BAB V

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Ekstrak Etanol Daun Kumis Kucing (Orthosiphon Aristatus)

Serbuk kering daun kumis kucing yang digunakan dalam penelitian ini didapat dari UPT Materia Medica Batu, Dinas Kesehatan Propinsi Jawa Timur. Daun kumis kucing diekstrak melewati proses ekstraksi dan evaporasi sehingga kemudian didapatkan ekstrak etanol daun kumis kucing sebanyak 40 ml kemudian dilakukan uji sterilisasi ekstrak etanol daun kumis kucing dengan melakukan *streaking* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pada hasil uji sterilisasi tidak didapatkan adanya pertumbuhan jamur. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kumis kucing steril.

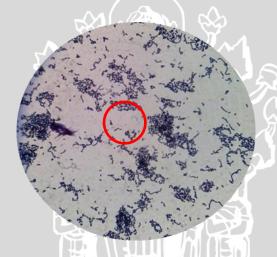


Gambar 5.1 Hasil Ekstraksi daun kumis kucing menggunakan pelarut etanol

5.2 Hasil identifikasi Enterococcus faecalis

Bakteri *Enterococcus faecalis* yang akan digunakan dalam penelitian ini terlebih dahulu dilakukan uji identifikasi bakteri. Bakteri diidentifikasi dengan

pewarnaan Gram, tes katalase, tes toleransi garam, tes biokimia dan tes hemolisis. Uji Identifikasi bakteri menggunakan pewarnaan gram bertujuan untuk mengetahui jenis bakteri apakah merupakan bakteri gram positif atau bakteri gram negatif. Uji pewarnaan Gram dilakukan dengan mewarnai bakteri menggunakan kristal violet, lugol, dan safranin, setelah itu bakteri *Enterococcus faecalis* diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 1.000 x. Hasil pengamatan tersebut menunjukkan gambaran berbentuk kokus sedikit lonjong (ovoid) dan berwarna ungu (Gambar 5.1). Hal ini menunjukkan bahwa bakteri yang diidentifikasi adalah bakteri Gram positif.



Gambar 5.2 Pengamatan mikroskopis pewarnaan Gram bakteri
Enterococcus faecalis terdapat gambaran berbentuk kokus dan berwarna
ungu

Tes katalase dilakukan dengan menyediakan pembenihan cair bakteri *Enterococcus faecalis* pada tabung reaksi kemudian ditetesi dengan larutan H₂O₂ 3%. *Enterococcus faecalis* menunjukkan hasil negatif. Hal tersebut ditandai dengan tidak tampak adanya gelembung udara (Gambar 5.2). Gelembung udara tidak ditemukan pada hasil tes ini yang menandakan *Enterococcus faecalis* tidak membentuk enzim katalase.



Gambar 5.3 Hasil Tes Katalase Terhadap Enterococcus faecalis menunjukkan tidak tampak adanya gelembung udara

Tes toleransi garam menggunakan Brain Heart Infusion Broth (BHIB) yang mengandung 6,5% NaCl sebagai media uji. Pada tes ini, Enterococcus faecalis menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan BHIB terlihat keruh serta tedapat perubahan warna menjadi kuning (Gambar 5.3).



Gambar 5.4 Tes toleransi garam pada Enterococcus faecalis terlihat keruh dan berwarna kuning

Tes biokimia dilakukan dengan media uji Manitol Salt Agar (MSA) yang diisi dengan larutan koloni Enterococcus faecalis. Enterococcus faecalis menunjukkan hasil positif terhadap reagen manitol (Gambar 5.4).



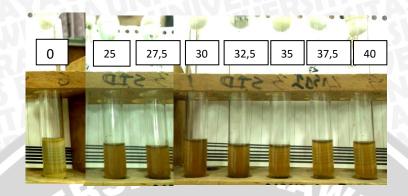
Gambar 5.5 Tes biokimia pada Enterococcus faecalis menunjukkan hasil positif terhadap manitol

Tes hemolisis dilakukan untuk mengetahui enzim hemolitik yang dimiliki oleh bakteri. Bakteri Enterococcus faecalis ditanam pada media blood agar pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Hasil tes Enterococcus faecalis adalah hemolisis gamma yang ditandai dengan tidak terjadi diskolorisasi pada media blood agar (Gambar 5.5).



Gambar 5.6 Hasil tes hemolisis Enterococcus faecalis. Tidak terjadi diskolorasi pada blood agar

5.3 Hasil Uji Dilusi Tabung



Gambar 5.7 Hasil Pengamatan KHM dengan Metode Dilusi Tabung

Keterangan (kiri-kanan) :- Kontrol Bakteri (KB) dilusi tabung

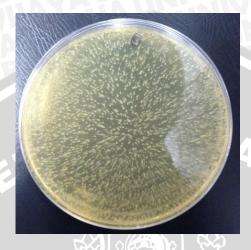
- Dilusi tabung dengan konsentrasi 25%
- Dilusi tabung dengan konsentrasi 27,5%
- Dilusi tabung dengan konsentrasi 30%
- Dilusi tabung dengan konsentrasi 32,5%
- Dilusi tabung dengan konsentrasi 35%
- Dilusi tabung dengan konsentrasi 37,5%
- Dilusi tabung dengan konsentrasi 40%

Untuk mengetahui KHM, dilakukan pengamatan kekeruhan tabung secara visual dibantu dengan kertas bergaris-garis hitam yang diletakkan di belakang tabung. Pada konsentrasi 30% tabung mulai tampak jernih, artinya KHM untuk penelitian ini adalah 30%. Untuk mengetahui konsentrasi yang merupakan KBM, hasil dilusi tabung di-streaking pada media BHIA, kemudian koloni bakteri dihitung menggunakan colony counter.

5.4 Hasil Perhitungan Jumlah Koloni *Enterococcus faecalis*

Perhitungan koloni *Enterococcus faecalis* pada media BHIA dilakukan dengan cara menghitung jumlah koloni *Enterococcus faecalis* yang tumbuh pada tiap plate yang berisi media BHIA yang telah di-*streaking* dengan biakan *Enterococcus faecalis* dan ekstrak etanol daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) dengan berbagai konsentrasi (25%, 27,5%, 30%, 32,5%, 35%, 37,5%,

dan 40%) yang sebelumnya telah diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Gambar 5.8 hingga Gambar 5.15).



Gambar 5.8 Hasil Streaking Kontrol Bakteri (KB) pada Uji Dilusi Tabung

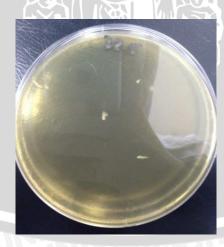


Gambar 5.9 Hasil Streaking Konsentrasi 25% pada Uji Dilusi Tabung

Gambar 5.10 Hasil Streaking Konsentrasi 27,5% pada Uji Dilusi Tabung



Gambar 5.11 Hasil Streaking Konsentrasi 30% pada Uji Dilusi Tabung

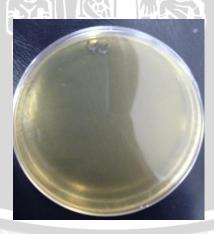


Gambar 5.12 Hasil Streaking Konsentrasi 32,5% pada Uji Dilusi Tabung

Gambar 5.13 Hasil Streaking Konsentrasi 35% pada Uji Dilusi Tabung



Gambar 5.14 Hasil Streaking Konsentrasi 37,5% pada Uji Dilusi Tabung



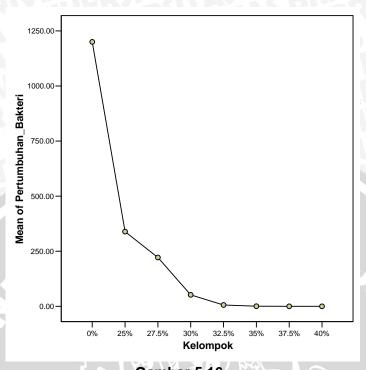
Gambar 5.15 Hasil Streaking Konsentrasi 40% pada Uji Dilusi Tabung

Tujuan dari pengamatan ini adalah untuk menentukan Kadar Bunuh Minimum (KBM) dari ekstrak etanol daun kumis kucing (Orthosiphon aristatus) terhadap Enterococcus faecalis. Kadar Bunuh Minimum (KBM) ditentukan dari konsentrasi dimana jumlah koloni yang tumbuh kurang dari 0,1% dari OI (Original Inoculum). Perhitungan jumlah koloni bakteri dilakukan dengan alat colony counter. Hasil penghitungan koloni Enterococcus faecalis yang tumbuh pada media BHIA dari berbagai konsentrasi dapat dilihat pada Tabel 5.1

Tabel 5.1 Hasil Perhitungan Koloni Enterococcus faecalis Pada Media BHIA

Konsentrasi	NK	Rerata ± SD
0%	4	1.200 ± 355,736
25%	4	$339 \pm 67,096$
27,5%	4	221,75 ± 52,251
30%	4	52 ± 6,683
32,5%	4	6 ± 1,825
35%	4	0,5 ± 0.577
37,5%	4	0.00 ± 0.00
40%	40	0.00 ± 0.00

Berdasarkan hasil penelitian yang tercantum pada Gambar 5.8 dan Tabel 5.1, dapat dilihat bahwa pada kontrol bakteri (KB) terlihat adanya jumlah bakteri Enterococcus faecalis yang tinggi. Jumlah koloni yang tinggi juga terdapat pada konsentrasi ekstrak etanol daun kumis kucing (Orthosiphon aristatus) 25% pada setiap pengulangan yang dilakukan, sedangkan pada konsentrasi 37,5% dan 40% tidak didapatkan adanya pertumbuhan koloni Enterococcus faecalis.



Gambar 5.16

Gambar 5.16 Jumlah Rata-Rata Koloni Enterococcus faecalis Setelah Pemberian Berbagai Konsentrasi Ekstrak etanol daun kumis kucing (Orthosiphon aristatus)

Pada Gambar 5.16 didapatkan adanya penurunan jumlah koloni Enterococcus faecalis dari hasil empat kali pengulangan pada tiap konsentrasi ekstrak etanol daun kumis kucing (Orthosiphon aristatus). Selain itu, dapat diamati pula bahwa setiap peningkatan konsentrasi ekstrak etanol daun kumis kucing (Orthosiphon aristatus) disertai penurunan jumlah pertumbuhan koloni Enterococcus faecalis. Pada konsentrasi 37,5% dan 40% tidak terlihat adanya pertumbuhan koloni bakteri Enterococcus faecalis, sedangkan pada konsentrasi 25%, 27,5%, 30%, 32,5%, dan 35% semakin tinggi konsentrasinya, semakin sedikit jumlah pertumbuhan koloni bakteri. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kumis kucing (Orthosiphon aristatus) mempunyai efek antibakteri terhadap Enterococcus faecalis.

Berdasarkan hasil penelitian tersebut, dapat dilihat bahwa dengan seiring meningkatnya konsentrasi ekstrak etanol daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*), terjadi penurunan jumlah koloni *Enterococcus faecalis* yang tumbuh pada media BHIA, dimana pada konsentrasi ekstrak etanol daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) 37,5% dan 40% tidak didapatkan adanya pertumbuhan koloni *Enterococcus faecalis*. Oleh karena itu, dapat dikatakan bahwa Kadar Bunuh Minimum (KBM) ekstrak etanol daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) terhadap *Enterococcus faecalis* adalah pada konsentrasi 37,5%.

5.5 Analisis Data

5.5.1 Pengujian Sifat Data

Pengujian sifat data yang digunakan dalam penelitian ini mencakup uji normalitas sebaran data dan uji homogenitas variasi data. Kedua pengujian sifat data tersebut bertujuan untuk menentukan teknik analisis statistik yang akan digunakan. Jika data memenuhi syarat normalitas dan homogenitas, uji perbedaan rata-rata menggunakan uji One Way Anova, sedangkan jika data tidak memenuhi syarat normalitas dan homogenitas, uji perbedaan menggunakan uji non parametrik, kemudian dilakukan uji korelasi untuk menentukan hubungan dari dua variabel yang diuji.

5.5.2 Uji Normalitas Data

Uji statistik pertama adalah untuk menentukan normalitas data dengan menggunakan uji Kolmogrov Smirnov, dimana suatu data dikatakan memiliki sebaran yang normal jika p>0,05. Berdasarkan pengujian normalitas data

dengan menggunakan uji Kolmogrov Smirnov didapatkan bahwa data kelompok memiliki p=0,199 yang menunjukkan bahwa data kelompok memiliki sebaran yang normal.

Tabel 5.2 Uji Normalitas

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a				
	Statistic	df	Sig.		
Pertumbuhan_Bakteri	.128	32	.199		

a. Lilliefors Significance Correction

5.5.3 Uji Homogenitas Data

Setelah semua kelompok perlakuan diketahui berdistibusi nomal, selanjutnya dilakukan uji homogenitas varians menggunakan *Levene's test*. Hasilnya diperoleh nilai p=0,074 dimana nilai p > 0,05 yang menunjukkan bahwa varians homogen. Dengan hasil data normal dan homogen maka syarat pengujian one way anova terpenuhi.

Tabel 5.3 Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances								
<u>Pertum buha</u>	Pertumbuhan_Bakteri							
Levene Statistic	df1	df2	Sig.					
2.169	7	24	.074					

5.5.4 Uji One-Way ANOVA

Syarat menggunakan uji *one-way* ANOVA yaitu data terdistribusi normal yaitu bila nilai signifikansi p > 0,05, serta variansi data homogen yaitu bila nilai

BRAWIJAYA

signifikansi p > 0,05. Bila tidak terdistribusi normal dan tidak homogen, terlebih dahulu dilakukan transformasi data.

Berdasarkan hasil uji *one-way* ANOVA, diperoleh nilai signifikansi 0,000 (p < 0,05) yang berarti efek pemberian berbagai konsentrasi ekstrak etanol daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) terhadap jumlah koloni *Enterococcus faecalis* terdapat perbedaan signifikan pada taraf kepercayaan 95%.

5.5.4 Uji Post Hoc Tukey

Uji Post Hoc Tukey merupakan uji pembanding berganda (Multiple Comparison Test), bertujuan untuk menunjukkan pasangan kelompok konsentrasi yang memberikan perbedaan signifikan dan yang tidak memberikan perbedaan signifikan. Berdasarkan hasil uji Post Hoc Tukey pada tabel 5.5, diketahui bahwa terdapat perbedaan signifikan pada setiap pasangan kelompok konsentrasi yang ditunjukkan dengan nilai signifikansi < 0,05 (p < 0,05). Pada tabel 5.6 menunjukkan kelompok konsentrasi yang dikelompokkan berdasarkan jumlah bakteri yang terbunuh. Pada konsentrasi 25%, 27,5%, dan 30% dikelompokkan menjadi satu karena antar konsentrasi tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Pada konsentrasi 27,5%, 30%, 32,5%, 35%,37,5%, dan 40% juga dikelompokkan menjadi satu karena antar konsentrasi tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Namun kedua kelompok tersebut jika dibandingkan dengan konsentrasi 0% menunjukkan perbedaan yang signifikan.

Tabel 5.4 Hasil Uji Post Hoc Tukey

Konsentrasi	0%	25%	27,5%	30%	32,5%	35%	37,5%	40%
0%		0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
25%	0,000*		0,897	0,072	0,024	0,021	0,021	0,021

27,5%	0,000*	0,897		0,591	0,305	0,277	0,274	0,274
30%	0,000*	0,072	0,591		1,000	0,999	0,999	0,999
32,5%	0,000*	0,024	0,305	1,000		1,000	1,000	1,000
35%	0,000*	0,021	0,277	0,999	1,000		1,000	1,000
37,5%	0,000*	0,021	0,274	0,999	1,000	1,000		1,000
40%	0,000*	0,021	0,274	0,999	1,000	1,000	1,000	

Keterangan: * = terdapat perbedaan signifikan

Tabel 5.5 Tabel Post Hoc Tukey Homogenous Subsets

	Tukey HSD ^a								
			Subset for alpha = .05						
	Kelompok	N	1	2	3				
ĺ	37.5%	4	.0000						
	40%	4	.0000						
	35%	4	.5000						
	32.5%	4	6.0000						
	30%	4	52.0000	52.0000					
	27.5%	4	221.7500	221.7500					
	25%	4		339.0000					
	0%	4			1200.2500				
	Sig.		.274	.072	1.000				

5.5.5 Uji Korelasi-Regresi

Uji korelasi digunakan untuk mengetahui hubungan peningkatan konsentrasi ekstrak etanol daun kumis kucing (Orthosiphon aristatus) terhadap jumlah koloni Enterococcus faecalis. Hasil uji Korelasi Pearson menunjukkan nilai

signifikansi 0,000 (p < 0,05) yang berarti terdapat hubungan yang bermakna antara ekstrak etanol daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) terhadap jumlah koloni bakteri. Besarnya koefisien korelasi antara -1 s/d 1. Bila nilainya mendekati -1 atau 1, maka hubungan kedua variabel tersebut sangat kuat, sedangkan bila nilainya 0 berarti tidak terdapat hubungan kedua variabel tersebut. Besar koefisien korelasi *Pearson* adalah R = -0,939. Tanda negatif menunjukkan hubungan terbalik, yaitu semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) maka semakin sedikit jumlah pertumbuhan koloni bakteri. Nilai 0,939 menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang kuat antara perlakukan konsentrasi dengan pertumbuhan bakteri. Besar koefisien korelasi yang mendekati -1 menunjukkan bahwa terdapat hubungan kedua variabel kuat negatif.

Uji Regresi digunakan untuk mengetahui sejauh mana hubungan antara peningkatan konsentrasi ekstrak etanol daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) dalam menghambat pertumbuhan koloni *Enterococcus faecalis*. Berdasarkan hasil uji Regresi, nilai *R Square* (R²) adalah 0,881 menunjukkan bahwa kontribusi pemberian ekstrak etanol daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) dalam menurunkan jumlah koloni *Enterococcus faecalis* sebesar 88,1%, sedangkan sisanya 11,9% disebabkan oleh faktor lain yang tidak diteliti. Faktor-faktor tersebut, misalnya, kualitas dalam penyimpanan alat-alat pada laboratorium, lama penyimpanan ekstrak, suhu tempat penyimpanan ekstrak, atau resistensi bakteri itu sendiri.

Rumus umum koefisien Regresi yaitu Y = a + bX. Hubungan antara konsentrasi ekstrak etanol daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*) terhadap jumlah koloni bakteri *Enterococcus faecalis* dapat dinyatakan dengan rumus Y = a + bX.

1143,165 – 32,201X, dimana Y adalah jumlah koloni bakteri *Enterococcus* faecalis, sedangkan X adalah konsentrasi ekstrak etanol daun kumis kucing (*Orthosiphon aristatus*). Dari persamaan ini dapat diinterpretasikan bahwa setiap peningkatan dosis ekstrak sebesar 1% akan diiringi penurunan jumlah koloni secara signifikan sebanyak 32,201 koloni bakteri.

