

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Pengamatan

5.1.1 Hasil Ekstraksi Buah Mahkota Dewa

Sebanyak 2,5 Kg bubuk halus buah Mahkota Dewa yang sudah dikeringkan, diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Volume pelarut yang digunakan total sebanyak 30 liter. Setelah itu dilanjutkan dengan partisi cair-cair menggunakan n-heksana yang berguna untuk menghilangkan senyawa non polar seperti alkaloid, lemak dan getah. Kemudian dilanjutkan dengan pelarut n-butanol untuk mengikat senyawa semi-polar yakni flavonoid. Sisa ekstrak atau residu dihilangkan sehingga ekstrak hanya mengandung flavonoid saja. Hasil akhir didapatkan volume ekstrak flavonoid buah Mahkota Dewa sebesar 104 gram yang berupa pasta berwarna kecoklatan. Untuk menguji efektivitas ekstrak flavonoid buah Mahkota Dewa sebagai antibakteri digunakan uji secara in vitro dengan metode dilusi tabung untuk menentukan KHM dan KBM.



Gambar 5.1 Hasil Ekstrak Flavonoid Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) Sebanyak

20 ml.

Uji fitokimia pada ekstrak flavonoid buah Mahkota Dewa juga dilakukan untuk mengetahui apakah ekstrak yang sudah jadi masih mengandung senyawa lain atau tidak. Hasil uji fitokimia pada ekstrak flavonoid buah Mahkota Dewa adalah sebagai berikut (Tabel 5.1).

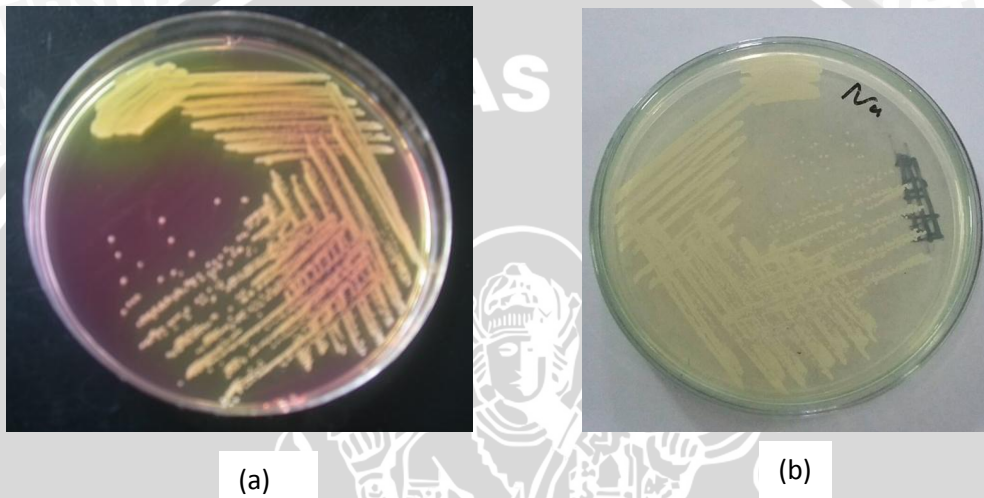
Tabel 5.1 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Flavonoid Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*)

No.	Uji Fitokimia	Pereaksi	Perubahan yang Terjadi	Hasil Uji
1	Saponin	Air panas HCl 2 N	Tidak terbentuk busa di atas ekstrak	(-) Saponin
2	Alkaloid	HCl 2 N Air Suling Larutan Mayer Pereaksi Wagner	Mayer: Tidak terdapat endapan berwarna putih atau kuning Wagner: Tidak terdapat endapan berwarna coklat	(-) Alkaloid
3	Flavonoid	Serbuk Mg HCl pekat	Terjadi perubahan warna menjadi merah	(+) Flavonoid

5.1.2 Hasil Identifikasi Bakteri

Penelitian ini menggunakan isolat bakteri *Staphylococcus aureus* yang didapat dari isolat pus di Laboratorium Mikrobiologi FKUB. Sampel bakteri kemudian diidentifikasi untuk membuktikan bahwa bakteri yang digunakan tersebut adalah bakteri *Staphylococcus aureus*. Identifikasi dilakukan dengan beberapa cara antara lain penanaman pada medium NAP (*Nutrient Agar Plate*), medium MSA (*Manitol Salt Agar*), uji katalase, uji koagulase dan pewarnaan gram.

Pada medium NAP didapatkan hasil koloni berwarna kuning emas berbentuk bulat, konveks dengan tepi rata, permukaan mengkilat dan lunak konsistensinya (Gambar 5.2.a). Pada medium MSA ditemukan hasil positif dengan adanya perubahan warna dari merah menjadi kuning pada mediumnya. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri *S. aureus* dapat memfermentasikan mannitol (Gambar 5.2.b).



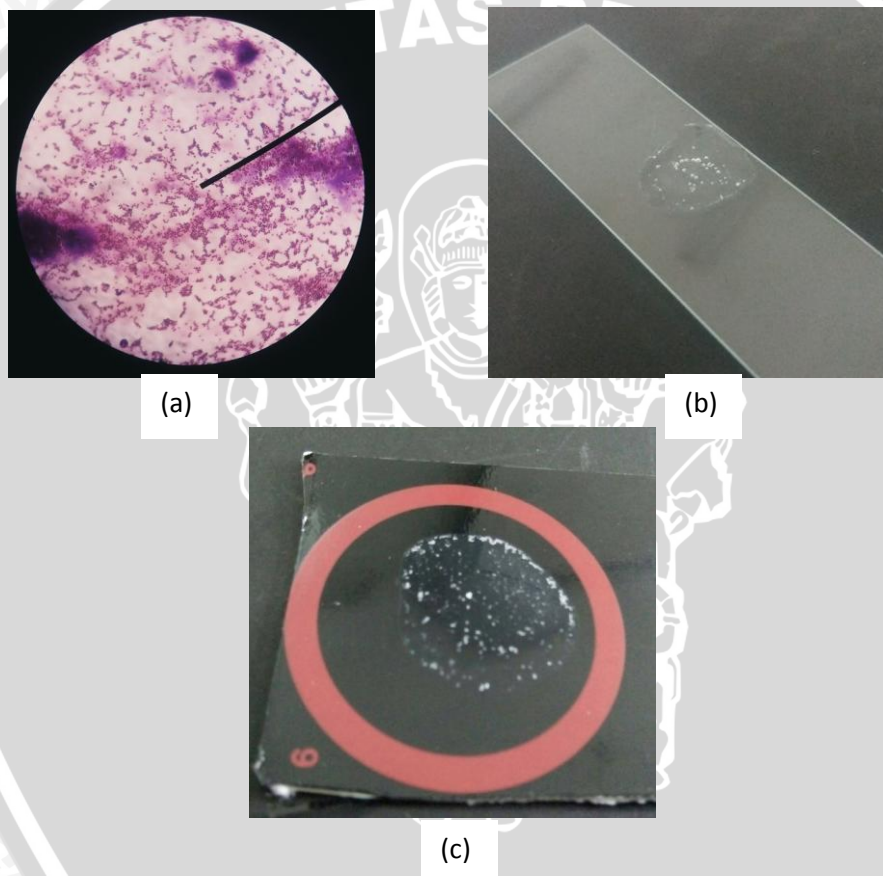
Gambar 5.2 Penanaman *Staphylococcus aureus* pada Media MSA (*Manitol Salt Agar*) dan NAP (*Nutrient Agar Plate*) dengan Hasil Positif.

Keterangan gambar:

- (a) pada media MSA, Pertumbuhan koloni berwarna kuning dengan dikelilingi zona kuning keemasan
- (b) pada media NAP, pertumbuhan koloni bulat dan berwarna kuning keemasan.

Pada pewarnaan gram, pengamatan dilakukan dibawah mikroskop dengan pembesaran 1000x dan didapatkan hasil koloni berbentuk kokus bergerombol seperti anggur dan berwarna ungu khas gram positif (Gambar 5.3.a). Pada tes katalase, didapatkan hasil positif dengan ditandai terbentuknya gelembung udara setelah usapan bakteri *S. aureus* di tetesi dengan H_2O_2 3% (Gambar 5.3.b). *Staphylococcus aureus* menghasilkan katalase yang mengubah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen. Pada tes koagulase, menunjukkan

hasil positif dengan ditandai terbentuknya gumpalan putih pada cairan lateks yang ditetesi bakteri *S. aureus* (Gambar 5.3.c). *S. aureus* menghasilkan koagulase, protein menyerupai enzim yang mampu menggumpalkan lateks dengan adanya suatu faktor yang terdapat dalam serum. Faktor serum beraksi dengan koagulase untuk membentuk esterase dan aktivitas penggumpalan. Setelah dilakukan identifikasi pada bakteri, selanjutnya isolate *S. aureus* dikultur ulang untuk kemudian diberikan perlakuan sebanyak tiga kali pengulangan.



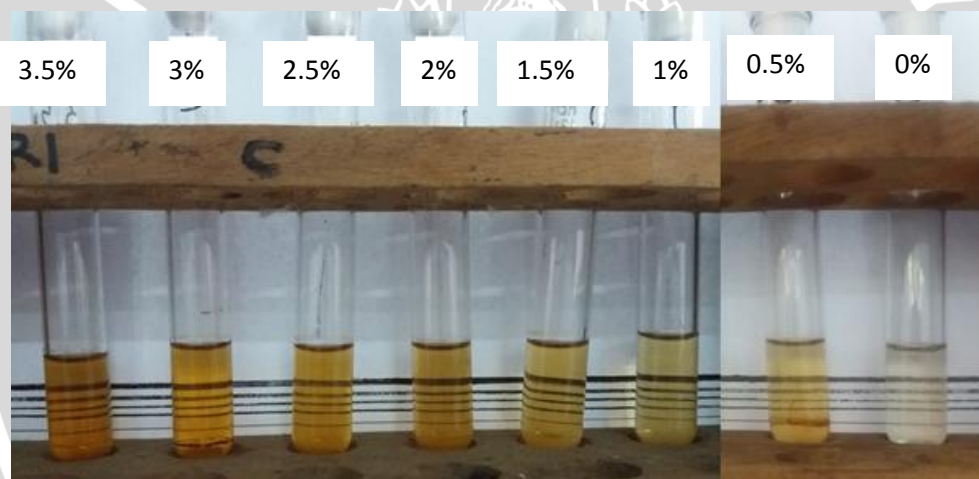
Gambar 5.3 Pewarnaan Gram *Staphylococcus aureus* dengan Pembesaran 1000x pada Mikroskop Cahaya, Hasil Uji Katalase Positif dan Hasil Uji Koagulase Positif.

Keterangan gambar:

- (a) Menunjukkan bahwa bakteri berbentuk bulat bergerombol seperti buah anggur dan berwarna ungu,
- (b) Uji katalase positif ditandai dengan adanya gelembung udara setelah ditetesi dengan H_2O_2 3%, dan
- (c) Uji Koagulase positif ditandai dengan adanya gumpalan.

5.1.3 Hasil Pengamatan Kekeruhan dan Analisis terhadap KHM

Pada penelitian ini digunakan 7 macam konsentrasi ekstrak flavonoid buah Mahkota Dewa yaitu, 3.5%, 3%, 2.5%, 2%, 1.5%, 1%, dan 0.5%, serta konsentrasi 0% sebagai kontrol positif (tanpa ekstrak) dan konsentrasi 100% sebagai kontrol negatif (tanpa bakteri). Warna ekstrak flavonoid buah Mahkota Dewa adalah kuning kecoklatan. Tingkat kekeruhan larutan ekstrak flavonoid buah Mahkota Dewa dan bakteri *S. aureus* diamati untuk menentukan KHM. Kadar Hambat Minimal (KHM) adalah kadar terendah dari antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan pada bakteri yang ditandai dengan tidak adanya kekeruhan pada tabung setelah diinkubasi selama 18-24 jam.



Gambar 5.4 Hasil Kadar Hambat Minimal Ekstrak Flavonoid Buah Mahkota Dewa yaitu Pada Konsentrasi 1%.

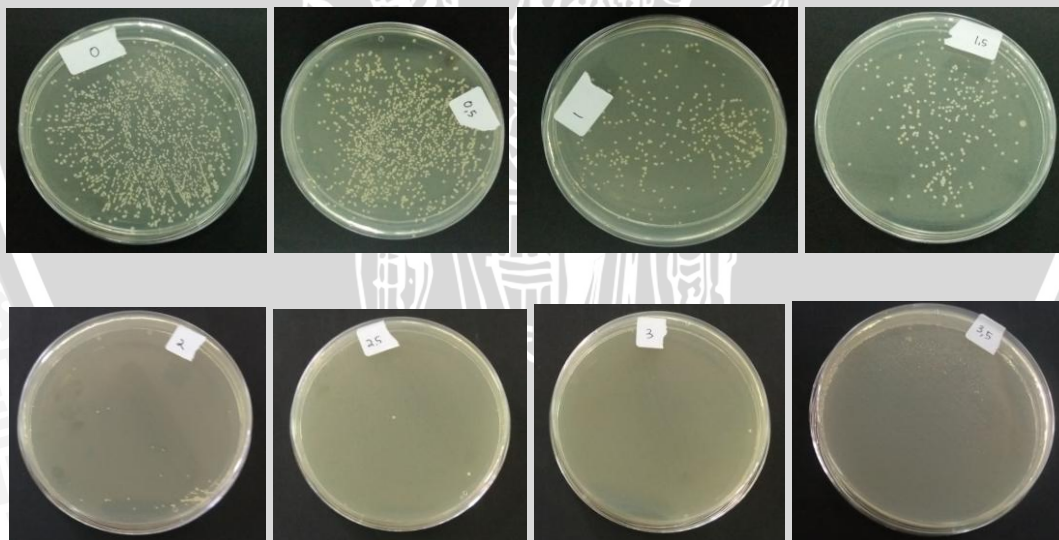
Keterangan gambar:

- Suspensi bakteri dan ekstrak flavonoid buah Mahkota Dewa dengan konsentrasi 3.5%
- Suspensi bakteri dan ekstrak flavonoid buah Mahkota Dewa dengan konsentrasi 3%
- Suspensi bakteri dan ekstrak flavonoid buah Mahkota Dewa dengan konsentrasi 2.5%
- Suspensi bakteri dan ekstrak flavonoid buah Mahkota Dewa dengan konsentrasi 2%
- Suspensi bakteri dan ekstrak flavonoid buah Mahkota Dewa dengan konsentrasi 1.5%
- Suspensi bakteri dan ekstrak flavonoid buah Mahkota Dewa dengan konsentrasi 1%
- Suspensi bakteri dan ekstrak flavonoid buah Mahkota Dewa dengan konsentrasi 0.5%
- Suspensi bakteri dan ekstrak flavonoid buah Mahkota Dewa dengan konsentrasi 0%

Tabung kontrol positif digunakan sebagai acuan untuk menentukan KHM, dimana tabung berkonsentrasi terkecil yang lebih jernih daripada kontrol positif adalah nilai KHM. Pada penelitian ini penampakan jernih awal terlihat pada konsentrasi 1% dengan tidak adanya kekeruhan pada tabung dan garis lurus horizontal tampak terlihat dengan jelas.

5.1.4 Hasil Penentuan KBM dan Analisis terhadap KBM

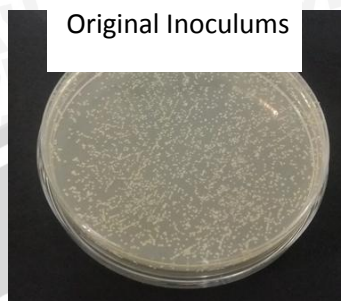
Setelah tabung diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C dan diamati tingkat kekeruhannya untuk melihat KHM, setiap konsentrasi ekstrak di-*streaking* dalam NAP. Setiap konsentrasi di-*steaking* pada 3 NAP yang berbeda. NAP diinkubasi kembali pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Keesokan harinya dilakukan perhitungan jumlah koloni yang tumbuh pada masing-masing konsentrasi media menggunakan *colony counter*. Hal ini dilakukan untuk melihat KBM dari ekstrak flavonoid buah Mahkota Dewa terhadap *S. aureus*.



Gambar 5.5 Hasil *Streaking* Suspensi Bakteri *S. aureus* dengan Berbagai Konsentrasi Ekstrak Flavonoid Buah Mahkota Dewa

Kadar Bunuh Minimum (KBM) adalah konsentrasi dengan jumlah koloni bakteri kurang dari 0.1% dari jumlah koloni yang tumbuh pada media OI (*Original*

inoculums). Jumlah koloni yang tumbuh pada media OI didapatkan hasil sebesar $1,9 \times 10^6$ Koloni/Plate sehingga OI dalam penelitian ini adalah 0,1% dikalikan dengan $1,9 \times 10^6$ dan didapatkan hasil sebesar 1900 Koloni/Plate.



Gambar 5.6 Original Inoculums

Dari hasil *streaking* pada media NAP dapat dilihat bahwa pertumbuhan koloni bakteri semakin berkurang seiring dengan semakin meningkatnya konsentrasi ekstrak atau hubungannya berbanding terbalik. Hasil penanaman dan perhitungan koloni bakteri *S. aureus* dari ekstrak flavonoid buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) untuk menentukan Kadar Bunuh Minimal (KBM) ekstrak flavonoid buah Mahkota Dewa didapatkan pada konsentrasi 2% dan bisa dilihat pada Tabel 5.2

Tabel 5.2 Hasil Perhitungan Koloni *Staphylococcus aureus* pada Nutrient Agar Plate (NAP)

Konsentrasi	Pengulangan			Rata-rata
	Pengulangan 1	Pengulangan 2	Pengulangan 3	
0%	94.950.000	27.630.000	28.630.000	50.403.333,33
0.5%	14.720.000	11.052.000	8.339.000	11.370.333,33
1%	335.000	152.000	327.000	217.333,33
1.5%	61.600	24.800	32.100	39.500
2%	60	8	4	24
2.5%	2	1	1	1,33
3%	1	1	1	1
3.5%	0	0	0	0

5.2 Analisis Data

Hasil penelitian ini dianalisa menggunakan analisis statistika SPSS for Windows ver. 19.0. Analisis data hasil jumlah koloni pada Tabel 5.2 menggunakan uji statistik parametrik *One-Way ANOVA* dan uji statistic korelasi-regresi karena data penelitian ini bersifat data rasio yang memiliki satu variable bebas dan satu variable tergantung. Dalam perhitungan hasil penelitian ini digunakan taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 0.05$).

Sebagai syarat analisis statistika parametrik diperlukan beberapa uji pendahuluan data sampel dengan uji normalitas. Data sampel diuji dengan menggunakan *Shapiro-Wik* untuk mengetahui apakah data memiliki distribusi normal atau tidak. Dari hasil pengujian terhadap variable jumlah hambatan koloni *Staphylococcus aureus*, diperoleh hasil signifikansi 0.475 ($p > 0.05$) yang menunjukkan bahwa data memiliki distribusi normal (Tabel 5.3).

Tabel 5.3 Hasil Uji Normalitas dengan Tes *Shapiro-Wik*

Shapiro-Wik			
	Statistik	df	sig
JK Bakteri	0.962	24	0.475

Sedangkan syarat berikutnya adalah varian data atau homogenitas harus sama, dianggap signifikan bila nilai signifikansinya lebih dari 0.05 ($p > 0.05$) (Dahlan, 2009). Uji homogenitas ragam data dilakukan untuk mendeteksi ada atau tidaknya heterogenitas pada data penelitian (Tabel 5.4).

Tabel 5.4 Hasil *Levene Test Homogeneity of Variance*

Levene Statistic	df 1	df 2	Sig.
2.664	7	16	0.056

Dari hasil pengujian data sampel diperoleh nilai signifikansi 0.056 ($p > 0.05$). Hasil uji homogenitas menunjukkan bahwa varian data yang didapat adalah homogeny. Setelah diketahui bahwa data tersebut normal dan varian data homogen maka data dapat dilanjutkan dengan analisis statistic *One-Way ANOVA*.

5.2.1 Uji *One-Way ANOVA*

Uji *One-way ANOVA* merupakan pengujian untuk mengetahui perbedaan nyata antar konsentrasi ekstrak flavonoid buah Mahkota Dewa terhadap rata-rata pertumbuhan koloni *S. aureus*. Dari hasil uji *One-Way ANOVA* didapatkan signifikansi sebesar 0.004 ($p < 0.05$) atau dengan kata lain perbedaan konsentrasi ekstrak flavonoid buah Mahkota Dewa mengakibatkan adanya perbedaan jumlah koloni *Staphylococcus aureus* (Tabel 5.5). Selanjutnya, untuk mengetahui kelompok mana saja yang berbeda secara bermakna, maka analisis data dilanjutkan dengan *Post Hoc Tukey test*.

Tabel 5.5 Uji *One-Way ANOVA*

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6564133865988850	7	937733409426979.0	5.005	0.004
Within Groups	2997641003261952	16	187352562703872.0		
Total	9561774869250800	23			

5.2.2 Uji *Post Hoc Tukey*

Uji *Pos Hoc Tukey* merupakan uji perbandingan berganda (*multiple comparisons*). Uji ini dapat menunjukkan pasangan kelompok sampel yakni kelompok konsentrasi ekstrak dan jumlah koloni yang memberikan perbedaan bermakna dan yang tidak memberikan perbedaan bermakna. Dari hasil uji *Post*

Hoc Tukey dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan jumlah koloni yang bermakna antar kelompok konsentrasi 0% (kelompok kontrol) dengan kelompok konsentrasi 3.5%, 3%, 2.5%, 2%, 1.5%, 1%, 0.5%. Sedangkan perbedaan jumlah koloni ekstrak yang lain tidak terlalu memiliki nilai yang bermakna. Hal ini menunjukkan bahwa dengan penambahan konsentrasi ekstrak, tidak terdapat penurunan jumlah koloni yang bermakna pada peningkatan konsentrasi berikutnya (Tabel 5.6).



Tabel 5.6 Uji Post Hoc Tukey

Multiple Comparisons

Dependent Variable: JK Bakteri

Tukey HSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0%	.5%	39033000*	11175943	.047	340200.17	77725799.83
	1%	50132000*	11175943	.007	11439200.17	88824799.83
	1.5%	50363833*	11175943	.007	11671033.51	89056633.16
	2%	50403309*	11175943	.007	11710509.51	89096109.16
	2.5%	50403332*	11175943	.007	11710532.17	89096131.83
	3%	50403332*	11175943	.007	11710532.51	89096132.16
	3.5%	50403333*	11175943	.007	11710533.51	89096133.16
.5%	0%	-39033000*	11175943	.047	-77725799.83	-340200.17
	1%	11099000	11175943	.969	-27593799.83	49791799.83
	1.5%	11330833	11175943	.965	-27361966.49	50023633.16
	2%	11370309	11175943	.965	-27322490.49	50063109.16
	2.5%	11370332	11175943	.965	-27322467.83	50063131.83
	3%	11370332	11175943	.965	-27322467.49	50063132.16
	3.5%	11370333	11175943	.965	-27322466.49	50063133.16
1%	0%	-50132000*	11175943	.007	-88824799.83	-11439200.17
	.5%	-11099000	11175943	.969	-49791799.83	27593799.83
	1.5%	231833.33	11175943	1.000	-38460966.49	38924633.16
	2%	271309.33	11175943	1.000	-38421490.49	38964109.16
	2.5%	271332.00	11175943	1.000	-38421467.83	38964131.83
	3%	271332.33	11175943	1.000	-38421467.49	38964132.16
	3.5%	271333.33	11175943	1.000	-38421466.49	38964133.16
1.5%	0%	-50363833*	11175943	.007	-89056633.16	-11671033.51
	.5%	-11330833	11175943	.965	-50023633.16	27361966.49
	1%	-231833.33	11175943	1.000	-38924633.16	38460966.49
	2%	39476.00	11175943	1.000	-38653323.83	38732275.83
	2.5%	39498.67	11175943	1.000	-38653301.16	38732298.49
	3%	39499.00	11175943	1.000	-38653300.83	38732298.83
	3.5%	39500.00	11175943	1.000	-38653299.83	38732299.83
2%	0%	-50403309*	11175943	.007	-89096109.16	-11710509.51
	.5%	-11370309	11175943	.965	-50063109.16	27322490.49
	1%	-271309.33	11175943	1.000	-38964109.16	38421490.49
	1.5%	-39476.00	11175943	1.000	-38732275.83	38653323.83
	2.5%	22.67	11175943	1.000	-38692777.16	38692822.49
	3%	23.00	11175943	1.000	-38692776.83	38692822.83
	3.5%	24.00	11175943	1.000	-38692775.83	38692823.83
2.5%	0%	-50403332*	11175943	.007	-89096131.83	-11710532.17
	.5%	-11370332	11175943	.965	-50063131.83	27322467.83
	1%	-271332.00	11175943	1.000	-38964131.83	38421467.83
	1.5%	-39498.67	11175943	1.000	-38732298.49	38653301.16
	2%	-22.67	11175943	1.000	-38692822.49	38692777.16
	3%	.33	11175943	1.000	-38692799.49	38692800.16
	3.5%	1.33	11175943	1.000	-38692798.49	38692801.16
3%	0%	-50403332*	11175943	.007	-89096132.16	-11710532.51
	.5%	-11370332	11175943	.965	-50063132.16	27322467.49
	1%	-271332.33	11175943	1.000	-38964132.16	38421467.49
	1.5%	-39499.00	11175943	1.000	-38732298.83	38653300.83
	2%	-23.00	11175943	1.000	-38692822.83	38692776.83
	2.5%	-.33	11175943	1.000	-38692800.16	38692799.49
	3.5%	1.00	11175943	1.000	-38692798.83	38692800.83
3.5%	0%	-50403333*	11175943	.007	-89096133.16	-11710533.51
	.5%	-11370333	11175943	.965	-50063133.16	27322466.49
	1%	-271333.33	11175943	1.000	-38964133.16	38421466.49
	1.5%	-39500.00	11175943	1.000	-38732299.83	38653299.83
	2%	-24.00	11175943	1.000	-38692823.83	38692775.83
	2.5%	-1.33	11175943	1.000	-38692801.16	38692798.49
	3%	-1.00	11175943	1.000	-38692800.83	38692798.83

*. The mean difference is significant at the .05 level.



Pada *output* tabel *Homogeneous Subsets* (Tabel 5.7) diketahui perbedaan rata-rata yang signifikan antara kelompok kontrol dan konsentrasi. Pada *Homogeneous Subsets* ini 8 kelompok sampel masuk dalam 2 *subsets* yang berbeda.

Tabel 5.7 Uji *Homogeneous Subsets*

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
3.5%	3	0.00	
3%	3	1.00	
2.5%	3	1.33	
2%	3	24.00	
1.5%	3	39500.00	
1%	3	271333.33	
0.5%	3	1.1E+07	
0%	3		5.0E+07
Sig.		0.965	1.000

5.2.3 Uji Korelasi dan Regresi

Uji korelasi (Tabel 5.8) menunjukkan angka signifikan 0.004 ($p < 0.005$) yang berarti terdapat hubungan yang bermakna antara pemberian ekstrak flavonoid buah Mahkota Dewa terhadap jumlah koloni *Staphylococcus aureus*. Besar koefisien korelasi Pearson yaitu $r = -0.561$, tanda negative menunjukkan hubungan yang berbanding terbalik yakni semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin sedikit jumlah koloni bakteri yang tumbuh dan sebaliknya. Nilai 0.561 menunjukkan bahwa koefisien korelasinya kuat (nilai lebih dari 0.1).

Tabel 5.8 Uji Korelasi

		Konsentrasi	JK Bakteri
Konsentrasi	Pearson Correlation	1	-.561**
	Sig. (2-tailed)	.	.004
	N	24	24
JK Bakteri	Pearson Correlation	-.561**	1
	Sig. (2-tailed)	.004	.
	N	24	24

Uji regresi (Tabel 5.9) dalam penelitian ini digunakan untuk mengetahui sejauh mana hubungan antara peningkatan konsentrasi dengan kemampuan penghambatan jumlah koloni bakteri. Koefisien korelasi R Square (r^2) sebesar 0.315 menyatakan besarnya derajat kerataan hubungan antara konsentrasi ekstrak flavonoid buah Mahkota Dewa dengan jumlah koloni *S. aureus* yakni sebesar 31.5%. Hal ini berarti kontribusi pemberian ekstrak flavonoid buah Mahkota Dewa dalam menurunkan jumlah koloni *S. aureus* adalah sebesar 31.5%, sedangkan sisanya 68.5% disebabkan oleh faktor-faktor lain yang tidak diteliti (Dahlan, 2009).

Tabel 5.9 Uji Regresi

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.561 ^a	.315	.284	17257733.3