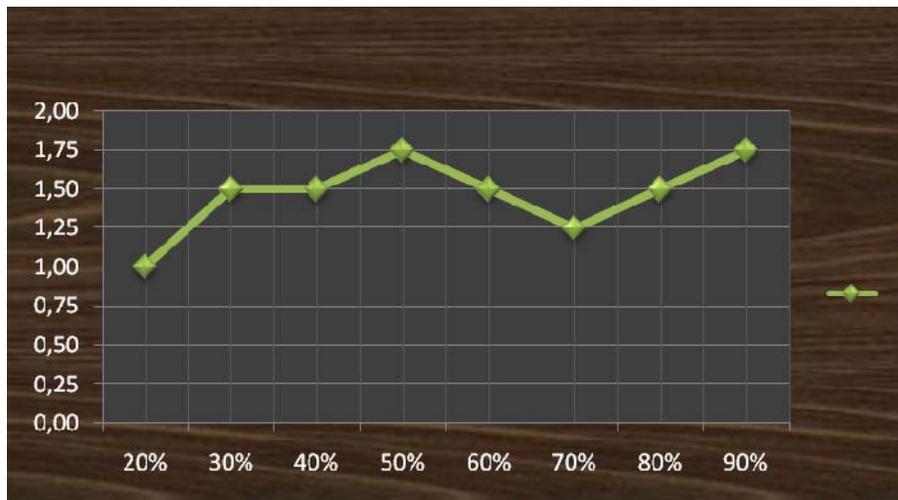
Pengukuran diameter zona hambat *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 terhadap berbagai konsentrasi infusum lidah buaya memberikan hasil yang bervariasi yang ditunjukkan pada tabel 5.3.

Tabel 5.3 Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 terhadap Infusum Daging Lidah Buaya

Diameter Zona Hambatan (mm)									
Konsentrasi (%/ml)	20	30	40	50	60	70	80	90	Penicillin
<b>Uji Difusi</b>									
<b>I</b>	0.5	1	1.5	1.5	1.5	1	1.5	1.5	
<b>II</b>	1.5	2	1.5	2	1.5	1.5	1.5	2	1.5
<b>Rata-rata</b>	1	1.5	1.5	1.75	1.5	1.25	1.5	1.75	

Keterangan : Penicillin digunakan untuk membandingkan kemampuan antibiotik tersebut dalam membunuh *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277

Universitas Indonesia



Gambar 5.1 Rerata Diameter Zona Hambat Infusum Daging Lidah Buaya terhadap *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277.  
Keterangan : Sumbu X menunjukkan konsentrasi infusum daging lidah buaya; sumbu y menunjukkan besarnya rata-rata diameter zona hambatan (dalam mm)

Grafik menunjukkan adanya sedikit peningkatan diameter zona hambat dari konsentrasi 20% ke 50%, namun setelah itu terjadi penurunan dari konsentrasi 50% ke 70% meskipun penurunan ini tidak mencapai titik terendah yang ditempati konsentrasi 20% yaitu sebesar 1 mm. Hasil pada grafik kembali menunjukkan peningkatan saat berada di posisi 70% dan terus meningkat hingga konsentrasi 90%, dengan angka hambatan yang sama dengan konsentrasi 50% yaitu pada diameter 1,75 mm yang merupakan titik tertinggi nilai zona hambat.

## **BAB 6**

### **PEMBAHASAN**

Keberhasilan pada penelitian ini bergantung pada kualitas tanaman lidah buaya yang digunakan. Lidah buaya yang digunakan merupakan spesies *Aloe barbadensis Miller* yang diambil dari area percocokan tanam PT. Kavera UI Depok, Jawa Barat yang telah distandarisasi, baik pada cara penanaman, kandungan tanah sebagai sumber nutrisi, maupun pengolahan dan pemanenan, sehingga tanaman yang diambil telah memiliki sifat yang homogen. Varian ini dipilih karena merupakan varian terbaik yang bermanfaat di bidang medis, yang mengandung 75 zat aktif yang dibutuhkan oleh manusia.<sup>11</sup>

Selain kualitas lidah buaya yang digunakan, pemilihan metode yang tepat untuk mengekstraksi senyawa aktif dari lidah buaya, seperti antrakuinon, tanin, fenol, saponin, dan sterol yang diduga sebagai senyawa antibakteri aktif, juga berperan penting. Penelitian ini didahului dengan ekstraksi lidah buaya menggunakan metode maserasi bertingkat. Teknik maserasi dipilih karena cara ini sederhana dan tidak memerlukan energi untuk pemanasan. Maserasi bertingkat dimulai dengan menggunakan pelarut non polar yaitu n-heksan, semi polar yaitu etil asetat dan pelarut polar yaitu etanol. Penggunaan berbagai pelarut dengan polaritas yang meningkat dimaksudkan untuk mengetahui pelarut dengan kepolaritasan mana yang paling efektif untuk menarik senyawa aktif yang terkandung dalam lidah buaya. Pelarut n-heksan, etil asetat, dan etanol digunakan karena bahan ini merupakan pelarut yang relatif aman, paling murah dan sering digunakan dibandingkan dengan pelarut lain menurut kelompok kepolaritasannya.<sup>59,64</sup>

Peneliti ingin mengetahui senyawa antibakteri spesifik yang terkandung dalam ekstrak, oleh karena itu, dipilih metode uji identifikasi fitokimia yang dapat mengidentifikasi secara kualitatif golongan senyawa antibakteri aktif pada lidah buaya yang telah diekstraksi.<sup>65</sup> Metode ini dipilih karena membutuhkan peralatan yang sederhana dan umum terdapat di semua laboratorium, membutuhkan biaya yang sedikit, dan waktu yang singkat. Pada hasil uji identifikasi fitokimia, meskipun kadar dari setiap senyawa yang diidentifikasi tidak dapat dipastikan,

namun jenis senyawa yang terkandung dalam ekstrak dapat ditentukan. Diperoleh data yang tersaji pada tabel 5.1, bahwa pelarut yang paling efektif untuk menarik senyawa aktif antibakteri ialah pelarut etanol. Pelarut ini dapat menarik senyawa fenol dan tanin yang cenderung mudah larut dalam air, serta antrakuinon dalam lidah buaya. Sedangkan pada ekstrak heksan dan etil asetat yang bersifat kurang polar hanya mampu menarik senyawa antrakuinon. Karakteristik senyawa antrakuinon yang lebih mudah larut dalam lemak dan sedikit larut dalam air mengakibatkan senyawa ini dapat terkandung pada pelarut polar dan non polar. Hasil uji identifikasi fitokimia tersebut membuktikan bahwa senyawa aktif yang terkandung dalam lidah buaya banyak berikatan dengan senyawa polar, sehingga lebih efektif ditarik oleh pelarut polar. Selain itu, tidak adanya senyawa saponin dan sterol dalam hasil ekstrak dapat disebabkan oleh pemanasan yang terlalu tinggi pada proses ekstraksi, yang dapat menyebabkan degradasi pada senyawa kimia aktif yang terkandung di dalam ekstrak lidah buaya.<sup>39,66</sup>

Meskipun metode maserasi merupakan metode yang cukup mudah dan sederhana dilakukan, metode ini juga memiliki kekurangan, yaitu waktu pengerjaan yang relatif lama, membutuhkan biaya secara keseluruhan yang tidak sedikit serta hasil ekstraksi dengan kuantitas sedikit, sehingga membutuhkan bahan baku berjumlah besar untuk dapat menghasilkan kuantitas ekstrak yang adekuat untuk dilakukan pengujian antibakteri baik dengan metode dilusi maupun difusi. Oleh karena itu, peneliti mencoba mencari metode ekstraksi lain yang lebih mudah dan sederhana, singkat pengerjaannya, murah, membutuhkan peralatan sederhana dan dapat diterapkan di seluruh lapisan masyarakat serta tetap dapat diandalkan untuk mengekstraksi senyawa aktif yang terdapat dalam lidah buaya. Berdasarkan alasan tersebut, maka metode infundasi dipilih.<sup>59</sup>

Dilakukan uji identifikasi fitokimia pada infusum lidah buaya seperti yang dilakukan pada hasil ekstraksi maserasi lidah buaya, hal ini digunakan sebagai pertimbangan apakah teknik infundasi ini cukup efektif untuk menarik senyawa aktif antibakteri dalam lidah buaya. Diperoleh data bahwa dalam infusum lidah buaya terkandung senyawa antibakteri aktif yang sama dengan hasil ekstrak maserasi dengan pelarut etanol, yaitu senyawa antrakuinon, fenol dan tanin. Hal

ini menunjukkan bahwa ekstraksi dengan metode infundasi sama efektifnya dengan metode maserasi. Oleh karena itu, peneliti selanjutnya menggunakan metode infundasi untuk menarik senyawa aktif antibakteri pada daging lidah buaya.

Daging lidah buaya dengan produksi gelnya mendominasi struktur tubuh tanaman dan memiliki berbagai kegunaan bagi kehidupan manusia baik dalam bidang kesehatan ataupun kosmetik, namun demikian penelitian mengenai efek antibakteri daging lidah buaya masih terbatas. Oleh karena itu peneliti tertarik untuk meneliti potensi antibakterinya terhadap bakteri penyebab penyakit dalam mulut, yaitu *Porphyromonas gingivalis*, yang jika terbukti benar akan menambah daftar kegunaan daging lidah buaya tersebut.<sup>18</sup>

Uji identifikasi fitokimia dilakukan terlebih dahulu untuk memeriksa apakah semua senyawa antibakteri aktif yang sebelumnya terbukti terkandung dalam infusum lidah buaya campur, juga terdapat dalam infusum daging lidah buaya. Diperoleh data bahwa ternyata di dalam infusum daging lidah buaya hanya terkandung senyawa fenol dan tanin. Meskipun kandungan senyawa aktif dalam infusum daging lidah buaya tidak selengkap dalam infusum campur, namun tetap terbukti bahwa infusum daging lidah buaya yang didominasi oleh struktur hidrofil memiliki khasiat antibakteri karena kandungan fenol dan taninnya. Senyawa antrakuinon tidak terdapat pada daging lidah buaya karena berdasarkan literatur senyawa tersebut hanya terdapat pada getah yang melekat pada kulit lidah buaya. Pemisahan kulit dan daging yang sempurna membuat tidak adanya kontaminasi senyawa antrakuinon pada daging lidah buaya ini. Pada hasil uji juga tidak ditemukan adanya senyawa saponin dan sterol yang menurut literatur terkandung dalam daging lidah buaya. Hal ini dapat disebabkan oleh sifat gel lidah buaya yang ketika terpajan di udara, bahan aktifnya dapat teroksidasi dengan mudah sehingga mengalami dekomposisi dan kehilangan aktivitas biologisnya. Dekomposisi ini dapat terjadi karena adanya reaksi enzimatik alami. Selain itu, perubahan kandungan senyawa aktif dalam gel daging lidah buaya dapat terjadi karena pemanasan yang terlalu tinggi dengan waktu yang lama pada metode ekstraksi yang dilakukan.<sup>67,68</sup>

*Porphyromonas gingivalis* merupakan salah satu bakteri dominan penyebab penyakit periodontal di dalam rongga mulut.<sup>2</sup> *Porphyromonas gingivalis* yang digunakan pada penelitian ini merupakan jenis *standar strain* ATCC 33277.

Belum terdapat penelitian sebelumnya mengenai uji daya antibakteri *Aloe vera* terhadap *Porphyromonas gingivalis* yang dapat dijadikan acuan. Pada penelitian ini pengujian sensitivitas bakteri dimulai dengan metode dilusi. Metode ini tepat dilakukan jika pengujian hanya ditujukan pada satu jenis organisme, teknik ini membutuhkan waktu singkat dan lebih ekonomis.<sup>69</sup> Diperoleh hasil yang tercantum pada tabel 5.2, bahwa pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 mulai terhambat pada konsentrasi 80% yang dianggap sebagai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) karena ini merupakan konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277. KHM ini diidentifikasi secara visual dengan tampilan jernih yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditentukan dengan melihat konsentrasi terendah infusum yang dapat menghentikan pertumbuhan bakteri pada plat agar yang sudah digoreskan infusum dengan konsentrasi 80% dan 90%.<sup>70</sup> Hasil menunjukkan bahwa masih terdapat pertumbuhan bakteri pada plat agar setelah tiga hari pengeraman, yang menandakan infusum daging lidah buaya tidak dapat membunuh *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277, sehingga tidak dapat ditentukan nilai KBM nya.

Untuk memastikan apakah memang terdapat efek hambat infusum pada *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277, maka dilakukan penelitian selanjutnya dengan metode difusi. Hasil penelitian yang tercantum pada tabel 5.3 menunjukkan bahwa infusum daging lidah buaya memberikan angka diameter hambatan terhadap *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 yang berbeda untuk masing-masing konsentrasi yang dapat diilustrasikan pada gambar 5.1. Dari grafik dapat ditarik kesimpulan bahwa peningkatan diameter zona hambat bakteri tidak menunjukkan suatu pola yang konsisten, dengan angka diameter zona hambat tertinggi sebesar 1,75 mm, yang dicapai oleh konsentrasi infusum lidah buaya 50% dan 90%. Variasi ukuran zona hambat tersebut dapat bergantung pada

beberapa faktor diantaranya media yang digunakan, kondisi inkubasi (waktu, suhu, dan atmosfer), pH, penyebaran infusum pada media, derajat kerentanan bakteri terhadap infusum yang diberikan, jumlah bakteri yang diinokulasi pada plat agar, dan tingkat pertumbuhannya. Hasil zona hambat pada berbagai konsentrasi infusum yang relatif kecil dan menunjukkan peningkatan hambatan yang kurang berarti kemungkinan besar disebabkan oleh kadar senyawa aktif dalam daging lidah buaya yang kurang adekuat untuk menghentikan pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277. Namun demikian, adanya zona hambat yang terbentuk pada plat agar menunjukkan bahwa infusum masih mampu mengganggu pertumbuhan bakteri tersebut.<sup>68,69,71</sup>

Penelitian menunjukkan bahwa infusum daging lidah buaya hanya bersifat bakteristatik, dengan menghambat metabolisme atau sintesis komponen seluler namun tidak dapat menghancurkan sel. Infusum ini tidak bersifat bakterisidal yang dapat menyebabkan kematian sel dengan mengganggu sintesis atau fungsi dinding sel, membran sel, atau keduanya.<sup>27</sup>

Selain mekanisme antibakteri yang dilancarkan oleh infusum, bakteri juga memiliki mekanisme pertahanan untuk menahan serangan zat antibakteri tersebut. Menurut Neu et al (1996), terdapat empat mekanisme biokimia dasar dari bakteri untuk menahan efek membunuh dari antibakteri, diantaranya: 1) Mengubah molekul reseptor target zat antibakteri pada bakteri, 2) Menurunkan aksesibilitas zat antibakteri ke target dengan mengubah gerbang masuk zat antibakteri ke dalam sel atau dengan meningkatkan pembuangan zat antibakteri dari sel, 3) Destruksi atau inaktivasi zat antibakteri, dan 4) Sintesis jalur metabolik baru yang tidak dapat dihambat oleh zat antibakteri.<sup>72</sup>

Dinding sel atau lapisan murein *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 sebagai bakteri negatif Gram lebih kompleks dibandingkan dengan bakteri positif Gram karena memiliki membran ganda yang meliputinya. Meskipun semua bakteri memiliki membran dalam, bakteri negatif Gram memiliki membran luar yang unik yang mencegah zat antibakteri untuk berpenetrasi ke dalam sel, sehingga bakteri negatif Gram disebut lebih resisten terhadap zat antibakteri dibanding positif Gram.<sup>73</sup> Membran luar bakteri negatif Gram terdiri dari

lipopolisakarida (LPS), suatu endotoksin yang tersusun berlapis-lapis (terdiri dari inti dan polisakarida rantai-O serta Lipid A) serta lipoprotein murein. Membran ini menutupi lapisan peptidoglikan yang tipis dan sangat sedikit bila dibandingkan dengan bakteri positif Gram (hanya 5-20%). Rantai polisakarida ini dimiliki oleh semua bakteri yang bersifat patogen dan menyebabkan bakteri lebih resisten terhadap fagositosis dan mampu menghalangi zat antibakteri untuk menginvasi sel.<sup>35,65,74,75,76</sup>

Selain itu, membran luar dari dinding sel bakteri negatif Gram juga memiliki *porin*, yaitu struktur seperti pori-pori untuk molekul dengan tipe spesifik, yang bersifat impermeabel terhadap molekul-molekul besar, namun dapat dilalui oleh molekul kecil seperti nukleosida, oligosakarida, dan asam amino.<sup>35,75</sup> Karakteristik dinding sel yang kompleks tersebut dapat menunjang *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 untuk melakukan perlawanan terhadap infusum yang diaplikasikan padanya dengan menurunkan aksesibilitas zat antibakteri ke dalam sel.

Metode infundasi menggunakan air sebagai pelarut yang bersifat polar sehingga senyawa yang tersari relatif bersifat polar. Kepolaran senyawa ini, yaitu fenol dan tanin, mempersulit akses untuk menembus dinding sel bakteri negatif Gram yang lipofilik, kurang permeabel, dan memiliki *porin* yang selektif, sehingga senyawa fenol dan tanin tersebut kurang mampu berpenetrasi ke dalam sel, yang mengakibatkan aksi antibakteri yang dilancarkan kurang optimal. Meskipun demikian, adanya hambatan pada pertumbuhan bakteri menandakan bahwa senyawa antibakteri tersebut masih memiliki pengaruh pada pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis*, meskipun dengan kadar yang kurang adekuat. Senyawa tanin menghambat pertumbuhan bakteri dengan menurunkan proliferasi sel bakteri dengan menghalangi enzim utama pada metabolisme bakteri, sedangkan fenol pada konsentrasi rendah dapat merusak membran sitoplasma bakteri dan menyebabkan kebocoran isi sel. Khasiat antibakteri gel daging lidah buaya sebelumnya telah dibuktikan oleh penelitian yang dilakukan oleh Agarry (2005), gel daging lidah buaya yang diteliti memiliki potensi antibakteri yang berarti melawan bakteri *Staphylococcus aureus*.<sup>7,40,65,77</sup>

Kadar senyawa aktif dalam lidah buaya yang rendah sehingga kurang efektif untuk menjalankan aksi antibakterinya mungkin juga dipengaruhi oleh kandungan air yang relatif tinggi pada hasil metode infundasi. Hal ini didukung oleh penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Coopoosamy dan Magwa (2007) yang mengekstraksi tumbuhan yang memiliki genus yang sama dengan lidah buaya, yaitu *Aloe excelsa*. Hasil uji antibakteri menunjukkan bahwa, ekstrak *Aloe excelsa* dengan pelarut air tidak memberikan efek hambat sama sekali pada bakteri positif ataupun negatif Gram tertentu.<sup>67</sup>

Kekayaan nutrisi dan kandungan zat aktif lain dalam infusum daging lidah buaya, seperti asam amino; mineral seperti Ca, Mg, K, Na, Fe, Zn dan Cr; vitamin seperti vitamin A, B1, B2, B3, B12, C, E, *choline*, inositol dan asam folat; enzim seperti karboksipeptidase; protein, polisakarida seperti glukomannan dan acemannan, dapat berinteraksi dengan senyawa aktif antibakteri yang telah disebutkan sebelumnya, dan mungkin mempengaruhi efektivitas antibakteri dalam menghambat pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*.<sup>4,8,18</sup>

Penelitian ini menyimpulkan bahwa infusum daging lidah buaya yang digunakan memiliki efek antibakteri dengan bersifat bakteriostatik namun kurang efektif untuk membunuh bakteri, hal ini disebabkan kadar senyawa aktifnya yang kurang adekuat untuk menghasilkan hambatan yang berarti pada pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277. Kadar senyawa aktif ini mungkin dapat ditingkatkan dengan mengekstraksi daging lidah buaya dengan metode lain yang lebih efektif untuk menarik senyawa aktif yang terkandung di dalam lidah buaya, dengan demikian dapat memberikan khasiat antibakteri yang lebih berarti.