

## BAB 5

## HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Ekstrak Etanol Kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.)

Serbuk kering kulit apel manalagi yang digunakan dalam penelitian ini didapat dari UPT Materia Medica Batu, Dinas Kesehatan Propinsi Jawa Timur. Kulit apel manalagi diekstrak melewati proses ekstraksi dan evaporasi sehingga kemudian didapatkan ekstrak etanol kulit apel manalagi.

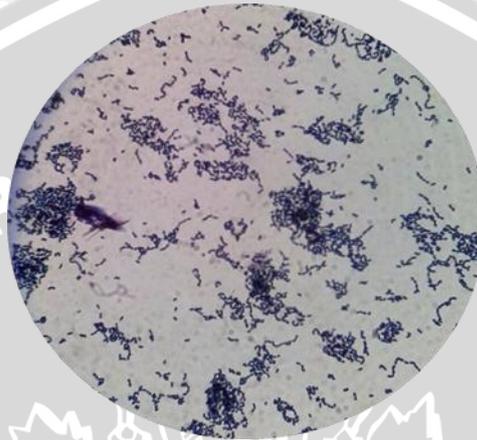


Gambar 5.1 Hasil ekstraksi kulit apel manalagi menggunakan pelarut etanol

5.2 Hasil Identifikasi *Enterococcus faecalis*

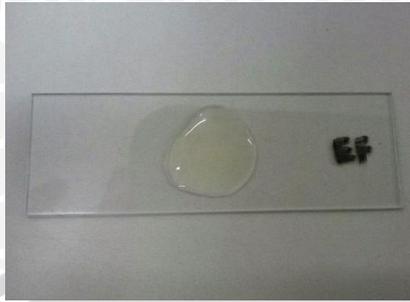
Bakteri *Enterococcus faecalis* yang digunakan dalam penelitian ini terlebih dahulu dilakukan uji identifikasi bakteri. Bakteri diidentifikasi dengan pewarnaan gram, tes katalase, tes toleransi garam, tes biokimia, dan tes hemolisis. Uji Identifikasi bakteri menggunakan pewarnaan gram bertujuan untuk 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 5.2). Hal ini menunjukkan bahwa bakteri yang diidentifikasi adalah bakteri kokus 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 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3%. *Enterococcus faecalis* menunjukkan hasil negatif. Hal tersebut ditandai dengan tidak tampak adanya gelembung udara (Gambar 5.3). Gelembung udara tidak ditemukan pada hasil tes ini yang menandakan bakteri uji 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 terdapat perubahan warna menjadi kuning (Gambar 5.4).



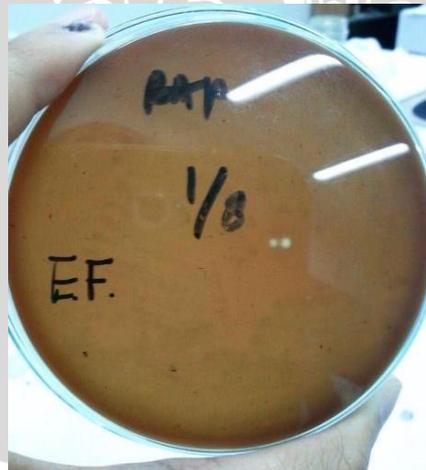
**Gambar 5.4 Tes toleransi garam pada *Enterococcus faecalis* terlihat keruh dan berwarna kuning**

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 5.5).



**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 hemolisis pada media *blood agar* (Gambar 5.6).

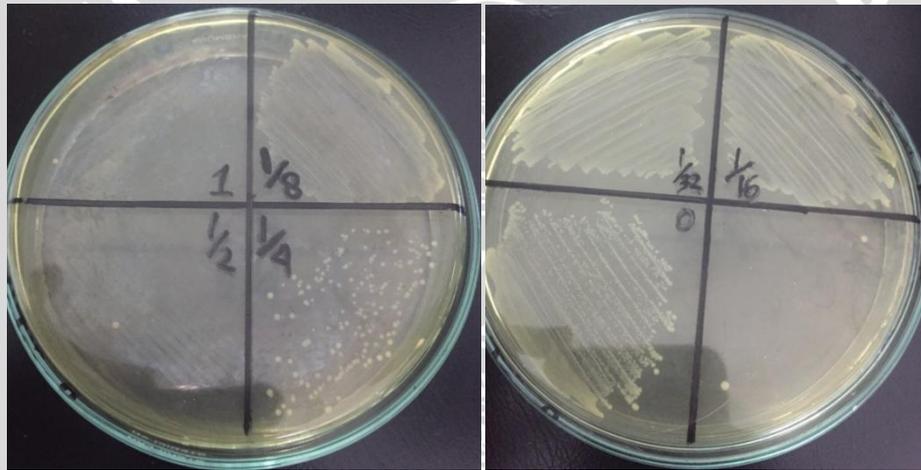


**Gambar 5.6 Hasil tes hemolisis *Enterococcus faecalis*. Tidak terjadi hemolisis pada *blood agar*.**

### 5.3 Uji Pendahuluan

Sebelum penelitian, dilakukan uji pendahuluan untuk menentukan konsentrasi dari ekstrak etanol kulit apel manalagi. Uji pendahuluan menggunakan konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, dan 0% dengan menggunakan metode dilusi tabung.

Hasil uji pendahuluan pada konsentrasi 100% menunjukkan tidak ada pertumbuhan bakteri. Sedangkan pada konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125% dan 0% menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri.



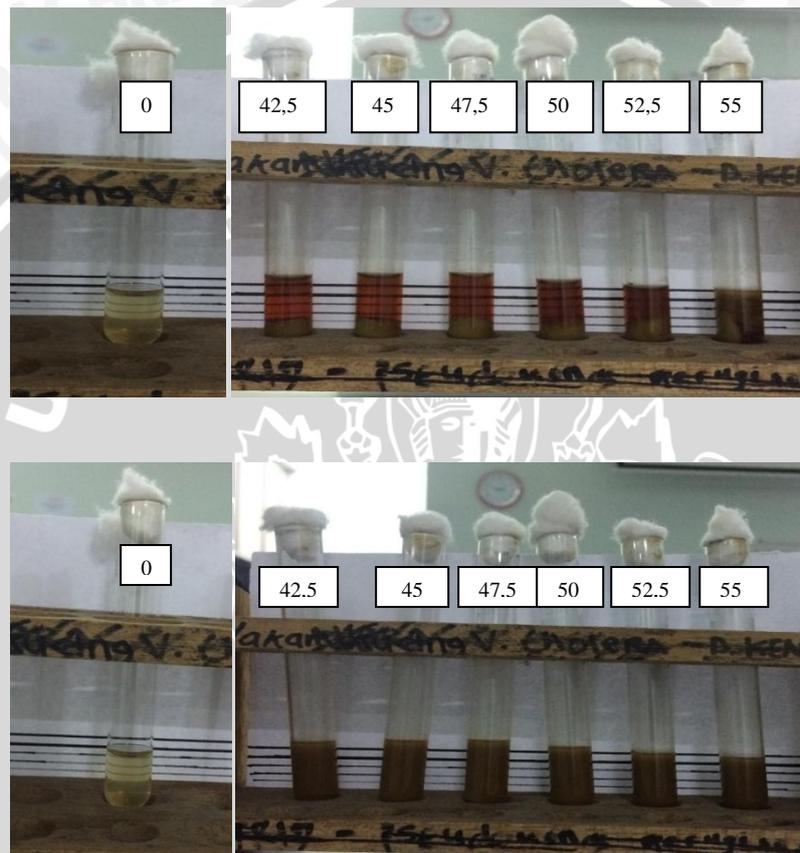
Gambar 5.7 Hasil Uji Pendahuluan

Selanjutnya didapatkan perapatan konsentrasi menjadi 0%; 42,5%; 45%; 47,5%; 50%; 52,5%; dan 55%.

### 5.4 Hasil Uji Dilusi Tabung

Untuk mengetahui nilai KHM, dilakukan pengamatan kekeruhan tabung secara visual dibantu dengan kertas bergaris-garis hitam yang diletakkan di belakang tabung. Nilai KHM tidak dapat ditentukan pada percobaan ini karena larutan menjadi keruh dan mengendap sehingga KHM tidak bisa diamati. Hal ini

disebabkan sifat larutan yang membentuk endapan (tampak sebelum dikocok dengan *vortex*) dan menjadi keruh setelah dikocok dengan *vortex*. Gambar hasil pengamatan tingkat kekeruhan larutan adalah sebagai berikut:



**Gambar 5.8 Hasil Pengamatan KHM dengan Metode Dilusi Tabung**

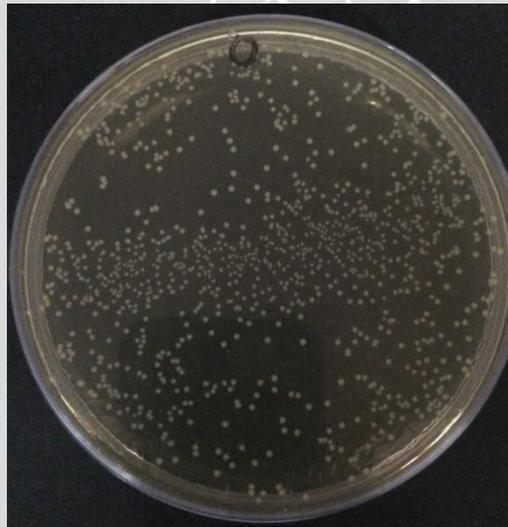
**Gambar atas: Sebelum dikocok dengan *vortex***

**Gambar bawah: Setelah dikocok dengan *vortex***

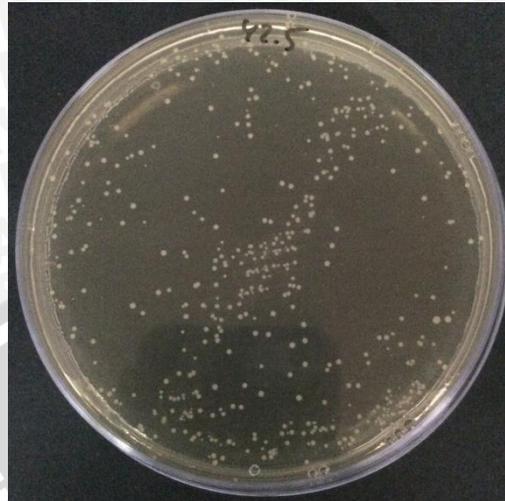
Pada penelitian ini nilai KHM tidak dapat diamati, sehingga langsung mencari nilai KBM. Untuk mengetahui konsentrasi yang merupakan nilai KBM, hasil dilusi tabung di-*streaking* pada media BHIA, diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°, kemudian koloni bakteri dihitung menggunakan *colony counter*.

### 5.5 Hasil Perhitungan Jumlah Koloni *Enterococcus faecalis*

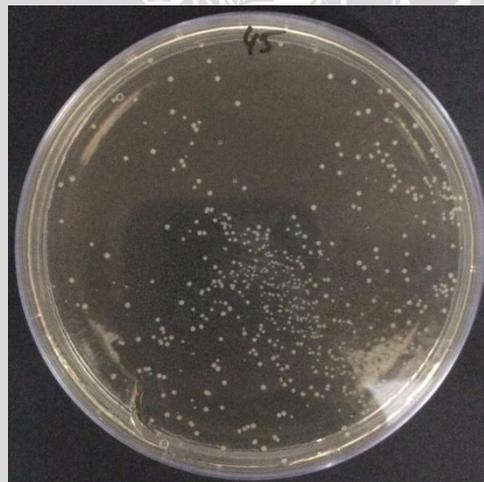
Perhitungan koloni *Enterococcus faecalis* pada media BHIA dilakukan dengan cara menghitung jumlah koloni *Enterococcus faecalis* yang tumbuh pada tiap plate yang berisi media BHIA yang telah di-streaking dengan biakan *Enterococcus faecalis* dan ekstrak etanol kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) dengan berbagai konsentrasi (0%, 42,5%; 45%; 47,5%; 50%; 52,5%; dan 55%) yang sebelumnya telah diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Gambar 5.9 Hingga Gambar 5.15).



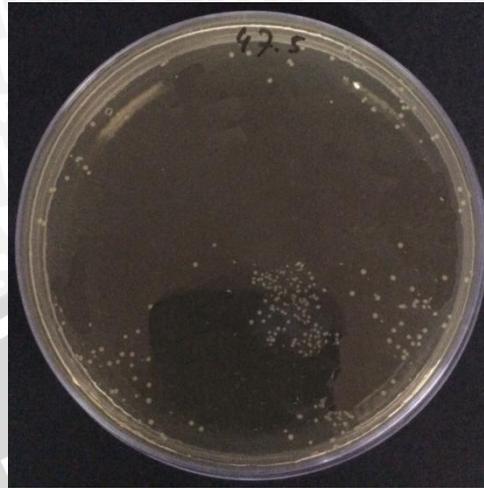
Gambar 5.9 Hasil *Streaking* Kontrol Bakteri (KB) pada Uji Dilusi Tabung



Gambar 5.10 Hasil *Streaking* Konsentrasi 42,5% pada Uji Dilusi Tabung



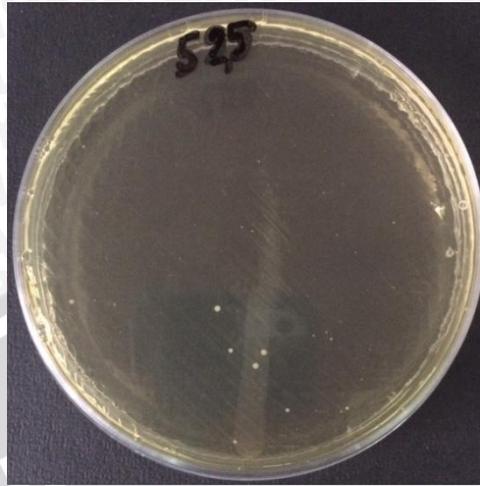
Gambar 5.11 Hasil *Streaking* Konsentrasi 45% pada Uji Dilusi Tabung



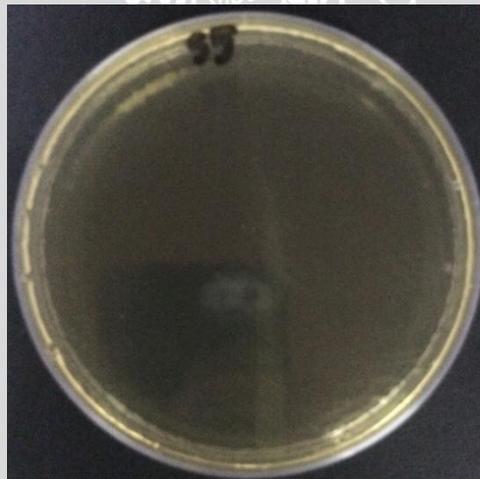
Gambar 5.12 Hasil *Streaking* Konsentrasi 47,5% pada Uji Dilusi Tabung



Gambar 5.13 Hasil *Streaking* Konsentrasi 50% pada Uji Dilusi Tabung



**Gambar 5.14 Hasil *Streaking* Konsentrasi 52,5% pada Uji Dilusi Tabung**



**Gambar 5.15 Hasil *Streaking* Konsentrasi 55% pada Uji Dilusi Tabung**

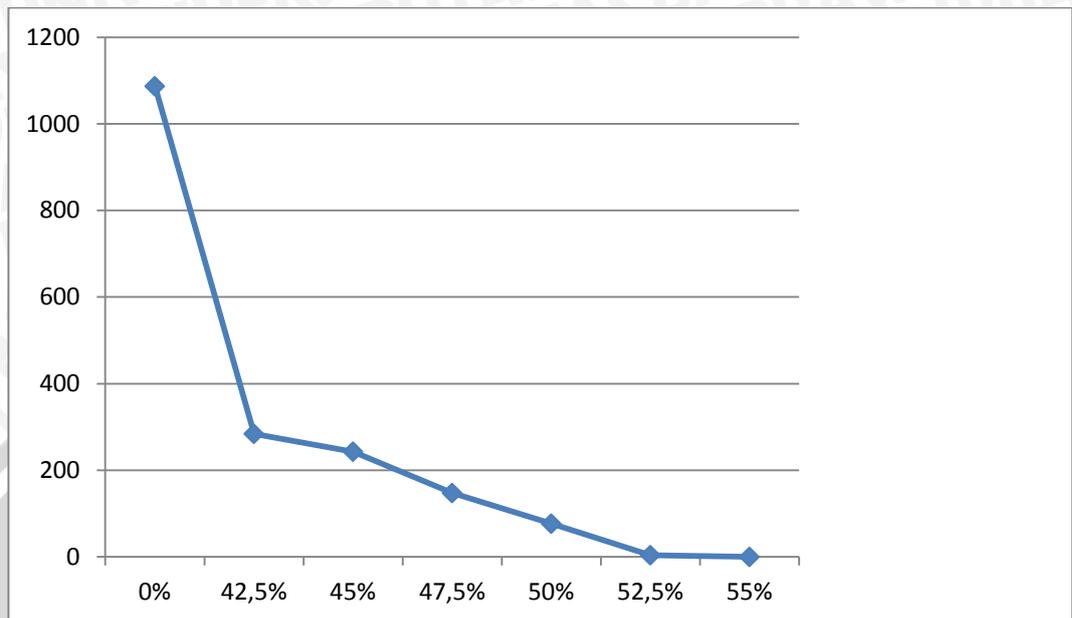
Tujuan dari pengamatan ini adalah untuk mengetahui Kadar Bunuh Minimal (KBM) dari ekstrak etanol kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) terhadap *Enterococcus faecalis*. Kadar Bunuh Minimal (KBM) ditentukan dari konsentrasi dimana tidak adanya jumlah koloni yang tumbuh pada BHIA. Penghitungan 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	Jumlah pertumbuhan bakteri (Uji Pengulangan Bakteri)				Rata-Rata
	1	2	3	4	
0%	1146	962	1058	1181	1086,75
42,5%	268	317	270	282	284,25
45%	250	224	255	243	243
47,5%	124	141	159	166	147,5
50%	96	62	68	81	76,75
52,5%	5	8	0	3	4
55%	0	0	0	0	0

Berdasarkan hasil penelitian tersebut, dapat dilihat bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.), terjadi penurunan jumlah koloni *Enterococcus faecalis* yang tumbuh pada media BHIA, dimana pada konsentrasi ekstrak etanol kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) 55% tidak didapatkan adanya pertumbuhan koloni *Enterococcus faecalis*. Oleh karena itu, dapat dikatakan bawah Kadar Bunuh Minimal (KBM) ekstrak etanol kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) terhadap *Enterococcus faecalis* adalah pada konsentrasi 55%.



**Gambar 5.16 Jumlah Rata-Rata Koloni *Enterococcus faecalis* Setelah Pemberian Berbagai Konsentrasi Ekstrak Etanol Kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.)**

Pada Gambar 5.16 didapatkan adanya penurunan jumlah koloni *Enterococcus faecalis* dari hasil empat kali pengulangan pada tiap konsentrasi ekstrak etanol kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.). Selain itu, dapat diamati pula bahwa setiap peningkatan konsentrasi ekstrak etanol kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) disertai penurunan jumlah pertumbuhan koloni *Enterococcus faecalis*. Pada konsentrasi 55% tidak terlihat adanya pertumbuhan koloni bakteri *Enterococcus faecalis*, sedangkan pada konsentrasi 0%; 42,5%; 45%; 47,5%; 50%; dan 52,5% semakin tinggi konsentrasinya, semakin sedikit jumlah pertumbuhan koloni bakteri. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) mempunyai efek antibakteri terhadap *Enterococcus faecalis*.

## 5.6 Analisis Data

### 5.6.1 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.

### 5.6.2 Uji Normalitas Data

Uji statistik pertama adalah untuk menentukan normalitas data dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk*, dimana suatu data dikatakan memiliki sebaran yang normal jika  $p > 0,05$ . Berdasarkan pengujian normalitas data dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk* didapatkan data kelompok memiliki  $p = 0,360$  yang menunjukkan bahwa data kelompok memiliki sebaran yang normal.

**Tabel 5.2 Uji Normalitas**

	Tests of Normality					
	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Jumlah Pertumbuhan Bakteri	.141	28	.165	.961	28	.360

a. Lilliefors Significance Correction

### 5.6.3 Uji Homogenitas Data

Setelah semua kelompok perlakuan diketahui berdistribusi normal, selanjutnya dilakukan uji homogenitas varians menggunakan *Levene's test*. Hasilnya diperoleh nilai  $p = 0,103$  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			
Jumlah Pertumbuhan Bakteri			
Levene Statistic	df 1	df 2	Sig.
2.052	6	21	.103

**5.6.4 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 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 ( $p < 0,05$ ) yang berarti efek pemberian berbagai konsentrasi ekstrak etanol kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) terhadap jumlah koloni *Enterococcus faecalis* terdapat perbedaan signifikan pada taraf kepercayaan 95%.

**Tabel 5.4 Uji Anova**

ANOVA					
Jumlah Pertumbuhan Bakteri					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3454779	6	575796.476	370.148	.000
Within Groups	32667.250	21	1555.583		
Total	3487446	27			

**5.6.5 Uji Post Hoc Tukey**

Uji *Post Hoc Tukey* merupakan uji pembandingan 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 tumbuh. Pada konsentrasi 42,5% dan 45% dikelompokkan menjadi satu subset karena antar konsentrasi tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Pada konsentrasi 47,5% dan 50% juga dikelompokkan menjadi satu subset karena antar konsentrasi tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Pada konsentrasi 50%; 52,5%; dan 55% dikelompokkan menjadi satu subset karena antar konsentrasi tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Namun ketiga kelompok tersebut jika dibandingkan dengan konsentrasi 0% menunjukkan perbedaan yang signifikan.

**Tabel 5.5 Hasil Uji *Post Hoc Tukey***

Konsentrasi	0%	42,5%	45%	47,5%	50%	52,5%	55%
0%		0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
42,5%	0,000*		0,753	0,001*	0,000*	0,000*	0,000*
45%	0,000*	0,753		0,035*	0,000*	0,000*	0,000*
47,5%	0,000*	0,001*	0,035*		0,196	0,001*	0,001*
50%	0,000*	0,000*	0,000*	0,196		0,173	0,134
52,5%	0,000*	0,000*	0,000*	0,001*	0,173		1,000
55%	0,000*	0,000*	0,000*	0,001*	0,134	1,000	

Keterangan: \* = terdapat perbedaan signifikan

**Tabel 5.6 Tabel Post Hoc Tukey Homogenous Subsets**

**Jumlah Pertumbuhan Bakteri**

Tukey HSD<sup>a</sup>

Kelompok	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
55%	4	.00			
52.5%	4	4.00			
50%	4	76.75	76.75		
47.5%	4		147.50		
45%	4			243.00	
42.5%	4			284.25	
0%	4				1086.75
Sig.		.134	.196	.753	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

### 5.6.6 Uji Korelasi-Regresi

Uji korelasi digunakan untuk mengetahui hubungan peningkatan konsentrasi ekstrak etanol kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) 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 kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) terhadap jumlah koloni bakteri. Besarnya koefisien korelasi antara -1 s/d 1. Bila nilainya mendekati -1 atau 1, maka hubungan keduanya variabel tersebut sangat kuat. Sedangkan bila nilainya 0 berarti tidak terdapat hubungan kedua variabel tersebut. Besar koefisien korelasi *Pearson* adalah  $R = -0,992$ . Tanda negatif menunjukkan hubungan terbalik, yaitu semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) maka semakin sedikit jumlah pertumbuhan koloni bakteri. Nilai 0,992 menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang kuat antara perlakuan konsentrasi dengan pertumbuhan bakteri. Besar koefisien korelasi yang mendekati -1 menunjukkan bahwa terdapat hubungan kedua variabel kuat negatif.

**Tabel 5.7 Uji Korelasi**

		Correlations	
		Konsentras	Jumlah Pertumbuhan Bakteri
Konsentras	Pearson Correlation	1	-.992**
	Sig. (2-tailed)	.	.000
	N	28	28
Jumlah Pertumbuhan Bakteri	Pearson Correlation	-.992**	1
	Sig. (2-tailed)	.000	.
	N	28	28

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

Uji regresi digunakan untuk mengetahui sejauh mana hubungan antara peningkatan konsentrasi ekstrak etanol kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) dalam menghambat pertumbuhan koloni *Enterococcus faecalis*. Berdasarkan hasil uji regresi, nilai *R square* ( $R^2$ ) adalah 0,984 menunjukkan bahwa kontribusi pemberian ekstrak etanol kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) dalam menurunkan jumlah koloni *Enterococcus faecalis* sebesar 98,4% sedangkan sisanya 1,6% disebabkan oleh faktor lain yang tidak diteliti. Faktor-faktor tersebut misalnya sterilisasi alat-alat yang kurang sempurna, adanya kontaminasi dari udara luar pada saat proses penelitian, usia simplisia kulit apel manalagi sebelum dilakukan ekstraksi, lama penyimpanan ekstrak, suhu tempat penyimpanan ekstrak, suhu inkubasi bakteri, atau resistensi bakteri itu sendiri.

**Tabel 5.8 Uji Regresi**

Model Summary				
Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.992 <sup>a</sup>	.984	.983	46.440

a. Predictors: (Constant), Konsentras

Rumus umum koefisien Regresi yaitu  $Y = a + bX$ . Hubungan antara konsentrasi ekstrak etanol kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) terhadap jumlah koloni bakteri *Enterococcus faecalis* dapat dinyatakan dengan rumus  $Y = 1098,538 - 19,992X$ , dimana Y adalah jumlah koloni bakteri *Enterococcus faecalis*, sedangkan X adalah konsentrasi ekstrak etanol kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.). Dari persamaan ini dapat diinterpretasikan bahwa setiap peningkatan dosis ekstrak sebesar 1% akan diiringi penurunan jumlah koloni bakteri secara signifikan sebanyak 19,992 koloni bakteri.

**Tabel 5.9 Koefisien Regresi**

Coefficients <sup>a</sup>						
Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	1098.538	22.707		48.378	.000
	Konsentras	-19.992	.501	-.992	-39.888	.000

a. Dependent Variable: Jumlah Pertumbuhan Bakteri

