

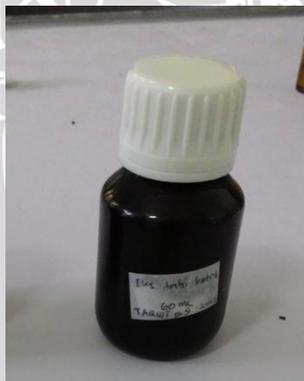
BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil penelitian

5.1.1 Hasil Ekstraksi Bunga Tahi Kotok

Sebanyak 300 gram bubuk halus bunga Tahi Kotok yang sudah dikeringkan, diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Volume pelarut yang digunakan total sebanyak 4700 ml. Hasil akhir didapatkan volume ekstrak etanol bunga tahi kotok sebesar 60 ml berupa cairan kental dengan sedikit endapan dan berwarna kuning tua kecoklatan (lampiran 2). Untuk menguji efektivitas ekstrak etanol bunga tahi kotok (*Tagetes erecta*) sebagai antibakteri digunakan uji kepekaan antimikroba secara in vitro dengan metode dilusi tabung untuk melihat KHM dan KBM di media tabung dan NAP (*Nutrient Agar Plate*).



Gambar 5.1 Hasil Ekstrak Etanol Bunga Tahi Kotok (*Tagetes erecta*) 60 ml

Uji fitokimia pada ekstrak etanol bunga tahi kotok juga dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa flavonoid, saponin, tanin, dan juga terpenoid yang terdapat pada ekstrak, dengan hasil uji sebagai berikut (Tabel 5.1 dan Lampiran 3):

Tabel 5.1 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Bunga Tahi Kotok (*Tagetes erecta L.*)

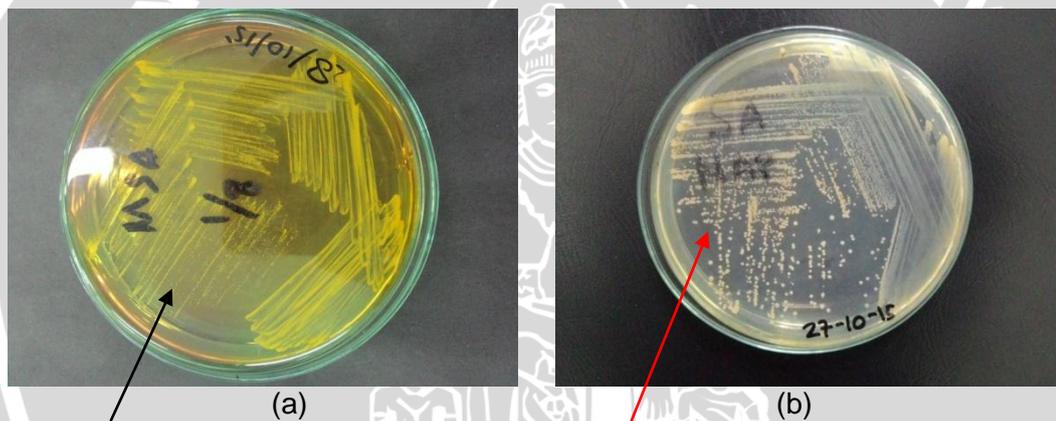
| No | Uji Fitokimia | Pereaksi | Perubahan yang Terjadi | Hasil Uji |
|----|---------------|--|---|------------------|
| 1 | Saponin | a) Aquades panas b) Asam klorida 2 N | Terbentuk busa setinggi 1cm dan busa tidak hilang | (+) saponin |
| 2 | Flavonoid | a) Mg-HCl b) Etanol 90% | Terdapat perubahan warna orange kecoklatan | (+) flavonoid |
| 3 | Tanin | a) FeCl ₃ | Terdapat perubahan warna biru kehitaman | (+) tanin |
| 4 | Terpenoid | a) Methanol b) CHCl ₃ c) H ₂ SO ₄ | Terbentuk cincin berwarna merah kecoklatan | (+) terpenoid |

5.1.2 Hasil Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus*

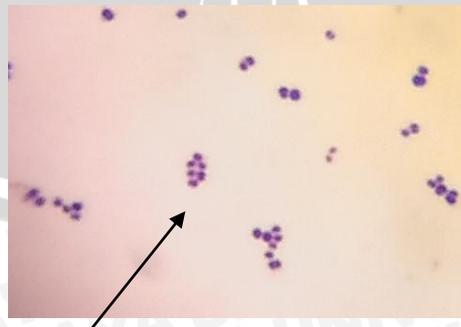
Penelitian ini menggunakan isolat bakteri *Staphylococcus aureus* yang didapat dari isolat pus di Laboratorium Mikrobiologi FKUB. Sampel diidentifikasi untuk membuktikan bahwa bakteri yang digunakan adalah bakteri *Staphylococcus aureus*. Tes yang digunakan adalah penanaman bakteri pada medium MSA (*Manitol Salt Agar*) dan NAP (*Nutrient Agar Plate*), pewarnaan gram, tes katalase dan tes koagulase.

Hasil identifikasi bakteri adalah sebagai berikut: Pada penanaman bakteri di media MSA, bakteri dapat tumbuh pada media dengan konsentrasi NaCl 7,5% ditandai dengan koloni bakteri berwarna kuning dan dikelilingi zona berwarna kuning keemasan setelah diinkubasi selama 18—24 jam pada suhu 37°C. Hal tersebut menunjukkan bahwa bakteri tersebut positif *Staphylococcus aureus* (Gambar 5.2.a). Pada media NAP bakteri tumbuh membentuk koloni berwarna kuning keemasan, bulat, halus, menonjol dan berkilau yang menunjukkan hasil positif *Staphylococcus aureus* (Gambar 5.2.b). Pada pewarnaan gram, pengamatan dilakukan di bawah mikroskop dengan pembesaran 1000x dan

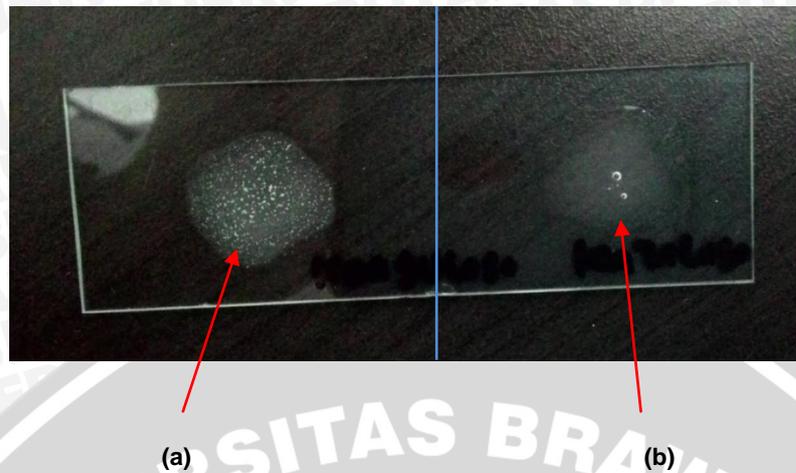
didapatkan bentukan koloni berbentuk kokus bergerombol seperti anggur serta berwarna ungu khas gram positif dan berbentuk bulat dan kokus (Gambar 5.3). Pada tes katalase, didapatkan hasil positif dengan didapatkan gelembung-gelembung udara kecil setelah koloni bakteri ditetesi dengan H_2O_2 3% (Gambar 5.4.b). Pada tes koagulase, hasil menunjukkan positif dengan didapatkan gumpalan plasma yang ditetesi pada bakteri (Gambar 5.4.a). Setelah mengidentifikasi bakteri kemudian Isolat *Staphylococcus aureus* dikultur ulang dalam medium NAP dan *Nutrient Broth* yang selanjutnya akan diberi perlakuan sebanyak lima kali pengulangan.



Gambar 5.2 Penanaman *Staphylococcus aureus* pada Media MSA (*Manitol Salt Agar*) dan NAP (*Nutrient Agar Plate*) dengan Hasil Positif. Keterangan (a) pada Media MSA, Pertumbuhan Koloni Berwarna Kuning dengan Dikelilingi Zona Berwarna Kuning Keemasan; dan (b) pada Media NAP, Pertumbuhan Koloni Bundar dan Berwarna Kuning Keemasan.



Gambar 5.3 Pewarnaan Gram *Staphylococcus aureus* dengan Pembesaran 1000x pada Mikroskop Cahaya. Keterangan Menunjukkan bahwa Bakteri Berbentuk Bulat Bergerombol seperti Buah Anggur dan Berwarna Ungu.



Gambar 5.4 Hasil Positif pada Uji Katalase dan Uji Koagulasi Bakteri *Staphylococcus aureus*. Keterangan (a) Uji Koagulasi positif ditandai dengan adanya gumpalan dan (b) uji Katalase positif ditandai dengan adanya gelembung udara setelah ditetesi dengan H₂O₂ 3%

5.1.3 Hasil Uji Antimikroba secara *In Vitro*

5.1.3.1 Hasil Uji Eksplorasi dan Penentuan Konsentrasi

Pada penelitian ini, dilakukan lima kali Uji Eksplorasi untuk menentukan konsentrasi ekstrak yang digunakan pada penelitian. Pada Uji Eksplorasi yang pertama, digunakan enam konsentrasi ekstrak, yaitu: 100%, 50%, 25%, 12.5%, 6.25%, 3.125%, ditambah 0 % sebagai Kontrol. Penentuan konsentrasi tersebut dilakukan dengan tujuan untuk mencari rentang konsentrasi seminimal mungkin agar analisis data menunjukkan hasil yang lebih teliti. Pada pencarian nilai KBM dari hasil uji pendahuluan, menunjukkan tidak adanya pertumbuhan koloni bakteri sehingga konsentrasi harus diturunkan di bawah 3.125%.

Penelitian eksplorasi kedua menggunakan rentang konsentrasi yang lebih sempit antara 6% hingga 1% dengan perbedaan antarkonsentrasi 1%, yaitu konsentrasi 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1% dan 0% sebagai Kontrol. Pada pencarian nilai KBM dari hasil uji kedua, menunjukkan tidak adanya pertumbuhan koloni bakteri sehingga konsentrasi harus diturunkan di bawah 1%.

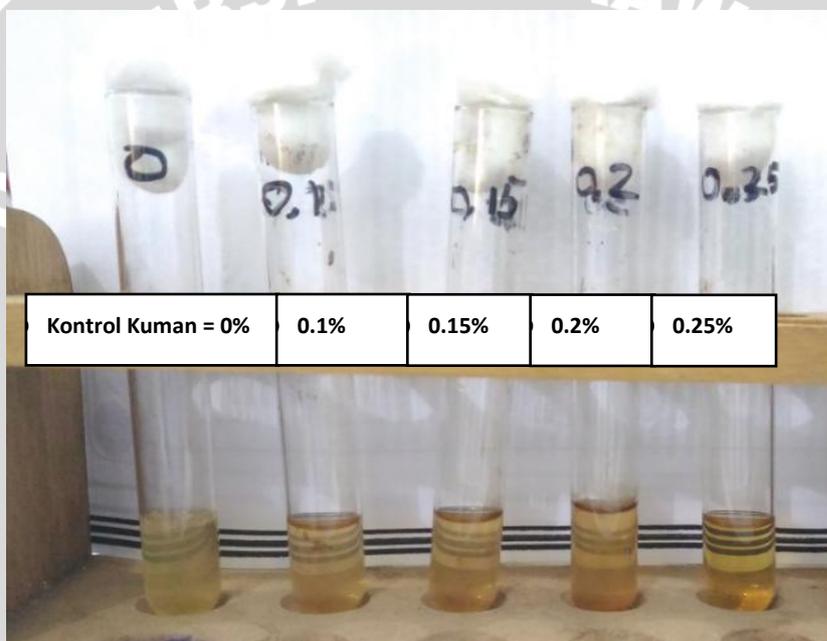
Penelitian eksplorasi ketiga menggunakan rentang konsentrasi yang lebih sempit antara 3% hingga 0,5% dengan perbedaan antarkonsentrasi 0.5%, yaitu konsentrasi 3%, 2.5%, 2%, 1.5%, 1%, 0.5% dan 0% sebagai Kontrol. Pada pencarian nilai KBM dari hasil uji ketiga, menunjukkan tidak adanya pertumbuhan koloni bakteri sehingga konsentrasi harus diturunkan di bawah 0.5%.

Penelitian eksplorasi keempat menggunakan rentang konsentrasi yang lebih sempit antara 0.6% hingga 0.1% dengan perbedaan antarkonsentrasi 0.1%, yaitu konsentrasi 0.6%, 0.5%, 0.4%, 0.3%, 0.2%, 0.1% dan 0% sebagai Kontrol. Dari hasil uji dilusi tabung didapatkan bahwa KBM adalah 0.3%. Dari hasil *streaking* NAP terlihat perubahan jumlah koloni antarkonsentrasi sehingga penelitian ini menetapkan menggunakan konsentrasi 0.1%, 0.15%, 0.2%, dan 0.25% dengan perbedaan antarkonsentrasi 0.05%.

5.1.3.2 Hasil Pengamatan Kekeruhan dan Analisis terhadap (KHM)

Pada penelitian ini digunakan empat macam konsentrasi ekstrak etanol bunga tahi kotok (*Tagetes erecta L.*), yaitu 0,25%, 0,2%, 0,15%, 0,1%, serta konsentrasi 0% (kontrol positif bakteri atau bakteri tanpa ekstrak maupun aquades). KHM (Kadar Hambat Minimal) adalah kadar atau konsentrasi minimal larutan ekstrak etanol bunga tahi kotok yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, ditandai dengan tidak didapatkan kekeruhan yang ditunjukkan pertama kali pada larutan ekstrak etanol yang telah diberi bakteri pada tabung. Untuk menentukan nilai KHM dilakukan pengamatan secara kualitatif dengan mata telanjang tanpa bantuan alat, menggunakan penilaian skor 0—3. Penentuan uji kualitatif dinilai dari kejernihan yang terlihat pada ketiga garis hitam yang dijadikan latar belakang tabung dan digunakan kontrol bakteri sebagai bahan perbandingan tingkat kekeruhan.

Warna ekstrak bunga tahi kotok yang sudah diinkubasi selama 18—24 jam pada suhu 37°C yaitu berwarna kuning cerah dan jernih, kejernihan semakin terlihat seiring dengan kenaikan konsentrasi. Sebelum diinkubasi warna dari ekstrak adalah kuning jernih. Penilaian KHM ditentukan pada konsentrasi 0.15% dikarenakan kejernihan sudah mulai terlihat jelas dengan nilai skor = 0, berwarna kuning, tidak terdapat kekeruhan ataupun endapan. Perbandingan tingkat kekeruhan pada tiap-tiap konsentrasi dapat dilihat pada gambar 5.5

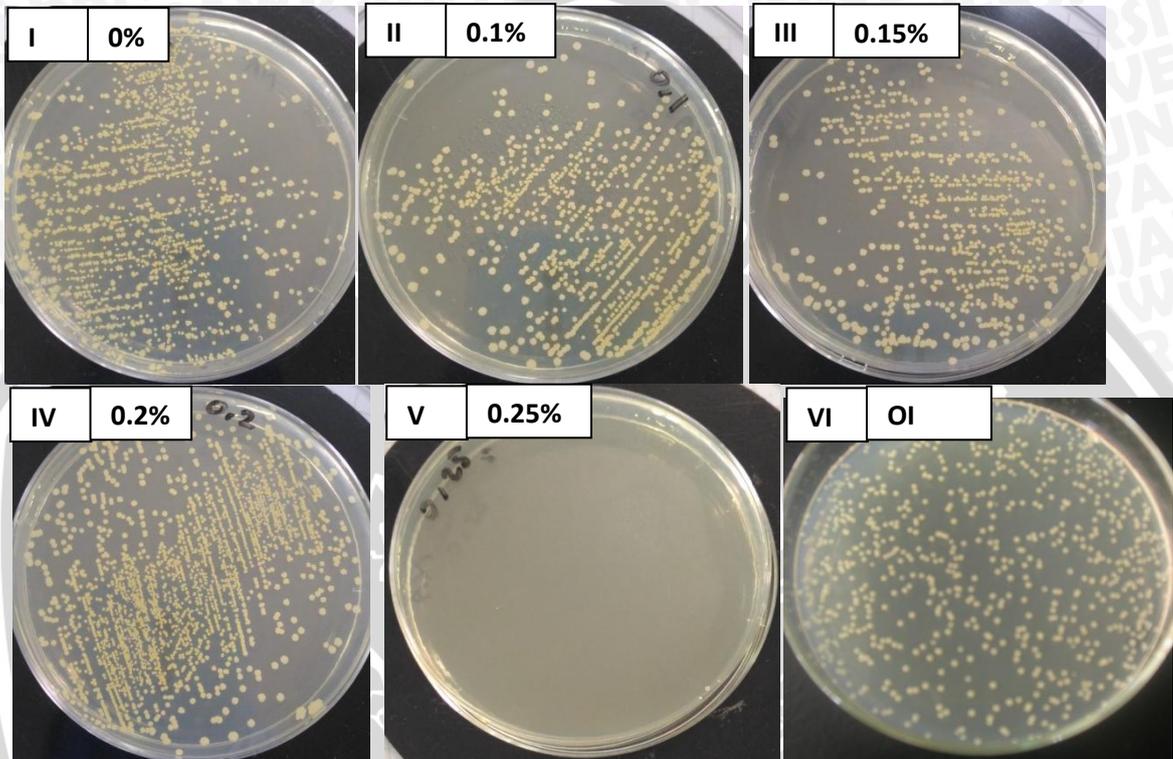


Gambar 5.5 Hasil Pengamatan Kekeruhan KHM pada Uji Ekstrak Bunga Tahi Kotok (*Tagetes erecta* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* pada Media Cair di Tabung

5.1.3.3 Hasil Penentuan KMB dan Analisis terhadap KBM

Untuk menentukan KBM, masing-masing tabung yang telah divortex ditanam pada media agar padat NAP (*Nutrient Agar Plate*) beri label sesuai konsentrasi yang distreaking. Pengenceran dengan NaCl pada masing-masing konsentrasi terlebih dahulu dilakukan guna mempermudah perhitungan jumlah koloni. Inkubasi seluruh plate pada suhu 37°C selama 18—24 jam. Keesokan harinya dilakukan perhitungan koloni bakteri yang tumbuh dengan menggunakan

colony counter pada masing-masing plate NAP untuk kelima pengulangan bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil pengamatan koloni bakteri yang tumbuh pada NAP dapat dilihat pada gambar 5.6



Gambar 5.6 Hasil Inokulasi Bakteri pada Media NAP

Keterangan Gambar:

- I : Konsentrasi ekstrak 0% yang hanya berisi bakteri *Staphylococcus aureus* tanpa ekstrak etanol bunga tahi kotok. Sebelum distreaking perlakuan diencerkan sebanyak 10.000x.
- II : Ekstrak etanol bunga tahi kotok dengan konsentrasi 0.1% dengan bakteri *Staphylococcus aureus*. Sebelum distreaking perlakuan diencerkan sebanyak 1.000x.
- III : Ekstrak etanol bunga tahi kotok dengan konsentrasi 0.15% dengan bakteri *Staphylococcus aureus*. Sebelum distreaking perlakuan diencerkan sebanyak 1.000x.
- IV : Ekstrak etanol bunga tahi kotok dengan konsentrasi 0.2% dengan bakteri *Staphylococcus aureus*. Sebelum distreaking perlakuan diencerkan sebanyak 100x.
- V : Ekstrak etanol bunga tahi kotok dengan konsentrasi 0.25% dengan bakteri *Staphylococcus aureus*. Sebelum distreaking perlakuan tidak diencerkan sama sekali.
- VI : Pertumbuhan koloni *Staphylococcus aureus* sebagai *Original inoculum*. Sebelum distreaking perlakuan diencerkan sebanyak 10.000x.

Berikut adalah hasil perhitungan koloni yang tumbuh pada media NAP tiap masing-masing konsentrasi beserta pengulangannya, jumlah koloni dihitung dengan menggunakan *colony counter* (tabel 5.2).

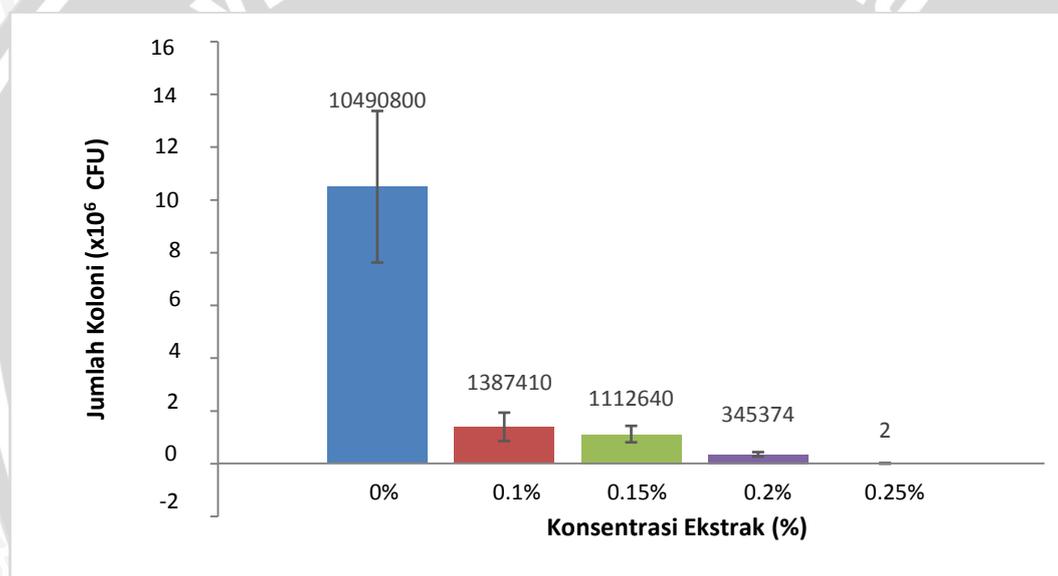
Tabel 5.2 Hasil Perhitungan Koloni Bakteri *Staphylococcus aureus* pada Media NAP

| konsentrasi | Jumlah koloni bakteri (CFU/plate) | | | | | Total | Rata-rata ± SD |
|-------------|-----------------------------------|----------|----------|---------|---------|----------|-----------------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | | |
| OI | 2980000 | 2590000 | 2760000 | 2830000 | 2790000 | 13950000 | 2790000 ± 140178 |
| 0 % | 10786000 | 11127000 | 14760000 | 8515000 | 7266000 | 52454000 | 10490800 ± 2873199 |
| 0,1 % | 1612200 | 1396500 | 2157200 | 794750 | 976400 | 6937050 | 1387410 ± 539297 |
| 0,15 % | 1317000 | 1044500 | 601700 | 1373800 | 1226200 | 5563200 | 1112640 ± 311675 |
| 0,2 % | 260000 | 287240 | 309950 | 441650 | 428030 | 1726870 | 345374 ± 83702 |
| 0,25 % | 4 | 5 | 1 | 0 | 0 | 10 | 2 ± 2,3 |

Dari tabel hasil perhitungan didapatkan selisih hasil hitung jumlah koloni antara OI dengan 0% yang berbeda jauh serta pada gambar hasil streaking di konsentrasi 0.2% yang telah dilakukan pengenceran larutan sebesar 100x, didapatkan hasil pertumbuhan koloni yang banyak dan padat, dibanding konsentrasi sebelumnya.

Kadar Bunuh Minimal (KBM) adalah kadar atau konsentrasi minimal larutan ekstrak etanol bunga tahi kotok yang mampu membunuh bakteri *Staphylococcus aureus*. Penentuan KBM ditandai dengan tidak adanya pertumbuhan koloni bakteri pada media NAP yang telah dilakukan *streaking* (penggoresan) sebanyak satu ose campuran ekstrak dengan bakteri tersebut, atau berjumlah koloni kurang dari 0,1% inokulum asli. Jumlah koloni pada *original inoculum* sebanyak 2790000 CFU/plate sehingga KBM dari *original inoculum* sebesar 2790 CFU/plate. Penilaian KBM ditentukan pada konsentrasi 0.25% dengan hasil pertumbuhan bakteri pada konsentrasi tersebut kurang dari 0.1% OI.

Data pada gambar 5.6 dan tabel 5.2 yang merupakan data hasil perhitungan jumlah koloni dibuat diagram rerata jumlah koloni yang menunjukkan hubungan antara pemberian berbagai konsentrasi ekstrak etanol bunga tahi kotok dengan jumlah koloni *Staphylococcus aureus* yang tumbuh pada medium NAP. Diagram rerata jumlah koloni menunjukkan adanya penurunan yang berarti pada peningkatan ekstrak etanol bunga tahi kotok. Untuk mengetahui gambaran interaksi antara perubahan konsentrasi ekstrak terhadap rata-rata jumlah koloni, maka dapat dilihat pada Gambar 5.7



Gambar 5.7 Diagram Hasil Jumlah Koloni Tiap Isolat terhadap Berbagai Konsentrasi Ekstrak Etanol Bunga Tahi Kotok

5.2 Analisis Data

Hasil penelitian ini dianalisis menggunakan program analisis statistik, *IBM SPSS (Statistical Products and Service Solutions) Statistics, version 22.0 for windows*. Dalam perhitungan hasil penelitian ini digunakan taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$).

5.2.1 Uji Asumsi Data

Penggunaan uji parametrik memiliki beberapa persyaratan, diantaranya yang bisa dilakukan dengan uji Statistik adalah Uji Normalitas dan Uji Homogenitas Data. Jika dari kedua uji tersebut didapatkan hasil sebaran data tidak normal dan varian data tidak homogen, maka digunakan uji non parametrik.

5.2.1.1 Uji Normalitas Data

Untuk menguji normalitas sebaran data pada sampel ada 2 macam uji yang dapat digunakan, yaitu *Kolmogorov Smirnov* dan *Saphiro Wilk*. Pada jumlah sampel lebih dari 50, digunakan uji *Kolmogorov Smirnov* dan sebaliknya pada jumlah sampel kurang dari 50, digunakan uji *Saphiro Wilk*. Karena pada penelitian, jumlah sampel kurang dari 50, digunakan uji *Saphiro Wilk*.

Dari pengujian, didapatkan nilai signifikansi = 0.000 (Lampiran 4), karena $p < 0.05$, maka H_0 (sebaran data tidak normal) diterima dan H_1 (sebaran data normal) ditolak. Artinya, sebaran data tidak normal. Selanjutnya, digunakan transformasi data akar kuadrat dan logaritma 10 dan dilakukan pengulangan uji normalitas yang sama, didapatkan nilai signifikansi tetap, 0.000. (Lampiran 4)

5.2.1.2 Uji Homogenitas Data

Untuk menguji variansi data, digunakan uji Levene (*Levene Statistic test of homogeneity of variances*). Dari pengujian varian data, diapatkan nilai signifikansi = 0.00 (Lampiran 4), karena $p < 0.05$, maka H_0 (varian data heterogen) diterima dan H_1 (varian data homogen) ditolak. Artinya, sebaran data tidak homogen. Selanjutnya, digunakan transformasi data akar kuadrat, dan dilakukan pengulangan uji variansi data yang sama, didapatkan nilai signifikansi

tetap, 0.000. (Lampiran 4). Karena tidak memenuhi uji asumsi normalitas dan homogenitas, maka yang digunakan adalah uji non parametrik.

5.2.2 Uji Analisis *Kruskal Wallis*

Uji analisis ini digunakan untuk menilai pengaruh dari variable independen terhadap variable dependen secara bersama-sama. H0 (variable independen secara bersama-sama berpengaruh bermakna atau signifikan) dan H1 (variable independen secara bersama-sama tidak berpengaruh bermakna atau tidak signifikan).

H0 diterima dan H1 ditolak jika nilai signifikansi < 0.05 dan sebaliknya, H0 ditolak dan H1 diterima jika nilai signifikansi > 0.05 . Dari hasil pengujian, didapatkan nilai signifikansi = 0.000 (lampiran 5). Berarti variable independen secara bersama-sama berpengaruh bermakna (signifikan) pada variable dependen. Untuk mengetahui antar kelompok perlakuan mana saja yang memiliki pengaruh secara bermakna (signifikan) dilanjutkan dengan uji analisis *Mann-Whitney*.

5.2.3 Uji *Mann-Whitney*

Uji *Mann-Whitney* merupakan uji non parametrik yang membandingkan antara 2 kelompok perlakuan yaitu jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus* yang tumbuh pada media NAP di tiap perlakuan konsentrasi ekstrak bunga tahi kotok. Uji ini menunjukkan nilai perbandingan antar kelompok, untuk menentukan kelompok perlakuan yang memberikan perbedaan signifikan dan yang tidak memberikan perbedaan secara signifikan. Perbedaan yang bermakna, ditunjukkan dengan nilai signifikansi < 0.05 . Dari hasil rekap nilai uji *Mann-Whitney*, pada table 5.3 dibawah (lampiran 5), dapat diketahui bahwa terdapat

perbedaan yang bermakna pada hampir semua pasangan kelompok perlakuan yang dibandingkan, kecuali pada konsentrasi 0.1% (perlakuan 1) tidak berbeda secara signifikan dengan konsentrasi 0.15% (perlakuan 2).

Tabel 5.3 Tabel Hasil Uji Analisis *Mann-Whitney*

| Perlakuan 1 | Perlakuan 2 | Signifikansi |
|-------------|-------------|--------------|
| 0 % | 0.1 % | 0.009* |
| | 0.15 % | 0.009* |
| | 0.2 % | 0.009* |
| | 0.25 % | 0.009* |
| 0.1 % | 0.15 % | 0.347 |
| | 0.2 % | 0.009* |
| | 0.25 % | 0.009* |
| 0.15 % | 0.2 % | 0.009* |
| | 0.25 % | 0.009* |
| 0.2% | 0.25 % | 0.009* |

*kelompok perlakuan bermakna

5.2.4 Uji Korelasi Spearman

Uji Korelasi Spearman's Rho (Lampiran 6) adalah uji korelasi untuk uji analisis statistik non parametrik, menunjukkan angka signifikansi 0.000 ($p < 0,05$) yang berarti terdapat hubungan yang bermakna antara pemberian ekstrak etanol bunga tahi kotok dengan jumlah koloni bakteri *Staphylococcus aureus*.

Selanjutnya adalah, besar koefisien korelasi Spearman yaitu $R = -0,949$. Tanda minus (-) menunjukkan hubungan negatif yaitu bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol bunga tahi kotok, maka semakin sedikit jumlah koloni bakteri yang tumbuh, dan begitupula sebaliknya. Nilai 0,950 menunjukkan kekuatan hubungan yang sangat kuat. Sesuai dengan kriteria nilai koefisien korelasi, sebagai berikut. 0 berarti tidak ada hubungan, >0 sampai 0.25 berarti berhubungan lemah, 0.26 sampai 0.5 berarti berhubungan moderat, 0.51 sampai

0.75 berarti berhubungan kuat, 0.76 sampai 0.99 berarti berhubungan sangat kuat, dan yang terakhir nilai 1 berarti kekuatan hubungan sempurna.

