

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

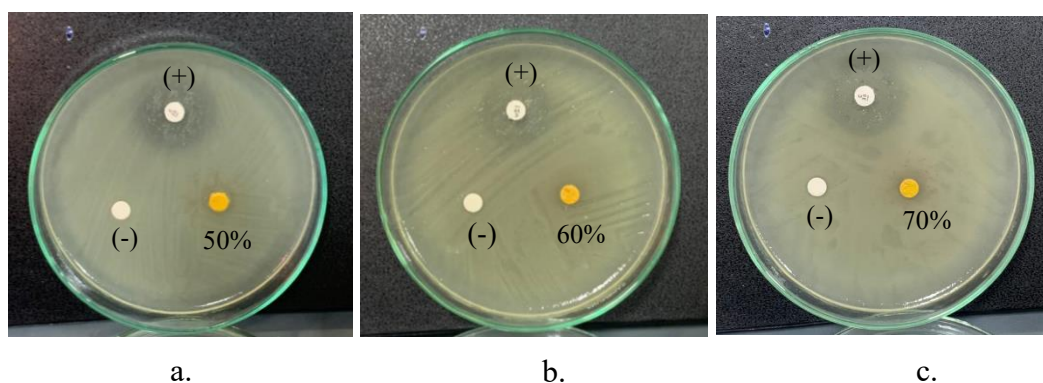
Sensitivitas ekstrak kulit manggis (*Garcinia mangostana* L.) terhadap pertumbuhan dari bakteri *Escherichia coli* diuji menggunakan metode difusi cakram disk (*Kirby-bauer*) di media MHA (*Mueller Hinton Agar*) dengan pemberian kontrol negatif (K-) yaitu DMSO, kontrol positif (K+) yaitu antibiotik kloramfenikol 30 μ g dan variasi konsentrasi yang digunakan yaitu P1 50%, P2 60% dan P3 70%. Zona bening yang terbentuk di sekitar cakram disk diamati untuk mendapatkan hasil pengujian, diukur dengan jangka sorong dan hasil tersaji pada tabel 4.1

Tabel 4.1 Hasil pengukuran zona hambat bakteri *Escherichia coli* terhadap masing- masing kelompok perlakuan

Pengulangan	Konsentrasi Kulit manggis	Hasil konsentrasi Kulit manggis	K+	K-
1	50%	6 mm	7,92 mm	6 mm
	60%	6 mm	8,29 mm	6 mm
	70%	6 mm	11,21 mm	6 mm
2	50%	6 mm	8,41 mm	6 mm
	60%	6 mm	12,07 mm	6 mm
	70%	6,96 mm	9,06 mm	6 mm
3	50%	6 mm	9,58 mm	6 mm
	60%	6 mm	8,99 mm	6 mm
	70%	6 mm	8,42 mm	6 mm
4	50%	6 mm	8,49 mm	6 mm

	60%	6,71 mm	7,85 mm	6 mm
	70%	6,48 mm	7,25 mm	6 mm
5	50%	6 mm	7,88 mm	6 mm
	60%	6 mm	7,15 mm	6 mm
	70%	6,87 mm	8,06 mm	6 mm

Keterangan : Resisten (≤ 12 mm), Intermediete (13-17 mm), Sensitif (≥ 18 mm)



Gambar 4.1 Hasil uji sensitivitas dari masing-masing konsentrasi ekstrak kulit manggis.

(a. Konsentrasi 50%, b. konsentrasi 60%, c. Konsentrasi 70%), Kontrol positif (Kloramfenikol) dan kontrol negatif (DMSO) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

Hasil penelitian pada uji sensitivitas ekstrak kulit manggis dengan konsentrasi 50%, 60% dan 70%, kontrol positif menggunakan kloramfenikol, kontrol negatif menggunakan DMSO terbentuk zona bening disekitar kertas cakram yang menunjukkan tidak adanya bakteri yang tumbuh. Pada konsentrasi ekstrak 50% diperoleh zona hambat terbesar yaitu 6 mm dari semua perlakuan. Konsentrasi ekstrak 60% diperoleh zona hambat terbesar yaitu 6,71 mm dari semua perlakuan. Konsentrasi 70% diperoleh zona hambat terbesar yaitu 6,96 mm dari semua perlakuan. Pada kelompok kontrol positif dengan kloramfenikol

diperoleh zona hambat terbesar yaitu 11,21 mm. Kontrol negatif dengan DMSO tidak diperoleh zona hambat dari semua perlakuan.

Hasil pengujian yang telah didapatkan dilanjutkan dengan analisis data menggunakan ANOVA dan uji Post Hoc LSD. Hasil uji ANOVA yang dilanjutkan dengan uji lanjutan yaitu uji Post Hoc LSD disajikan pada tabel 4.2

Tabel 4.2 Rata-rata dan Standar Deviasi ($\bar{X} \pm SD$) Zona Hambat

Perlakuan	Mean \pm Std.Deviation (mm)
K- DMSO	6,0 \pm 0,00 ^a
K+ Kloramfenikol	8,54 \pm 0,886 ^b
P1 50%	6,0 \pm 0,00 ^a
P2 60%	6,142 \pm 0,317 ^a
P3 70%	6,270 \pm 0,394 ^a

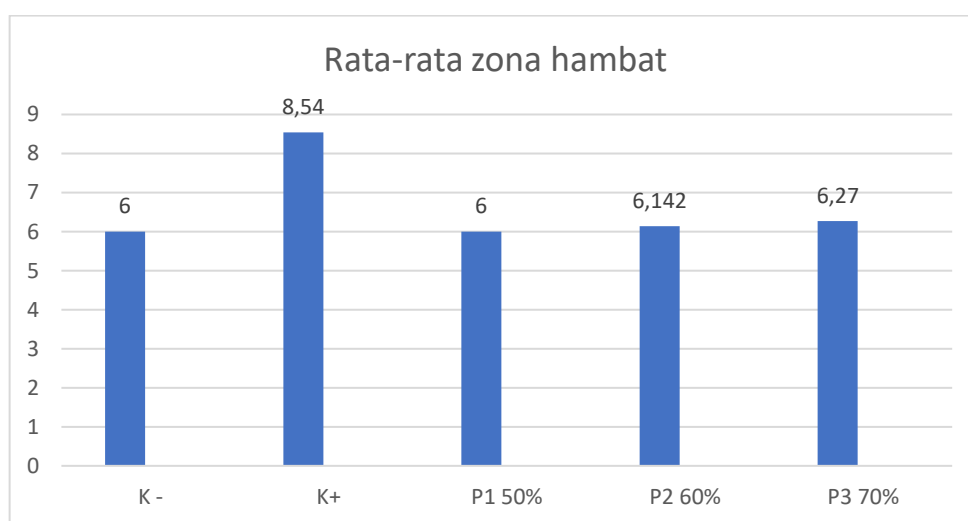
Keterangan : Superskrip dengan huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang sangat nyata diantara kelompok perlakuan ($P < 0,01$) dan superskrip dengan huruf yang sama menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang nyata.

Ditinjau dari hasil analisis ANOVA yang diteruskan dengan uji lanjutan yaitu uji Post Hoc LSD didapatkan nilai signifikan $P < 0,01$ dapat disimpulkan bahwa kelompok perlakuan menunjukkan signifikan dan berbeda dalam membentuk zona hambat.

Dari hasil uji daya hambat berdasarkan uji analisis ANOVA diketahui terdapat perbedaan yang nyata pada kelompok K+ (antibiotik kloramfenikol) terhadap kelompok perlakuan K- (DMSO), P1 50%, P2 60% dan P3 70%.

Sedangkan antara perlakuan P1 50%, P2 60% dan P3 70% tidak terdapat perbedaan yang nyata dalam membentuk zona hambat.

Berdasarkan rata-rata dan nilai dari standar deviasi pada semua kelompok perlakuan menunjukkan tingkat sensitivitas ekstrak kulit manggis dan antibiotik kloramfenikol memiliki perbedaan yang nyata, dimana hasil analisis ini menjawab hipotesis dengan kata lain H0 ditolak dan H1 diterima. Dilihat dari zona hambat yang terbentuk pada perlakuan P1,P2 dan P3 ekstrak kulit manggis mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* meskipun nilai sensitivitasnya yang dihasilkan sangat kecil.



Gambar 4.2 grafik rata-rata diameter zona hambat seluruh kelompok perlakuan.

Grafik diatas menunjukkan adanya peningkatan pada kelompok perlakuan dengan konsentrasi 70% dari ekstrak kulit manggis (P3) dimana jika dibandingkan dengan konsentrasi 50% (P1) dan konsentrasi 60% (P2) dan juga terdapat perbedaan yang nyata antar kelompok perlakuan DMSO (K-) dan kelompok perlakuan kloramfenikol (K+) dengan kelompok perlakuan

konsentrasi 50% (P1), konsentrasi 60% (P2) dan konsentrasi 70% (P3). Berdasarkan rata-rata grafik diatas kelompok perlakuan kloramfenikol (K+) memiliki rata-rata zona hambat tertinggi sebesar 8,54 mm. Diantara kelompok perlakuan konsentrasi ekstrak kulit manggis pada kelompok perlakuan konsentrasi 70% (P3) menunjukkan hasil rata-rata zona hambat tertinggi sebesar 6,27 mm. Konsentrasi 50% (P1) diperoleh hasil rata-rata zona hambat sebesar 6 mm. Konsentrasi 60% (P2) diperoleh hasil rata-rata zona hambat sebesar 6,142 mm. Kontrol negatif DMSO (K-) tidak terdapat zona hambat.

Hasil perhitungan PIDG yang telah didapatkan dilanjutkan dengan analisis data menggunakan ANOVA dan uji Post Hoc LSD. Hasil perhitungan PIDG terhadap zona hambat pada lima perlakuan disajikan dalam tabel 4.3.

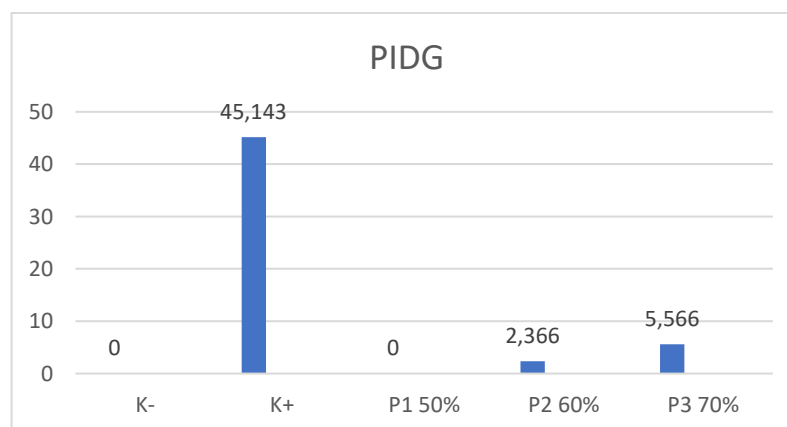
Tabel 4.3 Hasil uji daya hambat berdasarkan PIDG pada *Escherichia coli*

Perlakuan	Mean ± Std.Deviation (mm)
K- DMSO	0,00 ± 0,00 ^a
K+ Kloramfenikol	45,132 ± 15,143 ^b
P1 50%	0,00 ± 0,00 ^a
P2 60%	2,366 ± 5,290 ^c
P3 70%	5,566 ± 7,632 ^d

Keterangan : Superskrip dengan huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang sangat nyata diantara kelompok perlakuan ($P < 0,01$) dan superskrip dengan huruf yang sama menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang nyata.

Berdasarkan tabel 4.3 hasil uji PIDG yang digunakan untuk menentukan besar presentase dari diameter hambatan pertumbuhan dari bakteri *Escherichia coli* diperoleh hasil yaitu P1(ekstrak kulit manggis 50%) sebesar 0%, P2 (ekstrak kulit manggis 60%) sebesar 2,366% , P3 (ekstrak kulit manggis 70%) sebesar 5,566 % , kelompok K+ (antibiotik kloramfenikol) sebesar 45,143 % dan K- (DMSO) sebesar 0%. Berdasarkan dari hasil rata- rata PIDG diantara kelompok variasi ekstrak kulit manggis diperoleh nilai tertinggi pada perlakuan P3 (ekstrak kulit manggis 70%) sebesar 5,566%.

Dari hasil uji daya hambat berdasarkan PIDG K- (DMSO) diketahui tidak berbeda nyata dengan P1 50% tetapi berbeda nyata dengan K+ (Kloramfenikol), P2 60% dan P3 70%. K+ diketahui berbeda nyata dengan K- (DMSO), P1 50%, P2 60% dan P3 70%. P1 50% diketahui tidak berbeda nyata dengan K- (DMSO) tetapi berbeda nyata dengan K+ (Kloramfenikol), P2 60% dan P3 70%. P2 60% diketahui berbeda nyata dengan K- (DMSO), K+ (Kloramfenikol), P1 50% dan P3 70%. P3 diketahui memiliki perbedaan nyata dengan K- (DMSO), K+ (Kloramfenikol), P1 50% dan P2 60%.



Gambar 4.3 Grafik rata-rata PIDG seluruh kelompok perlakuan.

Berdasarkan gambar 4.3 grafik rata-rata PIDG seluruh kelompok perlakuan, pada kelompok perlakuan kloramfenikol (K+) menunjukkan presentase diameter hambatan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* tertinggi dengan hasil rata-rata 45,143%. Kelompok perlakuan konsentrasi 70% (P3) memiliki presentase diameter hambatan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* tertinggi dengan rata-rata sebesar 5,566%. Konsentrasi 50% (P1) diperoleh hasil rata-rata sebesar 0% dan konsentrasi 60% (P2) diperoleh hasil rata-rata sebesar 2,366%.

4.2 Pembahasan

Penelitian ini melakukan uji sensitivitas antibakteri ekstrak kulit manggis dengan tujuan untuk mengetahui kemampuan ekstrak kulit manggis sebagai antibakteri alami dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Berdasarkan hasil uji ANOVA hipotesis yang diperoleh adalah H0 ditolak dan H1 diterima yang memiliki arti pemberian ekstrak kulit manggis sebagai antibakteri alami menunjukkan hasil dalam menekan pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan hasil rata-rata zona hambat yang terbentuk pada P1 50% adalah 6 mm, P2 60% adalah 6,142 mm dan P3 70% adalah 6,270 mm walaupun sensitivitasnya sangat kecil.

Menurut Yuska Novi dan Sucia Mitika (2017), jika zona hambat yang terbentuk ≤ 5 mm maka dapat dikategorikan memiliki aktivitas antibakteri dengan potensi lemah, ukuran 6-10 mm dikategorikan memiliki aktivitas antibakteri dengan potensi sedang, ukuran 11-20 mm dapat dikategorikan

memiliki aktivitas antibakteri dengan potensi kuat dan jika ≥ 21 mm maka dapat dikategorikan sangat kuat. Berdasarkan pernyataan diatas, K- (DMSO) dikategorikan sedang, K+ (antibiotik kloramfenikol) dikategorikan kuat, konsentrasi ekstrak kulit manggis 50% kategori sedang, 60% kategori sedang, dan 70% kategori sedang.

Menurut CLSI (2021), standar interpretasi diameter zona hambat yang terbentuk pada bakteri *Escherichia coli* dengan kelompok perlakuan K+ (antibiotik kloramfenikol) diperoleh hasil interpretasi resisten dengan diameter zona hambat yang terbentuk yaitu 11,21 mm. Hasil interpretasi kelompok P1 50% dengan diameter 6 mm dinilai resisten, kelompok perlakuan P2 60% dengan diameter 6,71 mm dinilai resisten dan kelompok perlakuan 70% dengan diameter 6,96 mm dinilai resisten. Pengukuran diameter zona bening pada kertas cakram dengan dilakukan 5 kali pengulangan dan 5 kelompok menghasilkan K+ (antibiotik kloramfenikol) memiliki diameter zona bening paling besar dari keseluruhan perlakuan.

Konsentrasi 50% memiliki diameter zona bening yang paling kecil dibandingkan dengan konsentrasi yang lain yaitu 60% dan 70%. Menurut Cushnie dan Lamb (2015), secara umum terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi mutu daya hambat dari suatu ekstrak alam terhadap pertumbuhan bakteri, yaitu faktor kimia seperti jenis dan jumlah senyawa kimia, metode ekstraksi dan pelarut yang digunakan.

Menurut Agustin (2015), masing-masing konsentrasi ekstrak kulit buah manggis memiliki perbedaan pada zona hambat yang ditimbulkan. Ini menyatakan bahwa semakin tinggi kadar zat aktif (alkaloid, saponin, terpenoid dan flavonoid) pada ekstrak kulit buah manggis maka semakin besar pula aktivitas daya antibakterinya. Hal ini dapat dilihat dari diameter zona hambat yang terbentuk, pada konsentrasi yang lebih tinggi memiliki diameter zona hambat lebih besar daripada konsentrasi yang lebih rendah. Zona hambat yang terbentuk menunjukkan ekstrak kulit manggis memiliki aktivitas antibakteri karena terdapat zat aktif didalamnya. Beberapa zat aktif yang ada didalam kulit buah manggis setelah di ekstrak dengan etanol 96% adalah alkaloid, saponin, terpenoid dan flavonoid yang dilakukan dengan metode maserasi.

Penelitian kali ini parameter yang digunakan selain zona hambat adalah PIDG (*Percentage Inhibition of Diameter Growth*). Presentase diameter zona hambat pertumbuhan *Escherichia coli* yang dihitung berdasarkan PIDG diperoleh berdasarkan rata-rata pada kelompok perlakuan yaitu P1 sebesar 0%, P2 sebesar 2,366 %, dan P3 sebesar 5,566%. Hasil PIDG pada kelompok perlakuan dibandingkan kelompok kontrol + lebih rendah. PIDG digunakan untuk menunjukkan indikasi mengenai kekuatan aktivitas antibakteri dari ekstrak yang dibandingkan dengan kontrol positif (Nordin *et al.*, 2013). Hal ini menunjukkan zona hambat pada kelompok perlakuan P1,P2 dan P3 memiliki kekuatan aktivitas antibakteri rendah dibandingkan dengan K+. Pada hasil PIDG P3 diketahui memiliki nilai terbesar dari kelompok perlakuan P1 dan P2 tetapi zona yang dihasilkan sangat kecil hal ini bisa disebabkan oleh beberapa

faktor yaitu karena pada konsentrasi tertentu ekstrak kulit manggis tidak mampu merusak membrane sel dan mengganggu fungsi sel bakteri fisiologis. Selain itu, dapat disebabkan oleh aktivitas antibakteri dari senyawa aktif pada kulit manggis yang dihalangi oleh resistensi bakteri *Escherichia coli* (Cowan,2019).

Penelitian uji sensitivitas kali ini menggunakan isolate murni dari bakteri *Escherichia coli* ATCC. Hasil pengujian sensitivitas isolate *Escherichia coli* terhadap kelompok P1,P2 dan P3 dari konsentrasi ekstrak kulit manggis menunjukkan sifat resisten. Hasil pengukuran zona hambat pada *Escherichia coli* ATCC, yang hanya dapat menghambat pertumbuhan pada bakteri *Escherichia coli* hanya K+ saja. Analisis statistik juga menunjukkan bahwa antara ekstrak kulit manggis konsentrasi 50% dengan K- pada bakteri *Escherichia coli* menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna ditunjukkan pada tabel 4.2. Hasil ini menandakan bahwa pada konsentrasi tersebut belum memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan bakteri pada media MHA. Hal ini disebabkan karena konsentrasi ekstrak kulit manggis masih rendah sehingga tidak mampu merusak membran sel dan mengganggu proses fisiologis sel (Cowan, 2019).

Aktivitas antibakteri dari senyawa aktif juga dapat dihambat oleh mekanisme resistensi bakteri *Escherichia coli* (gram negatif) terhadap bahan antibakteri. Pada *Escherichia coli* memiliki dinding sel yang terdiri dari lapisan peptidoglikan dan lipoprotein yang kompleks dan polisakarida yang tebal.

Pembungkus luar atau membrane luar dari *Escherichia coli* memiliki fungsi menolak molekul hidrofobik sekaligus hidrofilik dengan baik, dan jika dari molekul zat yang besar tidak akan dapat masuk ke dalam bakteri ini, sedangkan zat yang memiliki molekul kecil dapat masuk ke dalam bakteri *Escherichia coli* (Sanaz, 2020).

Penelitian kali ini antibiotik kloramfenikol digunakan sebagai kontrol positif dimana hasil pengukuran zona hambat menunjukkan hasil resisten terhadap bakteri *Escherichia coli*. Terdapat beberapa faktor penyebab terjadinya resistensi bakteri terhadap antibiotik, pertama ada faktor primer yaitu penggunaan agen antibiotik yang tidak rasional, munculnya strain bakteri yang resisten terhadap antibiotik, dan penyebaran strain tersebut ke bakteri lain. Selain itu, adanya faktor penjamu seperti lokasi infeksi, kemampuan antibiotik mencapai organ target infeksi sesuai dengan konsentrasi terapi, flora normal, dan ekologi lingkungan merupakan faktor-faktor yang perlu diperhatikan (Pratiwi, 2017).

Faktor selanjutnya yang dapat menyebabkan terjadinya resistensi adalah kebiasaan pemberian antibiotik sebagai faktor pertumbuhan atau *Antibiotic Growth Promotor* (AGP) yang menyebabkan ternak lebih cepat tumbuh namun juga dapat menyebabkan peningkatan organisme usus yang resisten terhadap antibiotik (Dibner dan Richards, 2015). Selain itu selain faktor penggunaan dan bebasnya orang dapat membeli antibiotik, juga kemungkinan resistensi antibiotik terjadi akibat mutasi atau transfer horizontal

gen yang membawa sifat resisten (Read dan Woods, 2014). Gen resisten dapat diwariskan atau dapat diperoleh dari unsur genetik seluler seperti plasmid yang dapat terjadi antar bakteri khususnya dari *Escherichia coli* yang memiliki sifat resisten terhadap *Escherichia coli* lain yang belum resisten. *Escherichia coli* memiliki kemampuan untuk saling menukarkan beberapa sifat adaptifnya (Tjaniadi *et al.*, 2013).

Resistensi *Escherichia coli* terhadap kloramfenikol umumnya disebabkan oleh mutasi pada gen yang mengkode sintesis protein ribosom. Mutasi ini dapat terjadi pada beberapa lokasi gen, namun yang paling umum adalah pada asam amino posisi 83 dan 87. Mutasi pada posisi 83 dan 87 menyebabkan perubahan struktur ribosom sehingga kloramfenikol tidak dapat mengikatnya dengan tepat. Hal ini menyebabkan ribosom *Escherichia coli* yang resisten tetap dapat mensintesis protein meskipun terdapat kloramfenikol dalam sel. Selain mutasi pada gen ribosom, resistensi *Escherichia coli* terhadap kloramfenikol juga dapat disebabkan oleh mutasi pada gen lain, seperti gen yang mengkode enzim inaktivasi kloramfenikol atau gen yang mengkode pompa efluks (Tait *et al.*, 2014).

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan ekstrak kulit manggis pada konsentrasi 50%, 60% dan 70% terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* tidak memiliki daya sensitivitas karena hasil dari semua zona hambat yang terbentuk adalah ≤ 12 mm yang mana berdasarkan pada CLSI 2021 maka dapat dikategorikan sebagai resisten.

Ekstrak kulit manggis pada konsentrasi 50%, 60% dan 70% dibandingkan dengan antibiotik kloramfenikol memiliki efek daya hambat yang lebih kecil dari pada antibiotik kloramfenikol.