

**POTENSI EKSTRAK KAYU SECANG
(CAESALPINIA SAPPAN LINN.) SEBAGAI BAHAN
PENGHAMBAT PERTUMBUHAN *Pseudomonas aeruginosa*.**

TUGAS AKHIR

**Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains
dalam bidang Kimia**

**oleh :
MOHAMAD ISA EKO PRASETYO
0110923012**

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2008**



LEMBAR PENGESAHAN TUGAS AKHIR
POTENSI EKSTRAK KAYU SECANG
(CAESALPINIA SAPPAN LINN.) SEBAGAI BAHAN
PENGHAMBAT PERTUMBUHAN *Pseudomonas aeruginosa*.

oleh :
MOHAMAD ISA EKO PRASETYO
0110923012

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada tanggal
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains dalam bidang Kimia

Pembimbing I

Pembimbing II

Arie Srihardyastutie, S.Si, M.Kes
NIP. 132 300 328

Dr. Soebiantoro, Apt, MSc
NIP. 131 124 652

Mengetahui,
Ketua Jurusan Kimia
Fakultas MIPA Universitas Brawijaya

M. Farid Rahman, S.Si, M.Si
NIP. 132 158 726

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Mohamad Isa Eko Prasetyo
NIM : 0110923012
Jurusan : Kimia
Penulis tugas akhir berjudul : **Potensi Ekstrak Kayu Secang
(*Caesalpinia Sappan* Linn.) Sebagai Bahan Penghambat
Pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*.**

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dari tugas akhir yang saya buat adalah benar-benar karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktub di isi dan tertulis didalam daftar pustaka dalam tugas akhir ini.
2. apabila di kemudian hari ternyata tugas akhir yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang,.....

Yang menyatakan,

(Mohamad Isa Eko Prasetyo)
NIM. 0110923012

**POTENSI EKSTRAK KAYU SECANG
(CAESALPINIA SAPPAN LINN.) SEBAGAI BAHAN
PENGHAMBAT PERTUMBUHAN *Pseudomonas aeruginosa*.**

ABSTRAK

Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui potensi ekstrak kayu secang sebagai penghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan untuk mengetahui nilai Kadar Hambat Minimum (KHM) serta Kadar Bunuh Minimum (KBM). Penelitian ini dilakukan secara in vitro menggunakan metode dilusi tabung yang dilanjutkan dengan *streaking* pada media NA. Ekstrak kayu secang dibagi dalam 6 konsentrasi diantaranya (0; 1,5; 1,7; 2; 2,2 and 2,4) % b/v yang masing-masing diaplikasikan pada empat isolat bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Hasil dari penelitian ini mengindikasikan penghambatan terhadap pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* oleh ekstrak kayu secang dan efektif sebagai antibakteri untuk *Pseudomonas aeruginosa*. Nilai KHM diperoleh pada konsentrasi 2,2% b/v, sedangkan nilai KBM pada konsentrasi 2,4%. Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak kayu secang sebagai antibakteri berpengaruh terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. Peningkatan konsentrasi ekstrak kayu secang menyebabkan penurunan pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*.



**SAPPAN WOOD (*CAESALPINIA SAPPAN* LINN.) EXTRACT
POTENTIALITY AS INHIBITED AGENT OF GROWTH
AGAINST *Pseudomonas aeruginosa***

ABSTRACT

The aim of this study is to know the antibacterial effect of sappan wood extract against *Pseudomonas aeruginosa*, to know the relation between concentration of sappan wood extract and the growth of *Pseudomonas aeruginosa*, and also to know the value of Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC). This study was an *in vitro* which employ tube dilution method continued by streaking in *Nutrient Agar Plate*. Sappan wood extract was divided into 6 concentrations, these were (0; 1,5; 1,7; 2; 2,2 and 2,4) % w/v to each applicated four bacterium isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. The result of this study indicates that sappan wood extract inhibited and effective as antibacterial against *Pseudomonas aeruginosa*. The MIC value is at concentration of 2,2% w/v, while the MBC is at concentration of 2,4% w/v. The conclusion of this study is that the sappan wood extract has an antibacterial effect to *Pseudomonas aeruginosa*, the increase of concentration of sappan wood percolate causes the decrease of the growth of *Pseudomonas aeruginosa*.



KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, taufik dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir dengan judul **Potensi Ekstrak Kayu Secang (*Caesalpinia Sappan* Linn.) Sebagai Bahan Penghambat Pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*.**

Penulis juga menyampaikan terima kasih kepada :

1. Arie Srihardyastutie, S.Si, M.Kes., selaku Dosen Pembimbing I, atas segala bimbingan, pengarahan, dan perhatian yang diberikan kepada penulis.
2. Dr. Soebiantoro, Apt, MSc., selaku Dosen Pembimbing II, atas bimbingan dan kesabaran yang diberikan kepada penulis.
3. Ir. Bambang Ismuyanto., selaku Dosen Penasehat Akademik atas dorongan dan semangat yang diberikan kepada penulis
4. M.Farid Rahman, S.Si., M.Si., selaku Ketua Jurusan Kimia Universitas Brawijaya atas perhatian kepada penulis selama melaksanakan masa studi.
5. Dosen Penguji, atas segala masukan dan saran yang diberikan kepada penulis untuk perbaikan naskah tugas akhir.
6. Semua Dosen Kimia Universitas Brawijaya, atas ilmu yang diberikan.
7. Pak Slamet selaku Laboran Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya atas bantuan dan arahnya.
8. Kedua orang tua yang selalu mendoakan, memberikan semangat, dan kasih sayang.
9. Istri dan buah hati yang setia menemani dan membantu dalam pengerjaan tugas akhir ini
10. Semua pihak yang telah membantu tersusunnya tugas akhir ini.

Penulis menyadari bahwa tugas akhir ini jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis mengharapkan masukan, saran, dan kritik yang bersifat membangun. Penulis berharap tugas akhir ini dapat bermanfaat.

Malang, Desember 2007

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
 BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah.....	2
1.3 Pembatasan Masalah.....	2
1.4 Tujuan Penelitian.....	3
1.5 Manfaat Penelitian.....	3
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Tanaman Secang (<i>Caesalpinia Sappan</i>).....	4
2.2 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5
2.3 Perkolasi.....	7
2.4 Penghambatan Pertumbuhan Bakteri oleh Senyawa Organik.....	8
2.5 Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM).....	10
2.6 Metode Dilusi Tabung.....	10
2.7 Hipotesis Penelitian.....	10
 BAB III METODE PENELITIAN	
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	11
3.2 Alat dan Bahan Penelitian.....	11
3.2.1 Alat.....	11
3.2.2 Bahan.....	11

3.3	Tahapan Penelitian	11
3.4	Cara Kerja.....	12
3.4.1	Perkolasi kayu secang	12
3.4.2	Pembuatan larutan stok perkolat secang	12
3.4.3	Uji Pendahuluan Fenolik.....	12
3.4.4	Pembuatan Nutrient Agar Plate (Media Padat)	12
3.4.5	Pembuatan Muller Hinton Broth (Media Produksi) ...	13
3.4.6	Peremajaan Biakan Murni Pseudomonas aeruginosa.....	13
3.4.7	Pembuatan Larutan Bakteri Pseudomonas aeruginosa	13
3.4.8	Penentuan KHM dengan Metode Dilusi Tabung	13
3.4.9	Penentuan KBM dengan Metode Streaking	14
3.5	Analisa Data.....	14

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1	Uji Antibakteri.....	17
4.1.1	Penentuan KHM dengan Metode Dilusi Uji Tabung	17
4.1.2	Penentuan KBM dengan Metode Streaking.....	18

BAB V PENUTUP

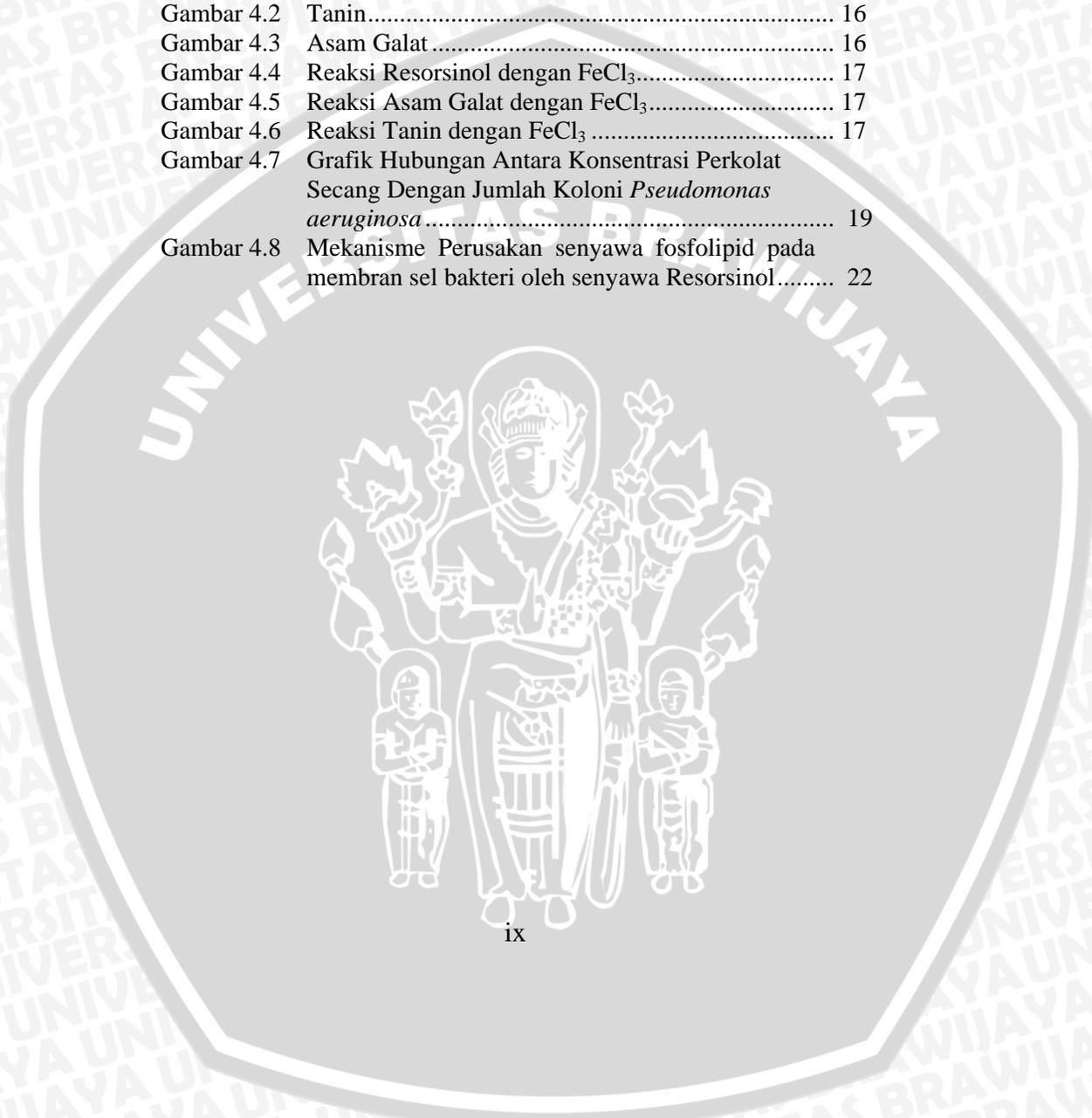
5.1	Kesimpulan.....	24
5.2	Saran.....	24

DAFTAR PUSTAKA	25
LAMPIRAN	28



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Potongan kayu secang.....	5
Gambar 2.2 Pewarnaan Gram <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6
Gambar 2.3 Gambar alat Perkolasi.....	8
Gambar 4.1 Resorsinol.....	16
Gambar 4.2 Tanin.....	16
Gambar 4.3 Asam Galat	16
Gambar 4.4 Reaksi Resorsinol dengan $FeCl_3$	17
Gambar 4.5 Reaksi Asam Galat dengan $FeCl_3$	17
Gambar 4.6 Reaksi Tanin dengan $FeCl_3$	17
Gambar 4.7 Grafik Hubungan Antara Konsentrasi Perkolat Secang Dengan Jumlah Koloni <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	19
Gambar 4.8 Mekanisme Perusakan senyawa fosfolipid pada membran sel bakteri oleh senyawa Resorsinol.....	22



DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 4.1 Hasil Pengamatan tingkat kekeruhan Pada Tabung Reaksi	18
Tabel 4.2 Hasil Pengamatan Jumlah Koloni pada media NAP (CFU/mL)	19



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1	Diagram Alir Penelitian..... 28
Lampiran 2	Diagram Kerja 29
L.2.1	Perkolasi kayu secang 29
L.2.2	Pembuatan larutan stok perkolat secang..... 29
L.2.3	Pembuatan Nutrient Agar Plate Untuk Peremajaan Biakan murni <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 30
L.2.4	Pembuatan Nutrient Agar Plate Untuk Penentuan KBM..... 30
L.2.5	Pembuatan Muller Hinton Broth (Media Produksi) 31
L.2.6	Peremajaan Biakan murni <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 31
L.2.7	Pembuatan larutan bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 10^6 sel/mL 32
L.2.8	Penentuan KHM dengan Uji Dilusi Tabung..... 32
L.2.9	Penentuan KBM dengan metode Streaking..... 33
L.2.10	Penentuan Koloni Bakteri menggunakan Colony Counter 33
Lampiran 3	Seting Alat Perkolasi 34
Lampiran 4	Colony Counter 35
Lampiran 5	Preparasi Larutan dan Bahan..... 36
L.5.1	Pembuatan larutan stok Perkolat Secang 10%b/v .. 36
L.5.2	Pembuatan larutan bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 10^6 sel/mL 36
Lampiran 6	Penentuan KHM (Kadar Hambat Minimum) Perkolat Kayu Secang Terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dengan metode Dilusi Tabung..... 37
	Gambar L.6.1 Larutan Kontrol Secang 37
	Gambar L.6.2 Hasil Uji Dilusi Tabung 37
Lampiran 7	Penentuan KBM (Kadar Bunuh Minimum) Perkolat Kayu Secang Terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dengan metode Streaking 38

Tabel L.7.1 Data hasil Uji Antibakteri Ekstrak Secang Terhadap *Pseudomonas aeruginosa* isolat PUS (CFU/mL)..... 38

Gambar L.7.1 Inokulum Asal (OI) 38

Gambar L.7.2 *Pseudomonas aeruginosa* + 0% Secang 38

Gambar L.7.3 *Pseudomonas aeruginosa* + 1,5% Secang 39

Gambar L.7.4 *Pseudomonas aeruginosa* + 1,7% Secang 39

Gambar L.7.5 *Pseudomonas aeruginosa* + 2% Secang 39

Gambar L.7.6 *Pseudomonas aeruginosa* + 2,2% Secang 39

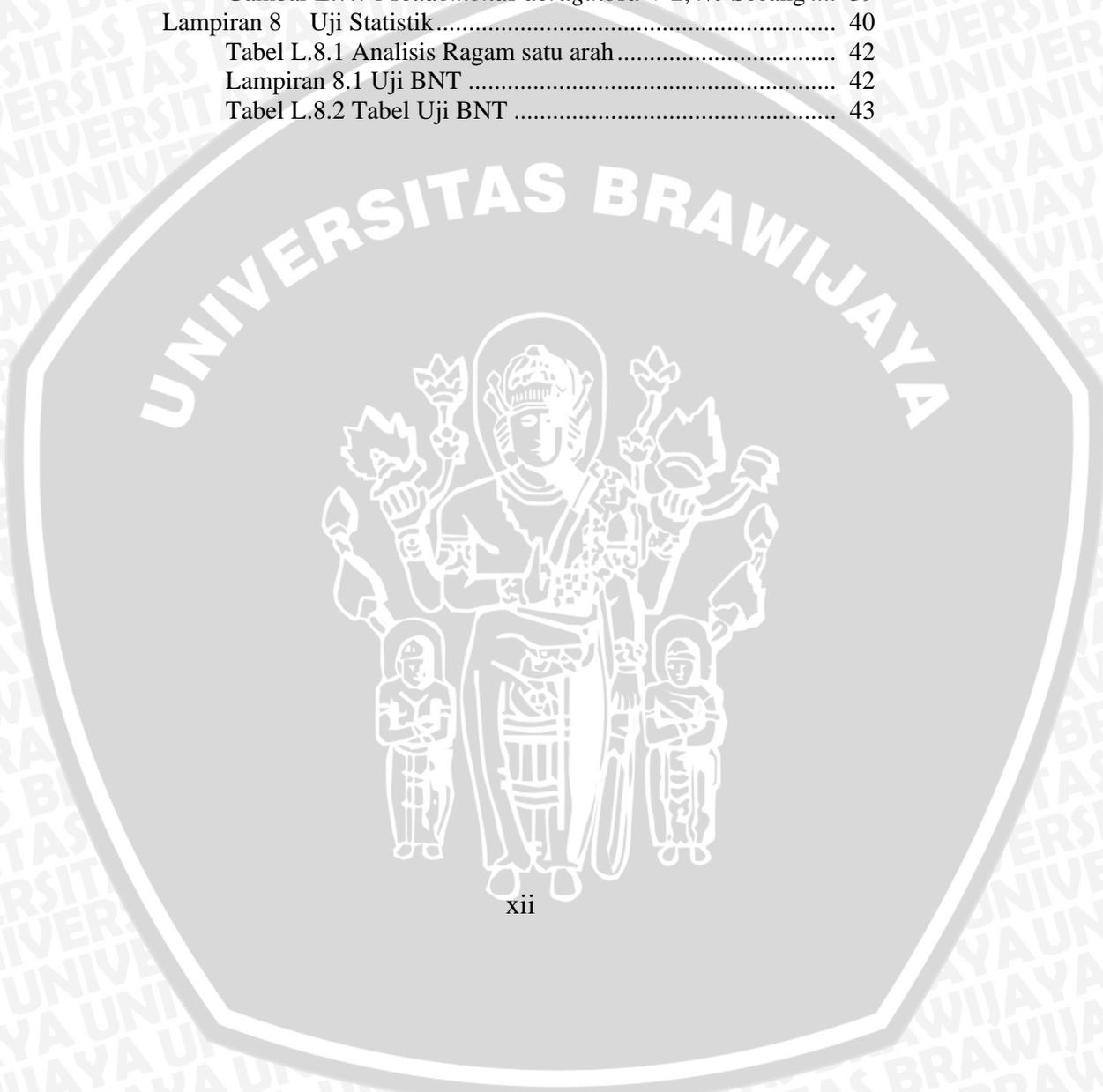
Gambar L.7.7 *Pseudomonas aeruginosa* + 2,4% Secang 39

Lampiran 8 Uji Statistik..... 40

Tabel L.8.1 Analisis Ragam satu arah..... 42

Lampiran 8.1 Uji BNT 42

Tabel L.8.2 Tabel Uji BNT 43



BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tanaman Secang (*Caesalpinia sappan* Linn) sebagai salah satu flora endemik belum dieksplorasi secara maksimal, padahal di beberapa tempat di Indonesia, tanaman Secang tumbuh liar dan kadang hanya ditanam sebagai tanaman pagar atau pembatas kebun karena tergolong pohon perdu (Wijayakusuma *dkk*, 1998). Kayu secang telah lama dikenal sebagai salah satu tanaman obat dan dipergunakan secara luas oleh masyarakat. Secara tradisional, tanaman secang biasanya digunakan untuk mengobati penyakit seperti memar, buang air besar berdarah, batuk darah, diare, dan membersihkan gumpalan darah setelah melahirkan (Wijayakusuma, 2005). Selain itu, menurut Aneng Widyastuti (1993), secang merupakan salah satu tumbuhan yang sering digunakan untuk mengobati penyakit karena infeksi.

Penelitian tentang analisa kandungan batang kayu secang (*Caesalpinia sappan* Linn) dengan ekstraksi menggunakan etanol 80% kemudian dilanjutkan dengan ether lalu diteliti kandungannya melalui prosedur kimia ECP (*Exhaustive Chemical Prosedure*) menunjukkan bahwa secang mengandung zat-zat kimia seperti : Resorsinol, brazilin, brazielin, vitamin C, serta sejumlah kecil tanin, saponin dan flavonoid (El-Mostehy, *et. al.*, 1995). Diantara zat-zat tersebut terdapat senyawa fenol dan turunannya yang menunjukkan sifat antibakteri dan sangat efektif dalam membunuh dan menghambat beberapa pertumbuhan bakteri dan antifungal (Doerge,1982).

Seiring dengan itu permasalahan kesehatan di masyarakat yang tidak pernah diatasi secara tuntas salah satunya adalah infeksi. Infeksi masih merupakan penyakit teratas penyebab kesakitan dan kematian di negara berkembang termasuk Indonesia (Anonymous, 2004). Walaupun infeksi sendiri saat ini diatasi dengan berbagai antibiotik, namun muncul permasalahan baru yaitu resistensi bakteri terhadap antibiotik yang ada. Resistensi bakteri yang terjadi saat ini disebabkan penggunaan antibiotik yang tidak tepat.

Dari beberapa bakteri yang multi resisten, *Pseudomonas aeruginosa* merupakan salah satu bakteri yang mendapat perhatian lebih karena *Pseudomonas aeruginosa* tersebar secara luas di alam

dan biasanya ada di lingkungan lembab di rumah sakit. *Pseudomonas aeruginosa* bersifat invasif dan toksigenik, mengakibatkan infeksi pada pasien dengan penurunan daya tahan tubuh. *Pseudomonas aeruginosa* dapat berada pada orang sehat, dimana bersifat saprofit. Hal ini dapat menyebabkan penyakit pada manusia dengan ketahanan tubuh yang tidak normal (Brooks, 2005). *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri yang multiresisten terhadap berbagai golongan antibiotik. Luka yang terjadi di kulit, jika tidak ditangani dengan benar sering menimbulkan infeksi. Hal ini terjadi karena di kulit banyak hidup flora normal diantaranya *Pseudomonas aeruginosa* (Dzen dkk, 2003).

Dari uraian diatas diduga bahwa kandungan kayu secang memiliki efek penghambatan terhadap pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian ilmiah tentang efek antimikroba kayu secang terhadap pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* sebagai alternatif untuk pengobatan terhadap infeksi oleh *Pseudomonas aeruginosa* mengingat sifat bakteri tersebut yang multiresisten terhadap banyak antibiotik.

Kemampuan penghambatan pertumbuhan bakteri uji oleh ekstrak secang ditunjukkan dengan nilai Kadar Hambat Minimum (KHM), dan nilai Kadar Bunuh Minimum (KBM).

1.2 Perumusan Masalah

1. Apakah perkolat kayu secang mempunyai potensi sebagai penghambat pertumbuhan terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*?
2. Berapa KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Bunuh Minimum) perkolat kayu secang terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*?

1.3 Pembatasan Masalah

1. Kayu secang diperoleh dari toko obat tradisional di kota Malang.
2. *Pseudomonas aeruginosa* diisolasi secara acak dari nanah penderita luka bakar di Rumah Sakit Umum Dr. Saiful Anwar, Malang.
3. Uji antimikroba dilakukan secara in vitro menggunakan metode Uji Dilusi Tabung untuk penentuan KHM dan metode *Streaking* untuk penentuan KBM

1.4 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui potensi perkolat kayu secang sebagai penghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*
2. Mengetahui KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Bunuh Minimum) perkolat kayu secang terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

1.5 Manfaat Penelitian

Diperoleh informasi tentang KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Bunuh Minimum) dari perkolat secang terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang dapat digunakan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Sehingga diperoleh alternatif untuk pengobatan terhadap infeksi yang disebabkan oleh *Pseudomonas aeruginosa*.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Secang (*Caesalpinia sappan* Linn)

Caesalpinia sappan Linn diklasifikasikan sebagai berikut (Anonymous, 2006):

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Fabales
Famili	: Fabaceae
Genus	: <i>Caesalpinia</i>
Spesies	: <i>Caesalpinia Sappan</i>

Secang (*Caesalpinia sappan* Linn) dikenal di berbagai daerah dengan nama sebagai berikut: Seupeung (Aceh); Sepang (Gayo); Sopang (Batak); Cacang (Minangkabau); Secang (Sunda); Soga Jawa (Jawa); Kayu Secang (Madura); Cang (Bali); Sepang (Sasak); Supa dan Supang (Bima); Sepel (Timor); Hong (Alor); Sepe (Roti); Hape (Sawu); Kayu sema (Manado); Dolo (Bare); Naga dan Sapang (Makassar); Sepang (Bugis); Sefen (Halmahera Selatan); Sawala, Hinianga, Sinyianga, dan Singiang (Halmahera Utara); Sunyiha (Ternate); Roro (Tidore), dengan nama asing Sappan Wood (Wijayakusuma, *dkk*, 1998). Tanaman ini menyukai tempat terbuka sampai ketinggian 1.000 m dpl., seperti di daerah pegunungan yang berbatu tetapi tidak terlalu dingin (Anonymous, 2006).

Tanaman Secang biasanya digunakan untuk mengobati berbagai macam penyakit seperti: memar, buang air besar berdarah, batuk darah, diare, dan membersihkan gumpalan darah setelah melahirkan (Wijayakusuma, 2005).

Kayu secang dapat dipanen mulai umur 1-2 tahun. Kayunya dan hasil rebusannya memberi warna merah gading muda, dapat digunakan untuk pengecatan, memberi warna pada bahan anyaman, kue, minuman, atau sebagai tinta (Wijayakusuma, *dkk*, 1998). Sifat kimiawi dan efek farmakologis dari kayu secang adalah, ekstrak kayu secang rasanya sepat dan tidak berbau, dapat menghentikan pendarahan, pembersih darah, pengelat, penawar racun dan antiseptik (Anonymous, 2006). Penelitian tentang analisa kandungan batang

kayu secang (*Caesalpania sappan Linn*) dengan ekstraksi menggunakan etanol 80% kemudian dilanjutkan dengan ether lalu diteliti kandungannya melalui prosedur kimia ECP (*Exhaustive Chemical Prosedure*) menunjukkan bahwa secang mengandung zat-zat kimia seperti : Resorsinol, brazilin, vitamin C, serta sejumlah kecil tanin, saponin dan flavonoid (El-Mostehy, *et. al.*, 1995).



Gambar 2.1 Potongan kayu secang

2.2 *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa mempunyai klasifikasi sebagai berikut (Anonymous, 2006) :

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Kelas	: Gamma Proteobacteria
Orde	: Pseudomonadales
Famili	: Pseudomonadaceae
Genus	: <i>Pseudomonas</i>
Spesies	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>

Pseudomonas aeruginosa merupakan salah satu spesies dari genus *Pseudomonas* yang dapat menimbulkan penyakit infeksi pada manusia. *Pseudomonas aeruginosa* dalam jumlah kecil seringkali merupakan flora normal pada intestin dan kulit manusia, di samping dapat ditemukan ditanah dan air (Dzen dkk, 2003). *Pseudomonas aeruginosa* tersebar luas di alam dan biasanya ada di lingkungan lembab di rumah sakit. *Pseudomonas aeruginosa* dapat berada pada orang sehat, dimana bersifat saprofit. Ini menyebabkan penyakit pada manusia dengan ketahanan tubuh yang tidak normal (Brooks, 2005). Adapun faktor-faktor yang dapat menyebabkan fungsi pertahanan

inang abnormal antara lain kerusakan dari mekanisme pertahanan lokal atau general akibat kerusakan jaringan seperti pada luka bakar, luka operasi (Cruickshank, 1975).

Bakteri berbentuk batang, aerob, Gram negatif dapat bergerak, pada perbenihan padat koloninya tampak berwarna hijau kebiru-biruan karena menghasilkan pigmen pyocyanin (Entjang, 2001). Ukurannya 0,6-2 μm , terlihat sebagai bentuk tunggal, ganda dan kadang-kadang dalam rantai pendek. *Pseudomonas aeruginosa* tumbuh baik pada suhu 37-42°C, pertumbuhan pada 42°C membantu membedakannya dari spesies pseudomonas pada kelompok fluoresen (Brooks, 2005).

Identifikasi *Pseudomonas* dapat dilakukan dengan melihat morfologi gram, ketidakmampuan memfermentasi laktosa, reaksi positif oksidasi, bau busuk pada buah, dan mampu tumbuh pada suhu 42°C. Fluoresen dibawah sinar UV membantu memudahkan identifikasi koloni *Pseudomonas aeruginosa*. Fluoresen juga digunakan untuk mengidentifikasi adanya *Pseudomonas* pada luka (Todar, 2004).



Gambar 2.2 Pewarnaan gram *Pseudomonas aeruginosa*

Terhadap disinfektan dan antiseptika, *pseudomonas* lebih tahan dibandingkan dengan bakteri gram negatif lainnya, dan umumnya *pseudomonas aeruginosa* resisten terhadap bermacam-macam antimikroba (Dzen dkk, 2003).

Infeksi *Pseudomonas aeruginosa* terdapat pada penderita dengan gangguan daya tahan tubuh, luka bakar dan orang yang memerlukan tindakan katerasi dan intubasi. Bakteri ini banyak terdapat dilingkungan rumah sakit dan dapat dipindahkan dengan peralatan medis melalui tangan penderita atau pegawai rumah sakit.

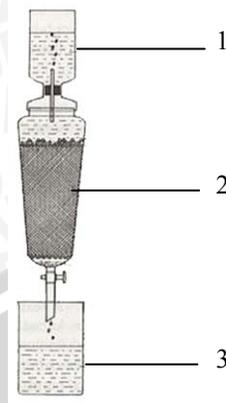
Bakteri ini resisten terhadap disinfektan sehingga sulit untuk mengeliminasi dari lingkungan rumah sakit. Kemungkinan terkena infeksi nosokomial *Pseudomonas aeruginosa* bagi pasien rumah sakit meningkat dengan seiring lamanya rawat inap. Demikian pula dalam penggunaan antibiotik berspektrum luas. Penyebaran infeksi *Pseudomonas aeruginosa* pada kulit dan telinga kadang terjadi di air hangat dan kolam renang yang kadar klorinnya rendah (Duerden, 1994).

Infeksi klinis oleh *Pseudomonas aeruginosa* sebaiknya tidak diterapi dengan obat tunggal, karena biasanya sulit sembuh dengan cara ini, dan karena bakteri dapat dengan cepat menjadi resisten jika menggunakan obat tunggal. Penisilin yang aktif melawan *Pseudomonas aeruginosa* (tikarsilin, meslosilin, atau piperasilin) digunakan dengan kombinasi aminoglikosida, biasanya gentamisin, tobramisin, atau amikasin. Obat lain yang aktif melawan *Pseudomonas aeruginosa* meliputi astreonam, imipenem, dan yang lebih baru kuinolon termasuk siprofloksasin. Sefalosporin yang baru, seftasidim dan sefoperason, aktif melawan *Pseudomonas aeruginosa*. Seftasidim digunakan sebagai pilihan utama pada terapi infeksi oleh *Pseudomonas aeruginosa*. Profil kepekaan *Pseudomonas aeruginosa* sangat beragam secara geografis, dan uji kepekaan seharusnya dikerjakan untuk membantu pemilihan terapi antimikroba (Brooks, 2005).

2.3 Perkolasi

Ada beberapa metode yang dapat digunakan dalam mengekstraksi minyak esensial, salah satunya adalah perkolasi (Anonymous, 2006). Perkolasi (percolare = penetesan) dilakukan dalam wadah silinder atau kerucut (perkolator), yang memiliki jalan masuk dan keluar yang sesuai (Gambar 2.3). Pelarut yang dimasukkan secara kontinyu dari atas mengalir secara lambat melintasi bahan yang umumnya berupa serbuk kasar. Melalui pembaharuan terus-menerus bahan pelarut berlangsung suatu maserasi banyak tingkat. Jika pada maserasi sederhana suatu ekstraksi sempurna dari jamu tidak terjadi, oleh karena akhirnya suatu keseimbangan konsentrasi antara larutan dalam sel dengan cairan disekelilingnya dapat diatur, maka pada perkolasi melalui pemasukan bahan pelarut yang baru dengan demikian suatu ekstraksi

total secara teoritis adalah mungkin terjadi. Secara praktek diperoleh sampai 95% bahan yang terekstraksi (Voigt, 1994).



Keterangan : 1. Pelarut 2. Bahan yang diekstraksi
3. Perkolat

Gambar 2.3 Gambar alat Perkolasi

2.4 Penghambatan Pertumbuhan Bakteri oleh Senyawa Organik

Antibakteri merupakan agen kimia yang mampu menginaktivasi bakteri. Inaktivasi bakteri dapat berupa penghambatan pertumbuhan bakteri (bakteristatik) atau bahkan membunuh bakteri (bakterisidal). Aktivitas penghambatan pertumbuhan atau pembunuhan bakteri dilakukan dengan cara merusak DNA, denaturasi protein, merusak dinding sel atau menghalangi sintesis dinding sel, pemindahan kelompok sulfhidril bebas, serta antagonisme kimiawi (gangguan pada reaksi antara enzim spesifik dengan substratnya) (Brooks, 2005).

Kemoterapi dapat didefinisikan sebagai studi tentang penggunaan zat yang secara efektif lebih toksik terhadap organisme penyerang daripada inangnya. Studi mengenai kemoterapi inilah yang memunculkan berbagai obat anti infeksi lokal (Doerge, 1982).

Anti infeksi lokal juga lebih dikenal sebagai antiseptik dan disinfektan. Umumnya istilah antiseptik meliputi zat yang digunakan

untuk jaringan hidup. Antiseptik bersifat bakteriostatik dan tidak perlu mensterilkan permukaan yang diobati. Antiseptik yang ideal akan memusnahkan bakteri, spora fungi, virus dan penginfeksi lain tanpa merugikan jaringan inang. Di lain pihak, disinfektan digunakan untuk obyek tidak-hidup, merupakan bakterisid dan secara cepat menghasilkan efek mematikan irreversibel (Doerge, 1982).

Aktivitas bakterisid hampir semua senyawa telah dibandingkan dengan Fenol sebagai pembanding. Hampir semua senyawa fenol dan turunannya menunjukkan sifat antibakteri namun tidak terlalu spesifik. Dinding sel bakteri gram negatif isinya lebih banyak mengandung lipid dari pada sifat kopeptid dinding sel bakteri gram positif. Ini mungkin dapat menjelaskan aktivitas antibakteri yang lebih besar dari beberapa fenol larut lemak terhadap bakteri gram negatif dibanding pada bakteri gram positif (Doerge, 1982).

Membran sel mikroba merupakan jaringan dengan struktur yang terorganisasi sangat tinggi pada di atau dalam banyak enzim terdapat. Beberapa diantaranya sitokrom, Na^+ , K^+ , ATPase teraktifkan, NADoksidase dan fosfatase. Dapat diduga bahwa perubahan oleh fenol terhadap struktur terorganisasi tingkat tinggi mengakibatkan penghambatan proses yang penting, dalam beberapa kasus fenolat dapat berinteraksi dengan DNA menghasilkan beberapa efek tambahan. Aktifitas antimikroba fenol mungkin disebabkan kerusakan struktural dan pengubahan mekanisme permeabilitas mikrosom, lisosom dan dinding sel (Doerge, 1982).

Pada perusakan membran sel, ion H^+ dari senyawa fenol dan turunannya akan menyerang gugus polar (gugus fosfat) sehingga molekul fosfolipid akan terurai menjadi gliserol, asam karboksilat, dan asam fosfat. Hal ini mengakibatkan fosfolipid tidak mampu mempertahankan bentuk membran sel, akibatnya membran sel akan bocor dan bakteri akan mengalami hambatan pertumbuhan atau bahkan kematian (Gilman, 1991).

Uji keberadaan fenolik pada suatu ekstrak tanaman dilakukan dengan metode penambahan besi (III) klorida pada ekstrak pekat senyawa hasil ekstraksi yang telah diencerkan dengan akuades. Adanya golongan fenolik ditunjukkan dengan perubahan warna dari coklat menjadi hijau kecoklatan (Dewi, 2004).

2.5 Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM)

KHM adalah konsentrasi terendah dari suatu senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan $> 99\%$ dari bakteri yang di uji (Jacobs, 1996). Konsentrasi terendah senyawa pada tabung yang ditunjukkan dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih (tidak ada pertumbuhan mikroba) adalah KHM dari senyawa tersebut. Sedangkan konsentrasi terendah obat pada biakan padat yang ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni mikroba adalah KBM dari obat terhadap bakteri uji (Dzen *dkk*, 2003). KBM juga dapat diartikan sebagai kadar agens antimikroba terendah yang menunjukkan pertumbuhan bakteri $< 0,1\%$ dari inokulum asal (Finegold, 1986).

2.6 Metode Dilusi Tabung

Metode ini menggunakan antimikroba dengan kadar yang menurun secara bertahap, baik dengan media cair atau padat. Kemudian media diinokulasi bakteri uji dan dieramkam. Tahap akhir dilarutkan antimikroba dengan kadar yang menghambat atau mematikan (Brooks, 2005).

Prinsip dari ini adalah penghambatan pertumbuhan kuman dalam perbenihan cair oleh suatu bahan (agen antimikroba) yang dicampurkan ke dalam perbenihan. Perbenihan yang dipakai haru merupakan perbenihan yang dapat menumbuhkan kuman secara optimum dan tidak menetralkan bahan yang dipergunakan (Bonang, 1982).

2.7 Hipotesis Penelitian

Secara teoritis pengukuran Kadar Hambat Minimum dan Kadar Bunuh Minimum terhadap pertumbuhan bakteri di pengaruhi oleh konsentrasi. Maka dapat dihipotesiskan bahwa, semakin besar konsentrasi ekstrak perkolat kayu secang maka daya hambat dan daya bunuh terhadap pertumbuhan bakteri akan semakin besar.

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kimia Organik Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam serta Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang, bulan November sampai bulan Januari 2006.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu seperangkat alat Perkolasi, labu ukur, tabung reaksi, cawan petri, gelas ukur 10 mL, gelas ukur 500 mL atau 1.000 mL, Erlenmeyer, pengaduk Beaker *glass*, pengaduk kaca, timbangan, seperangkat rotary evaporator vakum, kertas saring, corong pisah, rak tabung reaksi, *object glass*, pinset / penjepit, gunting, jarum inokulasi, spidol, penangas listrik, botol gelap, pipet, ose kawat, spatula atau sendok, inkubator, autoklaf, *counter colony*.

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu kayu secang yang telah diserut, nutrien agar, agar McConkey, pepton, kristal violet, lugol, alkohol 70% dan 96%, safranin, aquades, biakan *Pseudomonas aeruginosa*, tissue, kertas roti, kertas penanda, plester bening.

3.3 Tahapan Penelitian

1. Perkolasi kayu secang
2. Pembuatan larutan stok perkolat secang
3. Pembuatan Muller Hinton Broth/MH Broth (Media Produksi)
4. Peremajaan Biakan Murni *Pseudomonas Aeruginosa*
5. Pembuatan larutan bakteri *Pseudomonas Aeruginosa*
6. Pembuatan Nutrient Agar Plate
7. Penentuan KHM dengan metode dilusi tabung
8. Penentuan KBM dengan metode *streaking*

3.4 Cara Kerja

3.4.1 Perkolasi kayu secang

Ditimbang kayu secang yang telah di potong-potong halus sebanyak 200 gram, dimasukkan dalam wadah perkolasi lalu ditambahkan etanol 96% sebanyak 2 liter. Didiamkan hingga pelarut berada 1-2 cm diatas bahan yang diekstraksi. Alat di atur sedemikian rupa, sehingga etanol yang berada di dalam corong pisah dapat diteteskan ke dalam wadah perkolasi serta diatur laju tetesan larutan yang dikeluarkan (perkolat) dari wadah perkolasi dengan larutan yang masuk (pelarut) ke dalam wadah perkolasi agar konstan. Langkah ini terus dilakukan hingga warna larutan berubah lebih cerah yang menandakan kandungan kayu secang telah terekstrak seluruhnya. Hasil perkolasi ditampung dalam erlenmeyer. Perkolat dipisahkan kandungan etanolnya dengan menggunakan *Rotary Evaporator Vacuum* sehingga perkolat terpisah dan menjadi sangat pekat. Selanjutnya perkolat dipanaskan pada temperatur 40⁰ C selama 1 hari. Diharapkan kandungan etanol akan benar-benar hilang.

3.4.2 Pembuatan larutan stok perkolat secang

Untuk membuat larutan stok perkolat secang 10% b/v, pertama perkolat kayu secang ditimbang sebanyak 10 gr kemudian dilarutkan dengan 60 mL akuades pada gelas kimia. Selanjutnya larutan dipindahkan secara kuantitatif pada labu ukur 100 mL dan ditandabatkan dengan akuades.

3.4.3 Uji Pendahuluan Fenolik

Ekstrak pekat diambil 10 mg, diencerkan dengan 5 mL akuades, kemudian ditambah dengan 100 mg FeCl₃ dan diamati perubahan warna yang terjadi pada larutan campuran tersebut.

3.4.4 Pembuatan Nutrient Agar Plate (Media Padat)

Sebanyak 2 gram nutrient agar dilarutkan dalam 100 ml akuades dan dipanaskan sampai mendidih. Larutan nutrien agar di masukkan dalam wadah yang dibutuhkan (tabung reaksi untuk peremajaan biakan murni dan cawan petri untuk uji KBM). Dan ditutup dengan kapas untuk tabung sedangkan untuk cawan petri dibungkus dengan kertas. Selanjutnya larutan nutrien agar dalam tabung reaksi dan cawan petri disterilkan dalam autoclave selama 15

12

menit pada 1 atm. Kemudian tabung reaksi diletakkan dalam posisi miring selama 24 jam pada suhu ruang.

3.4.5 Pembuatan Muller Hinton Broth (Media Produksi)

Daging sapi dicuci bersih dan dipotong kecil-kecil. Potongan daging tersebut kemudian dimasak dalam 1000 ml akuades dan dibiarkan mendidih selama 25 menit. Kaldu yang diperoleh disaring dengan kapas atau kain kasa. Dilarutkan pepton kedalam air kaldu hingga rata dan media diatur pada pH 7, kemudian media yang telah siap dimasukkan ke dalam tabung reaksi atau erlenmeyer sesuai penggunaannya. Tabung dan erlenmeyer tersebut disumbat kapas. Tutup tersebut dibungkus kertas dan diikat dengan benang kasur. Selanjutnya media disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121 °C tekanan 1 atm selama 15 menit.

3.4.6 Peremajaan biakan murni *Pseudomonas aeruginosa*

Biakan murni *Pseudomonas aeruginosa* digoreskan secara aseptis dengan jarum ose pada media padat (NAP) pada posisi miring dan tabung media agar ditutup dengan kapas berlemak. Selanjutnya biakan *Pseudomonas* diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C.

3.4.7 Pembuatan larutan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Pada metode ini, digunakan standar konsentrasi kuman sebesar 0,5 McFarland (10^8 sel/mL). Untuk mendapatkan konsentrasi kuman sebesar 1×10^6 sel/mL, maka 0,1 ml dari 0,5 McFarland ditambahkan dalam 10mL MH Broth kemudian dicampur hingga rata.

3.4.8 Penentuan KHM dengan Metode dilusi tabung

Disiapkan tabung steril sebanyak 7 buah dan suspensi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan konsentrasi 10^6 sel/mL pada tabung 1 ditambah 1 mL MH Broth. Perkolat secang dengan konsentrasi 0%, 1,5%, 1,7%, 2%, 2,2%, dan 2,4% dimasukkan pada tabung 2-7, masing-masing sebanyak 1 mL. Ditambahkan 1 mL suspensi *Pseudomonas aeruginosa* pada tabung 2-7, kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18 jam. Pada hari ke-2 dilakukan pengamatan terhadap kekeruhan pada masing-masing tabung hasil pengenceran (2-7) dan ditentukan KHM perkolat kayu secang terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dengan cara menentukan

konsentrasi terendah larutan perkolat kayu secang yang tidak menunjukkan kekeruhan.

3.4.9 Penentuan KBM dengan Metode *streaking*

Dilakukan *streaking* suspensi bakteri yang telah diinkubasi selama 18-24 jam dari tabung hasil pengenceran 2-7 pada *nutrient agar plate (NAP)* dan menginkubasikannya pada suhu 37°C selama 18 jam. Pada hari ke-3, jumlah koloni *Pseudomonas aeruginosa* yang tumbuh pada *nutrient agar plate* dihitung dengan menggunakan *counter colony*. Ditentukan KBM perkolat kayu secang terhadap *Pseudomonas aeruginosa*.

3.5 Analisa Data

Pengaruh penambahan variasi konsentrasi perkolat kayu secang terhadap aktivitas *Pseudomonas aeruginosa* dapat diketahui dengan uji keragaman data yang diperoleh menggunakan analisis ragam pola Rancangan Acak Lengkap (RAL) dilanjutkan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

1. Menghitung Faktor Koreksi

$$FK = \frac{\left(\sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^n Y_{ij} \right)^2}{pn} \quad (3.1)$$

2. Menghitung Jumlah Kuadrat (JK)

- a. JK Total = $\sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^n Y_{ij}^2 - FK$ (3.2)

- b. JK Perlakuan = $\sum_{i=1}^p \frac{\left(\sum_{j=1}^n Y_{ij} \right)^2}{n} - FK$ (3.3)

$$c. JK \text{ galat percobaan} = JK \text{ total} - JK \text{ perlakuan} \quad (3.4)$$

3. Menghitung Kuadrat Tengah (KT)

$$a. KT \text{ Perlakuan} = \frac{JK_{\text{Perlakuan}}}{dB_{\text{galat percobaan}}} \quad (3.5)$$

$$b. KT \text{ Galat Percobaan} = \frac{JK_{\text{galat percobaan}}}{dB_{\text{galat percobaan}}} \quad (3.6)$$

4. Menghitung nilai F

$$F_{\text{hitung perlakuan}} = \frac{KT_{\text{perlakuan}}}{KT_{\text{galat percobaan}}} \quad (3.7)$$

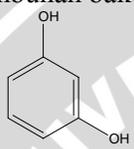
Jika $F_{\text{hitung}} > F_{\text{tabel}}$ berarti ada perbedaan nyata antara perlakuan maka dilanjutkan dengan Uji BNT.



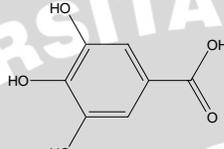
BAB IV PEMBAHASAN

Metode ekstraksi yang digunakan adalah perkolasi. Tahap penyiapan sampel secara perkolasi ini menggunakan bahan awal secang sebanyak 200gr dengan hasil akhir perkolat secang sebanyak 48,3gr, atau dengan kata lain diperoleh perkolat sebesar 24,15%.

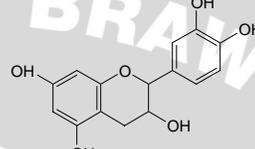
Kayu secang diduga mengandung asam galat, tanin, resorsin, brasilin, brasilein, d- α -phellandrene, oscimene, minyak atsiri (Anonymous, 2006). Dari dugaan ini dapat diketahui bahwa kandungan secang yang merupakan turunan dari fenol adalah resorsin, dan sejumlah kecil tanin serta asam galat. Karena hampir semua senyawa fenol dan turunannya menunjukkan sifat antibakteri walau tidak terlalu spesifik (Doerge, 1982) maka kemungkinan senyawa-senyawa turunan fenol ini yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri.



Gambar 4.1 Resorsinol

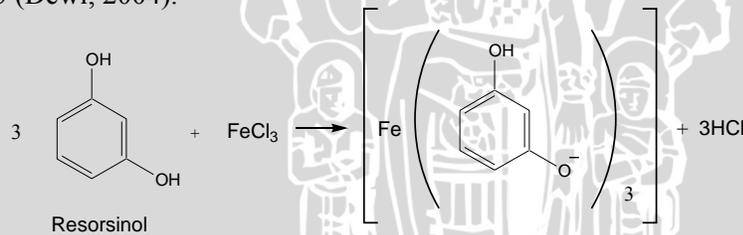


Gambar 4.2 Asam Galat

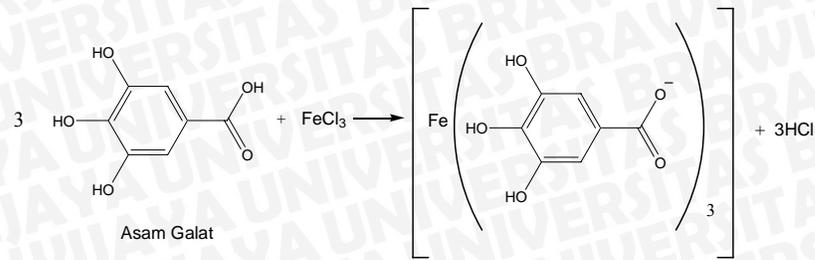


Gambar 4.3 Tanin

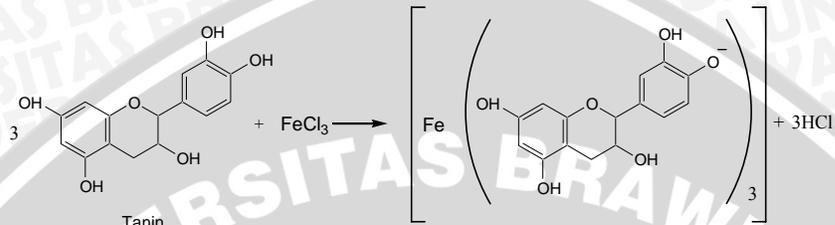
Adanya kandungan senyawa turunan fenol dapat diketahui dengan uji pendahuluan fenolik. Dari Uji Fenolik yang dilakukan menghasilkan reaksi positif yang ditunjukkan dengan terjadinya perubahan warna dari kuning kecoklatan menjadi hijau kecoklatan. Hal ini terjadi karena senyawa fenol akan membentuk senyawa kompleks dengan FeCl_3 . Reaksi yang terjadi disajikan pada Gambar 4.3 (Dewi, 2004).



Gambar 4.4 Reaksi Resorsinol dengan FeCl_3



Gambar 4.5 Reaksi Asam Galat dengan FeCl₃



Gambar 4.6 Reaksi Tanin dengan FeCl₃

4.1 Uji Antibakteri

Prinsip dari uji antibakteri ini adalah mengetahui potensi perkolat secang dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan menggunakan metode dilusi tabung untuk menentukan KHM (Kadar Hambat Minimum) dan dilanjutkan dengan penanaman bakteri pada lempeng agar untuk mengetahui besarnya KBM (Kadar Bunuh Minimum).

4.1.1 Penentuan KHM dengan Metode Uji Dilusi Tabung

Uji Dilusi Tabung dilakukan dengan memasukkan ke dalam masing-masing tabung reaksi isolat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan diberikan perlakuan berupa penambahan perkolat secang dalam berbagai variasi konsentrasi. Kemudian tabung yang telah terisi isolat bakteri dan perkolat secang diinkubasi selama 18-24 jam. Setelah diinkubasi, dilakukan pengamatan terhadap tingkat kekeruhan pada tiap-tiap tabung reaksi. Dari hasil pengamatan tingkat kekeruhan diperoleh data seperti pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Hasil Pengamatan Tingkat Kekeruhan Pada Tabung Reaksi

Isolat	Konsentrasi Perlakuan Perkolat Kayu Secang (%b/v)						Kontrol Bahan
	0%	1,5	1,7	2	2,2	2,4	
Strain A	++++	++++	+++	++	-	-	-
Strain B	++++	++++	+++	++	-	-	-
Strain C	++++	++++	+++	++	-	-	-
Strain D	++++	++++	+++	++	-	-	-

Keterangan : tanda positif (+) menunjukkan tingkat kekeruhan
Tanda negatif (-) menunjukkan tidak terjadi kekeruhan

4.1.2 Penentuan KBM dengan Metode *Streaking*

Kadar Bunuh Minimum (KBM) dari perkolat kayu secang dapat diketahui melalui metode *streaking*, maka hasil dari Uji Dilusi Tabung yang telah dilakukan ditanam (*streaking*) pada media pertumbuhan NA. Setelah biakan pada plate diinkubasi selama 18-24 jam selanjutnya dihitung jumlah koloni bakteri dengan menggunakan *colony counter* untuk mengetahui nilai Kadar Bunuh Minimum (KBM).

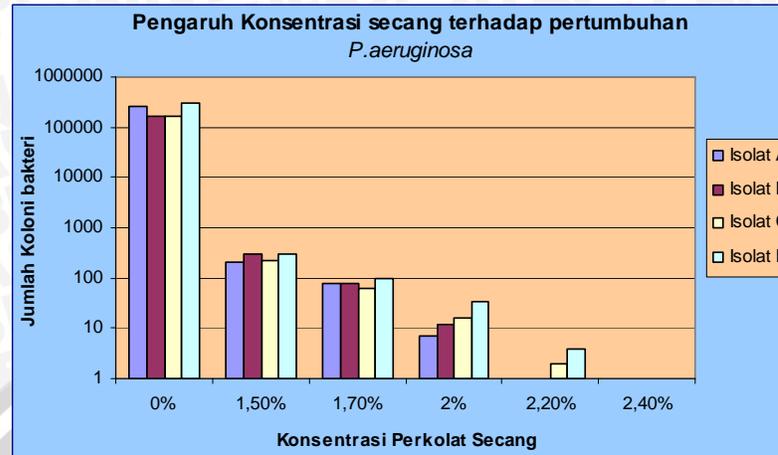
Hasil penghitungan koloni dengan menggunakan *colony counter* setelah dilakukan penanaman *Pseudomonas aeruginosa* pada media padat *Nutrient Agar Plate* (NAP) diperoleh data seperti pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil Pengamatan Jumlah Koloni pada Media NAP (CFU/ml)

No	Strain Isolat	Konsentrasi Ekstrak Kayu Secang						
		OI	0%	1,5%	1,7%	2%	2,2%	2,4%
1	Strain A	263	$2,6 \cdot 10^5$	214	76	7	1	0
2	Strain B	227	$1,6 \cdot 10^5$	293	80	12	0	0
3	Strain C	298	$1,6 \cdot 10^5$	226	64	16	2	0
4	Strain D	318	$3,0 \cdot 10^5$	291	101	33	4	0

Keterangan: CFU = Colony Forming Unit
OI = Original Inoculate (Inokulum Asal)

Berdasarkan data pada Tabel 4.2, maka dapat dibuat grafik hubungan antara konsentrasi perkolat kayu secang dengan pertumbuhan koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* seperti Gambar 4.7.



Gambar 4.7. Grafik Hubungan Antara Konsentrasi Perkolat Secang dengan Jumlah Koloni *Pseudomonas aeruginosa*

Berdasarkan data pengamatan jumlah koloni *Pseudomonas aeruginosa* yang tumbuh pada media NAP dilakukan uji statistik Random Acak Lengkap (RAL). Dari uji statistik didapatkan hasil bahwa $F_{hitung} > F_{tabel}$ dengan nilai F_{hitung} sebesar 44,85 sedangkan F_{tabel} sebesar 2,77. Maka dapat diketahui bahwa ada perbedaan yang nyata antara setiap perlakuan konsentrasi perkolat kayu secang terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Karena $F_{hitung} > F_{tabel}$ maka uji statistik dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk mengetahui pada konsentrasi berapa yang mempunyai perbedaan bermakna.

Dari uji BNT yang dilakukan diketahui bahwa terdapat perbedaan bermakna perlakuan pada konsentrasi 1,5% dari konsentrasi 0% sedangkan perlakuan pada konsentrasi lainnya mulai dari konsentrasi 1,7% hingga 2,4% tidak terdapat perbedaan yang bermakna.

Berdasarkan data yang diperoleh, konsentrasi secang yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* (KHM) ditunjukkan dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih adalah KHM dari bahan yang di uji, sehingga dari pengamatan

tingkat kekeruhan untuk masing-masing tabung pada Tabel 4.1 dapat diketahui KHM (Kadar Hambat Minimum) perkolat secang adalah pada konsentrasi 2,2%. Pada konsentrasi 2,2% inilah hasil biakan dalam tabung mulai tampak jernih. Tingkat kekeruhan ini dipengaruhi oleh banyaknya bakteri yang tumbuh, makin banyak bakteri yang tumbuh, maka media akan semakin terlihat keruh, dan sebaliknya apabila media terlihat jernih, berarti tidak ada bakteri yang tumbuh.

Dari hasil perhitungan koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan menggunakan *colony counter* dapat dilihat bahwa semakin tinggi konsentrasi perkolat kayu secang yang digunakan, maka akan semakin sedikit jumlah koloni yang ditemukan pada semua media pembiakan. Dari tabel 4.2 dapat diketahui bahwa nilai KBM perkolat kayu secang terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* adalah 2,4%. Hal ini didasarkan pada tidak adanya bakteri yang tumbuh pada konsentrasi tersebut dan menurut Finegold (1986), KBM juga dapat diartikan sebagai kadar senyawa antimikroba terendah yang menunjukkan pertumbuhan bakteri kurang dari 0,1% dari inokulum asal. Dari tabel 4.2 diatas dapat diketahui bahwa 0,1% dari inokulum asal adalah berkisar antara 0,2 hingga 0,3 koloni. Jika dilihat kembali pada tabel 4.2 diatas maka yang memenuhi syarat jumlah koloni $< 0,1\%$ inokulum asal adalah pada konsentrasi 2,4%

Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa perkolat kayu secang memang memiliki efek bakterisidal atau daya bunuh terhadap *Pseudomonas aeruginosa* yaitu pada konsentrasi 2,4%, yang ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni bakteri sedangkan pada konsentrasi yang lebih rendah dari 2,4% (dalam penelitian ini adalah 2,2%), perkolat kayu secang hanya mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Hal ini ditunjukkan dengan kekeruhan pada konsentrasi tersebut hampir sama bila dibandingkan dengan tabung kontrol secang.

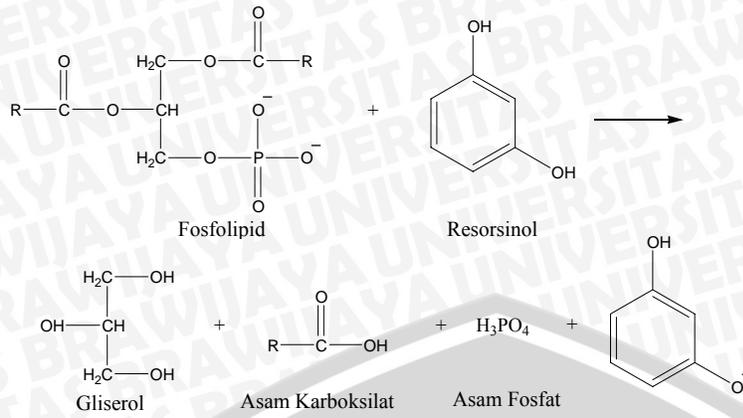
Menurut Brooks *et al.* (2005) pertumbuhan bakteri yang terhambat atau kematian bakteri akibat suatu zat antibakteri dapat disebabkan oleh penghambatan terhadap sintesis dinding sel, penghambatan terhadap fungsi membran sel, penghambatan terhadap sintesis protein, atau penghambatan terhadap sintesis asam nukleat.

Efek bakterisidal secara invitro dari perkolat kayu secang pada konsentrasi 2,4% tersebut kemungkinan disebabkan oleh

beberapa faktor antimikroba yang terdapat di dalamnya. Di antara berbagai kerusakan yang dapat terjadi pada sel bakteri tersebut, yang mungkin terjadi pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* akibat pemberian perkolat kayu secang adalah penghambatan terhadap sintesis dinding sel. Ini didasarkan pada adanya kandungan senyawa-senyawa fenol (Harborne, 1987). Senyawa fenol dapat bersifat koagulator protein (Dwidjoseputro, 1994). Protein yang menggumpal tidak dapat berfungsi lagi, sehingga akan mengganggu pembentukan dinding sel bakteri.

Kandungan perkolat kayu secang yang merupakan senyawa-senyawa turunan Fenol seperti Resorsinol, Tanin, dan Asam Galat merupakan senyawa-senyawa antimikroba turunan dari senyawa Fenol, dimana telah diketahui bahwa hampir semua aktivitas bakterisid suatu senyawa telah dibandingkan dengan fenol sebagai pembanding. Sesuai dengan hasil penelitian yang telah dilakukan oleh El-Mostehy, *et. al.*, (1995), dapat diketahui bahwa kandungan Tanin dan Asam Galat hanya terdapat dalam jumlah kecil pada hasil ekstrak kayu Secang, sehingga kemungkinan senyawa Fenol yang sangat berpengaruh dalam penghambatan pertumbuhan bakteri adalah Resorsinol. *Pseudomonas aeruginosa* yang merupakan bakteri gram negatif mempunyai dinding sel yang mengandung lebih banyak lipid dari pada dinding sel bakteri gram positif. Sehingga fenol yang larut dalam lemak (salah satunya adalah Resorsinol) akan mempunyai aktivitas antimikroba yang lebih besar. Aktifitas antimikroba fenol mungkin disebabkan kerusakan struktural dan perubahan mekanisme permeabilitas mikrosom, lisosom dan dinding sel.

Menurut Gilman (1991), pada perusakan membran sel, ion H^+ dari senyawa fenol dan turunannya akan menyerang gugus polar (gugus fosfat) sehingga molekul fosfolipid akan terurai menjadi gliserol, asam karboksilat, dan asam fosfat. Hal ini mengakibatkan fosfolipid tidak mampu mempertahankan bentuk membran sel, akibatnya membran sel akan bocor dan bakteri akan mengalami hambatan pertumbuhan atau bahkan kematian. Maka dapat dianalogikan senyawa Resorsinol (1,3-Benzenediol) yang memiliki gugus OH akan melakukan mekanisme penghambatan pertumbuhan bakteri yang sama.



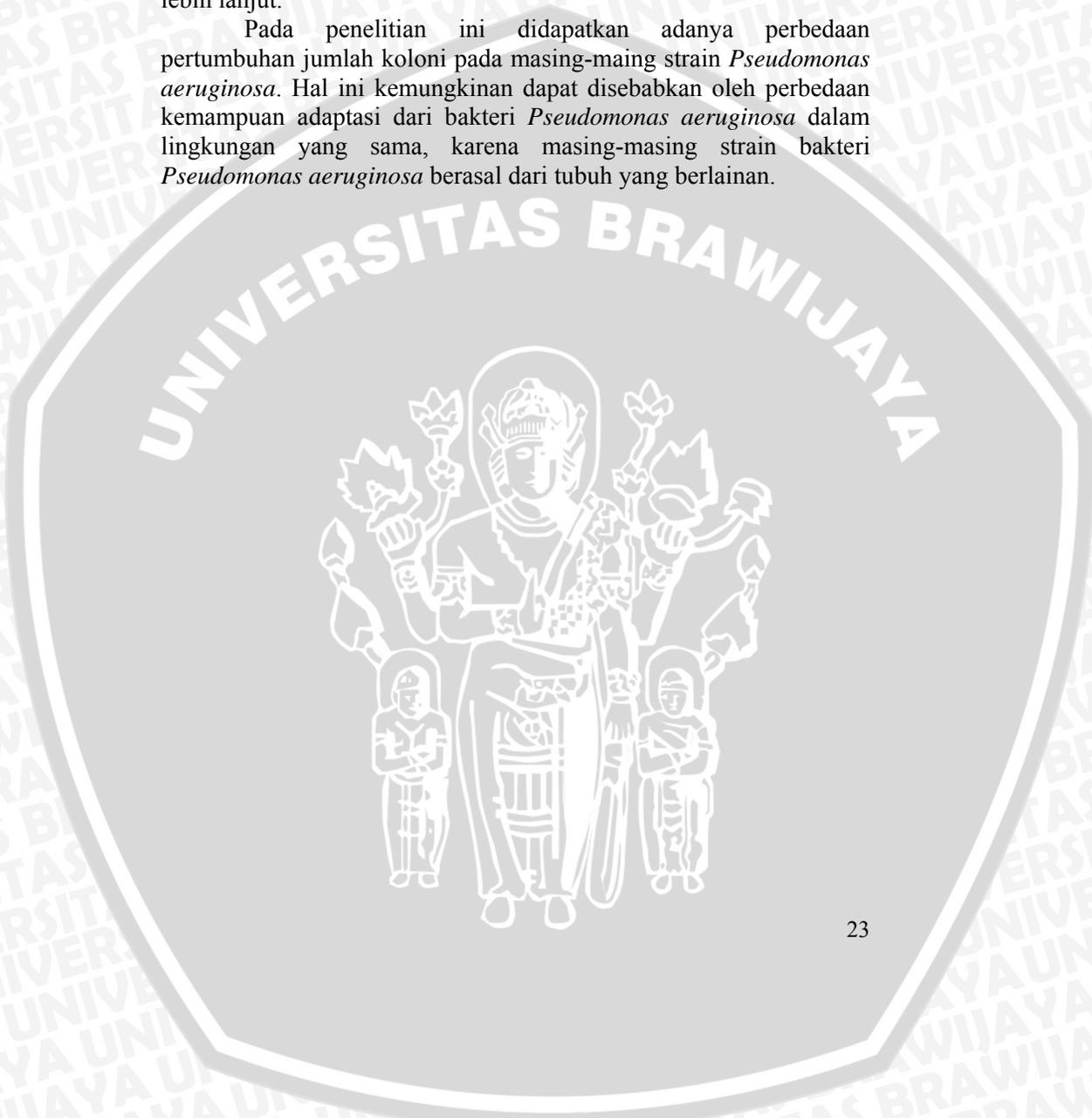
Gambar 4.8. Mekanisme perusakan senyawa fosfolipid pada membran sel bakteri oleh senyawa Resorsinol

Faktor yang kedua adalah perkolat kayu secang yang memiliki sifat hipertonis (dengan kandungan air sedikit) bila dibandingkan dengan lingkungan didalam tubuh *Pseudomonas aeruginosa* dan akibatnya terjadilah efek osmosis terhadap *Pseudomonas aeruginosa* yang ditandai dengan keluarnya cairan dari dalam tubuh kuman ke lingkungan luar. Selain itu kandungan air yang sedikit dalam perkolat kayu secang tidak mencukupi kebutuhan *Pseudomonas aeruginosa* untuk kelangsungan hidupnya. Hal-hal tersebut mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* dan bahkan dapat menyebabkan kematian dari *Pseudomonas aeruginosa*. Selain itu, tidak menutup kemungkinan bahwa efek antimikroba yang ada dalam perkolat kayu secang diperoleh dari faktor-faktor lain yang mendukung sifat antimikroba dari perkolat kayu secang. Oleh karena itu, diperlukan penelitian yang lebih lanjut untuk mengidentifikasi faktor-faktor tersebut.

Pada konsentrasi perkolat kayu secang di bawah 2,2% dapat dilihat bahwa perkolat kayu secang tidak memiliki pengaruh nyata pada *Pseudomonas aeruginosa*. Hal ini ditunjukkan dengan kekeruhan pada tabung yang sangat berbeda bila dibandingkan dengan tabung kontrol secang. Kemungkinan pada konsentrasi dibawah 2,2% perkolat kayu secang sudah tidak lagi bersifat hipertonis terhadap lingkungan di dalam tubuh *Pseudomonas aeruginosa* dan juga tersedia cukup air untuk pertumbuhan

Pseudomonas aeruginosa, ataupun kandungan resorsinol dan senyawa-senyawa fenol lainnya yang semakin berkurang sehingga mengurangi efek antimikroba perkolat kayu secang, sehingga bakteri *Pseudomonas aeruginosa* tetap dapat bertahan hidup dalam lingkungan tersebut. Selain itu, mungkin juga ada faktor-faktor lain yang mendukung efek antimikroba di dalam perkolat kayu secang yang tidak lagi mempunyai efek antimikroba pada lingkungan yang mengandung terlalu banyak air. Dan hal ini memerlukan penelitian lebih lanjut.

Pada penelitian ini didapatkan adanya perbedaan pertumbuhan jumlah koloni pada masing-masing strain *Pseudomonas aeruginosa*. Hal ini kemungkinan dapat disebabkan oleh perbedaan kemampuan adaptasi dari bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dalam lingkungan yang sama, karena masing-masing strain bakteri *Pseudomonas aeruginosa* berasal dari tubuh yang berlainan.



BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat ditarik kesimpulan bahwa:

Perkolat kayu secang mempunyai potensi sebagai penghambat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, dimana terjadi penurunan jumlah koloni dengan semakin besarnya konsentrasi perkolat kayu secang yang digunakan

Nilai KHM (Kadar Hambat Minimum) perkolat kayu secang terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* adalah pada konsentrasi 2,2% ditunjukkan dengan hasil biakan dalam tabung reaksi semakin jernih.

Nilai KBM (Kadar Bunuh Minimum) perkolat kayu secang terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* adalah pada konsentrasi 2,4% ditunjukkan dengan tidak adanya koloni yang tumbuh (atau jumlah koloni $< 0,1\%$ inokulum asal) pada hasil biakan.

5.2 Saran

Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan pada rentang konsentrasi yang lebih rendah untuk mengetahui lebih tepat konsentrasi KHM dan KBM perkolat kayu secang, serta diperlukan penelitian lebih spesifik mengenai senyawa yang menghambat pertumbuhan *P. aeruginosa* yang terkandung dalam kayu secang.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous, 1993, Penelitian Tanaman Obat di Beberapa Perguruan Tinggi di Indonesia V, <http://warintek.ristek.go.id/>, tanggal akses : 10 September 2006
- , 2002, Instruction Manual Colony Counter, www.wtw.com/downloads/manuals/ba31109def02_Keimzaehlgeraet_BZG_30.pdf, tanggal akses : 19 Januari 2008
- , 2004, Konsumen, <http://suaramerdeka.com/news.html>, tanggal akses : 09 Agustus 2006
- , 2006, *Caesalpinia Sappan*, http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/tax_search.pl?Caesalpinia%20sappan, tanggal akses : 13 Oktober 2006
- , 2006, *Pseudomonas*, <http://www.bacterio.cict.fr/p/>, tanggal akses : 13 Oktober 2006
- , 2007, Tests for Phenols and Nitro Groups, http://www.wellesley.edu/Chemistry/chem211lab/Orgo_Lab_Manual/Appendix/ClassificationTests/phenol_amine_nitro.html, tanggal akses : 19 Januari 2008
- Bonang, G. dan Koeswardono, E.S, 1982, Mikrobiologi Kedokteran Untuk Laboratorium dan Klinik, PT Gramedia, Jakarta
- Brooks G.F., Butel J.S. and Mose S.A, 2005, Jawetz, Melnick dan Alderberg's Mikrobiologi Kedokteran buku 1, Penerbit Salemba Medika, Jakarta
- Cruickshank, R, 1975, *Pseudomonas*, Medical Microbiology 12th edition vol II, Churchill Livingstone, London
- Dewi, A.S., 2004, Identifikasi dan Studi Aktivitas Antioksidatif Flavonoid dari Ekstrak Etanol 70% Propolis Lebah *Apis mellifera*, *Skripsi*, Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Brawijaya, Malang

- Doerge, R.F., 1982, Buku Teks Wilson dan Gisvold, Kimia Farmasi dan Medisinal Organik, edisi VIII, IKIP Semarang Press, Semarang
- Duerden, B.I, Reid, T.M.S., Jewsbury J.M., Turn D.C., 1994, A new Short Textbook of Microbioly and Parasitic Infection, England: EL-BS (Educational Low-Price Edward Scheme) with, Edward Arnold
- Dwidjoseputro D, 1994, Dasar-Dasar Mikrobiologi. Djambatan, Jakarta
- Dzen, S.M., Roekistiningsih, Santoso S., Winarsih S., 2003, Bakteriologi Medik, Bayu Media Publishing, Malang
- El-Mostehy, M.R., A.A. Al-Jassem, I.A. Al-Yassin, A.R. El-Gindy dan E. Shoukry, 1998, Secang-As An Oral Health Device (Preliminary Chemical And Clinical Evaluation), Journal Pharmacology, Department of Odontology, Faculty of Dentistry, University of Kuwait, Kuwait
- Entjang, Indan, 2001, Mikrobiologi dan Parasitologi Untuk Akademi Keperawatan, PT Citra Aditya Bakti, Bandung
- Farahdilla, M., 2002, Kemampuan Royal Jelly Sebagai Antimikroba Terhadap Infeksi yang Disebabkan Oleh *Pseudomonas aeruginosa* Multi Drug Resistance Secara In Vitro, *Skrpsi*, Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang
- Finegold, M.S, dan Baron, J.E, 1986, Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology, 7th Edition, Mosby Company, Toronto
- Gilman, A.G., L.S Godman, T. W. Rall, F. Murad, 1985, The Pharnalological Basic of Therapeutics, Macmillan Publishing Company, New York

Harborne, J.B., 1987, Metode Fitokimia. Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan, Diterjemahkan oleh Padmawinata K & Soediro, Penerbit ITB, Bandung.

Todar, Kenneth, 2004, *Pseudomonas aeruginosa*, <http://textbookofbacteriology.net/pseudomonas.html>, University of Wisconsin-Madison Department of Bacteriology, tanggal akses : 20 September 2006

Samatan, Y.E.Y., 2002, Uji Efek Madu Sebagai Antimikroba Terhadap *Pseudomonas aeruginosa* Secara In Vitro, *Skripsi*, Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang

Voigt, Rudolf, 1994, Buku Pelajaran Teknologi Farmasi, edisi 5, Gajah Mada University Press, Yogyakarta

Wijayakusuma, H.H.M, S. Dalimarta, A.S. Wirian, 1998, Tanaman Berkhasiat Obat di Indonesia, jilid 4, Pustaka Kartini, Jakarta

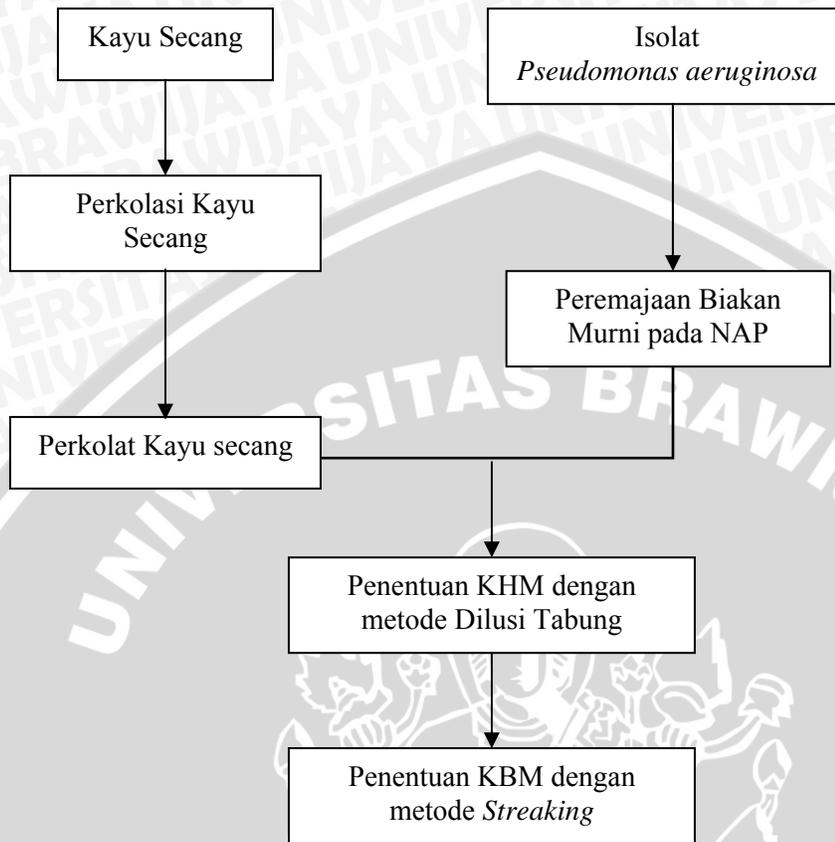
Wijayakusuma, H.H.M, 2005, Sehat Dengan Secang, <http://www.suarakarya-online.com/news.html?id=59719>, tanggal akses : 10 September 2006

Yinosumarto, Suntoyo, 1993, Percobaan Perancangan, Analisis, dan Interpretasinya, PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta



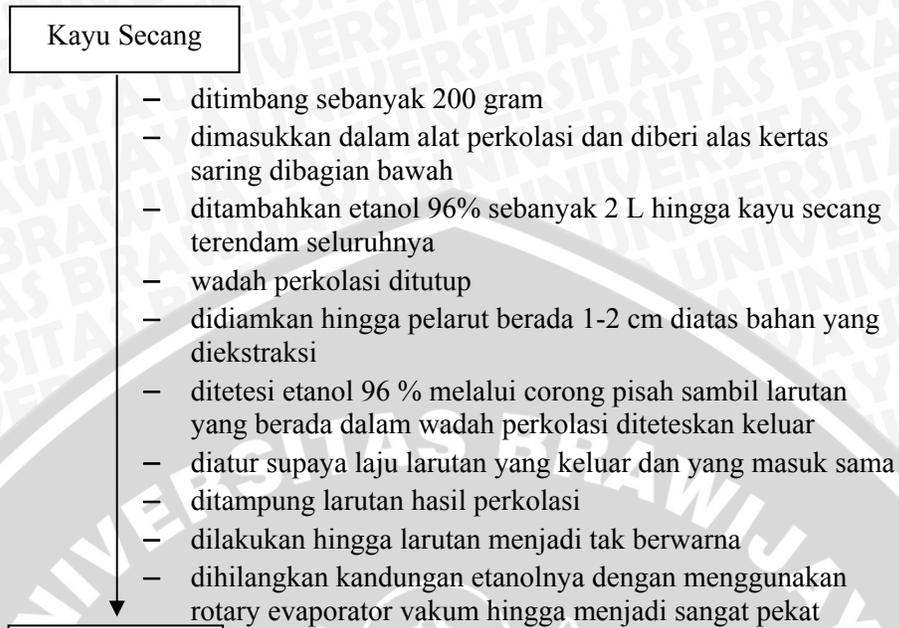
LAMPIRAN

Lampiran 1. Diagram Alir Penelitian



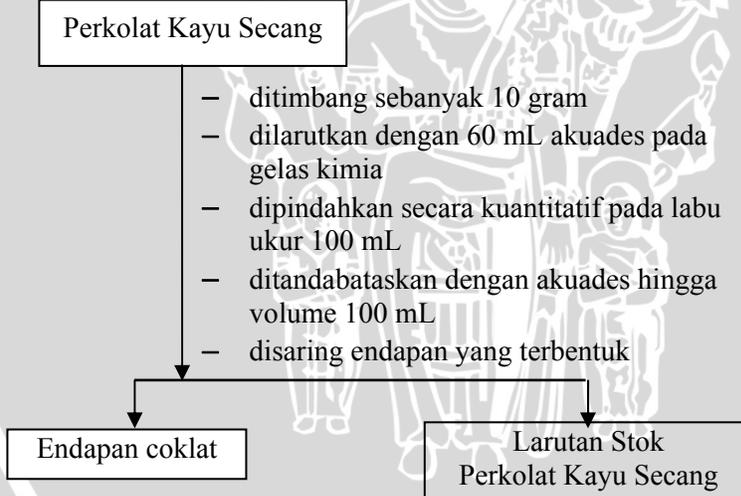
Lampiran 2. Diagram Kerja

L.2.1 Perkolasi kayu Secang



Perkolat Kayu Secang

L.2.2 Pembuatan Larutan Stok Perkolat Kayu Secang



L.2.3 Pembuatan Nutrient Agar Plate Untuk Peremajaan Biakan Murni *Pseudomonas aeruginosa*

Nutrien agar

- ditimbang sebanyak 4 gram
- ditambahkan aquades 10 mL dan dipanaskan hingga mendidih sambil diaduk
- dituangkan pada masing-masing tabung reaksi dan ditutup dengan kapas
- disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121 °C tekanan 1 atm selama 15 menit
- didinginkan pada suhu ruang selama 24 jam dan dalam keadaan miring

Media Padat NAP

L.2.4 Pembuatan Nutrient Agar Plate Untuk Penentuan KBM

Nutrien agar

- ditimbang sebanyak 4 gram
- ditambahkan aquades 10 mL dan dipanaskan hingga mendidih sambil diaduk
- dituangkan pada masing-masing cawan petri
- dibungkus dengan kertas
- disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121 °C tekanan 1 atm selama 15 menit
- didinginkan pada suhu ruang selama 24 jam

Media Padat NAP

L.2.5 Pembuatan Muller Hinton Broth/MH Broth (Media Produksi)

Daging Sapi

- dipotong kecil-kecil dan dicuci bersih
- dimasak dalam akuades 1000 mL selama 25 menit
- disaring air kaldu yang diperoleh dengan kapas atau kain kasa
- dilarutkan pepton dalam air kaldu dan diatur pada pH 7
- dimasukkan dalam tabung reaksi atau erlenmeyer
- disumbat dengan kapas tabung atau erlenmeyer tersebut
- dibungkus dengan kertas dan diikat dengan benang kasar
- disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121 °C tekanan 1 atm selama 15 menit

Media Cair Produksi

L.2.6 Peremajaan biakan murni *Pseudomonas aeruginosa*

Isolat Bakteri

- digoreskan secara aseptis dengan jarum ose pada media padat NAP agar miring
- ditutup dengan kapas tabung media
- diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37° C

Biakan Murni

L.2.7 Pembuatan larutan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* 10^6 sel/mL

Pseudomonas aeruginosa
0,5 McFarland

- diambil 0,1 mL
- ditambah 10 mL MH Broth
- dicampur hingga rata

Pseudomonas aeruginosa
 10^6 sel/mL

L.2.8 Penentuan KHM dengan Uji Dilusi Tabung

Suspensi Bakteri
Pseudomonas aeruginosa
 10^6 sel/mL

Perkolat Secang konsentrasi 0%,
1,5%;1,7%;2%;2,2%;2,4%

- dimasukkan pada tabung reaksi 2-7 yang telah disterilkan dengan perbandingan 1 mL suspensi bakteri dengan 1 mL perkolat secang
- dimasukkan pada tabung reaksi 1 perkolat secang sebanyak 1mL tanpa penambahan suspensi bakteri
- diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 jam
- diamati kekeruhan pada masing-masing tabung
- ditentukan KHM (Kadar Hambat Minimum)

Data

L.2.9 Penentuan KBM dengan Metode Streaking

Tabung 2-7 Hasil dilusi tabung

- ditanam pada media padat NAP
- dilakukan *streaking*
- diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18 jam
- dihitung jumlah koloni *Pseudomonas aeruginosa* dengan menggunakan *counter colony*
- ditentukan KBM (Kadar Bunuh Minimum) perkolat kayu secang terhadap *Pseudomonas aeruginosa*

Data

L.2.10 Perhitungan Koloni Bakteri menggunakan *Colony Counter*

Media dalam cawan petri

- dihidupkan *colony counter*
- ditempatkan pada *counting plate* media yang akan dihitung jumlahnya
- dihitung setiap koloni yang tumbuh dengan cara menekan ujung detektor pada koloni yang tampak
- dicatat jumlah koloni yang terlihat pada *display*

Data

Lampiran 3. Seting Alat Perkolasi



Gambar 3.1 Gambar proses Peroklasi



Lampiran 4. Colony Counter



Gambar 4.1 Gambar Alat Colony Counter

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



Lampiran 5. Preparasi Larutan dan Bahan

L.5.1 Pembuatan Larutan Stok Perkolat Secang 10% b/v

Perkolat kayu secang ditimbang sebanyak 10 gr dan dilarutkan dengan 60 mL akuades pada gelas kimia. Selanjutnya larutan dipindahkan secara kuantitatif dalam labu ukur 100 mL dan ditandabatkan dengan akuades.

L.5.2 Pembuatan Larutan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* 10⁶ sel/mL

Pada metode uji kepekaan bakteri ini, digunakan standar konsentrasi kuman sebesar 0,5 McFarland (10⁸ sel/mL). Untuk mendapatkan konsentrasi kuman sebesar 10⁶ sel/mL, maka 0,1 mL dari 0,5 McFarland diencerkan dengan dasar perhitungan sebagai berikut:

$$V_1 N_1 = V_2 N_2$$

$$V_2 = \frac{V_1 N_1}{N_2}$$

$$V_2 = \frac{0,1 \times 10^8}{1 \times 10^6}$$

$$V_2 = 100 \text{ mL}$$

Keterangan:

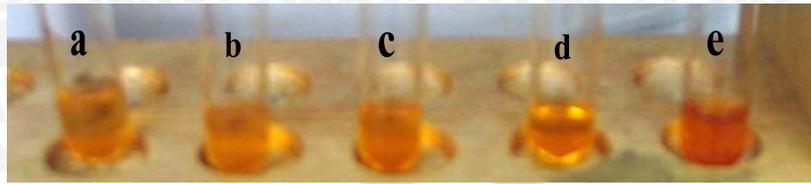
$$V_1 = 1 \text{ mL dari } 0,5 \text{ McFarland}$$

$$N_1 = 10^8 \text{ sel/mL (0,5 McFarland)}$$

$$N_2 = 1 \times 10^6 \text{ sel/mL}$$

Sehingga 0,1 ml dan 0,5 McFarland diencerkan menjadi 100 ml, untuk mendapatkan konsentrasi kuman yang diinginkan yaitu sebesar 10⁶ sel/mL.

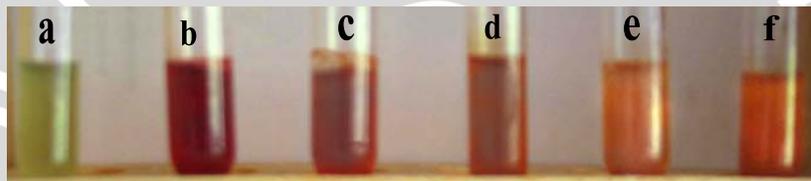
Lampiran 6. Penentuan KHM (Kadar Hambat Minimum) Perkolat Kayu Secang Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan Metode Dilusi Tabung



Gambar L.6.1 Larutan Kontrol Secang

Keterangan:

- a : konsentrasi secang 1,5%
- b : konsentrasi secang 1,7%
- c : konsentrasi secang 2%
- d : konsentrasi secang 2,2%
- e : konsentrasi secang 2,4%



Gambar L.6.2 Hasil Uji Dilusi Tabung (KHM)

Keterangan:

- a : konsentrasi secang 0%
- b : konsentrasi secang 1,5%
- c : konsentrasi secang 1,7%
- d : konsentrasi secang 2%
- e : konsentrasi secang 2,2%
- f : konsentrasi secang 2,4%

Lampiran 7. Penentuan KBM (Kadar Bunuh Minimum) Perkolat Kayu Secang Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan Metode Streaking

Tabel L.7.1 Data Hasil Uji Antibakteri Ekstrak Secang Terhadap *Pseudomonas aeruginosa* isolat PUS (CFU/ml)

No	Strain Isolat	Kosentrasi Ekstrak Kayu Secang						
		OI	0%	1,5%	1,7%	2%	2,2%	2,4%
1	Isolat A	263	2,6.10 ⁵	214	76	7	1	0
2	Isolat B	227	1,6.10 ⁵	293	80	12	0	0
3	Isolat C	298	1,6.10 ⁵	226	64	16	2	0
4	Isolat D	318	3,0.10 ⁵	291	101	33	4	0

Keterangan : CFU = Colony Forming Unit

OI = Original Inoculate

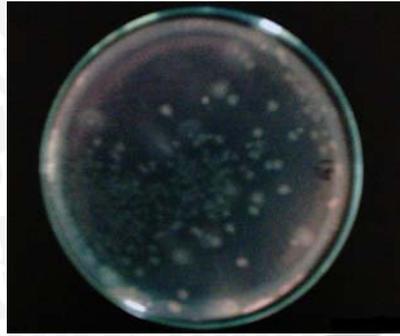
Berikut ini adalah gambaran mengenai efektifitas dari penambahan perkolat secang terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* setelah diinkubasikan selama 24 jam:



Gambar L.7.1 Inokulum Asal (OI)



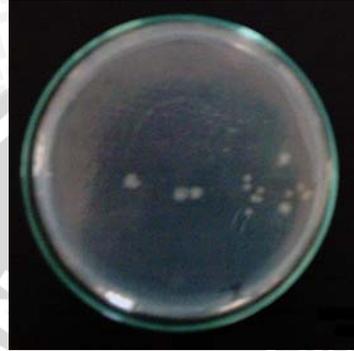
Gambar L.7.2 *Pseudomonas aeruginosa* + 0% Secang



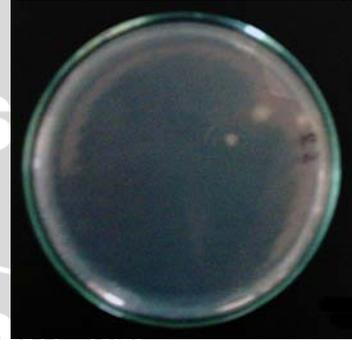
Gambar L.7.3 *Pseudomonas aeruginosa* + 1,5% Secang



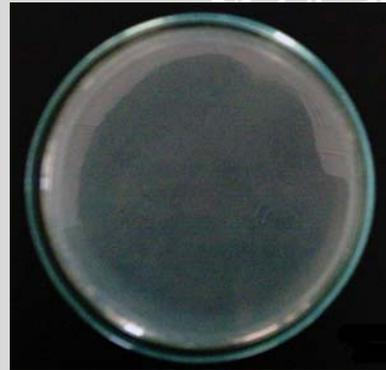
Gambar L.7.4 *Pseudomonas aeruginosa* + 1,7% Secang



Gambar L.7.5 *Pseudomonas aeruginosa* + 2% Secang



Gambar L.7.6 *Pseudomonas aeruginosa* + 2,2% Secang



Gambar L.7.7 *Pseudomonas aeruginosa* + 2,4% Secang

Lampiran 8. Uji Statistik

a. Penentuan Faktor Koreksi

$$FK = \frac{\left(\sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^n Y_{ij} \right)^2}{pn}$$

$$FK = \frac{881420}{24}$$

$$FK = 36725,83333$$

b. Penentuan Jumlah Kuadrat

1. Jumlah Kuadrat Total (JK_T)

$$JK_T = \sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^n Y_{ij}^2 - FK$$

$$JK_T = 2,088.10^{11} - 36725,83333$$

$$JK_T = 2,088.10^{11}$$

2. Jumlah Kuadrat Perlakuan (JK_p)

$$JK_p = \frac{\sum_{i=1}^p \left(\sum_{j=1}^n Y_{ij} \right)^2}{n} - FK$$

$$JK_p = \frac{7,74401.10^{11}}{4} - 36725,83333$$

$$JK_p = 1,936.10^{11} - 36725,83333$$

$$JK_p = 1,936.10^{11}$$

3. Jumlah Kuadrat Galat (JK_G)

$$JK_G = JK_T - JK_P$$

$$JK_G = 2,088.10^{11} - 1,936.10^{11}$$

$$JK_G = 15200006362$$

c. Penentuan Kuadrat Tengah

1. Kuadrat Tengah Perlakuan (KT_P)

$$KT_P = \frac{JK_{Perlakuan}}{dB_{galat percobaan}}$$

$$KT_P = \frac{1,936.10^{11}}{5}$$

$$KT_P = 38720050469$$

2. Kuadrat Tengah Galat (KT_G)

$$KT_G = \frac{JK_{galat percobaan}}{dB_{galat percobaan}}$$

$$KT_G = \frac{15200006362}{18}$$

$$KT_G = 844444797,9$$

d. Penentuan F_{hitung}

$$F_{hitung} = \frac{KT_{perlakuan}}{KT_{galat percobaan}}$$

$$F_{hitung} = \frac{38720050469}{844444797,9}$$

$$F_{hitung} = 45,85267$$

Tabel L.8.1 Analisis Ragam Satu Arah

SK	db	JK	KT	F	
Perlakuan	5	1,936.10 ¹¹	38720050469	hitung	tabel
Galat	18	15200006362	844444797,9	44,85	2,77
Total	23	2,088.10 ¹¹			

Tabel L.4.2. menunjukkan bahwa $F_{hitung} > F_{tabel}$ berarti ada perbedaan yang sangat nyata pada setiap perlakuan. Perlakuan yang memiliki pengaruh berbeda satu terhadap yang lain diketahui dari uji BNT dengan taraf nyata 5%.

L.8.1 Uji BNT

$$BNT_{(0,05)} = t_{tabel} (0,05/2, dB) \sqrt{\frac{2KT_G}{n}}$$

$$BNT_{(0,05)} = 2,101 \times 16777,4134$$

$$BNT_{(0,05)} = 35249,35$$

