

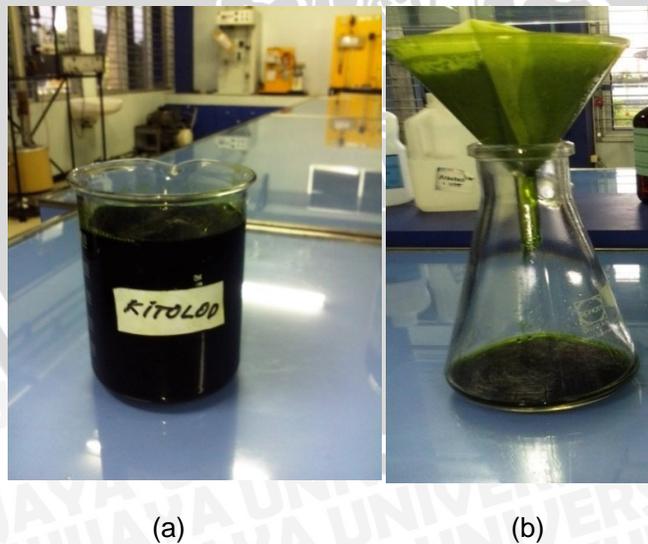
## BAB 5

## HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

## 5.1 Hasil Penelitian

## 5.1.1 Hasil Ekstraksi Daun Kitolod

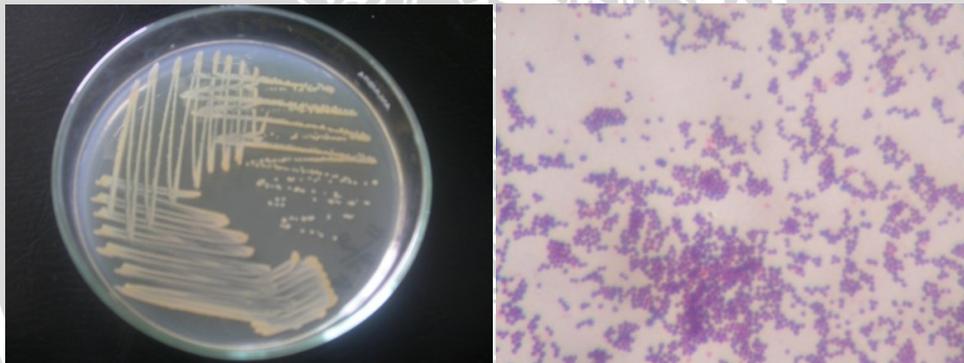
Dalam penelitian ini digunakan daun kitolod tua yang diperoleh dari Balai Materia Medika, Batu, Malang. Selanjutnya, daun tersebut diekstraksi dengan metode maserasi di Laboratorium Kimia Politeknik Negeri Malang. Daun kitolod kering sebanyak 200 gram dilarutkan dengan pelarut etanol 96% sebanyak 600 ml dan didiamkan selama minimal 2 x 24 jam. Setelah maserasi, dilakukan penyaringan dengan menggunakan kertas saring *whatman*. Filtrat dari penyaringan ini kemudian dievaporasikan dengan menggunakan *rotary-evaporator* pada temperatur 40°C. Dari hasil ekstraksi pada gambar 5.1, diperoleh ekstrak etanol daun kitolod berupa 25 ml cairan kental berwarna hijau gelap yang jernih.



Gambar 5.1 (a) Proses maserasi daun kitolod dengan pelarut etanol 96%;  
(b) Penyaringan filtrat hasil maserasi dengan kertas saring *whatman*

### 5.1.2 Hasil Identifikasi *S. aureus*

Dalam penelitian ini digunakan empat isolat *S. aureus* yang berasal dari swab tenggorok dan diperoleh dari Rumah Sakit Saiful Anwar Malang. Selanjutnya bakteri tersebut diidentifikasi ulang di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Masing-masing isolat bakteri kemudian digoreskan pada medium NAP dan diidentifikasi dengan pewarnaan Gram. Bentuk koloni *S. aureus* pada media NAP berupa koloni bulat, transparan, menonjol, mengkilat, dan halus. Saat diidentifikasi dengan pewarnaan Gram, dan diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000x akan tampak gambaran bakteri bentuk kokus yang tersusun seperti buah anggur dan berwarna ungu (gram positif).



(a)

(b)

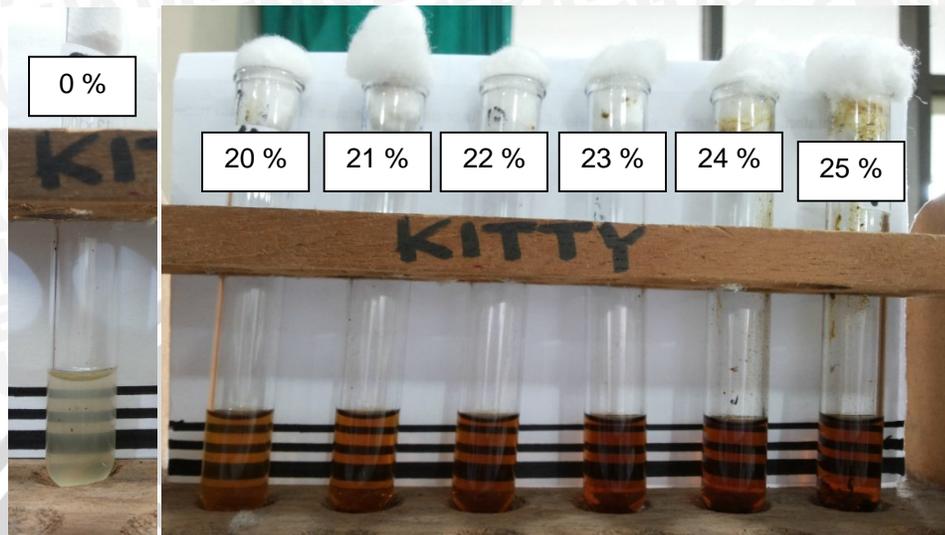
**Gambar 5.2 (a) Koloni *S. aureus* pada NAP (koloni halus, konveks, berwarna kuning emas); (b) bakteri *S. aureus* setelah dilakukan pengecatan Gram (perbesaran 1000x)**

Tahap selanjutnya dilakukan uji katalase dan koagulase dan hasilnya positif. Langkah selanjutnya dilakukan uji dengan menggunakan medium *Mannitol Salt Agar (MSA)*. Masing-masing isolat bakteri digoreskan pada medium

MSA dan hasilnya adalah positif yaitu koloni *S. aureus* memfermentasikan mannitol dan membentuk koloni kuning dengan zona kuning.

### 5.1.3 Hasil Uji Dilusi Tabung

Pada penelitian ini digunakan enam macam konsentrasi ekstrak etanol daun kitolod (*Isotoma longiflora*) yaitu 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25% serta konsentrasi 0% (kontrol kuman atau bakteri tanpa ekstrak) dan konsentrasi 50% sebagai kontrol bahan atau bahan ekstrak tanpa bakteri. KHM (Kadar Hambat Minimal) atau MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) adalah kadar terendah dari antimikroba yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri (ditandai dengan tidak adanya kekeruhan pada tabung), setelah diinkubasikan selama 18-24 jam (Dzen *et al*, 2003). Tingkat kekeruhan larutan ekstrak etanol daun kitolod diamati untuk menentukan KHM. Uji dilusi tabung dengan konsentrasi 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, serta kontrol kuman dapat dilihat pada Gambar 5.3.



**Gambar 5.3 Hasil Dilusi Tabung Ekstrak Etanol Daun Kitolod Berbagai Konsentrasi**

Keterangan :

- 0% : tabung dengan konsentrasi ekstrak etanol daun kitolod 0% v/v
- 20% : tabung dengan konsentrasi ekstrak etanol daun kitolod 20% v/v
- 21% : tabung dengan konsentrasi ekstrak etanol daun kitolod 21% v/v
- 22% : tabung dengan konsentrasi ekstrak etanol daun kitolod 22% v/v
- 23% : tabung dengan konsentrasi ekstrak etanol daun kitolod 23% v/v
- 24% : tabung dengan konsentrasi ekstrak etanol daun kitolod 24% v/v
- 25% : tabung dengan konsentrasi ekstrak etanol daun kitolod 25% v/v

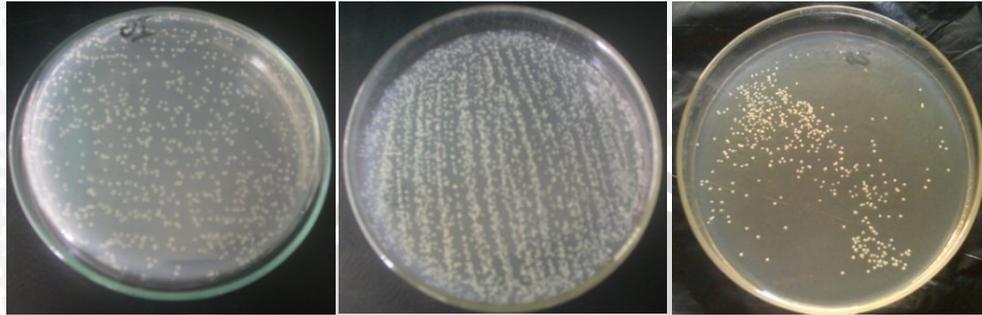
Berdasarkan hasil uji dilusi tabung setelah diinkubasi, dapat diamati bahwa pada tabung 20% masih sangat keruh yang artinya masih sangat banyak bakteri yang tumbuh, pada tabung 21% tampak keruh yang artinya banyak bakteri yang tumbuh, pada tabung 22% tampak sedikit keruh yang artinya bakteri yang tumbuh sedikit sedangkan pada tabung 23% mulai tampak jernih yang artinya sangat sedikit bakteri yang tumbuh. Tabung 24% dan 25% tampak jernih yang artinya nyaris tidak ada bakteri yang tumbuh. Tabung 23% merupakan tabung dengan konsentrasi ekstrak terkecil yang mulai tampak jernih sehingga

dapat ditentukan bahwa KHM dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak etanol daun kitolod 23% v/v.

#### 5.1.4 Hasil Pengukuran Pertumbuhan *S. aureus* pada Medium NAP

Setelah tabung diinkubasikan selama 18-24 jam pada suhu 37°C dan diamati tingkat kekeruhannya untuk melihat KHM, tiap konsentrasi ekstrak tersebut digoreskan penuh dalam NAP. Kemudian NAP diinkubasikan lagi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Keesokannya dilakukan penghitungan jumlah koloni yang tumbuh pada masing-masing konsentrasi NAP dengan menggunakan colony counter. Hal ini berlaku pada keempat isolat bakteri *S. aureus* untuk melihat kadar bunuh minimum (KBM).

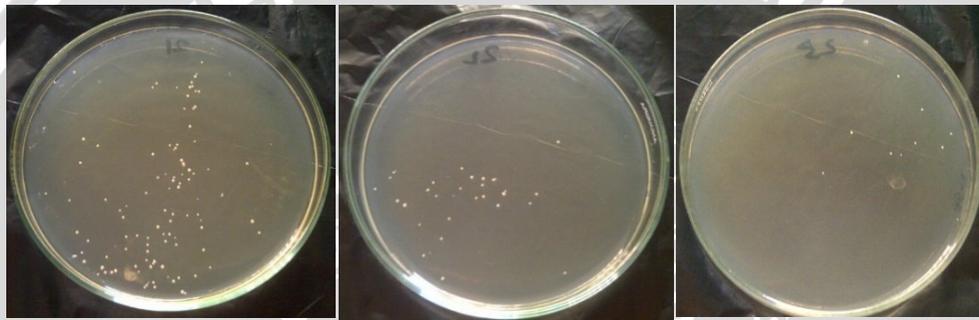
KBM (Kadar Bunuh Minimal) atau MBC (Minimal Bactericidal Concentration) adalah kadar terendah dari antibakteri yang dapat membunuh bakteri (ditandai dengan tidak tumbuhnya bakteri pada NAP) atau pertumbuhan koloninya kurang dari 0,1% dari jumlah koloni inokulum awal (original inoculum/OI) pada medium NAP yang telah dilakukan penggoresan sebanyak satu ose (Dzen *et al*, 2003). Hasil penggoresan pada NAP dapat dilihat pada Gambar 5.4.



Original Inoculum (OI)

Kontrol Kuman (KK)  
0% v/v

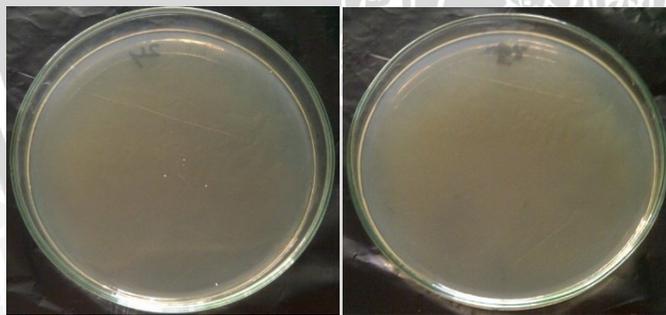
Konsentrasi Ekstrak  
20% v/v



Konsentrasi Ekstrak  
21% v/v

Konsentrasi Ekstrak  
22% v/v

Konsentrasi Ekstrak  
23% v/v



Konsentrasi Ekstrak  
24% v/v

Konsentrasi Ekstrak  
25% v/v

**Gambar 5.4 Jumlah Koloni *S. aureus* pada Media NAP setelah perlakuan dengan Ekstrak Etanol Daun Kitolod**

Dari hasil pertumbuhan dan penghitungan koloni keempat isolat bakteri *S. aureus* tersebut dapat ditentukan kadar bunuh minimal dari ekstrak etanol daun

kitolod yaitu NAP yang tidak ditumbuhi koloni atau jumlah koloni < dari 0,1% dari *original inoculum*. KBM terlihat pada konsentrasi ekstrak 25% pada keempat isolat *S. aureus* yang diteliti. Konsentrasi 24% bukan merupakan KBM karena rerata jumlah koloninya lebih besar dari 0,1 rerata OI, sehingga didapatkan KBM pada konsentrasi 25% karena pada konsentrasi tersebut rerata jumlah koloninya lebih kecil dari 0,1% rerata OI. Selain itu, pada konsentrasi 25% tidak menunjukkan adanya pertumbuhan koloni bakteri *S. aureus*. Hasil penghitungan koloni yang tumbuh di NAP pada masing-masing dapat dilihat pada tabel 5.1. Jumlah koloni dihitung dengan menggunakan *colony counter*.

**Tabel 5.1 Jumlah Koloni *S. aureus* pada Media NAP per ose (10 $\mu$ l)**

Konsentrasi (dalam % v/v)	Jumlah Koloni per isolat				Jumlah	Rerata $\pm$ SD
	I	II	III	IV		
KK 0%	1180	1170	1163	1176	4689	1172,25 $\pm$ 7,41
20%	368	357	360	350	1435	358,75 $\pm$ 7,46
21%	108	102	95	103	408	102,00 $\pm$ 5,35
22%	32	23	35	27	117	29,25 $\pm$ 5,32
23%	2	10	3	12	27	6,75 $\pm$ 4,99
24%	1	1	4	4	10	2,50 $\pm$ 1,73
25%	0	0	0	0	0	0,00 $\pm$ 0,00
KB	0	0	0	0	0	0,00 $\pm$ 0,00
OI	1068	1182	1004	1137	4391	1097,75 $\pm$ 78,13

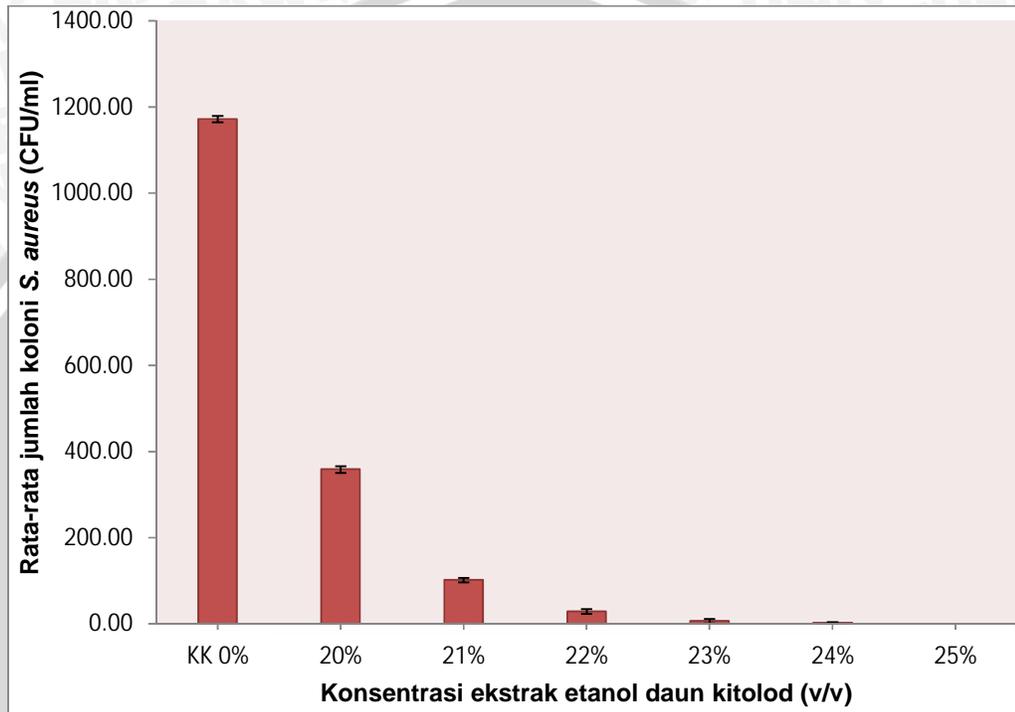
Keterangan :

KK : Kontrol Kuman

KB : Kontrol Bahan

OI : Original Inoculum

Data pada Tabel 5.1 dibuat grafik yang menunjukkan hubungan antara pemberian berbagai konsentrasi ekstrak etanol daun kitolod dengan jumlah koloni *S. aureus* yang tumbuh pada medium NAP.



Gambar 5.5 Grafik Rerata Jumlah Koloni *S. aureus* setelah Perlakuan dengan Ekstrak Etanol Daun Kitolod

## 5.2 Analisis Data

Hasil penelitian ini kemudian dianalisis dengan menggunakan software SPSS versi 20 untuk *Windows*. Data penelitian berupa hasil perhitungan jumlah koloni *S. aureus* dari setiap konsentrasi ekstrak etanol daun kitolod dianalisis dengan uji statistik *one-way* ANOVA dan dilanjutkan dengan uji korelasi dan regresi.

Sebagai prasyarat analisis statistik parametrik diperlukan beberapa pengujian pendahuluan. Uji prasyarat tersebut adalah uji normalitas dan uji homogenitas ragam. Data sampel diuji dengan uji normalitas *Kolmogorov-*

*Smirnov* untuk mengetahui apakah data memiliki distribusi yang normal atau tidak. Syarat menggunakan uji parametrik *One-Way ANOVA* adalah data memiliki distribusi yang normal yaitu bila nilai signifikansinya lebih dari 0,05 ( $p > 0,05$ ). Sedangkan syarat varian data atau homogenitas harus sama adalah nilai signifikansi  $> 0,05$  dengan menggunakan uji *Levene test*.

Dari hasil uji normalitas (Lampiran 1) didapatkan nilai signifikansi 0,905 ( $p > 0,05$ ) yang berarti data terdistribusi normal. Selain itu diperlukan uji homogenitas varian data sebelum memasuki uji *One-Way ANOVA*. Berdasarkan hasil uji homogenitas (Lampiran 1) didapatkan nilai signifikansi yaitu 0,053 ( $p > 0,05$ ) yang berarti bahwa varian data adalah homogen. Setelah kedua uji prasyarat *one-way ANOVA* terpenuhi maka selanjutnya data dianalisis dengan

uji statistik *one-way ANOVA*, Korelasi *Pearson* dan Regresi Linier Sederhana.

### 5.2.1 Uji *One-Way ANOVA*

*One-Way ANOVA* merupakan untuk mengetahui perbedaan nyata antar konsentrasi ekstrak etanol daun kitolod terhadap pertumbuhan koloni *S. aureus*. Dari hasil uji *One-Way ANOVA* (Lampiran 2) didapatkan angka signifikansi 0,000 ( $p < 0,05$ ). Hal ini menunjukkan bahwa efek perubahan konsentrasi ekstrak etanol daun kitolod terhadap jumlah koloni empat isolat *S. aureus* adalah berbeda secara signifikan pada taraf kepercayaan 95%.

### 5.2.2 Uji *Post Hoc Tukey*

Uji *Post Hoc Tukey* merupakan uji perbandingan berganda (*multiple comparison*). Uji ini menunjukkan kelompok perlakuan yang memberikan efek

yang signifikan. Dari hasil uji *Post Hoc Tukey* dapat diketahui bahwa ada perbedaan yang signifikan hampir di setiap kelompok perlakuan. Hasil uji tersebut dapat dilihat pada Tabel 5.2 dimana hanya pada konsentrasi ekstrak etanol daun kitolod 23%, 24% dan 25% tidak menunjukkan perbedaan efek yang signifikan pada pertumbuhan jumlah koloni (nilai signifikansi 0,558 atau lebih dari 0,05). Hal ini menunjukkan bahwa antar konsentrasi 23%, 24% serta 25%, rerata jumlah koloni empat *S. aureus* yang tumbuh tidak berbeda secara signifikan.

**Tabel 5.2 Tabel Tukey HSD  
Jumlah Koloni *S. aureus***

Konsentrasi ekstrak etanol daun kitolod (dalam % v/v)	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
25	4	,0000				
24	4	2,5000				
23	4	6,7500				
22	4		29,2500			
21	4			102,0000		
20	4				358,7500	
0	4					1172,2500
Sig.		,558	1,000	1,000	1,000	1,000

### 5.2.3 Uji Korelasi dan Regresi

Hasil Uji Korelasi (Lampiran 3) menunjukkan angka signifikansi 0,000 ( $p < 0,05$ ) yang berarti terdapat hubungan yang bermakna antara pemberian ekstrak

etanol daun kitolod dengan jumlah koloni *S. aureus*. Pada Tabel 5.3 dapat dilihat dimana besar koefisien korelasi Pearson yaitu  $R = -0,983$ . Tanda negatif menunjukkan hubungan yang terbalik yaitu bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol daun kitolod maka semakin sedikit jumlah koloni bakteri yang tumbuh, dan sebaliknya. Nilai 0,983 menunjukkan bahwa koefisien korelasinya sangat kuat (nilai lebih dari 0,5).

**Tabel 5.3 Hasil Uji Korelasi Pearson**

Keterangan	R	p	Kesimpulan
Pemberian ekstrak etanol daun kitolod ( <i>Isotoma longiflora</i> ) sebagai antibakteri terhadap jumlah bakteri <i>S. aureus</i> yang dihasilkan pada media agar padat	-0.983	0.000 ( $p < 0.05$ )	Ada korelasi yang signifikan dan sangat kuat

Analisis Regresi 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 pertumbuhan koloni.

**Tabel 5.4 Hasil Analisis Regresi Linier Sederhana**

Persamaan regresi	R kuadrat
$Y = 1181,236 - 48,868 X$	0,967

Keterangan:

Y = Jumlah koloni bakteri *S. aureus*

X = Konsentrasi ekstrak etanol daun kitolod

Koefisien korelasi R Square ( $R^2$ ) sebesar 0,967 menyatakan besarnya derajat keeratan hubungan antara konsentrasi ekstrak etanol daun kitolod dengan jumlah koloni *S. aureus* yaitu sebesar 96,7%. Hal ini berarti kontribusi pemberian ekstrak etanol daun kitolod dalam menurunkan jumlah koloni *S. aureus* sebesar 96,7%, sedangkan sisanya 3,3% disebabkan oleh faktor-faktor lain yang tidak diteliti, misalnya seperti faktor resistensi bakteri terhadap ekstrak etanol daun kitolod dan pengaruh lama penyimpanan ekstrak.

Hubungan antara perubahan konsentrasi ekstrak etanol daun kitolod dengan pertumbuhan koloni *S. aureus* dapat dinyatakan dengan rumus  $Y = 1181,236 - 48,868 X$ . Y adalah jumlah koloni *S. aureus* sedangkan X adalah konsentrasi ekstrak etanol daun kitolod. Hal ini berarti setiap peningkatan konsentrasi ekstrak etanol daun kitolod sebanyak 1% akan menyebabkan penurunan jumlah koloni bakteri sebanyak 48,868.