

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Data Hasil Penelitian

5.1.1 Gambaran Ekstrak Etanol Daun Pepaya

Ekstrak yang dihasilkan pada penelitian ini berwarna hijau tua dan teksturnya cair. Dari 100 g daun pepaya kering diperoleh 30 cc ekstrak etanol daun pepaya yang sudah tidak mengandung alkohol.

5.1.2 Identifikasi *Shigella dysenteriae*

Penelitian ini menggunakan isolat *Shigella dysenteriae* dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Brawijaya, dengan uji mikroskopis dengan melakukan *streaking* kuman pada medium Diferensial Mac Conkey Agar (MCA). Pada medium MCA akan menghasilkan koloni yang berwarna pucat / tidak berwarna (non lactose fermenter) (Gambar 5.1). Selanjutnya dilakukan pewarnaan gram dan dilihat dibawah mikroskop dengan perbesaran 100X. Pada pewarnaan ini terlihat sel bakteri berbentuk batang gram negatif, dapat ditemukan satu-satu atau berpasangan, tidak berkapsul, dan non motil (Gambar 5.1). Uji penentunya dengan uji Triple Sugar Iron Agar (TSIA), serta tes Indol Methyl Red, Voges-Proskauer, citrat, motilitas dan urease. Hasil identifikasi biokimia dapat dilihat dalam Tabel 5.1.

Tabel 5.1. Hasil identifikasi biokimia

Parameter identifikasi	Hasil
Mikroskopis	Batang Gram (-), sel berwarna merah, berbentuk batang pendek, satu-satu, ada juga yang berpasangan
Mac Conkey Agar (MCA)	Bentukan koloni bulat, tepi koloni rata, elevansi cembung, warna koloni pucat (non lactose fermenter)
Triple Sugar Iron (TSI) agar	Alkali/Asam, Gas (-), H ₂ S (-)
Tes Indol	Positif
Tes Metthyl Red	Negatif
Tes Voges-Proskauer	Negatif

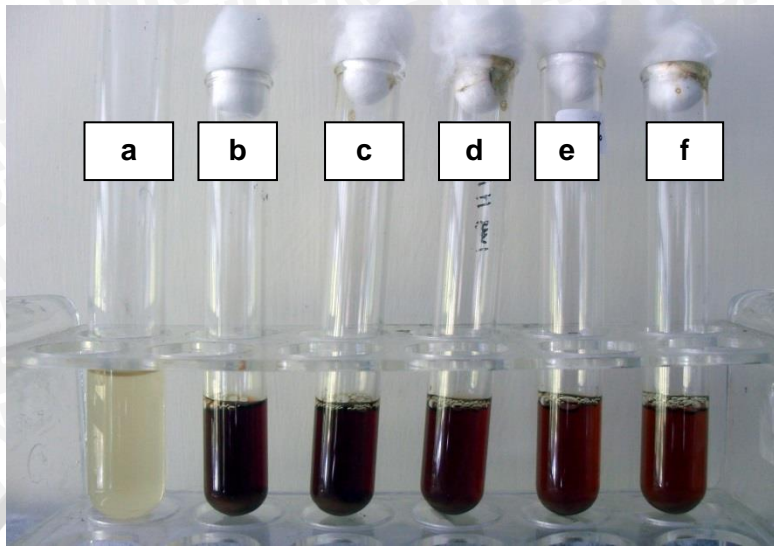
Gambar 5.1 Koloni *Shigella* pada medium MCA (koloni bulat, cembung, tidak berwarna / pucat)



Gambar 5.2 Hasil pewarnaan Gram *Shigella dysenteriae*
(Gram negatif, berbentuk batang pendek, warna merah)

5.1.3 Hasil Pengamatan Kekeruhan dan Analisa terhadap KHM

Pada penelitian ini digunakan lima macam konsentrasi ekstrak daun pepaya (*Carica papaya L*) masing - masing 12%, 14%, 16%, 18% dan 20% serta konsentrasi 0% sebagai pembanding atau kontrol Bakteri (KK). Dari hasil uji dilusi tabung dapat dilakukan pengamatan terhadap tingkat kekeruhan larutan ekstrak daun pepaya untuk menentukan Kadar Hambat Minimal (KHM). KHM adalah kadar terendah dari konsentrasi ekstrak daun pepaya yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae*, yang ditandai dengan tidak adanya kekeruhan pada tabung setelah di inkubasi selama 18-24 jam. Tingkat kekeruhan larutan ekstrak daun pepaya (*Carica papaya L*) dengan konsentrasi 12%, 14%, 16%, 18% dan 20% dapat dilihat pada Gambar 5.3



Gambar 5.3 Hasil Uji Dilusi Tabung

Keterangan :

- a. Kontrol Bakteri (konsentrasi ekstrak 0%)
- b. Konsentrasi ekstrak 12%
- c. Konsentrasi ekstrak 14%
- d. Konsentrasi ekstrak 16%
- e. Konsentrasi ekstrak 18%
- f. Konsentrasi ekstrak 20%

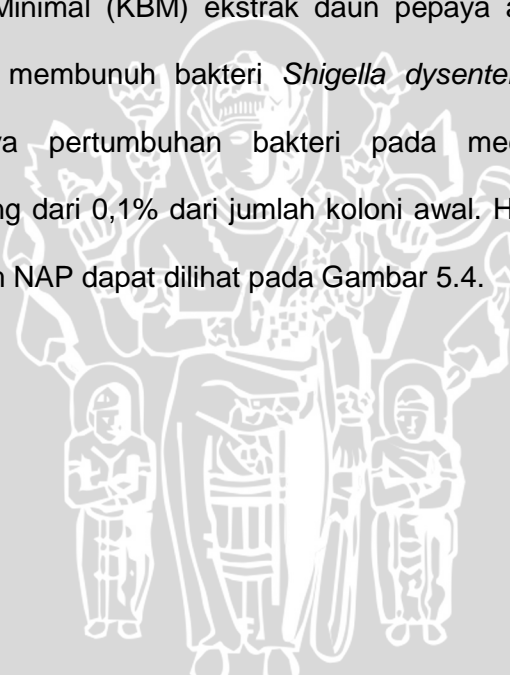
Berdasarkan hasil uji dilusi tabung, dapat diamati perbedaan tingkat kekeruhan dan dapat langsung ditentukan KHM. Pada Gambar 5.3 semua tabung terlihat berwarna gelap, tetapi kejernihan campuran dalam tabung masih bisa diamati. Pada tabung konsentrasi ekstrak 12% tampak sangat keruh, sedangkan tabung konsentrasi ekstrak 14% tampak keruh. Pada tabung konsentrasi 16% kekeruhan mulai berkurang dan pada tabung konsentrasi 18% mulai agak jernih. Dari pengamatan ini dapat diketahui semakin tinggi konsentrasi ekstrak, tabung terlihat semakin jernih, dan pada konsentrasi 18% merupakan konsentrasi minimal yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri

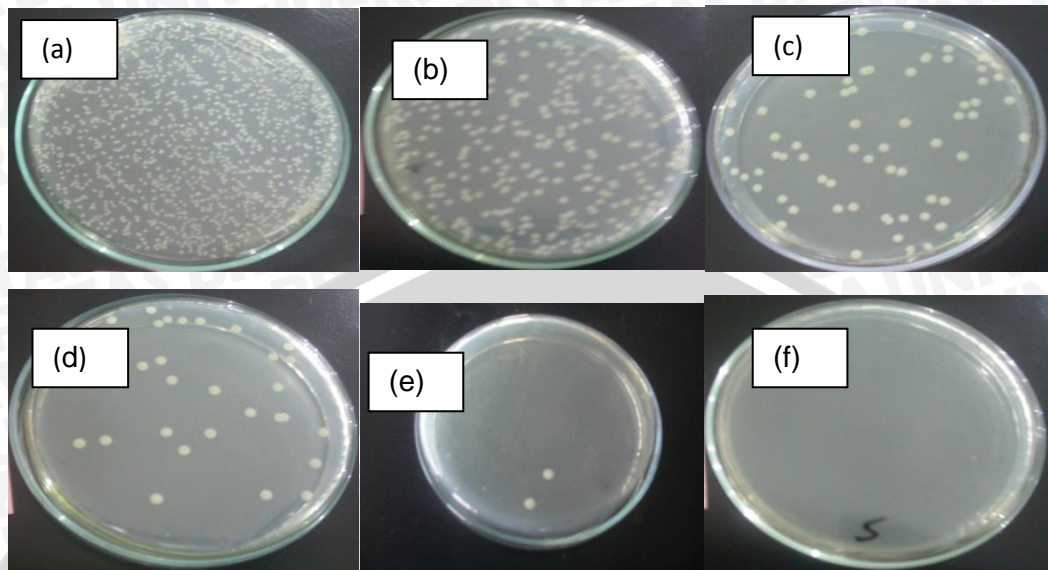
sehingga dapat disimpulkan bahwa KHM dalam penelitian ini adalah konsentrasi 18%.

5.1.4. Penentuan Kadar Bunuh Minimal (KBM)

Masing-masing tabung diambil satu ose dan diinokulasikan pada medium NAP, kemudian medium NAP diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Keesokan harinya dilakukan penghitungan jumlah koloni yang tumbuh pada masing-masing konsentrasi NAP menggunakan *colony counter*.

Kadar Bunuh Minimal (KBM) ekstrak daun pepaya adalah konsentrasi terendah yang dapat membunuh bakteri *Shigella dysenteriae* yang ditandai dengan tidak adanya pertumbuhan bakteri pada medium NAP, atau pertumbuhannya kurang dari 0,1% dari jumlah koloni awal. Hasil penggoresan / streaking pada medium NAP dapat dilihat pada Gambar 5.4.





Gambar 5.4. Pertumbuhan koloni *Shigella dysenteriae* pada medium NAP setelah pemberian ekstrak *Carica papaya L*

Keterangan :

- (a). Pertumbuhan koloni pada konsentrasi ekstrak 0% atau KK (pengenceran 6 kali).
- (b). Pertumbuhan koloni pada konsentrasi ekstrak daun pepaya 12%.
- (c). Pertumbuhan koloni pada konsentrasi ekstrak daun pepaya 14%.
- (d). Pertumbuhan koloni pada konsentrasi ekstrak daun pepaya 16%.
- (e). Pertumbuhan koloni pada konsentrasi ekstrak daun pepaya 18%.
- (f). Pertumbuhan koloni pada konsentrasi ekstrak daun pepaya 20%.

Pada tabung dengan konsentrasi 0% (KK), dilakukan pengenceran terlebih dahulu dengan larutan NaCl 10 ml sebanyak 6 kali sebelum digoreskan merata pada NAP. Hal ini dilakukan untuk memudahkan dalam penghitungan jumlah koloni yang tumbuh karena apabila tidak dilakukan pengenceran maka koloni yang tumbuh terlalu padat dan tidak bisa dihitung. Setelah dilakukan hitung koloni, jumlah koloni pada konsentrasi 0% (KK) kemudian dikalikan dengan koefisien pengenceran yaitu 10^6 . Hasil penghitungan koloni yang tumbuh

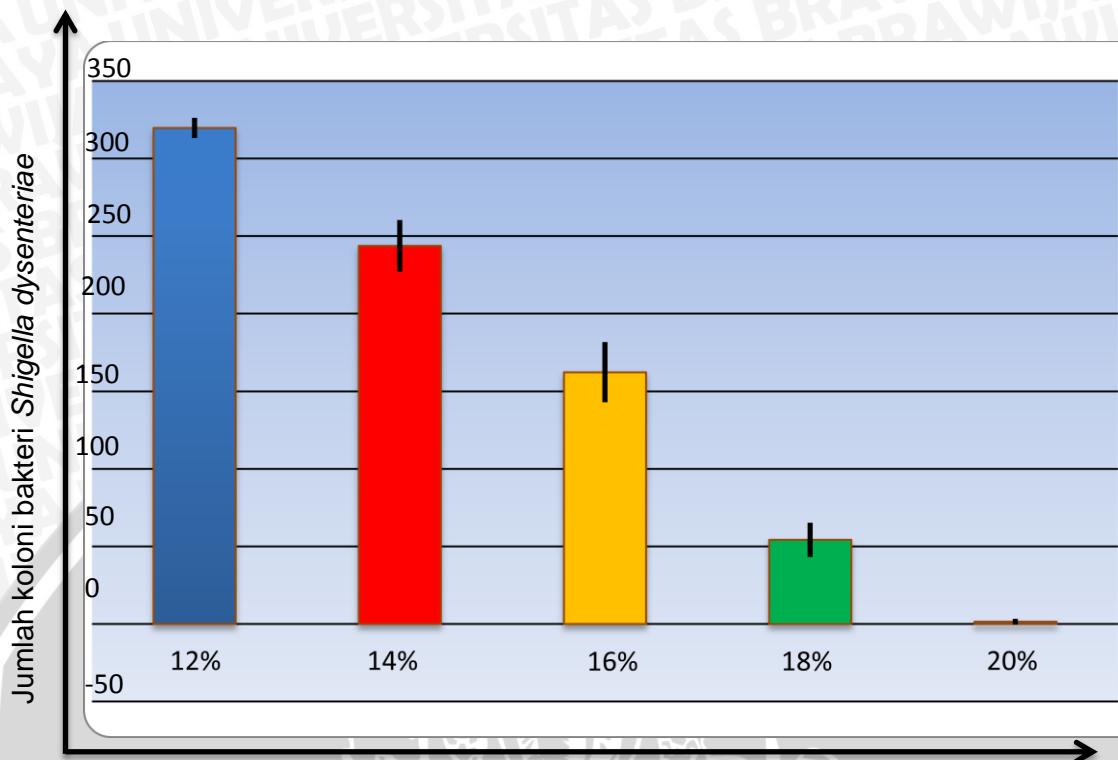
di NAP dapat dilihat pada Tabel 5.2. Jumlah koloni dihitung dengan menggunakan *colony counter*.

Tabel 5.2. Jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada NAP per 1 ose

Konsentrasi	Pengulangan				Jumlah	Rerata	Standar deviasi
	I	II	III	IV			
0%	570	688	543	521	2322	580,5	± 74,4
12%	312	328	319	320	1279	319,7	± 6,5
14%	260	221	250	244	975	243,7	± 16,5
16%	174	150	183	142	649	162,2	± 19,3
18%	42	57	68	50	217	54,2	± 11,0
20%	0	4	2	0	6	1,5	± 1,9

Keterangan : 1 ose = 1/1000 ml

Data pada Tabel 5.2. kemudian dibuat grafik yang menunjukkan hubungan antara jumlah koloni yang tumbuh pada media NAP terhadap pemberian berbagai konsentrasi ekstrak daun pepaya. Pada grafik tersebut menunjukkan adanya penurunan jumlah koloni *Shigella dysenteriae* yang bermakna seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak daun pepaya. Kecenderungan perubahan konsentrasi ekstrak daun pepaya terhadap jumlah koloni bakteri dapat dilihat pada Gambar 5.5.



Besar konsentrasi ekstrak daun pepaya

Gambar 5.5. Grafik jumlah koloni *Shigella dysenteriae* pada pemberian berbagai konsentrasi ekstrak daun pepaya.

5.1.5. Analisis Data

Data yang digunakan dalam analisis statistik adalah data nilai rerata yang terdapat pada Tabel 5.2. Untuk melakukan uji dengan ANOVA, terlebih dahulu harus dipenuhi asumsi yang mendasari uji ANOVA yaitu normalitas (uji *Kolmogorv-Smirnov*) dan homogenitas (uji *Levene test*). Uji normalitas dilakukan tidak bersamaan dengan uji ANOVA, sementara uji homogenitas dilakukan bersamaan dengan uji ANOVA.

5.1.5.1. Uji ANOVA

Uji ANOVA (lampiran 1) digunakan untuk mengetahui signifikansi pengaruh konsentrasi ekstrak terhadap hasil penghitungan jumlah koloni bakteri. Sebelum uji ANOVA dilaksanakan harus dipenuhi terlebih dahulu dua syarat yaitu data harus terdistribusi secara normal dan variasi data harus homogen. Hasil uji ANOVA dengan data awal diketahui Uji Levena test menunjukkan nilai signifikansi $0,024 < 0,05$. Hal ini disimpulkan bahwa homogenitas data jumlah koloni belum terpenuhi sehingga uji ANOVA tidak dapat dilanjutkan. Agar uji ANOVA dapat dilanjutkan maka harus dilakukan tranformasi data jumlah koloni dengan tranformasi akar kuadrat. Uji *Kolomogrv-Smirnov* (lampiran 3) digunakan untuk mengetahui apakah distribusi data normal atau tidak. Pada uji ini diperoleh nilai signifikansi 0,687 (distribusi normal apabila $p > 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa data jumlah koloni dari konsentrasi 12% hingga 20% telah menyebar menurut distribusi normal. Sedangkan uji Levene didapatkan *homogeneity of variances* dengan *significancy* 0,092 (lampiran 3). Hal ini menunjukkan bahwa variasi data adalah sama, karena variasi data dikatakan sama apabila nilai $p > 0.05$.

Dengan uji ANOVA didapatkan hasil signifikansi 0.00 ($p < 0.05$). Hal ini menunjukkan terdapat perbedaan jumlah koloni yang bermakna pada dua kelompok konsentrasi. Untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda, analisis statistik dilanjutkan dengan Uji *Post Hoc Tuckey HSD*.

5.1.5.2. Uji *Post Hoc Tuckey HSD (Honestly Significance Difference)*

Uji *Post Hoc Tukey* merupakan uji perbandingan berganda untuk menunjukkan pasangan kelompok sampel (kelompok perlakuan atau konsentrasi

dan jumlah koloni) yang memberikan perbedaan yang signifikan dan yang tidak memberikan perbedaan secara signifikan. Dari hasil uji *Post Hoc Tukey* didapatkan hasil untuk setiap pasangan konsentrasi menunjukkan nilai signifikansi yang semuanya lebih kecil dari 0.05. Hal tersebut berarti setiap pasangan konsentrasi daun pepaya memberikan jumlah koloni yang berbeda nyata. Semakin besar konsentrasi yang diberikan maka jumlah koloni bakteri semakin sedikit.

Tabel 5.3 Jumlah Koloni pada Uji Tukey HSD

Jumlah Koloni						
Tukey HSD ^a						
Konsentrasi	N	Subset for alpha = .05				
		1	2	3	4	5
20%	4	1,50				
18%	4		54,25			
16%	4			162,25		
14%	4				243,75	
12%	4					319,75
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

5.1.5.3. Uji Korelasi dan Regresi

Uji Korelasi dan regresi (lampiran 5) digunakan untuk mengetahui kekuatan korelasi dan besarnya pengaruh konsentrasi ekstrak daun *pepaya* terhadap jumlah koloni *Shigella dysenteriae*.. Untuk melakukan uji ini terlebih dahulu harus dilakukan uji normalitas pada data regresi dan besarnya konsentrasi karena data jumlah koloni yang digunakan adalah data yang telah di transformasi. Sesuai uji ini didapatkan normalitas pada data konsentrasi dan akar kuadrat jumlah koloni

menyebar normal (nilai signifikansi keduanya > 0.05). Dengan demikian korelasi yang digunakan adalah *pearson correlation*.

Dari pengolahan statistik didapatkan hasil besarnya koefisien korelasi adalah $-0,976$ dengan nilai $p = 0,000 (< 0.05)$. Hal ini menunjukkan terdapat hubungan yang nyata antara konsentrasi dan jumlah koloni. Koefisien -0.976 menunjukkan hubungan yang sangat kuat karena nilainya lebih besar dari $0,5$. Tanda negatif berarti terdapat hubungan yang berlawanan, artinya semakin besar konsentrasi ekstrak daun *Carica papaya L* yang digunakan maka jumlah koloni *Shigella dysenteriae* semakin sedikit.

Analisis Regresi (lampiran 6) digunakan untuk menentukan model yang paling sesuai untuk pasangan data serta dapat digunakan untuk membuat model dan menyelidiki hubungan antara dua variabel atau lebih. Dalam penelitian ini uji Regresi digunakan untuk mengetahui sejauh mana hubungan antara peningkatan konsentrasi dengan kemampuan penghambatan terhadap koloni. Koefisien korelasi *R Square* (R^2) sebesar $0,953$ menyatakan besarnya derajat keeratan hubungan antara konsentrasi ekstrak daun pepaya dengan jumlah koloni *Shigella dysenteriae* yaitu $95,3\%$. Hal ini berarti kontribusi pemberian ekstrak daun pepaya dalam menurunkan jumlah koloni bakteri *Shigella dysenteriae* sebesar $95,3\%$ sedangkan sisanya $4,7\%$ disebabkan oleh faktor-faktor lain yang tidak diteliti. Hubungan antara perubahan konsentrasi ekstrak daun pepaya dengan pertumbuhan koloni bakteri *Shigella dysenteriae* dapat dinyatakan dengan rumus : $Y = 43,893 - 2,053X$, dimana Y adalah jumlah koloni bakteri *Shigella dysenteriae*, sedangkan X adalah konsentrasi ekstrak daun pepaya. Hal ini berarti tanpa pemberian ekstrak daun pepaya maka jumlah koloni bakteri *Shigella dysenteriae* akan meningkat konstan sebesar $43,893$, sedangkan

dengan peningkatan konsentrasi ekstrak daun pepaya sebesar 1% akan menyebabkan penurunan jumlah bakteri *Shigella dysenteriae* hingga 2,053 koloni.

