

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

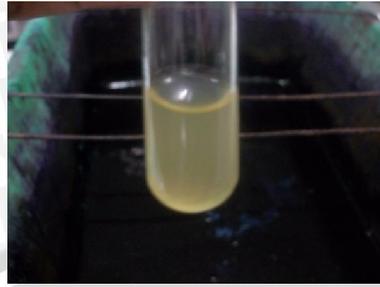
5.1 Hasil Identifikasi Bakteri *Streptococcus mutans*

Isolat bakteri *Streptococcus mutans* yang akan digunakan dalam penelitian ini dilakukan uji identifikasi bakteri terlebih dahulu. *Isolat* diidentifikasi dengan pewarnaan Gram, tes *katalase*, dan tes *optochin*. Setelah dilakukan pewarnaan Gram, *Streptococcus mutans* diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000x. Hasil pengamatan tersebut menunjukkan gambaran berbentuk bulat berwarna ungu yang membentuk rantai (Gambar 5.1). Hal ini menunjukkan bahwa bakteri yang diidentifikasi adalah bakteri Gram positif.



Gambar 5.1 Gambaran *Streptococcus mutans* Pada Pewarnaan Gram

Tes *katalase* dilakukan dengan menyediakan pembedihan cair bakteri *Streptococcus mutans* pada tabung reaksi kemudian ditetesi dengan larutan H_2O_2 3%. *Streptococcus mutans* menunjukkan hasil negatif. Hal tersebut ditandai dengan tidak tampak adanya gelembung udara (Gambar 5.2).



Gambar 5.2 Hasil Tes Katalase Terhadap *Streptococcus mutans*

Tes *optochin* yang dilakukan terhadap *Streptococcus mutans* menunjukkan hasil reaksi negatif. Hasil ini ditunjukkan dengan zona hambatan < 14 mm di sekeliling disk *optochin* (Gambar 5.3).

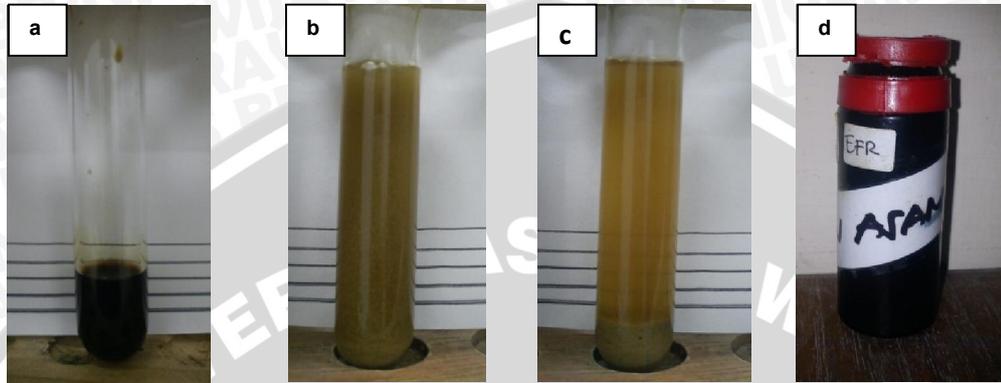


Gambar 5.3 Hasil Tes *optochin* pada *Streptococcus mutans*

5.2 Hasil Ekstraksi Etanol Daun Asam

Ekstrak etanol daun asam berbentuk cair, pekat, dan berwarna hitam (Gambar 5.4a). Jika dicampurkan dengan akuades, maka akan terlihat keruh dan berwarna coklat kehijauan (Gambar 5.4b). Larutan daun asam dengan akuades di dalam tabung reaksi yang didiamkan beberapa menit menghasilkan endapan berupa partikel-partikel kecil berwarna coklat muda di dasar tabung disertai cairan berwarna coklat kehijauan di atasnya (Gambar 5.4c). Sebanyak 100 gram daun

asam kering berbentuk serbuk yang dimaserasi menghasilkan 30 ml ekstrak etanol daun asam (Gambar 5.4d).



Gambar 5.4 Ekstrak Etanol Daun Asam

Keterangan:

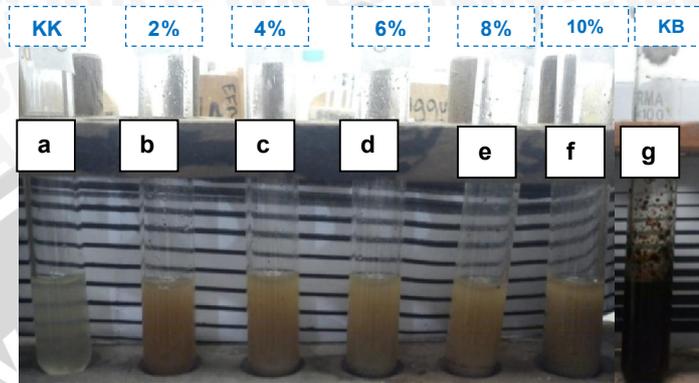
- a = Ekstrak etanol daun asam berwarna hitam
- b = Ekstrak etanol daun asam dicampurkan dengan akuades (keruh, berwarna coklat kehijauan)
- c = Ekstrak etanol daun asam) dicampurkan dengan akuades yang didiamkan beberapa menit (terbentuk endapan di dasar tabung)
- d = Ekstrak etanol daun asam dalam botol 30 ml

5.3 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri dengan Penentuan Nilai KHM

Sebelum dilakukan penelitian dengan konsentrasi inti, dilakukan penelitian pendahuluan terlebih dahulu. Rentang konsentrasi ekstrak yang digunakan adalah 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, dan 0%. Selanjutnya dilakukan dengan rentang konsentrasi yang lebih kecil. Hasil dari penelitian pendahuluan menunjukkan bahwa tidak terdapat pertumbuhan bakteri pada konsentrasi ekstrak 10%, sehingga penelitian inti dilakukan dengan menggunakan lima macam konsentrasi ekstrak daun asam, yaitu 10%, 8%, 6%, 4%, dan 2%.

Penentuan nilai KHM menggunakan metode *dilusi* tabung dilakukan dengan cara mengamati perbedaan tingkat kekeruhan larutan ekstrak etanol

daun asam dengan konsentrasi 10%, 8%, 6%, 4%, dan 2%. Hasil pengamatan menunjukkan perbedaan tingkat kekeruhan tidak dapat ditentukan (Gambar 5.5).



Gambar 5.5 Hasil Uji *Dilusi Tabung* Pada Berbagai Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Asam

Keterangan:

a = Kontrol Kuman (KK): campuran *Streptococcus mutans* dan akuades

b = Campuran bakteri dan ekstrak etanol daun asam konsentrasi 2%

c = Campuran bakteri dan ekstrak etanol daun asam konsentrasi 4%

d = Campuran bakteri dan ekstrak etanol daun asam konsentrasi 6%

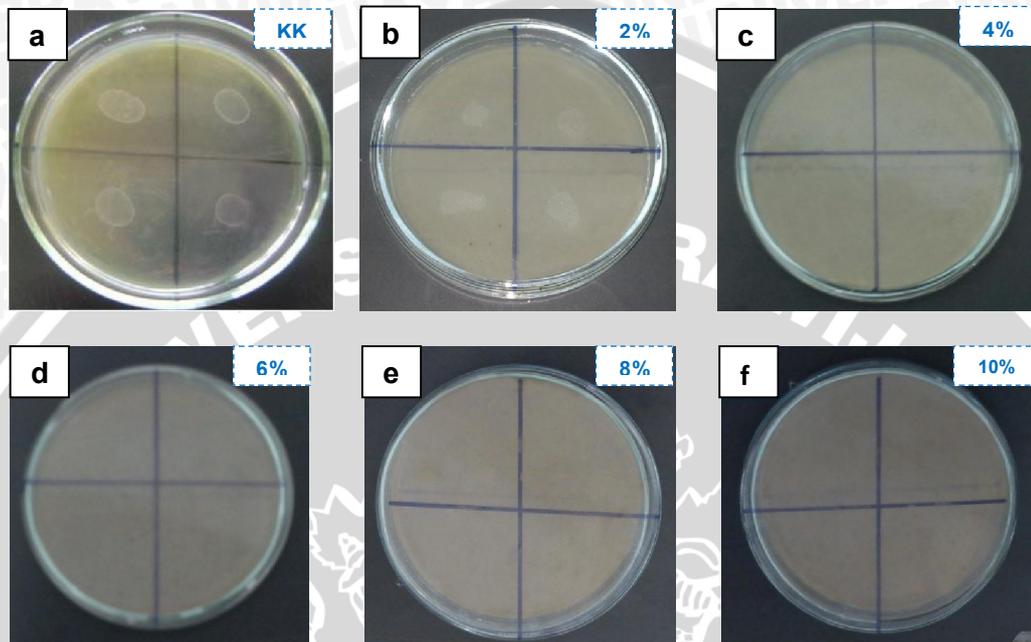
e = Campuran bakteri dan ekstrak etanol daun asam konsentrasi 8%

f = Campuran bakteri dan ekstrak etanol daun asam konsentrasi 10%

g = Kontrol Bahan (KB): campuran media BHIB dan ekstrak etanol daun asam konsentrasi 100%

Garis-garis hitam yang diletakkan di belakang tabung digunakan untuk membantu menilai kekeruhan. Berdasarkan gambar 5.5, perbedaan kekeruhan antar konsentrasi tidak dapat diamati karena semua tabung yang berisi ekstrak terlihat keruh. Garis-garis hitam tidak terlihat melewati tabung yang berisi ekstrak. Kesulitan dalam mengamati perbedaan tingkat kekeruhan pada metode *dilusi tabung* ini dikarenakan hasil maserasi ekstrak etanol daun asam berbentuk cairan keruh sejak awal. Kekeruhan juga disebabkan oleh *tanin* yang terdapat dalam ekstrak etanol daun asam mampu mengendapkan gelatin dan menggumpalkan protein yang merupakan komponen dari media BHIB. Berdasarkan hasil pengamatan tersebut, penilaian tingkat kekeruhan tiap

konsentrasi secara visual kualitatif untuk mendapatkan nilai KHM tidak dapat ditentukan sehingga dilakukan penelitian dengan metode *dilusi* agar.



Gambar 5.6 Hasil Uji *Dilusi* Agar Berbagai Tingkat Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Asam

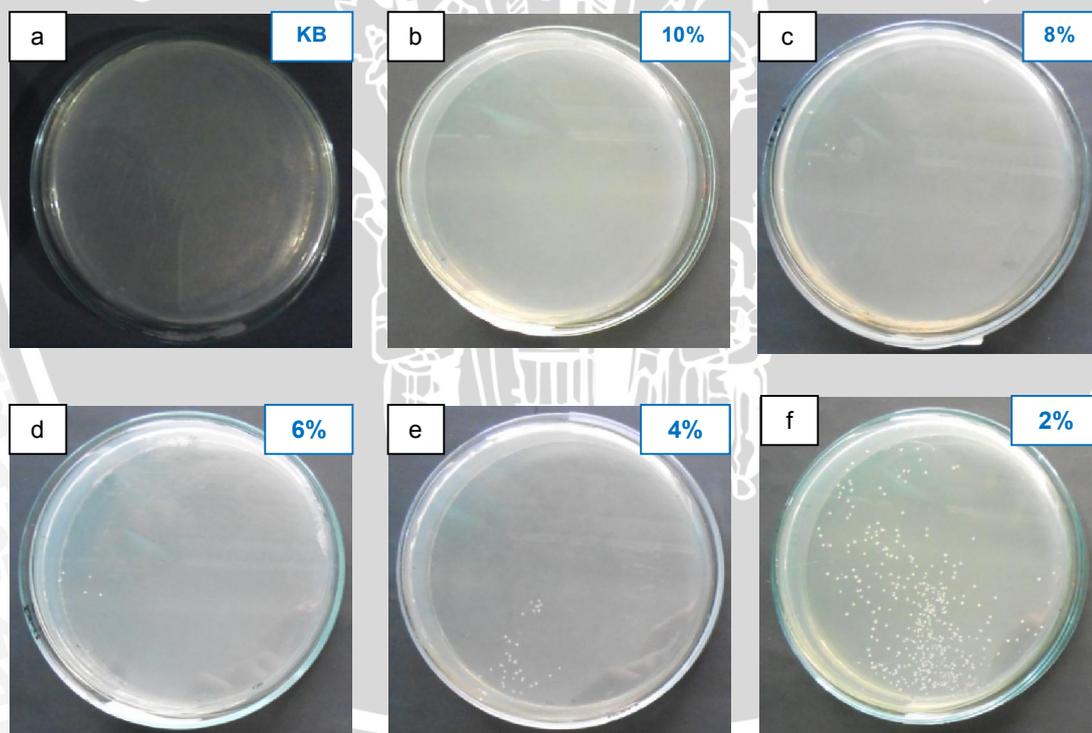
Keterangan:

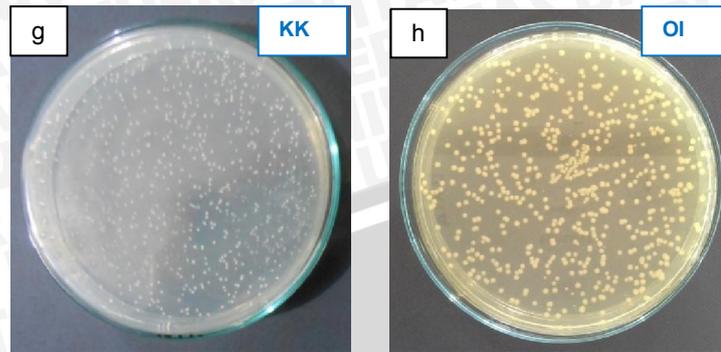
- BHIA dengan konsentrasi ekstrak 0% atau kontrol kuman (ada pertumbuhan kuman)
- BHIA dengan konsentrasi ekstrak 2% (ada pertumbuhan kuman)
- BHIA dengan konsentrasi ekstrak 4% (tidak ada pertumbuhan kuman)
- BHIA dengan konsentrasi ekstrak 6% (tidak ada pertumbuhan kuman)
- BHIA dengan konsentrasi ekstrak 8% (tidak ada pertumbuhan kuman)
- BHIA dengan konsentrasi ekstrak 10% (tidak ada pertumbuhan kuman)

Pengamatan terhadap hasil uji *dilusi* agar menunjukkan bahwa terdapat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* pada konsentrasi ekstrak 0% dan 2% (Gambar 5.6a, 5.6b), sedangkan pada konsentrasi ekstrak 4%, 6%, 8% dan 10% (Gambar 5.6c, 5.6d, 5.6e, 5.6f) tidak menunjukkan adanya pertumbuhan. Berdasarkan hasil pengamatan tersebut, nilai KHM ekstrak etanol daun asam terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* ditetapkan pada konsentrasi ekstrak 4%.

5.4 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Menggunakan Metode *Dilusi* Tabung Untuk Menentukan Nilai KBM

Metode *dilusi* tabung digunakan untuk menentukan nilai KBM. Metode ini dilakukan dengan cara menggoreskan suspensi *Streptococcus mutans* pada BHIA sebagai *original inoculum* (OI) dan menggoreskan masing-masing konsentrasi ekstrak yaitu 100% (KB), 10%, 8%, 6%, 4%, 2%, dan 0% (KK) pada BHIA. Kemudian BHIA diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Penghitungan jumlah koloni yang tumbuh pada masing-masing konsentrasi BHIA dihitung menggunakan *colony counter* (Tabel 5.1). Hasil penggoresan pada BHIA dan hasil perhitungan disajikan pada gambar 5.7 di bawah ini:





Gambar 5.7 Pertumbuhan Koloni *Streptococcus mutans* pada BHIA

Keterangan:

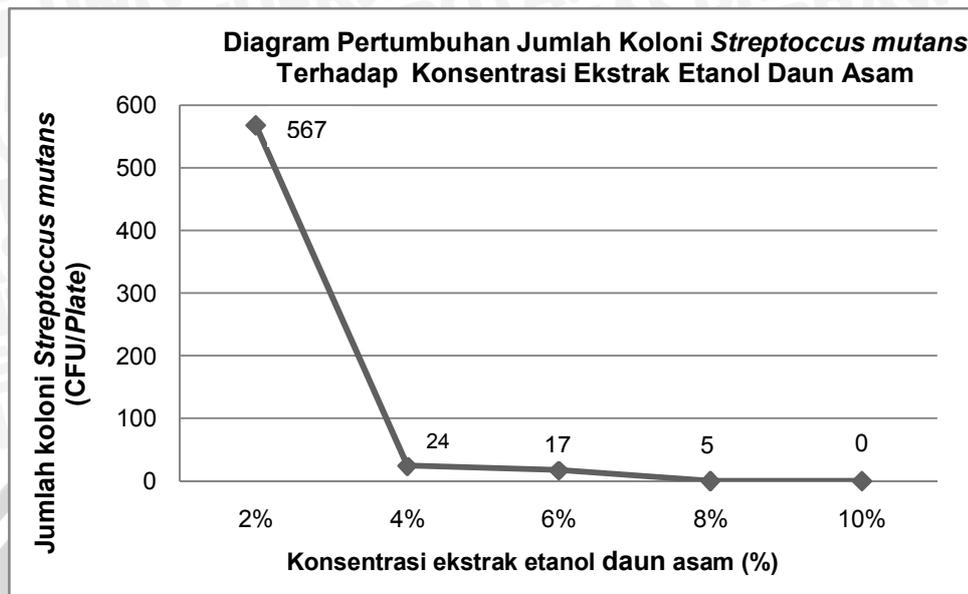
- a = Pertumbuhan koloni bakteri pada Kontrol Bahan
- b = Pertumbuhan koloni bakteri pada konsentrasi 10%
- c = Pertumbuhan koloni bakteri pada konsentrasi 8%
- d = Pertumbuhan koloni bakteri pada konsentrasi 6%
- e = Pertumbuhan koloni bakteri pada konsentrasi 4%
- f = Pertumbuhan koloni bakteri pada konsentrasi 2%
- g = Pertumbuhan koloni bakteri pada Kontrol Kuman
- h = Pertumbuhan koloni bakteri pada *Original Inoculum*

Rerata pertumbuhan koloni *Streptococcus mutans* pada *original inoculum* adalah sebanyak 1.298 CFU/plate (Gambar 5.7h). Penentuan KBM ekstrak etanol daun asam adalah pertumbuhan koloni yang kurang dari 0,1% *original inoculums* dimana 0,1% dari 1.298 adalah 1,298. Berdasarkan hasil pengamatan tersebut, konsentrasi 10% menunjukkan bahwa tidak ada pertumbuhan koloni bakteri pada BHIA (Gambar 5.7b) atau bisa dikatakan $<1,298$; sehingga konsentrasi 10% bisa ditetapkan sebagai KBM.

Tabel 5.1 Hasil Penghitungan Koloni Bakteri yang Tumbuh Pada BHIA

Konsentrasi	Rerata Jumlah Koloni <i>Streptococcus mutans</i> (CFU/Plate)	Standar Deviasi
100% (KB)	0	0
10%	0	0
8%	5	1,140
6%	17	4,183
4%	24	4,494
2%	567	107,348
0% (KK)	2694	26,425
OI	1298	0

Berdasarkan Tabel 5.1 dibuat diagram yang menunjukkan hubungan pertumbuhan koloni *Streptococcus mutans* dengan berbagai konsentrasi ekstrak etanol daun asam. Berdasarkan diagram tersebut, dapat diamati bahwa terjadi penurunan jumlah koloni seiring dengan peningkatan konsentrasi (Gambar 5.8).



Gambar 5.8 Diagram Pertumbuhan Jumlah Koloni *Streptococcus mutans* Terhadap Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Asam

Keterangan:

- Rerata jumlah koloni pada konsentrasi 2% sebesar 567 CFU/plate
- Rerata jumlah koloni pada konsentrasi 4% sebesar 24 CFU/plate
- Rerata jumlah koloni pada konsentrasi 6% sebesar 17 CFU/plate
- Rerata jumlah koloni pada konsentrasi 8% sebesar 5 CFU/plate
- Rerata jumlah koloni pada konsentrasi 10% sebesar 0 CFU/plate (tidak ada pertumbuhan)

5.6 Analisis Data

Analisis data menggunakan program SPSS (*Statistical Product of Service Solution*) for Windows versi 12.0. Penelitian ini menggunakan uji normalitas Kolmogorov-Smirnov, uji *oneway* ANOVA, dan uji korelasi Pearson, dilanjutkan uji regresi. Hasil uji normalitas Kolmogorov-Smirnov menunjukkan bahwa nilai signifikansi yang didapat sebesar 0,111 pada variabel jumlah bakteri dan 0,200 pada variabel konsentrasi. Nilai signifikansi kedua variabel tersebut lebih besar dari 0,05 ($p > 0,05$) sehingga distribusi data dianggap normal.

Data yang terdistribusi normal kemudian diuji menggunakan statistik parametrik yaitu uji *Oneway* ANOVA. Hasil uji *oneway* ANOVA menunjukkan

bahwa nilai signifikansi yang didapat sebesar 0,000 ($p < 0,01$). Berdasarkan hal tersebut, dapat dikatakan bahwa minimal satu dari konsentrasi yang digunakan memberi perbedaan efek yang bermakna dengan konsentrasi yang lain. Setelah dilakukan uji *oneway* ANOVA, analisis dilanjutkan dengan menggunakan *Post Hoc Tukey Test* untuk membandingkan perbedaan antara pemberian dua konsentrasi ekstrak etanol daun asam. Menurut hasil *Post Hoc Tukey Test* (Tabel 5.2), diketahui bahwa antara konsentrasi 2% dengan 4%, 2% dengan 6%, 2% dengan 8%, serta 2% dengan 10% nilai signifikansi yang didapat adalah 0,000. Hasil ini menunjukkan bahwa pemberian setiap pasangan konsentrasi tersebut memberikan perbedaan efek yang bermakna ($p < 0,01$). Hasil uji *Post Hoc Tukey* terhadap konsentrasi 4% dengan 6% menunjukkan bahwa nilai signifikansi yang didapat adalah 1,000; 4% dengan 8% didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,986; 4% dengan 10% didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,972; 6% dengan 8% didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,997; 6% dengan 10% didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,992; serta 8% dengan 10% didapatkan nilai signifikansi sebesar 1,000. Hasil ini menunjukkan pemberian kedua konsentrasi tersebut tidak memberikan perbedaan efek yang bermakna.

Tabel 5.2 Hasil Analisis Data dengan Metode *Post Hoc*

Konsentrasi	2%	4%	6%	8%	10%
2%	-	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
4%	0,000*	-	1,000	0,986	0,972
6%	0,000*	1,000	-	0,997	0,992
8%	0,000*	0,986	0,997	-	1,000
10%	0,000*	0,972	0,992	1,000	-

Keterangan: * = terdapat perbedaan/bermakna

Nilai signifikansi uji korelasi Pearson yang didapat adalah 0,000 ($p < 0,01$). Hal ini diartikan bahwa terdapat hubungan yang bermakna pada pemberian ekstrak etanol daun asam terhadap pertumbuhan koloni *Streptococcus mutans*. Nilai koefisien korelasi Pearson yang didapat adalah -0,717. Tanda negatif menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang berbanding terbalik terbalik, yaitu semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol daun asam maka semakin sedikit jumlah pertumbuhan koloni bakteri *Streptococcus mutans*, begitu juga sebaliknya. Nilai 0.717 menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang kuat antara perlakuan konsentrasi dengan pertumbuhan bakteri (nilai mendekati 1). Berdasarkan hasil uji *regresi*, didapatkan nilai R Square (R^2) sebesar 0,514 yang berarti bahwa efektivitas pemberian ekstrak etanol daun asam terhadap penurunan jumlah koloni bakteri *Streptococcus mutans* adalah sebesar 51,4%.

