

## BAB IV

### HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

#### A. Hasil Penelitian

Hasil penelitian yang meliputi penentuan kadar hambat minimal dan kadar bunuh minimal ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas*) terhadap *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dan *Escherichia coli* secara *in vitro*, diperoleh hasil sebagai berikut.

Kadar Hambat Minimal (KHM) ditentukan dengan cara melihat dan mengamati tabung subkultur yang paling akhir terlihat jernih atau tidak menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri pada konsentrasi tabung subkultur tersebut. Apabila tabung subkultur terlihat keruh, maka pada tabung tersebut terjadi pertumbuhan bakteri.

Kadar Bunuh Minimal (KBM) diperoleh dengan cara melihat dan mengamati tidak adanya pertumbuhan bakteri yang terlihat pada media TSA dengan konsentrasi terendah.

Nilai KHM dan KBM pada penelitian ini diperoleh dengan melakukan pengulangan sebanyak 3 kali untuk tiap masing-masing jenis bakteri untuk

Tabel 1. Nilai KHM dan KBM ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas*) terhadap *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)

No.	Konsentrasi Ekstrak Jarak Pagar (dalam %)	
	KHM	KBM
1.	3,125	6,25
2.	1,5625	3,125
3.	3,125	6,25
Rata-rata	2,604	5,208

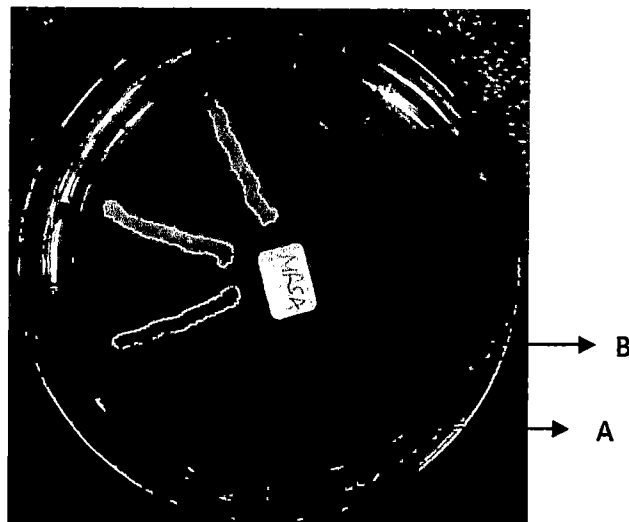
Berdasarkan tabel 1 diatas, dapat diketahui bahwa ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas*) memiliki rerata KHM 2,604% dan rerata KBM 5,208% terhadap pertumbuhan bakteri MRSA. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak tanaman daun jarak pagar (*Jatropha curcas*) memiliki potensi antibakteri terhadap *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).

Tabel 2. Nilai KHM dan KBM ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas*) terhadap Bakteri *Escherichia coli*

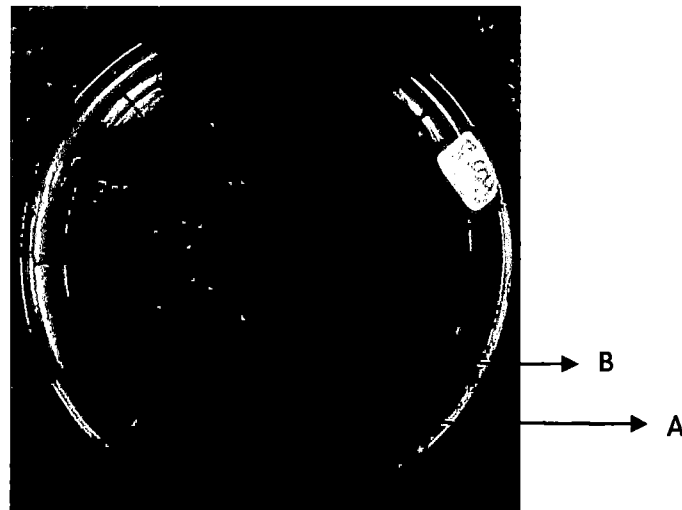
No.	Konsentrasi Ekstrak Jarak Pagar (dalam %)	
	KHM	KBM
1.	6,25	12,5
2.	6,25	12,5
3.	12,5	25
Rata-rata	8,333	16,666

Berdasarkan tabel 2 diatas, dapat diketahui bahwa ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas*) memiliki rerata KHM 8,333% dan rerata KBM 16,666%

ekstrak daun tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas*) memiliki potensi antibakteri terhadap *Escherichia coli*.



Gambar 4: Penentuan KBM ekstrak daun jarak pagar terhadap bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) secara In vitro (A) KBM terdapat pada konsentrasi 5,208% dan (B) KHM terdapat pada konsentrasi 2,604%.



Gambar 5: Penentuan KBM ekstrak daun jarak pagar terhadap bakteri *Escherichia coli* secara in vitro (A) KBM terdapat pada konsentrasi

## B. Pembahasan

Pengukuran suatu bahan untuk mengetahui ada tidaknya aktivitas antibakteri dilakukan secara invitro dengan menggunakan metode dilusi (pengenceran). Metode ini dapat menentukan besarnya Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM). Semakin besar nilai KHM dan KBM maka akan semakin kecil potensi antibakteri dari bahan tersebut. Tetapi semakin kecil nilai KHM dan KBM dari suatu bahan tersebut, maka potensi antibakterinya akan semakin besar.

Berdasarkan hasil penelitian ini, didapatkan bahwa ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas*) memiliki potensi antibakteri terhadap *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dan *Escherichia coli*. Hal ini terlihat dengan adanya rerata nilai Kadar Hambat Minimal (KHM) sebesar 8,333% dan Kadar Bunuh Minimal (KBM) sebesar 16,666% untuk bakteri *Escherichia coli*. Sedangkan untuk bakteri *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) didapatkan rerata nilai Kadar Hambat Minimal (KHM) sebesar 2,604% dan Kadar Bunuh Minimal (KBM) sebesar 5,208%. Hasil ini sesuai dengan hipotesis yang telah dibuat, bahwa ekstrak daun tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas*) memiliki potensi antibakteri, sama halnya pada batang dan akar yang telah diteliti oleh Igbinsosa et al (2009) dan Aiyelagbe, et al (2007).

Penelitian yang dilakukan oleh Igbinsosa et al (2009) tidak hanya meneliti tentang potensi antimikroba dari batang tanaman jarak pagar saja, tetapi penelitian ini juga dilakukan identifikasi untuk mengetahui ada tidaknya kandungan saponin,

pagar dengan uji coba menggunakan metode *phytochemical screening*, dan pada uji coba ini, kandungan-kandungan tersebut dapat ditemukan di batang tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas*).

Penelitian dan uji coba kandungan tanaman jarak pagar dengan metode *phytochemical screening* juga dilakukan oleh Aiyelagbe et al (2007) yang meneliti potensi antimikroba dan kandungan pada akar tanaman jarak pagar. Hasil dari penelitian ini menunjukkan, bahwa kandungan saponin dan tanin dapat ditemukan pada ekstrak akar tanaman jarak pagar dengan menggunakan pelarut ethanol dan methanol.

Sama halnya pada batang dan akar, daun tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas*) juga memiliki kandungan saponin, flavonoid, dan tanin. Kandungan pada daun tanaman jarak pagar ini telah diteliti oleh Suharti et al (2008). Penelitian ini menunjukkan bahwa daun jarak pagar kaya akan senyawa saponin dan tanin, sedangkan senyawa flavonoid ditemukan sedikit pada daun jarak pagar.

Salah satu senyawa aktif yang terdapat pada daun tanaman jarak pagar adalah Tanin. Tanin merupakan salah satu jenis senyawa yang termasuk ke dalam golongan polifenol. Senyawa tanin ini banyak di jumpai pada tumbuhan. Tanin disebut juga asam tanat dan asam galotanat. Senyawa ini dapat bereaksi dengan ion dan membentuk warna gelap yang banyak digunakan untuk membuat tinta. Tanin digunakan untuk menyamakkan kulit hewan karena sifatnya yang dapat mengikat protein. Selain itu, tanin juga dapat mengikat alkaloid dan glatin.

Tanin secara umum didefinisikan sebagai senyawa polifenol yang memiliki

dengan protein. Berdasarkan strukturnya, tanin dibedakan menjadi dua kelas yaitu tanin terkondensasi (*condensed tanins*) dan tanin-terhidrolisiskan (*hydrolysable tanins*) (Hagerman et al, 1992; Harbone, 1996).

Selain tanin, tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas*) juga mengandung senyawa aktif saponin. Saponin merupakan jenis glikosida yang banyak ditemukan pada tumbuhan. Saponin memiliki karakteristik seperti buih, sehingga ketika direaksikan dengan air dan dikocok akan terbentuk buih yang bertahan lama. Saponin mempunyai rasa yang pahit menusuk dan menyebabkan bersin serta iritasi pada selaput mukosa. Saponin ini adalah senyawa sejenis racun yang dapat menghancurkan butir darah atau hemolisis pada darah. Juga bersifat sebagai racun pada berbagai hewan berdarah dingin dan banyak digunakan sebagai racun ikan. Saponin yang bersifat keras atau racun ini biasa disebut *Sapotoksin* (Singh, 2002).

Saponin dapat diklasifikasikan menjadi 2 jenis, yaitu : saponin steroid dan saponin triterpenoid. Saponin steroid tersusun atas inti steroid (C 27) dengan molekul karbohidrat. Steroid saponin dihidrolisis menghasilkan suatu aglikon yang dikenal sebagai saraponin. Tipe saponin ini memiliki efek anti jamur. Pada binatang menunjukkan penghambatan aktifitas otot polos. Saponin steroid diekskresikan setelah konjugasi dengan asam glukoronida dan digunakan sebagai bahan baku pada proses biosintesis dari obat kortikosteroid.

Contoh senyawa saponin steroid diantaranya adalah : *Asparagosides* (*Asparagus officinalis*), *Avenocosides* (*Avena sativa*), *Diosgenin* (*Dioscorea*

inti triterpenoid dengan molekul karbohidrat. Dihidrolisis menghasilkan suatu aglikon yang disebut saponin. Ini merupakan suatu senyawa yang mudah dikristalkan lewat asetilasi sehingga dapat dimurnikan. Tipe saponin ini adalah turunan *amyirine*. Contoh senyawa triterpen steroid adalah : *Asiaticoside* (*Centella asiatica*), *Bacoside* (*Bacopa monneira*), *Cyclamin* (*Cyclamen persicum*) (Singh, 2002).

Saponin memiliki berbagai kegiatan biologis. Toksisitas saponin untuk serangga (aktivitas insektisida), cacing parasit (aktivitas anthelmintik), moluska (molluscicidal), dan ikan (aktivitas piscidal), dan aktivitas saponins sebagai : antijamur, antivirus, dan antibakteri didokumentasikan dengan baik. (Killeen et al, 1998).

Senyawa lainnya yang terkandung dalam tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas*) adalah flavonoid. Flavonoid adalah kelompok senyawa fenol terbesar yang dapat ditemukan di alam. Senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu, biru dan sebagai zat warna kuning pada tumbuhan. Flavonoid merupakan metabolit sekunder yang dapat ditemukan pada tanaman hijau, kecuali alga. Senyawa ini merupakan salah satu dari sekian banyak senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh suatu tanaman, yang bisa dijumpai pada bagian daun, akar, kayu, kulit, tepung sari, bunga dan biji (Markham, 1988).

Secara kimia, flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang tersusun dari 15 atom karbon, dimana dua cincin benzen ( $C_6$ ) terikat pada suatu rantai

dengan 3 atom karbon). Susunan ini dapat menghasilkan tiga jenis struktur senyawa flavonoid, yaitu :

1. Flavonoida atau 1,3-diarilpropana
2. Isoflavonoid atau 1,2- diarilpropana
3. Neoflavonoida atau 1,1-diarilpropana

Senyawa flavonoid telah terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus sp*, *Propionobacterium sp* dan *Corynebacterium*. Di dalam flavonoid mengandung suatu senyawa yang disebut fenol. Fenol merupakan suatu alkohol yang bersifat asam sehingga disebut juga asam karbolat (Purnomo, 2001).

Bakteri yang diujikan dalam penelitian ini salah satunya adalah MRSA. MRSA merupakan bakteri *Staphylococcus aureus* yang tahan terhadap *Methicillin*. *Staphylococcus aureus* ini merupakan bakteri Gram positif, tidak membentuk spora, tak bergerak dan dapat tumbuh pada berbagai media pada suasana aerob. *Staphylococcus aureus* dapat memfermentasikan beberapa karbohidrat dan dapat menghasilkan pigmen yang berwarna, tidak dapat larut air (Jawetz et al., 2001).

Struktur antigen dari *Staphylococcus aureus* ini mengandung polisakarida dan protein yang bersifat antigen, substansi ini merupakan struktur yang penting bagi dinding sel. Dinding sel bakteri ini terdiri dari dua penyusun, yakni kompleks asam teikoat-peptidoglikan dan Antigen protein dinding sel. Peptidoglikan merupakan suatu polimer polisakarida yang mengandung subunit-subunit yang terangkai, peptidoglikan ini merupakan eksoskeleton kaku pada dinding sel.



merupakan polimer gliserol atau ribitol fosfat, yang berikatan dengan peptidoglikan dan bersifat antigenik. Protein A merupakan komponen dinding sel yang menjadi reagen penting dalam imunologi dan teknologi laboratorium. Bakteri ini juga memiliki bagian membran sitoplasma dan sitoplasma yang berada pada bagian dalam dari dinding sel (Jawetz et al, 2001).

Aktivitas senyawa tanin, saponin, dan flavonoid ditunjukkan dengan cara ketiga zat ini mempunyai efek terhadap dinding sel yang terdapat pada bakteri. Tanin memiliki efek mengkerutkan membran atau dinding sel, akibatnya akan mengganggu permeabilitas sel sehingga sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup yang menyebabkan terhambatnya pertumbuhan sel bahkan akan berdampak pada kematian sel (Ajizah, 2004). Saponin juga memiliki efek membranolisis terhadap sel yakni dapat mengubah tegangan permukaan media ekstraseluler (Killen et al, 1998). Sedangkan flavonoid memiliki mekanisme antibakteri yang juga mengganggu aktivitas membran atau dinding sel, yaitu flavonoid membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu integritas membran atau dinding sel bakteri (Dwidjoseputro, 1994).

Efek dari senyawa aktif tanin, saponin dan flavonoid yang terkandung pada daun tanaman jarak pagar memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Aktivitas dari masing-masing senyawa ini memiliki efek terhadap dinding sel bakteri khususnya pada komponen peptidoglikan bakteri. Peptidoglikan ini bertugas untuk mempertahankan bentuk pada sel, menjaga integritas atau keutuhan sel. Selain itu peptidoglikan juga

yang terdapat pada bakteri gram positif ini dirusak oleh berbagai mediator kimia atau senyawa aktif, maka keutuhan dinding sel pada bakteri akan rusak akibatnya bentuk sel akan rusak dan berdampak terganggunya aktivitas sel sehingga menyebabkan lisisnya sel bakteri.

Bakteri lain yang diujikan dalam penelitian ini adalah *Escherichia coli*. *Escherichia coli* merupakan golongan bakteri gram negatif berbentuk seperti batang, bersifat anaerob fluktuatif yang mudah dikultur. Bakteri ini membentuk koloni bulat, cembung serta lembut. *Escherichia coli* merupakan flora normal yang terdapat dalam usus. Bakteri ini biasanya tidak menyebabkan penyakit, dan di dalam usus dapat memberikan fungsi normal serta memberikan nutrisi. Tetapi, ketika potensi pertahanan normal pada inang tidak sempurna maka akan menyebabkan infeksi klinis. Kebanyakan tempat yang sering mengalami infeksi klinis adalah saluran air kemih, system empedu dan tempat lain dalam rongga perut (Brooks, 2005).

Ada tiga macam struktur antigen yang penting dalam klasifikasi *Escherichia coli* yaitu, antigen O (Somatik), antigen K (Kapsel) dan antigen H (Flagella). Determinan antigen (tempat aktif suatu antigen) O terletak pada bagian liposakarida, bersifat tahan panas dan dalam pengelompokannya diberi nomor 1,2,3 dan seterusnya. Antigen K merupakan polisakarida atau protein, bersifat tidak tahan panas dan berinterferensi dengan aglutinasi O, sedangkan antigen H mengandung protein, terdapat pada flagella yang bersifat termolabil. Pada saat ini telah diketahui ada 173 grup serotipe antigen O, 74 jenis antigen K dan 53 jenis antigen H (Jawetz et al 2001).

Sama halnya dengan bakteri gram positif, bakteri gram negatif juga memiliki dinding sel yang tersusun dari peptidoglikan. Peptidoglikan terdiri dari protein dan polisakarida. Perbedaan yang terdapat pada dinding sel bakteri gram negatif dan bakteri gram positif adalah bakteri gram negatif memiliki peptidoglikan yang lebih tipis dibandingkan dengan bakteri gram positif, akan tetapi bakteri gram negatif memiliki karakter membran ganda (membran luar dan membran dalam), sedangkan bakteri gram positif hanya memiliki struktur membran tunggal. Peptidoglikan pada bakteri gram negatif terdapat diantara membran luar dan dalam. Pada membran dalam tersusun oleh fosfolipid. Sedangkan pada membran luar, terdapat komponen penyusun yang disebut sebagai lipopolisakarida. Lipopolisakarida ini berfungsi sebagai komponen pada membran yang berfungsi sebagai endotoksin bakteri atau sebagai antigen pada sel inang, lipopolisakarida ini juga berfungsi melindungi membran terluarnya dari sistem imun inang.

Aktivitas antibakteri yang terdapat pada ketiga senyawa aktif (tanin, saponin, dan flavonoid) selain berefek pada dinding sel bakteri MRSA, ketiga senyawa aktif ini juga memiliki dampak yang sama terhadap bakteri *Escherichia coli*. Flavonoid mengandung senyawa yang disebut fenol. Fenol merupakan suatu alkohol yang bersifat asam, sehingga disebut juga asam karbolat. Fenol yang terdapat dalam flavonoid dapat mengganggu pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Kondisi ini disebabkan oleh karena fenol merupakan senyawa yang berkondisi asam, kondisi asam oleh adanya fenol ini dapat mengganggu

membran bakteri terganggu, dan menyebabkan lisis pada bakteri (Jawetz et al 1996)

Tanin, saponin, dan flavonoid selain mempunyai efek merusak dinding atau membran sel bakteri, ketiga senyawa aktif ini juga dapat mempengaruhi materi genetik dari bakteri. Tanin memiliki efek sebagai destruksi atau inaktivasi fungsi materi genetik, dan saponin memiliki efek sebagai penghambat pembentukan DNA pada sel bakteri. Selain efek ketiga zat tersebut terhadap membran sel dan materi genetik, ketiga zat tersebut juga memiliki efek lain, misalnya senyawa *astringent* tanin dapat menginduksi pembentukan kompleks senyawa ikatan terhadap enzim atau substrat mikroba dan pembentukan suatu kompleks ikatan tanin terhadap ion logam yang dapat menambah potensi toksisitas tanin itu sendiri, senyawa saponin dapat menghambat pembentukan protein, dan flavonoid dapat melepaskan energi transduksi terhadap membran sitoplasma bakteri, menghambat motilitas bakteri, dan gugus hidroksil yang terdapat pada struktur senyawa flavonoid dapat menyebabkan perubahan komponen organik dan transport nutrisi yang akhirnya akan mengakibatkan timbulnya efek toksik terhadap bakteri.

Berdasarkan mekanisme yang telah diuraikan tentang aktivitas antibakteri oleh senyawa flavonoid, tanin, dan saponin, maka telah dijelaskan bahwa tidak hanya pada bagian akar dan batang, ternyata daun tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas*) juga memiliki potensi dalam menghambat pertumbuhan dan membunuh bakteri patogen, terutama *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)

sebagai tanaman yang berpotensi sebagai antibakteri memiliki beberapa keuntungan dibandingkan penggunaan pada batang atau akar tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas*). Beberapa keuntungan tersebut diantaranya, sediaan bahan daun memiliki jumlah yang lebih besar dan cara pengambilan bahan tersebut relative lebih mudah serta tidak perlu merusak sebagian besar tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas*) dibandingkan sediaan bahan batang dan akar, selain itu pertumbuhan daun terjadi lebih cepat dibandingkan bagian tanaman lain, sehingga