

## BAB V

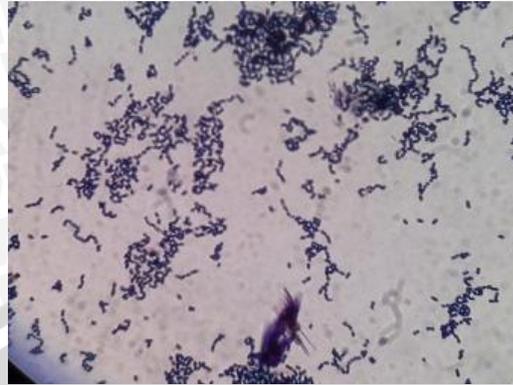
### HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

#### 5.1 Hasil Penelitian

##### 5.1.1 Hasil Identifikasi Bakteri *Enterococcus faecalis*

Bakteri *Enterococcus faecalis* yang digunakan sebagai sampel penelitian diperoleh dan dibiakkan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Sebelum dilakukan penelitian uji antimikroba ekstrak, dilakukan identifikasi bakteri menggunakan pewarnaan Gram, tes katalase, tes toleransi garam, tes fermentasi manitol, dan tes hemolisis untuk membuktikan bahwa bakteri uji merupakan bakteri *Enterococcus faecalis*.

Uji identifikasi bakteri menggunakan pewarnaan Gram bertujuan untuk mengetahui jenis bakteri merupakan bakteri Gram positif atau Gram negatif dan untuk mengetahui bentuk dari bakteri tersebut. Pewarnaan Gram dilakukan dengan mewarnai *Enterococcus faecalis* menggunakan kristal violet dan safranin, kemudian dilakukan pengamatan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 1000x. Hasil pengamatan tersebut menunjukkan gambaran bentuk bakteri bulat sedikit lonjong berwarna ungu (Gambar 5.1). Bentuk bulat sedikit lonjong merupakan bentuk dari bakteri *Enterococcus faecalis*, sedangkan warna ungu menunjukkan bahwa bakteri yang diidentifikasi merupakan bakteri Gram positif.



**Gambar 5.1 Hasil pewarnaan Gram *Enterococcus faecalis* pada perbesaran 1000x**

Tes Katalase bakteri bertujuan untuk membedakan antara bakteri *Streptococcus* dan *Staphylococcus*, dilihat dari karakteristik bakteri *Streptococcus* yang tidak memiliki enzim katalase. Tes katalase dilakukan dengan cara menyediakan perbenihan cair bakteri *Enterococcus faecalis*. Bakteri diambil dengan menggunakan mikropipet untuk diletakkan diatas kaca *slide* kemudian ditetaskan larutan  $H_2O_2$  3%. Hasil menunjukkan bahwa tidak terlihat adanya bentukan gelembung udara (Gambar 5.2) yang menandakan tidak adanya proses pemecahan ikatan hidrogen peroksida menjadi oksigen pada bakteri *Enterococcus faecalis*. Sehingga dapat disimpulkan bahwa bakteri *Enterococcus faecalis* tidak memiliki enzim katalase.



**Gambar 5.2 Hasil tes katalase bakteri *Enterococcus faecalis***

Tes toleransi garam (Gambar 5.3) bertujuan untuk mengetahui kemampuan mikroorganisme untuk tumbuh dalam konsentrasi garam tinggi. Hal

ini digunakan untuk membedakan *enterococci* (positif) dari *non-enterococci* (negatif). Bakteri *Enterococcus faecalis* dimasukkan kedalam BHIB yang mengandung 6,5% NaCl. Bakteri *Enterococcus faecalis* menunjukkan hasil yang positif. Hal tersebut ditandai dengan adanya perubahan *Brain Heart Infusion Broth* (BHIB) menjadi keruh tanpa perubahan warna dari ungu menjadi kuning.



**Gambar 5.3 Hasil tes toleransi garam bakteri *Enterococcus faecalis***

Tes fermentasi manitol pada bakteri *Enterococcus faecalis* dilakukan dengan cara menanam bakteri pada media *Mannitol Salt Agar* (MSA). Bakteri *Enterococcus faecalis* menunjukkan hasil yang positif (Gambar 5.4). Hal tersebut ditandai dengan adanya pertumbuhan koloni berwarna kuning pada media MSA (menandakan adanya fermentasi manitol).



**Gambar 5.4 Hasil tes fermentasi manitol bakteri *Enterococcus faecalis***

Tes hemolisis dilakukan untuk mengetahui enzim hemolisin yang dimiliki oleh bakteri. Pada bakteri yang memiliki hemolisis alfa akan membentuk zona hambatan di sekeliling koloni berwarna kehijauan sampai kecoklatan. Hemolisis beta akan terbentuk zona hambatan yang jelas tidak berwarna (transparan) di sekitar koloni akibat destruksi eritrosit secara sempurna. Hemolisis gamma atau non-hemolitik tidak terjadi hemolisis eritrosit atau tidak terjadi diskolorisasi pada media agar darah. Tes ini dilakukan dengan cara melakukan striking pada media agar darah. Hasil menunjukkan bakteri *Enterococcus faecalis* memiliki hemolisis gamma atau non hemolitik (Gambar 5.5). Hal tersebut ditandai dengan tidak adanya diskolorasi pada media agar darah.



**Gambar 5.5 Hasil tes hemolisis bakteri *Enterococcus faecalis***

**Tabel 5.1 Hasil Identifikasi Bakteri *Enterococcus faecalis***

1. Tes Pewarnaan Gram	2. Tes Katalase	3. Tes Toleransi Garam	4. Tes Fermentasi Manitol	5. Tes Hemolisis
+	-	+	+	-

Keterangan tabel:

1. (+) Pada tes pewarnaan Gram didapatkan sel bakteri berbentuk bulat sedikit lonjong berwarna ungu.
2. (-) Pada tes katalase menunjukkan tidak terbentuknya gelembung udara pada pembenihan cair bakteri yang ditetesi larutan  $H_2O_2$  3%.
3. (+) Pada tes toleransi garam menunjukkan adanya perubahan BHIB menjadi keruh tanpa perubahan warna dari ungu menjadi kuning.
4. (+) Pada tes fermentasi manitol terlihat adanya pertumbuhan koloni bakteri berwarna kuning pada media MSA yang menunjukkan adanya fermentasi manitol oleh bakteri.
5. (-) Pada tes hemolisis menunjukkan tidak adanya diskolorasi pada media agar darah sehingga bakteri *Enterococcus faecalis* termasuk dalam tipe bakteri *Enterococcus* gamma hemolisis atau non hemolitik.

### 5.1.2 Hasil Ekstrak Daun Ketepeng Cina



**Gambar 5.6 Ekstrak etanol daun ketepeng cina (*Cassia alata L.*)**

Daun ketepeng cina yang digunakan pada penelitian ini diidentifikasi oleh Balai Materia Medica, UPT Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Timur, Kota Batu agar dapat diketahui bahwa daun yang diambil benar berasal dari tanaman ketepeng cina (*Cassia alata L.*). Hasil identifikasi tanaman ketepeng cina berupa dikeluarkannya surat kunci determinasi (lampiran 3). Ekstraksi daun ketepeng cina dilakukan di Politeknik Negeri Malang dengan total daun ketepeng cina sebanyak 200 gram dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Gambar 5.6 menunjukkan bahwa ekstrak daun ketepeng cina menghasilkan ekstrak yang berwarna hijau kehitaman dan keruh.

### 5.1.3 Hasil Penelitian Pendahuluan

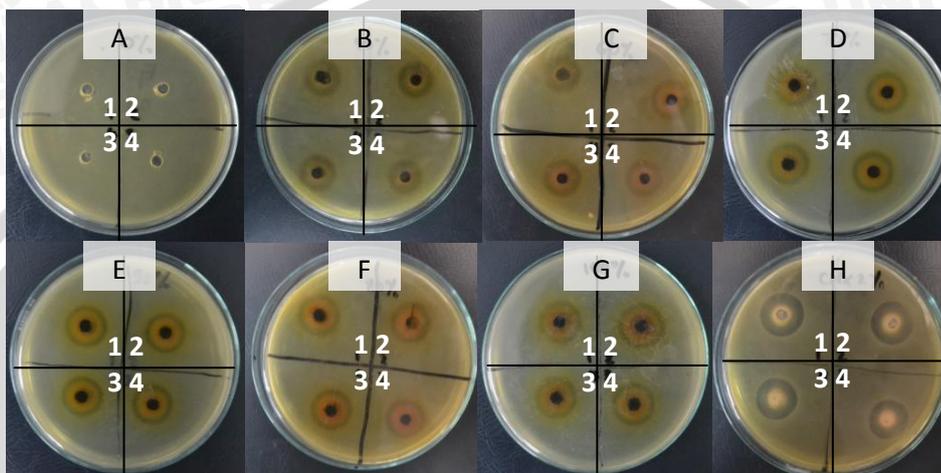
Penelitian pendahuluan dilakukan untuk mengetahui serial konsentrasi ekstrak daun ketepeng cina yang akan digunakan pada uji antimikroba dengan metode difusi sumuran pada media *Brain Heart Infusion Agar* (BHIA). Konsentrasi ekstrak daun ketepeng cina yang digunakan pada penelitian tersebut yaitu 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, akuades sebagai kontrol bakteri, dan larutan klorheksidin 2% sebagai kelompok pembanding. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak daun ketepeng cina 100% dan 50% terbukti mempunyai daya antimikroba dengan ditandai adanya zona inhibisi di sekeliling sumuran, sedangkan pada konsentrasi 25%, 12,5%, dan 6,25% tidak terlihat adanya zona inhibisi di sekeliling sumuran, yang disajikan pada lampiran 4.

Berdasarkan hasil penelitian pendahuluan dilakukan perapatan konsentrasi dan didapatkan konsentrasi 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, akuades sebagai kontrol bakteri, dan larutan klorheksidin 2% sebagai kelompok pembanding. Pertumbuhan bakteri diamati pada konsentrasi-konsentrasi tersebut.

### 5.1.4 Hasil Uji Antimikroba dengan Metode Difusi Sumuran

Daya antimikroba ditunjukkan dengan adanya zona inhibisi. Zona inhibisi menunjukkan kemampuan suatu bahan dalam menghambat pertumbuhan bakteri, yang dalam penelitian ini ditandai dengan adanya daerah jernih di sekitar sumuran. Konsentrasi daun ketepeng cina yang digunakan adalah 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, akuades sebagai kontrol bakteri, dan larutan klorheksidin 2% sebagai kelompok pembanding. Penelitian ini menggunakan media *Brain*

*Heart Infusion Agar* (BHIA) yang dicampur dengan bakteri *Enterococcus faecalis*  $10^6$  CFU/ml. Gambar 5.7 menunjukkan perbedaan zona inhibisi pada masing-masing konsentrasi. Zona inhibisi terbentuk pada konsentrasi 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, dan klorheksidin 2%.



**Gambar 5.7 Hasil difusi sumuran konsentrasi ekstrak etanol daun ketepeng Cina 0% (kontrol kuman), 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, dan Klorheksidin 2% (kelompok pembanding)**

Keterangan gambar:

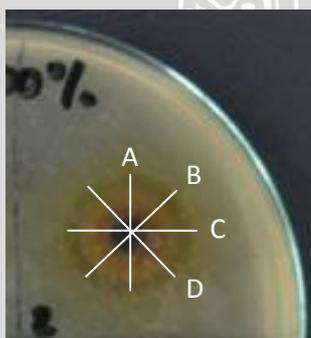
- A : Konsentrasi ekstrak daun ketepeng Cina 0% (kontrol kuman) dengan rata-rata zona inhibisi 5 mm
  - B : Konsentrasi ekstrak daun ketepeng Cina 50% dengan rata-rata zona inhibisi 15,65 mm
  - C : Konsentrasi ekstrak daun ketepeng Cina 60% dengan rata-rata zona inhibisi 15,81 mm
  - D : Konsentrasi ekstrak daun ketepeng Cina 70% dengan rata-rata zona inhibisi 17,11 mm
  - E : Konsentrasi ekstrak daun ketepeng Cina 80% dengan rata-rata zona inhibisi 17,31 mm
  - F : Konsentrasi ekstrak daun ketepeng Cina 90% dengan rata-rata zona inhibisi 17,40 mm
  - G : Konsentrasi ekstrak daun ketepeng Cina 100% dengan rata-rata zona inhibisi 18,36 mm
  - H : Konsentrasi klorheksidin 2% (kelompok pembanding) dengan rata-rata zona inhibisi 16,98 mm
- 1 : Diameter zona inhibisi pengulangan I  
 2 : Diameter zona inhibisi pengulangan II  
 3 : Diameter zona inhibisi pengulangan III  
 4 : Diameter zona inhibisi pengulangan IV

### 5.1.5 Hasil Pengukuran Diameter Zona Inhibisi Uji Antimikroba Daun Ketepeng Cina

Penelitian ini dilakukan dengan beberapa macam konsentrasi ekstrak daun ketepeng Cina yaitu 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, akuades sebagai

kontrol bakteri, dan larutan klorheksidin 2% sebagai kelompok pembanding. Uji antimikroba dilakukan dengan metode difusi sumuran. Perbedaan daya antimikroba ditentukan dengan besar diameter zona inhibisi pertumbuhan bakteri yang terbentuk disekeliling sumuran. Penelitian dilakukan dengan cara membuat lubang sumuran sebesar 5 mm pada media *Brain Heart Infusion Agar* (BHIA) yang sudah dicampur dengan bakteri *Enterococcus faecalis* sebanyak  $10^6$  CFU/ml, kemudian ditetaskan ekstrak daun ketepeng cina pada masing-masing lubang sumuran sebanyak 40  $\mu$ l, dan diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu  $37^\circ\text{C}$ .

Perubahan yang diamati pada penelitian ini yaitu terbentuknya zona inhibisi pertumbuhan bakteri yang ada disekeliling sumuran. Pengukuran dilakukan dengan menggunakan jangka sorong dengan ketelitian 0,05 satuan milimeter (mm). Pengukuran diameter zona inhibisi dilakukan sebanyak 4 kali (arah vertikal, horizontal, dan dua arah diagonal) dan dihitung rata-ratanya. Diameter diukur dari batas terluar dari zona inhibisi dari satu sisi ke sisi lainnya.



$$X = \frac{A+B+C+D}{4}$$

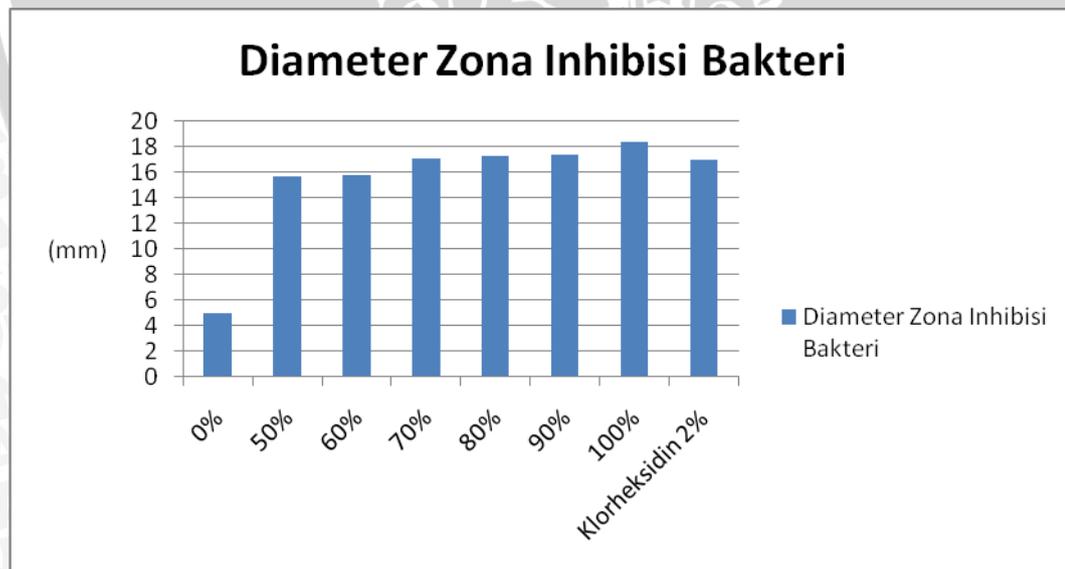
X = Diameter zona inhibisi

**Gambar 5.8 Cara Pengukuran Diameter Zona Inhibisi**

Berdasarkan hasil uji difusi sumuran dapat diukur diameter zona inhibisi pertumbuhan bakteri pada masing-masing konsentrasi ekstrak daun ketepeng cina terhadap pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis*. Hasil perhitungan diameter zona inhibisi ekstrak daun ketepeng cina disajikan pada tabel 5.2.

**Tabel 5.2 Hasil Pengukuran Diameter Zona Inhibisi Pertumbuhan Bakteri Ekstrak Etanol Daun Ketepeng Cina terhadap *Enterococcus faecalis***

Konsentrasi	Zona Inhibisi Ekstrak Daun Ketepeng Cina (mm)				Rata-rata (mm)	± SD
	I	II	III	IV		
0% (aquades)	0	0	0	0	0	0
50%	16,08	15,24	15,41	15,85	15,65	0,38751
60%	15,51	16,20	15,81	15,71	15,81	0,28987
70%	17,13	17,06	17,28	16,95	17,11	0,13820
80%	17,50	16,99	17,16	17,90	17,31	0,40211
90%	17,53	17,44	17,20	17,44	17,40	0,14151
100%	18,24	19,49	18,39	17,31	18,36	0,37251
Klorheksidin 2% (kelompok pembanding)	17,39	17,13	16,51	16,91	16,98	0,37251



**Gambar 5.9 Grafik Rata-rata Diameter Zona Inhibisi Bakteri pada Ekstrak Etanol Daun Ketepeng Cina (*Cassia alata L.*)**

Keterangan : Diameter lubang sumuran 5 mm

Berdasarkan tabel 5.2 dan gambar 5.8 diatas, dapat dilihat bahwa adanya perbedaan rata-rata diameter zona inhibisi yang menunjukkan adanya perbedaan daya antimikroba pada masing-masing perlakuan. Zona inhibisi pada kelompok perlakuan 0% (kontrol kuman) yaitu 5 mm (diameter lubang sumuran), hal ini menunjukkan bahwa aquades tidak mempunyai daya antimikroba. Zona inhibisi yang terbesar dengan rata-rata 18,36 mm terdapat pada kelompok perlakuan 100% yang menunjukkan bahwa ekstrak daun ketepeng cina 100% memiliki daya antimikroba yang kuat. Kelompok pembanding dengan Klorheksidin 2% menunjukkan zona inhibisi dengan rata-rata 16,98 mm, hal ini menunjukkan bahwa klorheksidin 2% memiliki daya antimikroba yang kuat, tetapi tidak lebih kuat dari ekstrak etanol daun ketepeng cina pada konsentrasi 100%. Ekstrak etanol daun ketepeng cina dengan konsentrasi 50%, 60%, 70%, 80%, dan 90% menghasilkan zona inhibisi yang menunjukkan bahwa ekstrak daun ketepeng cina dengan konsentrasi tersebut memiliki daya antimikroba untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis*. Zona inhibisi pertumbuhan bakteri pada konsentrasi 50% memiliki rata-rata 15,65 mm, konsentrasi 60% memiliki rata-rata 15,81%, konsentrasi 70% memiliki rata-rata 17,11%, konsentrasi 80% memiliki rata-rata 17,31%, dan konsentrasi 90% memiliki rata-rata 17,40%. Hal tersebut menunjukkan bahwa semua konsentrasi dari kelompok perlakuan dan kelompok pembanding termasuk kategori daya antimikroba kuat.

## 5.2 Analisis Data

Penelitian ini menggunakan uji normalitas *Kolmogorov Smirnov*, uji homogenitas *Levene*, uji *oneway ANOVA*, *Post Hoc Tukey Test*, uji korelasi

*Pearson*, dilanjutkan dengan uji regresi, dan uji T-test berpasangan. Hasil uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov* menunjukkan bahwa nilai signifikansi yang didapat sebesar 0,471 pada variabel jumlah bakteri. Nilai signifikansi variabel tersebut lebih besar dari 0,05 ( $p > 0,05$ ) sehingga distribusi data dianggap normal.

Data yang terdistribusi normal kemudian diuji dengan 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.

**Tabel 5.3 Hasil Analisis Data dengan Metode *Post Hoc***

Konsentrasi	50%	60%	70%	80%	90%	100%	Klorheksidin 2%
50%		0,998	0,002 *	0,000 *	0,000 *	0,000 *	0,005*
60%	0,998		0,007 *	0,001 *	0,001 *	0,000 *	0,017*
70%	0,002 *	0,007 *		0,968	0,959	0,010 *	1,000
80%	0,000 *	0,001 *	0,968		1,000	0,068	0,851
90%	0,000 *	0,001 *	0,959	1,000		0,075	0,829
100%	0,000 *	0,000 *	0,010 *	0,068	0,075		0,004*
Klorheksidin 2%	0,005 *	0,017 *	1,000	0,851	0,829	0,004 *	

Keterangan: \* = terdapat perbedaan/bermakna

Setelah dilakukan uji *oneway* ANOVA, analisis dilanjutkan dengan menggunakan *Post Hoc Tukey Test* untuk membandingkan perbedaan antara pemberian dua konsentrasi ekstrak etanol daun ketepeng cina. Menurut hasil *Post Hoc Tukey Test* (Tabel 5.3), diketahui adanya perbedaan yang signifikan dapat dilihat dari nilai signifikansi  $<0,05$ . Hasil uji *Post Hoc Tukey* terhadap konsentrasi 50% dengan 80% menunjukkan bahwa nilai signifikansi yang didapat adalah 0,000. Hasil ini menunjukkan pemberian kedua konsentrasi tersebut memberikan perbedaan efek yang bermakna. Untuk mengetahui tidak adanya perbedaan efek yang bermakna dapat dilihat dari besarnya nilai signifikansi  $>0,05$  seperti pada konsentrasi 50% dengan 60% yaitu 0,998.

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 ketepeng cina terhadap pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis*. Nilai koefisien korelasi *Pearson* yang didapat adalah 0,885. Nilai koefisien memiliki tanda positif menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang berbanding lurus, yaitu semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol daun ketepeng cina maka semakin besar diameter zona inhibisi pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis*, begitu juga sebaliknya. Nilai 0,885 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 0,783 yang berarti bahwa efektivitas pemberian ekstrak etanol daun ketepeng cina terhadap besarnya zona inhibisi pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis* adalah sebesar 78,3% sedangkan sisanya 22,7% dapat disebabkan oleh faktor-faktor lain yang tidak diteliti (Lampiran 1). Faktor-faktor tersebut bisa disebabkan

oleh akibat dari usia simplisia daun ketepeng cina sebelum dilakukan ekstraksi, lama penyimpanan hasil ekstrak, suhu tempat penyimpanan hasil ekstrak, suhu inkubasi bakteri, kandungan zat lain yang bersifat memperkuat bakteri, atau akibat dari resistensi bakteri itu sendiri. Hubungan antara perubahan konsentrasi ekstrak etanol daun ketepeng cina dengan diameter zona inhibisi pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis* dapat dinyatakan dengan rumus  $Y = 12,959 + 0,053X$  (Lampiran 1). Y adalah diameter zona inhibisi pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis*, sedangkan X adalah jumlah konsentrasi ekstrak etanol daun ketepeng cina. Hal ini berarti tanpa pemberian ekstrak etanol daun ketepeng cina maka diameter zona inhibisi pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis* sebesar 12,959 mm secara konstan. Dengan pengaruh ekstrak etanol daun ketepeng cina, maka setiap peningkatan konsentrasi ekstrak etanol daun ketepeng cina sebesar 1% akan menyebabkan peningkatan diameter zona inhibisi pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis* sebesar 0,053 mm.

Hasil uji *T-test* berpasangan yang dilakukan pada konsentrasi 100% atau kontrol bahan dengan klorheksidin 2% atau kelompok pembanding, didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,03 ( $p < 0,05$ ). Hal ini menunjukkan bahwa adanya perbedaan yang bermakna antara pemberian perlakuan antara dua konsentrasi tersebut yaitu ekstrak etanol daun ketepeng cina pada konsentrasi 100% memiliki efek lebih besar dibandingkan dengan klorheksidin 2%.