

BAB IV

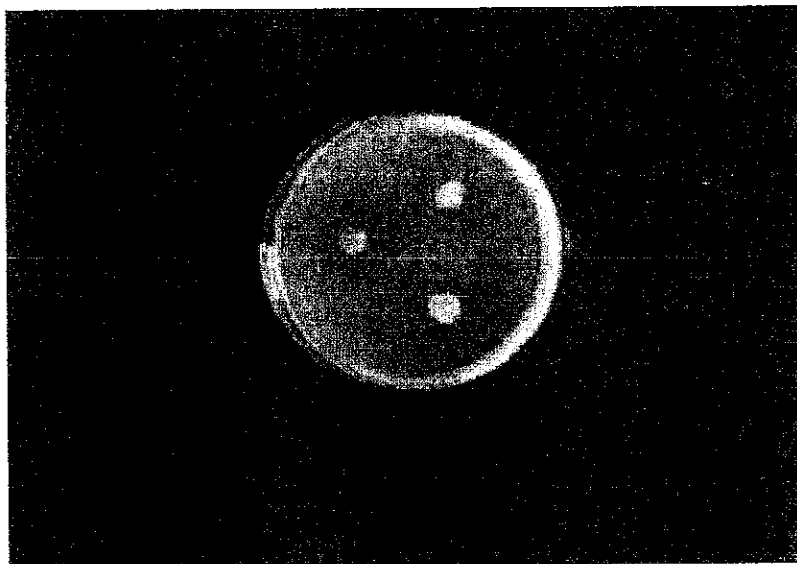
HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini dilakukan uji fraksi ekstrak kulit kayu pulai gading (*Alstonia scholaris*, R. Brown.) dengan tiga macam fraksi (fraksi n-heksan, fraksi kloroform dan fraksi etanol) dan tiga macam konsentrasi fraksi ekstrak (5%, 10% dan 20% b/v) terhadap bakteri uji *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dalam masa inkubasi 24 jam secara *in vitro*.

Ekstraksi dilakukan dengan alat soklet yang mampu mengekstraksi secara sinambung dengan volume pelarut yang tidak terlalu besar. Soklet dapat mengekstrak zat aktif lebih banyak yang terdapat pada serbuk simplisia tanpa perlu menambah volume pelarut karena serbuk disari oleh cairan penyari yang murni. Proses ekstraksi dihentikan jika pelarut dalam tabung soklet tidak berwarna atau telah jernih. Fraksi ekstrak yang diperoleh kemudian dipisahkan dengan pelarutnya dan diuji aktifitasnya terhadap bakteri uji.

A. Uji *in vitro* terhadap *Escherichia coli*

Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua fraksi ekstrak kulit kayu pulai gading tidak berpengaruh terhadap bakteri uji *E. coli*, yang ditunjukkan dengan tidak terbentuknya zona hambatan di sekitar kertas cakram. Hal ini kemungkinan disebabkan bakteri *E. coli* tidak peka terhadap senyawa bioaktif yang terdapat di dalam kulit kayu pulai gading.



Gambar 02. Hasil uji fraksi ekstrak kloroform konsentrasi 20 % terhadap *E. coli* setelah inkubasi 24 jam

E. coli merupakan bakteri gram negatif dengan struktur dinding sel yang berlapis-lapis dan kompleks. Dinding sel mengandung tiga polimer yang terletak di luar lapisan peptidoglikan, yaitu lipoprotein, membran luar, dan lipopolisakarida. Kompleksitas dinding sel bakteri gram negatif tersebut dapat menimbulkan rintangan yang besar untuk ditembus oleh suatu bahan antibakteri sehingga menyebabkan *E. coli* lebih resisten terhadap suatu bahan antibakteri (Jawetz, dkk, 1996).

Sifat suatu zat antibakteri dapat berbeda satu dengan yang lainnya. Perbedaan sifat ini menyebabkan antibakteri dibagi menjadi dua kelompok yaitu berspektrum sempit (hanya aktif pada gram positif atau sebaliknya) dan berspektrum luas (aktif pada gram positif dan gram negatif). Faktor yang

menentukan sifat resistensi atau sensitivitas bakteri terhadap antibakteri merupakan faktor genetik (Setiabudy dan Gan, 1998).

Pada penelitian ini yang diuji adalah fraksi ekstrak total yang masing-masing terdiri dari senyawa dengan kepolaran yang berbeda. Penelitian Wima (2002) menyebutkan bahwa hasil uji difusi ekstrak alkaloid dan saponin tidak diperoleh hambatan pertumbuhan dari ekstrak kulit kayu pulai gading terhadap *E. coli*. Hal tersebut menunjukkan bahwa senyawa bioaktif berupa alkaloid, saponin dan senyawa lain yang terdapat di dalam kulit kayu pulai gading tidak bersifat antibakteri terhadap *E. coli*.

B. Uji *in vitro* terhadap *Staphylococcus aureus*

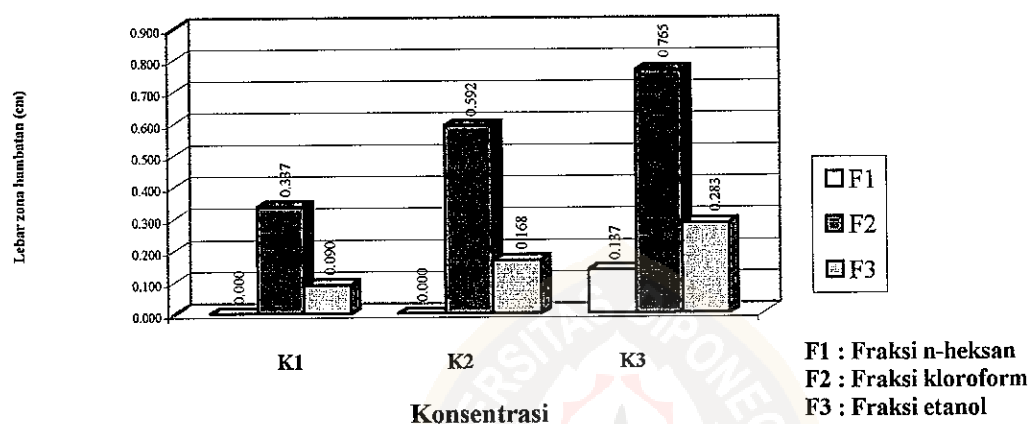
Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kulit kayu pulai gading berpengaruh terhadap bakteri *S. aureus*. Rata-rata lebar zona hambat dari setiap perlakuan dari fraksi ekstrak kulit kayu pulai terhadap *S. aureus* dapat dilihat pada Tabel 01.

Tabel 01. Rerata lebar zona hambat pada *S. aureus* (cm)

	K ₁	K ₂	K ₃
F ₁	0,000 ^h	0,000 ^h	0,137 ^{def}
F ₂	0,337 ^{bc}	0,592 ^{ab}	0,765 ^a
F ₃	0,090 ^{efg}	0,168 ^{cde}	0,283 ^{cd}

Keterangan : F₁ = Fraksi ekstrak n-heksan K₁ = Konsentrasi fraksi ekstrak 5 %
 F₂ = Fraksi ekstrak kloroform K₂ = Konsentrasi fraksi ekstrak 10 %
 F₃ = Fraksi ekstrak etanol K₃ = Konsentrasi fraksi ekstrak 20 %
 Angka-angka yang diikuti oleh huruf kecil yang sama berarti berbeda tidak nyata (5%)

Diagram batang rerata lebar zona hambat pada *S. aureus* oleh fraksi ekstrak kulit kayu pulai gading pada berbagai konsentrasi terlihat pada Gambar 03.



Gambar 03. Diagram batang lebar zona hambat pada *S. aureus* oleh fraksi ekstrak kulit kayu pulai gading pada berbagai konsentrasi.

Berdasarkan analisis sidik ragam data transformasi lebar zona hambat pada *S. aureus* terdapat perbedaan nyata pada pengaruh fraksi dan konsentrasi ($F_{hitung} >$ dari $F_{tabel; \alpha=0,01}$), demikian juga pada interaksi faktor fraksi dan konsentrasi terdapat perbedaan nyata ($F_{hitung} >$ dari $F_{tabel; \alpha=0,05}$). (Tabel 10 pada Lampiran 03).

Hasil uji Beda Nyata Jujur pada pengaruh perlakuan fraksi ekstrak dapat dilihat pada Tabel 02, sedangkan terhadap pengaruh perlakuan konsentrasi fraksi ekstrak dapat dilihat pada Tabel 03.

Tabel 02. Hasil Uji Beda Nyata Jujur pengaruh perlakuan fraksi ekstrak kulit kayu pulai gading terhadap pertumbuhan *S. aureus* pada taraf uji 5%.

Perlakuan	Rata-rata lebar zona hambat (cm)
F ₂	0,452 ^a
F ₃	0,180 ^b
F ₁	0,046 ^c

Keterangan : F₁ : Fraksi ekstrak n-heksan
 F₂ : Fraksi ekstrak kloroform
 F₃ : Fraksi ekstrak etanol
 Angka-angka yang diikuti huruf kecil yang berbeda menunjukkan beda nyata.

Tabel 03. Hasil Uji Beda Nyata Jujur pengaruh perlakuan konsentrasi fraksi ekstrak kulit kayu pulai gading terhadap pertumbuhan *S. aureus* pada taraf uji 5%.

Perlakuan	Rata-rata lebar zona hambat (cm)
K ₃	0,395 ^a
K ₂	0,235 ^b
K ₁	0,142 ^c

Keterangan : K₁ : Konsentrasi fraksi ekstrak 5 %
 K₂ : Konsentrasi fraksi ekstrak 10 %
 K₃ : Konsentrasi fraksi ekstrak 20 %
 Angka-angka yang diikuti huruf kecil yang berbeda menunjukkan beda nyata

Tabel 02 menunjukkan perbandingan pengaruh jenis fraksi ekstrak berbeda nyata. Perbedaan yang nyata dari fraksi ekstrak n-heksan, kloroform dan etanol disebabkan oleh perbedaan jenis senyawa bioaktif yang terlarut pada masing-masing fraksi ekstrak (Harborne, 1987).

Soetarno (1994) mengemukakan tiap fraksi ekstrak mengandung senyawa kimia segolongan atau yang mempunyai struktur inti yang sama, hal ini disebabkan oleh pelarut akan melarutkan senyawa bioaktif sesuai dengan

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa fraksi ekstrak kloroform paling besar pengaruhnya terhadap bakteri *S. aureus*, dibandingkan fraksi etanol dan n-heksan. Hal ini berarti senyawa bioaktif dalam fraksi ekstrak kloroform mempunyai daya antibakteri yang lebih tinggi dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus* dibanding fraksi ekstrak etanol dan n-heksan.

Menurut Harborne (1987), fraksi ekstrak kloroform didominasi oleh senyawa golongan terpenoid, fenol, dan kebanyakan alkaloid, walaupun demikian ada kemungkinan senyawa jenis lain ikut terlarut. Mekanisme penghambatan pertumbuhan bakteri oleh fraksi ekstrak ini belum diketahui secara pasti karena masih berupa fraksi kasar, belum murni dan belum diketahui dengan jelas rumus molekul dari senyawa yang diduga mempunyai aktifitas penghambatan.

Felter dan Llyod (2001) mengemukakan adanya kandungan alkaloid (echitamin, vitamin dan echitein) pada kulit kayu pulai gading menyebabkan tumbuhan ini dipercayai masyarakat mempunyai khasiat sebagai zat antibakteri. Namun menurut penelitian Wima (2002) ekstrak alkaloid pada kulit kayu pulai gading ternyata tidak memberikan hambatan terhadap pertumbuhan terhadap *S. aureus*. Hal ini berarti senyawa bioaktif yang terdapat di dalam fraksi ekstrak yang diujikan sebagai antibakteri terhadap *S. aureus* dalam penelitian ini, bukan dari golongan alkaloid namun berasal dari golongan lain yang perlu diteliti lebih lanjut.

S. aureus merupakan bakteri gram positif dengan struktur dinding sel yang relatif sederhana, mempunyai asam teikoat yg larut dalam air dan peptidoglikan

yang tebal (Assani, 1994; Jawetz *dkk*, 1996). Senyawa bioaktif yang bersifat hidrofilik mampu berdifusi melewati dinding sel menuju ke membran sel. Bioaktif yang berikatan dengan molekul protein dan lipid akan mempengaruhi fungsi fisiologi protein membran dan protein enzim sehingga integritas fungsi membran dan reaksi biokimia dapat terganggu sehingga dapat menimbulkan kematian sel (Pelczar dan Chan, 1988).

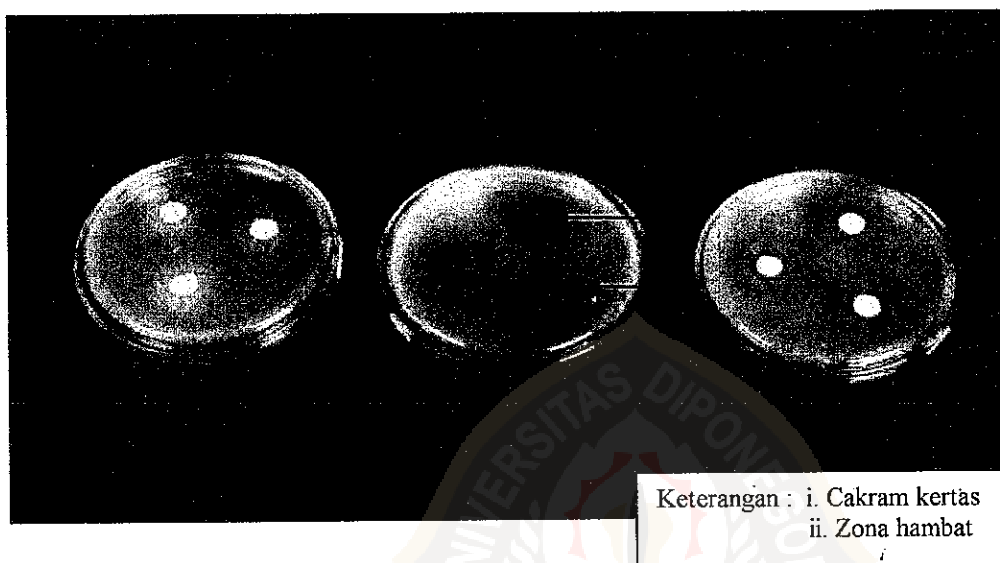
Pada perbandingan pengaruh konsentrasi fraksi ekstrak, terlihat bahwa perlakuan konsentrasi 20% berbeda nyata terhadap perlakuan konsentrasi 10% dan 5% (Tabel 03). Perbedaan yang nyata tersebut disebabkan oleh perbedaan jumlah kandungan senyawa bioaktif dari masing-masing konsentrasi. Konsentrasi 20% memberikan pengaruh terbesar dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus*, yang diikuti berturut-turut oleh konsentrasi 10% dan 5%.

Hasil analisis interaksi antara perlakuan konsentrasi dan jenis fraksi ekstrak, menunjukkan bahwa perlakuan F_2K_3 berbeda tidak nyata terhadap perlakuan F_2K_2 pada $\alpha = 0,05$, namun berbeda nyata dengan kombinasi perlakuan yang lain. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa perlakuan yang optimum dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus* adalah perlakuan F_2K_3 .

Pada perlakuan F_1K_1 dan F_1K_2 tidak terjadi penghambatan pertumbuhan *S. aureus*, hal ini kemungkinan disebabkan oleh jumlah kandungan senyawa bioaktif pada konsentrasi ini masih belum mampu memberi efek fisiologis terhadap *S. aureus* apabila diberikan pada konsentrasi yang rendah.

Perlakuan kontrol berupa aquadest dan tween-80 ternyata tidak memberikan hambatan terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus*, hal ini menegaskan bahwa zona hambatan yang terbentuk dalam pengujian fraksi ekstrak

kulit kayu pulai gading bukan diakibatkan oleh pelarut yang digunakan sebagai pengencer ekstrak, akan tetapi disebabkan oleh senyawa-senyawa yang dikandung dalam ekstrak kulit kayu pulai gading.



Gambar 04. Lebar zona hambat fraksi ekstrak kulit kayu pulai gading terhadap pertumbuhan *S. aureus* pada konsentrasi 20% (b/v) setelah inkubasi 24 jam. a. Fraksi ekstrak n-heksan; b. Fraksi ekstrak khloroform; c. Fraksi ekstrak etanol