

BAB V

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Data Hasil Penelitian

5.1.1 Identifikasi Bakteri *Streptococcus pyogenes*

Isolat bakteri *Streptococcus pyogenes* yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya. Identifikasi bakteri lebih dahulu dilakukan untuk memastikan bahwa bakteri tersebut merupakan *Streptococcus pyogenes*. Isolat bakteri yang telah dikultur pada media NA (*Nutrient Agar*) diidentifikasi dengan beberapa uji, yaitu uji pewarnaan Gram, katalase, dan cakram basitrasin.

Tahap pertama proses uji identifikasi bakteri adalah pewarnaan Gram. Setelah pewarnaan Gram selesai dilakukan, hasil isolat diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000x. Hasil pengamatan dari pewarnaan Gram menunjukkan gambaran koloni bakteri berwarna ungu yang berbentuk bulat, dan berantai (Gambar 5.1).



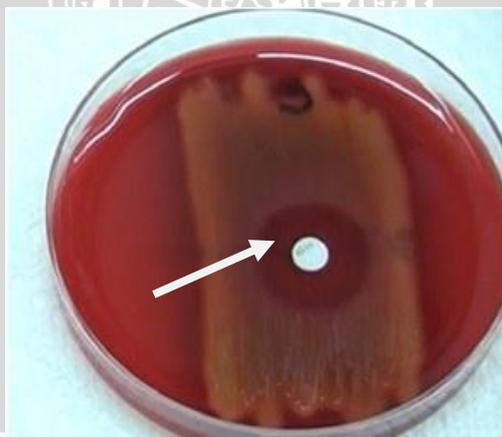
Gambar 5.1 Hasil Uji Pewarnaan Gram *Streptococcus pyogenes* dengan Mikroskop Perbesaran 1000x. Koloni berbentuk bulat dan membentuk rantai. Warna ungu menunjukkan bahwa bakteri ini termasuk Gram positif.

Tahap kedua adalah tes katalase. Hasil yang didapat adalah tidak terdapat gelembung udara saat perbenihan cair pada glass objek ditetesi dengan H_2O_2 3% (negatif). Tahap terakhir dari uji identifikasi bakteri adalah tes cakram basitrasin.



Gambar 5.2 Hasil Tes Katalase *Streptococcus pyogenes*. Hasil tes katalase negatif karena tidak ada gelembung yang terbentuk (panah putih).

Tahap ketiga adalah identifikasi bakteri didasarkan pada uji cakram basitrasin medium BAP (*Blood Agar Plate*). Hasil uji cakram basitrasin menunjukkan terdapatnya zona inhibisi disekeliling cakram basitrasin. Hal ini terlihat dari koloni *Streptococcus pyogenes* membuat sebagian *plate* tampak bening karena memiliki sifat β -hemolitik (Gambar 5.3).



Gambar 5.3 Hasil Uji Cakram Basitrasin *Streptococcus pyogenes*. Terlihat zona inhibisi pada plate, yaitu bagian yang terlihat bening di sekitar cakram (panah putih).

Berdasarkan hasil uji identifikasi bakteri yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar *Streptococcus pyogenes*.

5.1.2 Uji Eksplorasi

Konsentrasi perlakuan pada penelitian ini didapat dari uji eksplorasi. Eksplorasi pertama dilakukan dengan menggunakan barisan geometri atau ukur, yaitu 50%, 25%, 12.5%, 6.25%, 3.125%, dan 1.6%. Hasil uji eksplorasi pertama, tidak didapatkan pertumbuhan koloni bakteri *Streptococcus pyogenes* pada semua konsentrasi. Eksplorasi kedua dilakukan menggunakan konsentrasi 1,25%, 1%, 0,75%, 0,5%, dan 0,25%. Hasil eksplorasi kedua menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri pada konsentrasi 0,25%. Setelah itu dilakukan uji eksplorasi ketiga dengan perapatan dosis, yaitu menggunakan konsentrasi 0,4%, 0,35%, 0,3%, 0,25%, dan 0,2%. Ternyata pada uji eksplorasi ketiga, terdapat pertumbuhan bakteri pada semua konsentrasi. Karena itu kembali dilakukan perapatan dosis kembali pada uji eksplorasi empat. Konsentrasi pada uji eksplorasi keempat adalah 0,5%, 0,45%, 0,4%, 0,35%, dan 0,3%. pada konsentrasi 0,5% tidak didapati pertumbuhan bakteri, sedang pada konsentrasi yang lain terdapat pertumbuhan bakteri.

Uji eksplorasi kelima dilakukan dengan menggunakan konsentrasi 0,55%, 0,5%, 0,45%, 0,4%, dan 0,35%. Berdasarkan hasil uji eksplorasi ini, pada konsentrasi 0,55% dan 0,5% tidak didapat pertumbuhan koloni bakteri *Streptococcus pyogenes*, dan pada konsentrasi 0,45% dan seterusnya, jumlah koloni bakteri berangsur-angsur bertambah namun masih dapat diamati. Berdasarkan hasil yang ada, diambil konsentrasi 0,55%, 0,5%, 0,45%, 0,4%, dan 0,35% sebagai konsentrasi ekstrak pada penelitian ini (Lampiran 6).

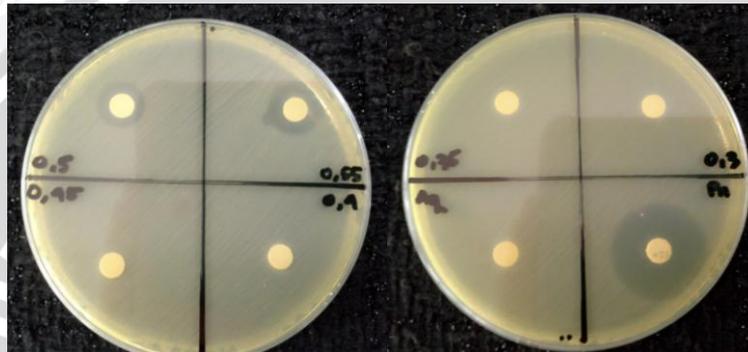
5.1.3 Hasil Pengamatan Kekeruhan dan Analisis terhadap KHM

Kadar Hambat Minimal (KHM) adalah kadar (konsentrasi) terendah bahan antibakteri yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri (ditandai dengan tidak adanya kekeruhan pada tabung) setelah diinkubasi selama 18-24 jam (Dzen *dkk.*, 2003). Kemudian dilakukan pengamatan tingkat kejernihan berdasarkan garis hitam dengan ketebalan yang berbeda sebagai latar belakang tabung.

Berdasarkan hasil pengamatan secara visual dan pengukuran tingkat kejernihan, didapatkan hasil pada semua tabung terlihat jernih. Tetapi bila diperhatikan, semakin tinggi konsentrasi minyak atsiri semakin keruh hasil dilusi tabung yang didapatkan. Hal ini dikarenakan hasil yang diperoleh dari destilasi bunga cengkeh berwarna kekuningan, sehingga semakin banyak jumlah minyak atsiri yang ditambahkan pada konsentrasi perlakuan, kekeruhan semakin tampak. Oleh karena itu, KHM (Kadar Hambat Minimal) tidak dapat ditentukan dengan uji ini (Lampiran 7).

Penentuan KHM akan dilakukan dengan uji cakram, karena pada dilusi tabung hasil tidak dapat ditentukan. Uji cakram dilakukan dengan cara melakukan *streaking* bakteri *Streptococcus pyogenes* pada *plate*. Lalu letakkan masing-masing *disk* yang telah direndam dalam kontrol positif, kontrol negatif, dan minyak atsiri dalam berbagai konsentrasi ke dalam *plate* tersebut. Uji ini akan menghasilkan area bening yang tidak ada pertumbuhan bakteri pada area sekitar *disk* yang memiliki zona hambat. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa pada kontrol positif, yaitu menggunakan penisilin, memiliki zona hambat dengan diameter 18 mm. Pada konsentrasi 0,55% memiliki zona hambat dengan diameter 10 mm dan pada konsentrasi 0,5% zona hambat berdiameter 8mm.

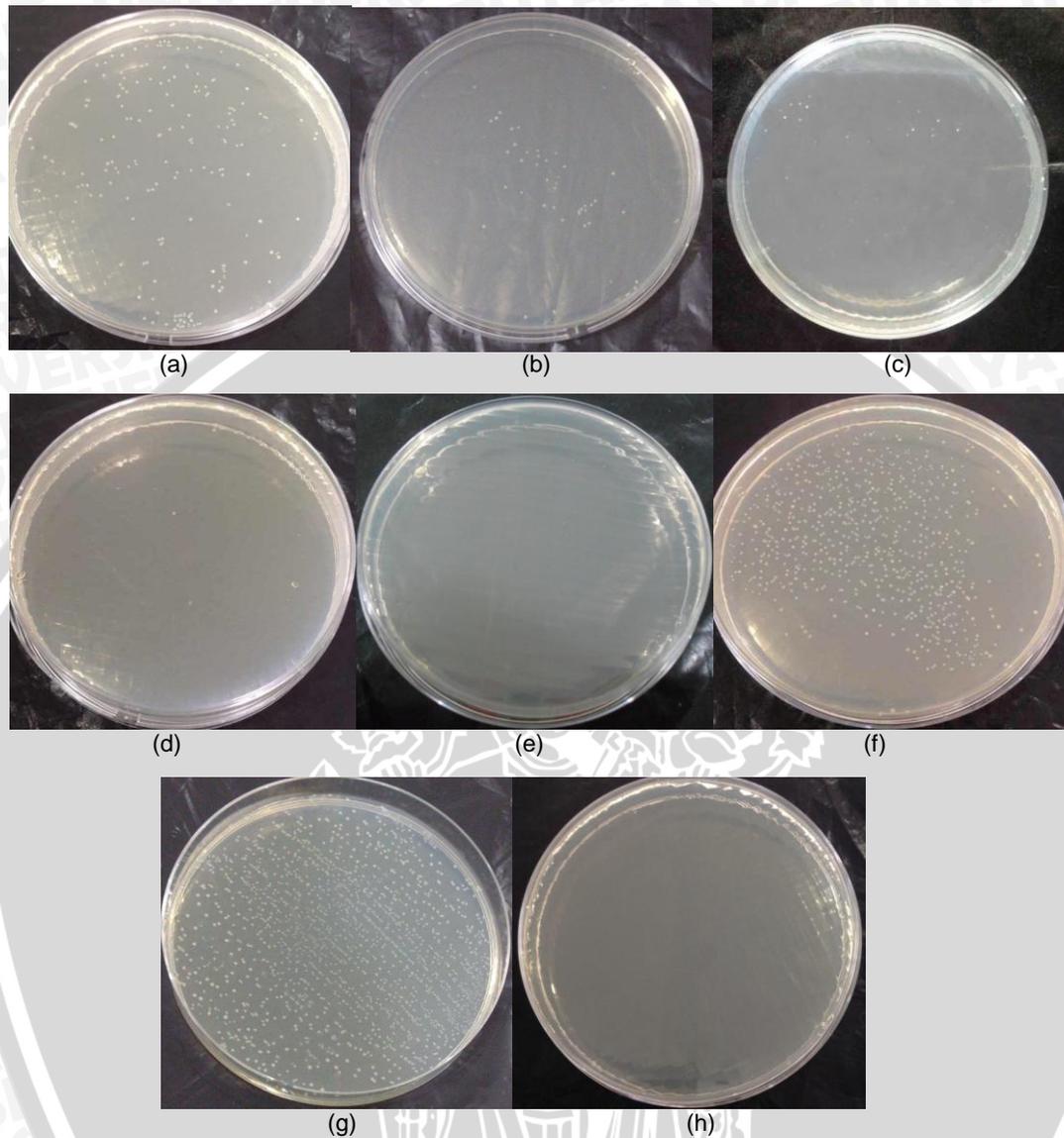
Sedangkan pada kontrol negatif, yaitu aquadest, dan konsentrasi yang lain zona hambat berdiameter 6 mm atau sesuai dengan diameter sesuai disk. Berdasarkan pengamatan dapat disimpulkan nilai KHM (Kadar Hambat Minimum) minyak atsiri bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum* Linn.) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus pyogenes* adalah 0,5% (Gambar 5.4).



Gambar 5.4 Hasil Tes Cakram. Terdapat zona hambat berdiameter 8 mm pada konsentrasi 0,5% yang merupakan Kadar Hambar Minimal dalam penelitian ini.

5.1.4 Hasil Penentuan KBM dan Analisis terhadap KBM

Penentuan KBM (Kadar Bunuh Minimal) dilakukan dengan mengisi tabung dengan suspensi bakteri *Streptococcus pyogenes* dan minyak atsiri dalam berbagai konsentrasi, lalu diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37° C. Kemudian masing-masing konsentrasi tabung yang telah berisi bakteri *Streptococcus pyogenes* dan minyak atsiri tersebut di *streaking* penuh pada BHIA (*Brain Heart Infusion Agar*) dan diinkubasi pada suhu 37° C selama 18-24 jam. Setelah diinkubasi dilakukan penghitungan jumlah koloni yang tumbuh pada masing-masing plate dengan menggunakan *colony counter*. Hasil *streaking* pada BHIA dapat dilihat pada Gambar 5.5.



Gambar 5.5 Pertumbuhan Koloni *Streptococcus pyogenes* pada BHIA. Kadar Bunuh Minimal terdapat pada konsentrasi 0,55%.

Keterangan gambar:

- (a) Pertumbuhan koloni pada konsentrasi minyak atsiri 0,35%
- (b) Pertumbuhan koloni pada konsentrasi minyak atsiri 0,4%
- (c) Pertumbuhan koloni pada konsentrasi minyak atsiri 0,45%
- (d) Pertumbuhan koloni pada konsentrasi minyak atsiri 0,5%
- (e) Pertumbuhan koloni pada konsentrasi minyak atsiri 0,55%
- (f) *Original Inoculum* (OI) bakteri *Streptococcus pyogenes*
- (g) Kontrol positif bakteri *Streptococcus pyogenes*
- (h) Kontrol negatif minyak atsiri bunga cengkeh

KBM (Kadar Bunuh Minimal) adalah kadar terendah dari antibakteri yang dapat membunuh bakteri ditandai dengan tidak tumbuhnya bakteri pada BHIA atau pertumbuhan koloni bakterinya kurang dari 0,1 % jumlah koloni bakteri pada OI (*Original Inoculum*) (Dzen dkk., 2003). Penghitungan koloni bakteri dilakukan menggunakan alat koloni counter, hasil penghitungan terdapat pada Tabel 5.1.

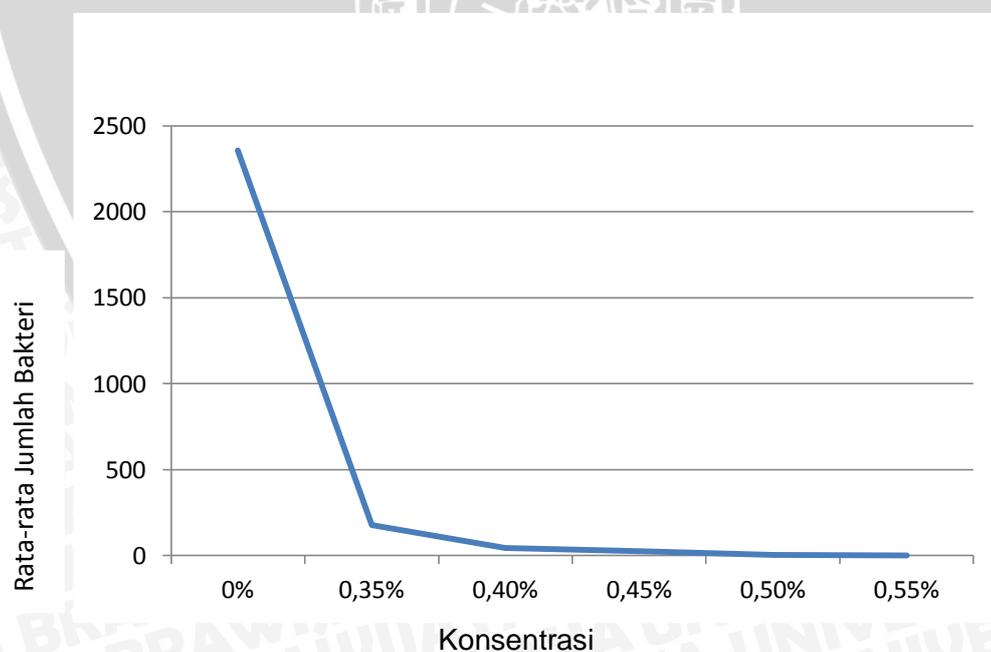
Tabel 5.1 Hasil Perhitungan Koloni *Streptococcus pyogenes* yang Tumbuh pada BHIA

Konsentrasi	Jumlah Koloni pada Pengulangan				Rata-rata
	10 ⁶ CFU/plate				
	1	2	3	4	
0%	2412	2631	1983	2397	2355,75
0,35%	171	168	175	190	176
0,4%	41	47	50	38	44
0,45%	23	31	18	28	25
0,5%	6	3	2	3	3,5
0,55%	0	0	0	0	0
OI	1349	1259	1191	1243	1260,5

Berdasarkan hasil penggoresan dan perhitungan koloni bakteri pada *colony counter* terlihat rerata bakteri pada OI (*Original Inoculum*) sebanyak 1260,5, yang artinya 0,1 % dari 1260,5 adalah 1,2605. Dapat disimpulkan nilai KBM (Kadar Bunuh Minimal) dari minyak atsiri bunga cengkeh berada pada konsentrasi 0,55%.

Dari Gambar 5.5 dan data pada Tabel 5.1 dapat diketahui bahwa pertumbuhan koloni bakteri *Streptococcus pyogenes* cenderung semakin menurun seiring meningkatnya konsentrasi minyak atsiri. Dengan demikian dapat dikatakan pemberian perlakuan minyak atsiri bunga cengkeh mempunyai pengaruh sebagai antibakteri yang berbeda tergantung dari besarnya konsentrasi yang diberikan.

Data pada Tabel 5.1 yang merupakan data hasil perhitungan jumlah koloni dibuat grafik rerata jumlah koloni yang menunjukkan hubungan antara pemberian berbagai konsentrasi minyak atsiri bunga cengkeh dengan jumlah koloni *Streptococcus pyogenes* yang tumbuh pada medium BHIA. Grafik rerata jumlah koloni menunjukkan adanya penurunan yang berarti pada peningkatan ekstrak minyak atsiri bunga cengkeh. Untuk mengetahui gambaran interaksi antara perubahan konsentrasi ekstrak terhadap rata-rata jumlah koloni, maka dapat disajikan pada Gambar 5.6.



Gambar 5.6 Grafik Rerata Jumlah Koloni terhadap Berbagai Konsentrasi Minyak Atsiri Bunga Cengkeh

5.2 Analisis Data

5.2.1 Uji Asumsi Data

Analisis data dilakukan dengan menggunakan program analisis statistik SPSS versi 17.0 untuk windows. Analisis data yang digunakan adalah uji *One Way ANOVA*, Analisis *Post Hoc Tukey*, dan pengujian korelasi dan regresi.

Prasyarat analisis statistik parametrik dibutuhkan beberapa pengujian pendahuluan. Syarat penggunaan uji parametric *One-Way Anova* adalah data terdiri dari 2 kelompok atau lebih, data memiliki distribusi yang normal dan homogen (Dahlan, 2006). Untuk itu dilakukan uji *Kolmogorov-Smirnov* untuk menentukan normalitas data dan uji *Levene* untuk menentukan homogenitas data.

5.2.1.1 Normalitas data

Untuk menguji apakah sampel penelitian merupakan jenis sampel dengan distribusi normal maka digunakan pengujian *Kolmogorov-Sminov Goodness of Fit test* terhadap masing-masing variabel.

Tabel 5.2 Hasil Uji *Kolmogorov-Smirnov*

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test			
		Konsentrasi	JumlahKoloni
N		20	20
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	.4500	5.32
	Std. Deviation	.07255	4.737
Most Extreme Differences	Absolute	.155	.156
	Positive	.155	.156
	Negative	-.155	-.147
Kolmogorov-Smirnov Z		.692	.698
Asymp. Sig. (2-tailed)		.725	.715

Terlihat pada data variabel yang akan diuji dengan uji *Kolmogorov-Sminov*, yaitu data jumlah koloni bakteri *Streptococcus pyogenes* yang dihasilkan dari media BHIA saat penelitian, menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,698 ($p > 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa data pada variabel tersebut tersebar mengikuti sebaran normal. Dengan demikian dapat dilakukan pengujian dengan menggunakan *One Way ANOVA*, karena asumsi kenormalan distribusi data telah terpenuhi.

5.1.1.2 Homogenitas Ragam Data

Menurut Santoso dan Tjiptono (2002), untuk mendeteksi ada atau tidaknya homogenitas, dilakukan uji kesamaan ragam yaitu uji *levene (levene test homogeneity of variances)*, dengan pengujian sebagai berikut.

Tabel 5.3 Hasil Uji *Levene*

Test of Homogeneity of Variances			
JumlahKoloni			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.950	4	15	.055

Nilai signifikansi (p) dari uji *levene* adalah sebesar 0,055 dan lebih besar dari $p > 0,05$ ($p > 0,05$), maka didapatkan kesimpulan bahwa ragam data jumlah koloni bakteri *Streptococcus pyogenes* yang dihasilkan pada medium BHIA masih relatif homogen. Oleh karena itu dapat dilakukan pengujian dengan *One Way ANOVA* pada tahap berikutnya, karena asumsi homogenitas data telah terpenuhi.

5.2.2 Analisis One Way ANOVA

Analisa selanjutnya yang dilakukan adalah analisis *One Way ANOVA*. Analisis ini dilakukan untuk mengetahui terdapat perbedaan nyata antar konsentrasi minyak atsiri bunga cengkeh terhadap rata-rata pertumbuhan koloni *Streptococcus pyogenes*. Hasil analisis *One Way ANOVA* dapat dilihat pada Tabel 5.4.

Tabel 5.4 Hasil Uji *One Way ANOVA*

ANOVA					
JumlahKoloni					
	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	423.742	4	105.935	600.335	.000
Within Groups	2.647	15	.176		
Total	426.388	19			

Berdasarkan hasil uji *One-Way ANOVA*, menunjukkan angka signifikansi 0,000 ($p < 0,05$). Hal ini berarti perubahan konsentrasi minyak atsiri bunga cengkeh terhadap jumlah koloni rata-rata isolat bakteri *Streptococcus pyogenes* adalah berbeda secara signifikan pada taraf kepercayaan 95%.

5.2.3 Analisis Post Hoc Tukey

Analisis *Post Hoc Tukey* merupakan uji perbandingan berganda (*multiple comparisons*). Metode ini akan dilakukan perbandingan yang berganda terhadap jumlah koloni bakteri *Streptococcus pyogenes* yang dihasilkan pada medium BHIA antar konsentrasi. Untuk mengetahui adanya perbedaan pengaruh pemberian minyak atsiri bunga cengkeh sebagai antibakteri terhadap jumlah koloni bakteri *Streptococcus pyogenes* pada medium BHIA pada setiap konsentrasi, dapat dilihat pada Tabel 5.5 berikut ini.

Tabel 5.5 Hasil Uji Post Hoc Tukey

Multiple Comparisons

Jumlah Koloni

Tukey HSD

(I)	(J)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
.35	.40	6.639*	.297	.000	5.72	7.56
	.45	8.288*	.297	.000	7.37	9.21
	.50	11.510*	.297	.000	10.59	12.43
	.55	13.263*	.297	.000	12.35	14.18
.40	.35	-6.639*	.297	.000	-7.56	-5.72
	.45	1.649*	.297	.000	.73	2.57
	.50	4.871*	.297	.000	3.95	5.79
	.55	6.624*	.297	.000	5.71	7.54
.45	.35	-8.288*	.297	.000	-9.21	-7.37
	.40	-1.649*	.297	.000	-2.57	-.73
	.50	3.222*	.297	.000	2.30	4.14
	.55	4.974*	.297	.000	4.06	5.89
.50	.35	-11.510*	.297	.000	-12.43	-10.59
	.40	-4.871*	.297	.000	-5.79	-3.95
	.45	-3.222*	.297	.000	-4.14	-2.30
	.55	1.752*	.297	.000	.84	2.67
.55	.35	-13.263*	.297	.000	-14.18	-12.35
	.40	-6.624*	.297	.000	-7.54	-5.71
	.45	-4.974*	.297	.000	-5.89	-4.06
	.50	-1.752*	.297	.000	-2.67	-.84

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Berdasarkan Tabel 5.3 tersebut, menunjukkan bahwa setiap konsentrasi menunjukkan perbedaan efek yang bermakna pada pertumbuhan jumlah koloni bakteri *Streptococcus pyogenes*. Tanda bintang (*) pada bagian belakang angka



mean difference, menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada konsentrasi tersebut. Angka positif pada *mean difference*, menunjukkan bahwa pada konsentrasi tersebut jumlah koloni lebih banyak, sedang angka negatif menunjukkan bahwa jumlah koloni pada konsentrasi tersebut lebih sedikit.

5.2.4 Pengujian Korelasi dan Regresi

Uji ini dilakukan untuk mengetahui besarnya hubungan dari pemberian minyak atsiri bunga cengkeh sebagai antibakteri dengan jumlah koloni bakteri *Streptococcus pyogenes* yang dihasilkan pada medium BHIA. Hasil dari uji ini dapat dilihat pada Tabel 5.6

Tabel 5.6 Hasil Uji Korelasi

Correlations			
		Konsentrasi	JumlahKoloni
Konsentrasi	Pearson Correlation	1	-.962**
	Sig. (2-tailed)		.000
	N	20	20
JumlahKoloni	Pearson Correlation	-.962**	1
	Sig. (2-tailed)	.000	
	N	20	20

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Berdasarkan hasil analisis pada Tabel 5.5 diatas, dapat diketahui bahwa pemberian minyak atsiri bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum Linn.*) sebagai antibakteri dengan jumlah koloni bakteri *Streptococcus pyogenes* yang dihasilkan pada medium BHIA ($r = -0,962$, $p = 0,000$) mempunyai hubungan (korelasi) yang signifikan ($p < 0,05$), dan kekuatan korelasinya adalah kuat (bernilai 0,962) dengan arah korelasi negative (karena koefisien korelasi bernilai negative). Hal tersebut mempunyai makna bahwa peningkatan konsentrasi minyak atsiri bunga

cengkeh cenderung akan menurunkan jumlah koloni bakteri *Streptococcus pyogenes* yang dihasilkan pada medium BHIA, dibandingkan dengan jumlah koloni bakteri *Streptococcus pyogenes* pada konsentrasi minyak atsiri yang lebih rendah maupun kelompok kontrol.

Seberapa besar pengaruh pemberian minyak atsiri bunga cengkeh dengan jumlah koloni bakteri *Streptococcus pyogenes* yang dihasilkan pada medium BHIA, dapat diketahui dengan menggunakan analisis bentuk hubungan (regresi), karena uji korelasi belum bisa menjelaskan hal itu. Berdasarkan hasil pengujian dengan menggunakan metode regresi linier, dengan hasil persamaan regresi pada setiap konsentrasi adalah sebagai berikut.

Tabel 5.7 Hasil Uji Regresi

Model Summary ^b				
Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.962 ^a	.925	.921	1.335

a. Predictors: (Constant), Konsentrasi
b. Dependent Variable: JumlahKoloni

Coefficients ^a						
Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	33.580	1.923		17.459	.000
	Konsentrasi	-62.793	4.222	-.962	-14.872	.000

a. Dependent Variable: JumlahKoloni

Dari uji regresi didapatkan nilai *R Square* (R^2) sebesar 0.925 yang artinya persentase pengaruh pemberian minyak atsiri bunga cengkeh terhadap

pertumbuhan *Streptococcus pyogenes* adalah sebesar 92,5% sedangkan 7,5% dipengaruhi variabel pengganggu yang tidak diteliti. Variabel pengganggu tersebut bisa disebabkan oleh lamanya waktu penyimpanan ekstrak, resistensi bakteri uji, suhu tempat penyimpanan ekstrak, suhu inkubasi bakteri, dan kualitas dalam penyimpanan alat-alat laboratorium.

Hubungan antara perubahan konsentrasi minyak atsiri bunga cengkeh dengan pertumbuhan koloni bakteri *Streptococcus pyogenes* dapat dinyatakan dengan rumus $Y = 33.580 - 62.793 X$. Y adalah jumlah koloni bakteri *Streptococcus pyogenes* sedangkan X adalah konsentrasi minyak atsiri bunga cengkeh. Dari persamaan ini dapat diinterpretasikan bahwa setiap peningkatan dosis minyak atsiri sebesar 1% akan diiringi penurunan jumlah koloni secara signifikan sebanyak 62.793 koloni bakteri. Sedangkan pengurangan dosis minyak atsiri sebesar 1% akan terjadi peningkatan jumlah koloni bakteri sebanyak 33.580 koloni bakteri.