

BAB IV

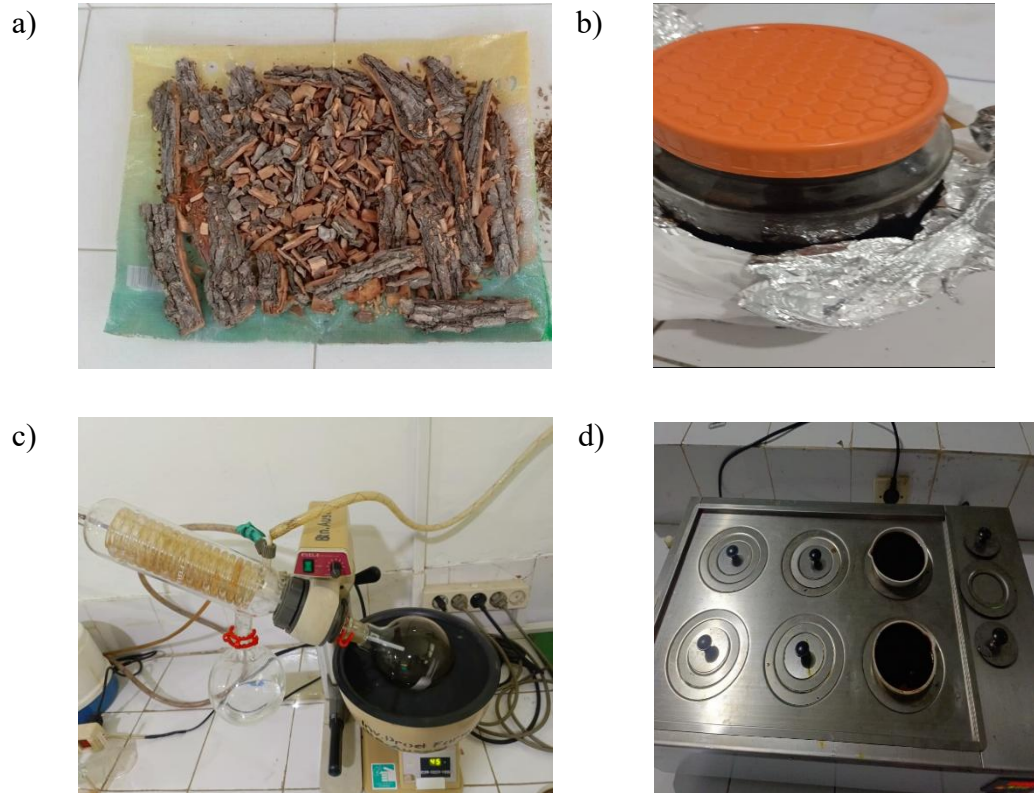
HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Gambaran Umum Sampel

1. Hasil Pembuatan Ekstrak

Dalam penelitian ini digunakan sampel berupa ekstrak kulit batang kesambi yang diperoleh melalui proses ekstraksi di Laboratorium Farmasi Program Studi Farmasi Poltekkes Kemenkes Kupang. Isolat bakteri *E. coli* diperoleh dari hasil isolasi urine pasien yang mengalami infeksi saluran kemih (ISK). Proses ekstraksi kulit atang kesambi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70% untuk memperoleh senyawa aktif yang terkandung di dalamnya.

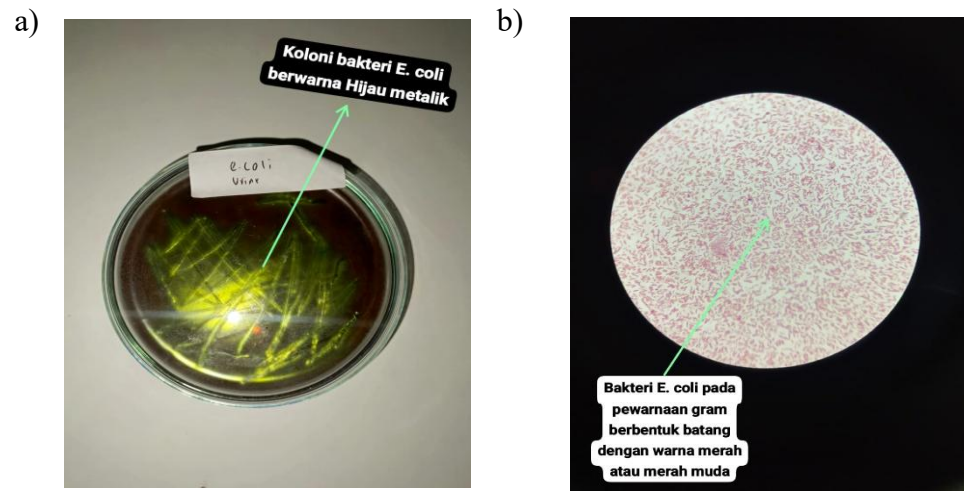
Ekstraksi kulit batang kesambi diawali dengan proses maserasi terhadap 100 gram simplisia menggunakan 1.5 L etanol 70% selama 6 hari. Setelah proses maserasi selesai, larutan disaring untuk memisahkan filtrat dari residu simplisia sehingga diperoleh filtrat sebanyak 1,1 L. Filtrat kemudian dikonsentrasikan melalui penguapan pelarut dan dilanjutkan dengan pemanasan menggunakan waterbath hingga diperoleh ekstrak kental kulit batang kesambi dengan berat akhir sebanyak 20 g.



Gambar 8. Proses pembuatan ekstrak kulit batang kesambi 8a) pengeringan kulit batang kesambi, 8b) maserasi simplisia kulit batang kesambi, 8c) evaporasi ekstrak kulit batang kesambi, 8d) pemanasan ekstrak kulit batang kesambi.

2. Hasil Isolasi Bakteri

Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini merupakan strain *E. coli* yang diisolasi dari sampel urine pasien dengan diagnosis infeksi saluran kemih (ISK). Identifikasi bakteri dilakukan melalui penanaman pada media EMBA, yang menunjukkan pertumbuhan koloni dengan warna hijau metalik sebagai karakteristik khas *E. Coli*. Pengamatan mikroskopis menggunakan pewarnaan gram menunjukkan bakteri berbentuk batang pendek dengan sifat gram negative, yang ditandai dengan tampilan berwarna merah.



Gambar 9. a) Pertumbuhan koloni bakteri *E. coli* pada media EMBA, b) Pewarnaan Gram bakteri *E.coli*

Untuk memastikan karakteristik isolat bakteri, dilakukan serangkaian uji biokimia menggunakan media SIM, MR, SC dan TSIA. Hasil pengujian pada media SIM menunjukkan adanya motilitas bakteri serta terbentuk cincin merah yang menandakan produksi indol positif. Pada media MR terbentuk warna merah yang menunjukkan kemampuan bakteri dalam menghasilkan fermentasi asam kuat. Sementara itu, media SC tetap berwarna hijau menandakan hasil negatif. Pengujian pada media TSIA menunjukkan perubahan warna menjadi kuning, mengindikasikan terjadinya fermentasi glukosa serta laktosa/sukrosa.



Gambar 10. Uji Biokimia A) Media TSIA A/A media berwarna kuning dan terbentuk gas, B) SC (-) media tetap berwarna hijau, C) SIM (+) terbentuknya cincin merah pada media, D) MR (+) terbentuk warna merah pada media, E) VP (-) media tetap berwarna kuning

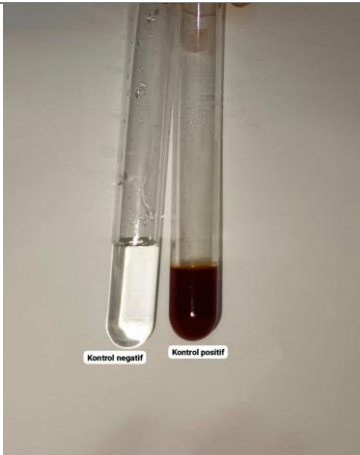
3. Hasil Penelitian

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak kulit batang kesambi terhadap bakteri *E. coli* hasil isolasi urine pasien infeksi saluran kemih (ISK) dilakukan dengan metode dilusi cair untuk menentukan nilai konsentrasi hambat minimum (MIC). Metode ini dilakukan dengan mengamati kemampuan ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri pada berbagai konsentrasi perlakuan. Interpretasi hasil pengujian didasarkan pada Tingkat kekeruhan media setelah inkubasi, Dimana media yang tampak keruh menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri, sedangkan media yang lebih jernih mengindikasikan terhambatnya pertumbuhan *E.coli*.

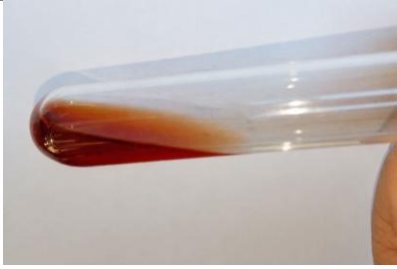
Berdasarkan hasil pengamatan uji Konsentrasi Hambat Minimum (MIC) ekstrak kulit batang kesambi terhadap bakteri *Escherichia coli* dengan menggunakan standar kekeruhan bakteri McFarland 0,25, diperoleh hasil setelah inkubasi selama 1×24 jam pada suhu 37°C bahwa

media pada konsentrasi 60% dan 80% tampak jernih yang menunjukkan terhambatnya pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Sementara itu, media pada konsentrasi 1%, 5%, 10%, 20%, dan 40% tampak keruh yang menandakan bakteri masih dapat tumbuh.

Tabel 4.1 Gambar Hasil Uji MIC Dengan Berbagai Konsentrasi Ekstrak Kulit Batang Kesambi

N0	Konsentrasi (%)	Hasil Pertumbuhan Bakteri	Suspensi bakteri <i>E.coli</i> 0,25 McFarland	Keterangan
1	Kontrol positif (ekstrak kesambi + <i>E.coli</i>) dan kontrol negatif (Aquades)			• Kontrol positif (ekstrak kesambi + <i>E. coli</i>): Media tampak keruh, menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri. • Kontrol negatif (aquades): Media tampak jernih, menunjukkan tidak terdapat pertumbuhan bakteri.
2	1%	+		Positif (+), media tampak keruh menunjukkan pertumbuhan bakteri

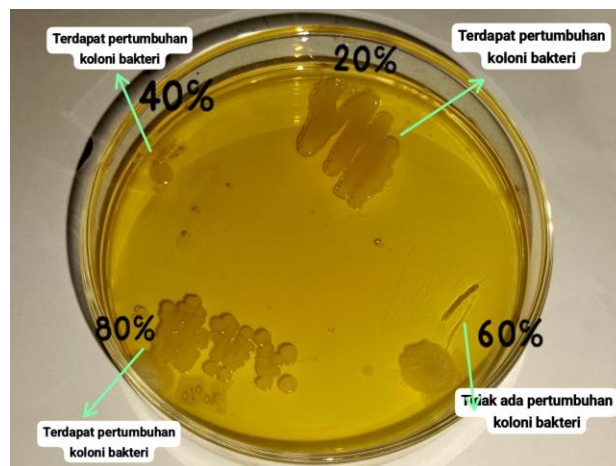
3	5%	+		Positif (+), media tampak keruh menunjukkan pertumbuhan bakteri
4	10%	+		Positif (+), media tampak keruh menunjukkan pertumbuhan bakteri
5	20%	+		Positif (+), media tampak keruh menunjukkan pertumbuhan bakteri
6	40%	+		Positif (+), media tampak keruh menunjukkan pertumbuhan bakteri

7	60%	-		Negatif (-), media tampak jernih menunjukkan tidak terdapat pertumbuhan bakteri
8	80%	-		Negatif (-), media tampak jernih menunjukkan tidak terdapat pertumbuhan bakteri

Pengujian kemampuan antibakteri ekstrak kulit batang kesambi terhadap bakteri *Escherichia coli* dilakukan menggunakan metode dilusi cair untuk menentukan nilai konsentrasi Hambat Minimum (MIC). Penilaian hasil dilakukan dengan mengamati tingkat kekeruhan media setelah inkubasi, dimana media yang tampak keruh menunjukkan bahwa bakteri masih mengalami pertumbuhan, sedangkan media yang terlihat jernih menandakan adanya penghambatan pertumbuhan bakteri. Berdasarkan hasil pada Tabel 4.2, konsentrasi ekstrak 1%, 5%, 10%, 20%, dan 40% dengan standar kekeruhan McFarland 0,25 masih menunjukkan media yang keruh sehingga ekstrak belum mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara optimal.

Sementara itu, pada konsentrasi 60% dan 80% media tampak lebih jernih yang menandakan bahwa pertumbuhan bakteri telah terhambat. Kejernihan media pada kedua konsentrasi tersebut hampir menyerupai kontrol ekstrak murni. Berdasarkan hasil tersebut, dapat diketahui bahwa Konsentrasi Hambat Minimum (MIC) ekstrak kulit batang kesambi terhadap bakteri *Escherichia coli* terdapat pada konsentrasi 60%.

Selanjutnya dilakukan uji penegasan menggunakan media Nutrient Agar (NA) untuk memperkuat hasil pengujian MIC terhadap aktivitas antibakteri ekstrak kulit batang kesambi. Uji penegasan dilakukan dengan menanam hasil perlakuan MIC dari konsentrasi ekstrak 20%, 40%, 60% dan 80% ke media NA setelah proses inkubasi. Pengujian ini bertujuan untuk memastikan kemampuan ekstrak kulit batang kesambi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* melalui pengamatan ada atau tidaknya pertumbuhan koloni bakteri pada media padat.



Gambar 11. Pengujian menggunakan media NA dari hasil uji MIC

Hasil pengamatan pada media Nutrient Agar (NA) menunjukkan bahwa pada konsentrasi 20% dan 40% masih ditemukan pertumbuhan koloni bakteri *E. coli*, sehingga konsentrasi tersebut dinyatakan belum mampu menghambat pertumbuhan bakteri secara optimal. Pada konsentrasi 60% tidak ditemukan adanya pertumbuhan koloni bakteri pada media NA, yang menunjukkan bahwa konsentrasi tersebut mampu menghambat pertumbuhan *E. coli*. Sementara itu, pada konsentrasi 80% masih ditemukan adanya pertumbuhan koloni bakteri. Namun, pertumbuhan tersebut diduga disebabkan oleh kesalahan teknis pada saat proses penggoresan hasil uji MIC ke media NA, sehingga memungkinkan terjadinya kontaminasi atau perpindahan bakteri saat penanaman. Hal ini dibuktikan dengan hasil pada konsentrasi 60% yang tetap menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri, sehingga konsentrasi 60% tetap dinyatakan sebagai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM/MIC) ekstrak kulit batang kesambi terhadap bakteri *E.coli*.

Penelitian uji daya hambat ini digunakan metode dilusi cair dengan pengamatan secara turbidimetri, yaitu pengamatan secara visual terhadap tingkat kekeruhan suspensi. Hasil pengamatan setelah inkubasi menunjukkan bahwa ekstrak kulit batang kesambi pada konsentrasi 60% dan 80% menghasilkan suspensi yang tampak jernih terhadap bakteri *E. coli* dengan standar McFarland 0,25. Kondisi tersebut mengindikasikan

adanya penghambatan pertumbuhan bakteri. Sebaliknya, pada konsentrasi 20% dan 40% suspensi masih terlihat keruh, yang menandakan bakteri masih dapat tumbuh dan ekstrak kulit batang kesambi pada konsentrasi tersebut belum mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli*.

Untuk memastikan hasil pengamatan pada metode dilusi cair, suspensi hasil uji kemudian ditanam pada media NA dan didapatkan hasil pada konsentrasi 20% dan 40% ditemukan adanya pertumbuhan bakteri sedangkan pada konsentrasi 60% tidak ditemukan pertumbuhan bakteri. Namun, pada konsentrasi 80% masih terlihat adanya pertumbuhan bakteri yang seharusnya tidak ada pertumbuhan bakteri pada konsentrasi tersebut. Hal tersebut diduga terjadi kesalahan teknis saat penggoresan sehingga memungkinkan terjadinya kontaminasi atau ketidaksesuaian hasil pengamatan. Dengan demikian, berdasarkan hasil pengamatan metode dilusi cair dan uji penegasan pada media NA, konsentrasi hambat minimum ekstrak kulit batang kesambi terhadap bakteri *E. coli* yang diisolasi dari urine pasien ISK ditetapkan pada konsentrasi 60%.

Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa ekstrak kulit batang kesambi memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli*. Susilawati et al. melaporkan bahwa ekstrak kulit batang kesambi mampu menghambat pertumbuhan *E. coli* melalui metode difusi pada media Nutrient Agar (NA), dengan zona hambat sebesar 10,33 mm pada konsentrasi 0,5%

sebagai konsentrasi terendah yang masih menunjukkan aktivitas penghambatan. Selain itu, Sari et al. (2019) juga melaporkan bahwa ekstrak etil asetat kulit batang kesambi telah mampu menghambat pertumbuhan *E. coli* pada konsentrasi 10.000 ppm atau setara dengan 1%.

Hasil penelitian terdahulu tersebut sejalan dengan penelitian ini yang menunjukkan bahwa ekstrak kulit batang kesambi juga mampu menghambat pertumbuhan *E. coli*. Namun, pada penelitian ini diperoleh konsentrasi hambat minimum sebesar 60%, yang lebih tinggi dibandingkan penelitian sebelumnya. Perbedaan hasil tersebut diduga dipengaruhi oleh perbedaan metode pengujian yang digunakan, dimana penelitian terdahulu menggunakan metode difusi, sedangkan penelitian ini menggunakan metode dilusi cair yang dikonfirmasi melalui penanaman hasil uji MIC pada media NA.

Perbandingan juga dapat dilakukan dengan penelitian (Prasetyo 2020) yang melaporkan bahwa ekstrak daun kesambi terhadap *Salmonella typhi* memiliki konsentrasi hambat minimum sebesar 10% menggunakan metode dilusi cair, yang ditandai dengan media uji tampak jernih. Perbedaan hasil tersebut kemungkinan dipengaruhi oleh perbedaan bagian tanaman yang digunakan sebagai bahan ekstrak serta perbedaan jenis bakteri uji, sehingga aktivitas antibakteri yang dihasilkan juga berbeda.

Efektivitas antibakteri ekstrak kulit batang kesambi ini terhadap bakteri *E. coli*, baik pada pengujian menggunakan metode dilusi cair maupun difusi, dipengaruhi oleh kandungan senyawa antibakteri yang terdapat dalam kulit batang kesambi. Pada uji fitokima yang dilaporkan penelitian terdahulu dari kulit batang kesambi menunjukkan bahwa kulit batang kesambi mengandung berbagai senyawa antibakteri yaitu flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, antrakuinon dan terpenoid (Istiqomah, Yahdi, & Dewi 2021) serta senyawa fenolik (Srinivas, & Celestin Baboo 2011).

Kemampuan antibakteri ekstrak kulit batang kesambi terhadap bakteri *E. coli* menunjukkan bahwa tanaman ini berpotensi untuk dikembangkan sebagai sumber antibakteri alami. Hal ini menjadi penting mengingat permasalahan resistensi antibiotik masih banyak ditemukan, khususnya pada penderita infeksi saluran kemih (ISK). Resistensi antibiotik dapat dipicu oleh penggunaan antibiotik yang tidak sesuai indikasi, pemberian dosis yang tidak tepat, penggunaan beberapa jenis antibiotik secara bersamaan, maupun adanya mutasi pada bakteri yang menyebabkan bakteri menjadi kebal terhadap antibiotik. Oleh karena itu, melalui penelitian ini diharapkan dapat diperoleh informasi ilmiah mengenai potensi ekstrak kulit batang kesambi sebagai antibakteri alami yang berpotensi dikembangkan sebagai alternatif dalam membantu mengatasi resistensi antibiotik pada kasus ISK. Selain itu, hasil penelitian ini juga

diharapkan dapat menambah pengetahuan masyarakat mengenai pemanfaatan kulit batang kesambi sebagai bahan alami yang berpotensi digunakan dalam mendukung pencegahan infeksi saluran kemih.

Penelitian ini memiliki kelebihan pada pemanfaatan metode dilusi cair dalam pengujian aktivitas antibakteri. Metode tersebut mudah di aplikasikan dan membutuhkan waktu pemeriksaan yang relatif singkat serta penggunaan ekstrak dalam jumlah kecil. Selain itu metode ini memungkinkan bahan uji berinteraksi lebih optimal dengan bakteri akibat penyebaran suspensi bakteri yang homogen, sehingga sensitivitas pengujian terhadap aktivitas antibakteri menjadi lebih tinggi (Iper, Erhadap, & Scherichia 2020).

Selain keunggulan metode yang digunakan, penggunaan isolat bakteri yang diperoleh langsung dari pasien ISK juga menjadi nilai lebih dalam penelitian ini karena dapat memberikan gambaran yang lebih nyata mengenai kemampuan ekstrak kulit batang kesambi dalam menghambat pertumbuhan *E. coli* pada kondisi yang mendekati keadaan klinis sebenarnya. Dengan menggunakan isolat klinis, hasil pengujian tidak hanya menunjukkan aktivitas antibakteri secara umum, tetapi juga memperlihatkan kemampuan ekstrak dalam menghambat bakteri yang secara langsung berperan sebagai penyebab infeksi saluran kemih pada pasien.

Meskipun metode yang digunakan dalam penelitian ini memberikan beberapa keunggulan dalam pengujian aktivitas antibakteri, terdapat beberapa keterbatasan yang perlu diperhatikan dalam proses penentuan Kadar Hambat Minimum (KHM). Pengujian dilakukan menggunakan metode turbidimetri melalui pengamatan tingkat kekeruhan suspensi bakteri secara visual pada tabung reaksi. Metode ini dinilai kurang efektif karena hasil pengamatan mudah dipengaruhi oleh warna larutan ekstrak yang cenderung kecoklatan atau pekat, sehingga dapat menurunkan tingkat keakuratan dalam menentukan hasil pengujian (Rori, Khoman, & Supit 2018).

Selain keterbatasan tersebut, metode turbidimetri juga memiliki kelemahan pada proses pembacaan hasil pengujian. Pengamatan secara visual bersifat subjektif atau berbeda antar pembaca karena hasil penilaian dapat berbeda tergantung ketelitian pengamat dalam membedakan tingkat kekeruhan larutan (Brookshire et al. 2025). Metode ini juga hanya melihat penghambatan pertumbuhan bakteri secara kualitatif saja tanpa menggunakan pengukuran kuantitatif yang lebih akurat (Putri et al. 2022). Selain itu, penelitian ini juga belum dilengkapi dengan pengujian Minimum Bactericidal Concentration (MBC), sehingga kemampuan ekstrak kulit batang kesambi dalam membunuh bakteri *E. coli* belum dapat diketahui secara pasti dan masih terbatas pada kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri saja.

Berdasarkan keterbatasan yang ditemukan selama penelitian, beberapa hal dapat menjadi perhatian untuk penelitian selanjutnya. Oleh karena itu, disarankan dilakukan uji lanjutan seperti Minimum Bactericidal Concentration (MBC) untuk mengetahui kemampuan ekstrak dalam membunuh bakteri. Selain itu, penentuan KHM dapat menggunakan metode yang lebih akurat seperti spektrofotometri atau microdilution agar hasil yang diperoleh lebih objektif. Penelitian juga dapat dikembangkan dengan menggunakan variasi konsentrasi ekstrak yang lebih terukur serta uji difusi disk untuk melihat zona hambat terhadap bakteri *E. coli* yang diisolasi dari urine pasien infeksi saluran kemih (ISK). Tidak hanya itu, pengujian juga dapat diperluas pada bakteri lain yang ditemukan dalam sampel urine pasien ISK agar hasil penelitian menjadi lebih lengkap.