

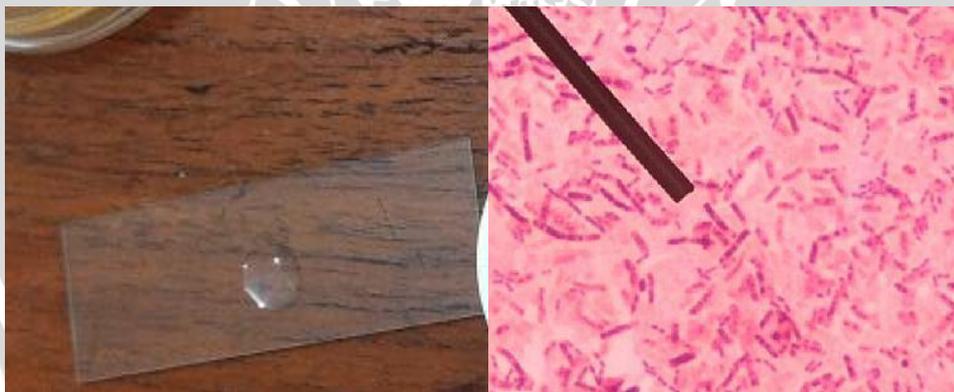
BAB V

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Penelitian

5.1.1 Identifikasi *Lactobacillus acidophilus*

Dalam penelitian ini, sampel yang digunakan adalah bakteri *Lactobacillus acidophilus* yang didapatkan dari Balai Laboratorium Kesehatan Yogyakarta. Namun sebelum penelitian, dilakukan identifikasi ulang yang meliputi tes pewarnaan gram dan tes katalase. Dari pewarnaan gram, didapatkan sel yang berbentuk batang, gram positif berwarna ungu. Pada tes katalase bakteri menimbulkan reaksi yang negatif dengan tidak menimbulkan gelembung ketika diberikan H_2O_2 3%. Seperti yang terdapat pada gambar 5.1 menunjukkan bahwa bakteri ini adalah bakteri *Lactobacillus acidophilus*.

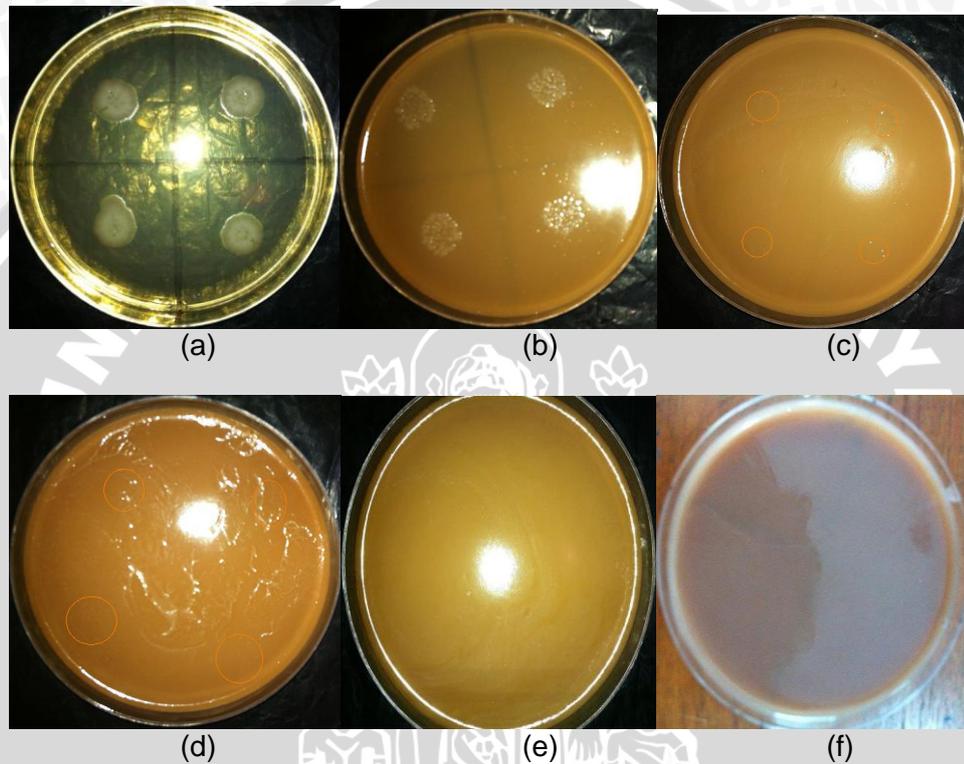


Gambar 5.1. Tes Katalase dan Tes Pewarnaan Bakteri.

5.1.2 Hasil Pengamatan Tes Sensitivitas Metode Dilusi Agar

Pada uji dilusi agar dapat dilakukan pengamatan derajat ketebalan lapisan koloni bakteri pada masing-masing *plate* untuk mengetahui KHM dengan pengamatan visual. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan beberapa konsentrasi 2%, 4%, 6%, 8%, dan 10% serta 1 kelompok kontrol

tanpa diberi konsentrasi ekstrak biji buah kakao (konsentrasi 0%). Konsentrasi ekstrak terendah yang dilarutkan pada medium agar yang tidak ditumbuhi koloni bakteri menunjukkan Kadar Hambat Minimum (KHM) dari ekstrak biji buah kakao terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus*. Hasil pengamatan dilusi agar dapat dilihat pada gambar 5.2.



Gambar 5.2. Hasil Pengamatan Dilusi Agar. (a) Kontrol Kuman (b) Ekstrak Kakao Konsentrasi 2% (c) Ekstrak Kakao Konsentrasi 4% (d) Ekstrak Kakao Konsentrasi 6% (e) Ekstrak Kakao Konsentrasi 8% (f) Ekstrak Kakao Konsentrasi 10%.

Pada gambar 5.2 terlihat bahwa terdapat koloni yang tumbuh pada kontrol kuman, hal ini berarti bahwa suspensi bakteri yang digunakan pada kelompok perlakuan benar-benar mengandung bakteri. Hasil pengamatan pada *plate* setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam, tampak bahwa semakin tinggi pemberian dosis ekstrak biji buah kakao maka semakin sedikit pertumbuhan koloni bakteri yang dapat dilihat. Hasil pengamatan uji coba perlakuan dengan menggunakan ekstrak biji buah kakao dapat dilihat pada tabel 5.1.

Tabel 5.1 Pertumbuhan koloni *Lactobacillus acidophilus* dalam beberapa konsentrasi ekstrak biji buah kakao

Konsentrasi	Koloni Bakteri			
	1	2	3	4
KK	+++	+++	+++	+++
2%	++	++	++	++
4%	+	+	+	+
6%	+	+	+	+
8%	0	0	0	0
10%	0	0	0	0

Sumber : Data yang didapat dari hasil penelitian

Keterangan :

+++ = koloni tumbuh sangat tebal dan tidak terhitung

++ = koloni tumbuh tebal dan tidak terhitung

+ = koloni tumbuh tipis dan tidak terhitung

0 = tidak ada pertumbuhan

Berdasarkan hasil pengamatan terhadap pertumbuhan koloni bakteri *Lactobacillus acidophilus* pada agar *plate* dalam beberapa konsentrasi ekstrak biji buah kakao pada tabel 5.1 menunjukkan hasil yang cukup bervariasi. Konsentrasi ekstrak biji buah kakao yang semakin tinggi akan menyebabkan pertumbuhan bakteri semakin sedikit. Pada konsentrasi terendah dimana sudah tidak ada lagi pertumbuhan bakteri didefinisikan sebagai Kadar Hambat Minimum (KHM) ekstrak biji buah kakao sebagai antimikroba. Pada tabel dijelaskan bahwa mulai dari koloni bakteri 1 sampai dengan koloni bakteri 4 menunjukkan adanya perubahan yang cukup signifikan ($p\text{-value} > 0,05$). Lapisan koloni bakteri kelompok kontrol (KK) terlihat sangat tebal dan tidak dapat dihitungkan, begitu juga dengan pada koloni bakteri pada konsentrasi 2% yang tebal dan tidak terhitung koloninya. Konsentrasi 4% dan konsentrasi 6% terdapat dalam kategori

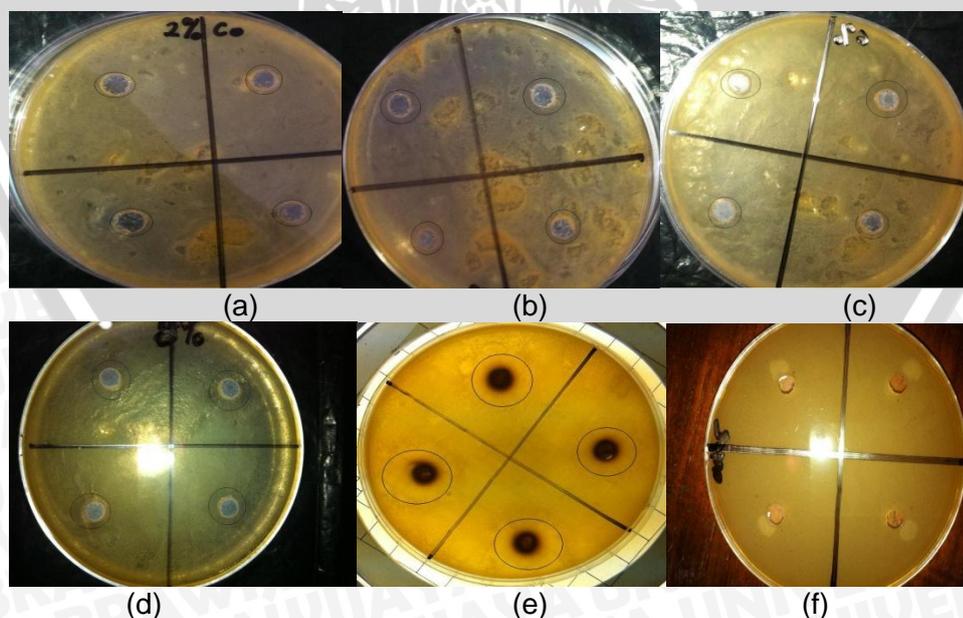
yang sama, namun pada kenyataannya lapisan bakteri pada 4% (tampak seperti lapisan agar-agar tipis) sedikit lebih tebal daripada 6% (tampak seperti noda tipis). Lain halnya dengan koloni yang terdapat pada konsentrasi 8%, pada konsentrasi ini sudah tidak terdapat pertumbuhan bakteri sama sekali. Perbedaan yang signifikan tersebut dapat dilihat dengan menggunakan uji non parametrik chi-square, dengan *p-value* atau tingkat kesalahan yang didapat adalah 0,00. Dengan hasil *p-value* yang kurang dari 0,05, dapat disimpulkan bahwa hasil yang didapatkan merupakan hasil yang benar. Kemudian dilanjutkan dengan korelasi Spearman untuk melihat hubungan antara ekstrak dan pertumbuhan koloni bakteri. Hasil dari korelasi Spearman menunjukkan bahwa ada hubungan antara tinggi konsentrasi ekstrak dengan jumlah pertumbuhan koloni bakteri *Lactobacillus acidophilus*, yaitu semakin tinggi konsentrasi ekstrak digunakan, maka akan semakin sedikit pertumbuhan koloni bakteri pada media agar.

5.1.3 Hasil Pengamatan Tes Sensitivitas dengan Metode Difusi Sumuran

Hasil penelitian pada perhitungan zona hambat yang terbentuk pada media BHI *Broth* yang digunakan untuk media pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus* dengan pengulangan sebanyak 4 kali dapat dilihat pada tabel 5.2. Tes sensitivitas dengan metode ini digunakan untuk menentukan Kadar Bunuh Minimum (KBM) karena tidak dapat ditentukan melalui metode dilusi agar. Tes ini dilakukan dengan cara membuat sumur dengan diameter ± 6 mm pada media agar yang telah dicampur dengan bakteri *Lactobacillus acidophilus*. Kemudian pada sumur tersebut diisi dengan ekstrak biji buah kakao dengan konsentrasi yang bermacam-

macam (2%, 4%, 6%, 8%, 10%) dan juga menggunakan kelompok kontrol, yaitu kelompok yang sumurnya diisi dengan aquades.

Setelah dilakukan inkubasi selama 18-24 jam, zona hambat pada tiap sumur terbentuk, selain pada kelompok kontrol (KK). Zona hambat tidak terbentuk pada *plate* kelompok kontrol (KK), koloni terlihat padat di sekitar sumur. Hasil dari sumur yang diisi dengan konsentrasi 2% adalah zona hambat yang sangat tipis disekitar sumur dengan diameter rata-rata ± 7 mm. Zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi 4% memiliki rata-rata $\pm 7,5$ mm, tidak jauh berbeda dengan konsentrasi 6% yang memiliki diameter zona hambat rata-rata $\pm 9,25$ mm. Pada konsentrasi 8% dan 10% diameter zona hambat yang terbentuk mulai melebihi 1 cm, konsentrasi 8% rata-rata zona hambatnya adalah $\pm 16,25$ mm, dan pada konsentrasi 10% rata-rata zona hambatnya $\pm 19,25$ mm. Pada konsentrasi 10% zona hambat yang terbentuk terlihat paling jelas, dibandingkan dengan zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi lainnya. Gambar hasil uji difusi sumuran dapat dilihat pada gambar 5.3.



Gambar 5.3. Zona Hambat. (a) ekstrak konsentrasi 2%, (b) ekstrak konsentrasi 4% (c) ekstrak konsentrasi 6%, (d) ekstrak konsentrasi 8%, (e) ekstrak konsentrasi 10%, (f) Kontrol kuman.

Tabel 5.2 Diameter zona hambat, mean, dan Standart deviasi

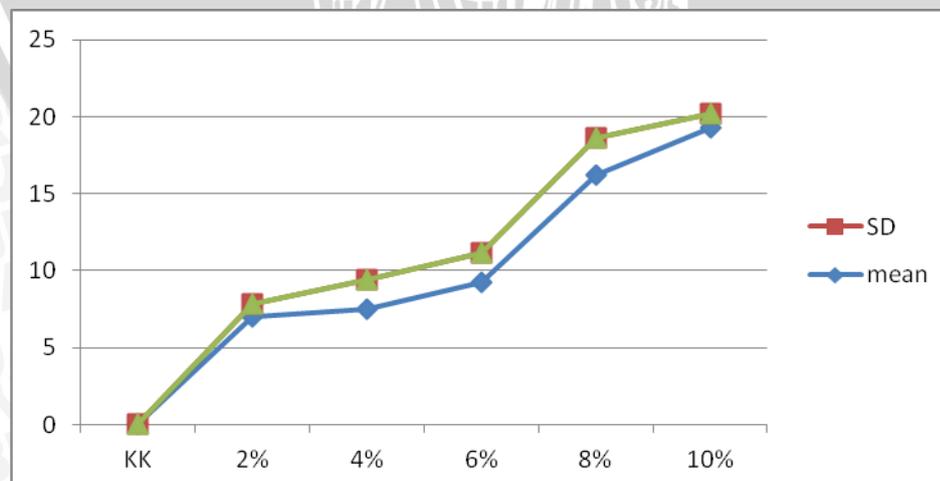
Konsentrasi	Zona Hambat				Mean	Standart Deviasi
	1	2	3	4		
KK	0	0	0	0	0	0
2%	7	6	8	7	7	0,816
4%	8	6	10	6	7,5	1,915
6%	8	9	12	8	9,25	1,893
8%	13	16	18	18	16,25	2,363
10%	20	18	20	19	19,25	0,957

Dari tabel diatas dapat dijelaskan bahwa pada pengukuran diameter zona hambat Kelompok Kontrol (KK), pada setiap pengulangan tidak terbentuk zona hambat, maka data yang didapat adalah 0 mm. Diameter zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi ekstrak biji kakao 2% adalah 7 mm (pada pengulangan pertama dan pengulangan ke-4), 6 mm (pada pengulangan ke-2), dan 8 mm (pada pengulangan ke-3). Selanjutnya dilakukan pengukuran diameter zona hambat yang terbentuk pada *plate* dengan konsentrasi ekstrak biji buah kakao 4%, data yang diperoleh adalah 8 mm (pengulangan pertama), 6 mm (pengulangan ke-2 dan ke-4), dan 10mm (pengulangan ke-3). Data zona hambat yang diperoleh pada konsentrasi 6% adalah 8 mm (pengulangan pertama dan ke-4), 9 mm (pengulangan ke-2), 12 mm (pengulangan ke-3). Sedangkan data yang didapat pada pengukuran diameter zona hambat pada konsentrasi 8% terlihat jauh lebih besar, 13 mm (pengulangan pertama), 16 mm (pengulangan ke-2), dan 18 mm (pengulangan ke-3 dan ke-4). Terdapat perbedaan yang besar antara pengulangan pertama dan pengulangan ke-3 dan ke-4, hal ini dapat disebabkan oleh jumlah kepadatan bakteri yang berbeda pada daerah sumur, diakibatkan karena agar yang menggumpal. Yang terakhir adalah data pada *plate* yang sumurnya diisi dengan

konsentrasi ekstrak biji buah kakao 10%, hasilnya adalah 20 mm (pengulangan pertama dan pengulangan ke-3), 19 mm (pengulangan ke-2), dan 18 mm (pengulangan ke-4).

Hasil dari uji difusi sumuran diolah dengan uji statistik parametrik *One Way ANOVA* didapatkan mean data 7 untuk konsentrasi ekstrak 2%, mean 7,5 untuk konsentrasi 4%, mean 9,25 untuk konsentrasi 6%, dan mean 16,25 untuk konsentrasi 8%. Pada konsentrasi 8% dimana zona hambat mencapai 15 mm mendapatkan mean yang cukup tinggi. Terjadi perbedaan yang cukup jelas antara mean konsentrasi 6% dengan 8%, hal ini dapat diakibatkan oleh dosis yang sudah bekerja secara efektif pada konsentrasi 8%. Tapi yang mean paling tinggi adalah 19,25 untuk konsentrasi 10%, hal ini menyatakan bahwa konsentrasi 10% merupakan konsentrasi terendah yang paling efektif untuk membunuh bakteri, atau disebut juga sebagai KBM.

Untuk mempermudah mengamati efek dari ekstrak biji buah kakao terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus*, dibuat grafik pada gambar 5.4 berdasar mean dan standart deviasi pada tabel 5.2. Sehingga dapat dilihat pola kinerja dari ekstrak biji buah kakao ini.



Gambar 5.4 Grafik Mean dan Standar Deviasi

Kadar Bunuh Minimum didapatkan apabila zona hambat yang terbentuk lebih dari 15 mm. Apabila zona hambat mencapai 15 mm, maka disebut sebagai Kadar Hambat Minimum. Dari data pada tabel 5.2 dapat disimpulkan bahwa Kadar Bunuh Minimum ekstrak biji buah kakao terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus* adalah 10%.

Pada gambar 5.4 terlihat grafik yang terus meningkat dan berada di atas standard deviasi, hal ini menunjukkan bahwa bahan tersebut efektif sebagai antimikroba dan kemampuan yang terdapat pada ekstrak biji buah kakao yang meningkat seiring dengan bertambahnya konsentrasi. Sehingga, semakin tinggi konsentrasi ekstrak biji buah kakao, kemampuannya akan semakin besar.

5.2 Analisis Data

Uji normalitas dan uji homogenitas terhadap data zona hambat yang terbentuk pada media biakan bakteri dilakukan terlebih dahulu. Dari uji Homogenitas didapatkan $p > 0,05$, begitu juga dengan uji normalitasnya, sehingga data tersebut merupakan data yang homogen dan distribusinya normal. Karena data numerik dan terdistribusi normal, maka uji *One Way ANOVA* (uji parametrik) dapat digunakan. Uji *One Way ANOVA* mendapatkan nilai $p = 0,00$ pada data zona hambat yang terbentuk dengan difusi sumuran. Hasil tersebut menunjukkan bahwa hasil yang diperoleh signifikan karena taraf kesalahan (*p-value*) lebih kecil dari 1. Kemudian dilanjutkan dengan korelasi Regresi untuk mengetahui pengaruh ekstrak biji buah kakao terhadap zona hambat yang terbentuk, dan mendapatkan nilai $R^2 = 0,899$. Hasil yang didapatkan positif, yang dapat diartikan bahwa adanya pengaruh positif dari ekstrak biji buah kakao terhadap besar zona

hambat, semakin tinggi konsentrasi, maka zona hambat akan semakin besar.

Untuk analisis data dilusi agar digunakan uji *chi-square* karena data yang didapat merupakan data non-numerik. Sehingga pengolahan data harus menggunakan kode numerik. Setelah uji *chi-square* dilakukan didapatkan nilai $p < 0,05$, maka hasil yang diperoleh merupakan hasil yang signifikan. Kemudian dilanjutkan dengan uji korelasi Spearman dan mendapatkan nilai $-0,927$. Hasil yang negatif ini menjelaskan bahwa ada hubungan yang negatif antara ekstrak biji buah kakao dengan pertumbuhan koloni bakteri. Dimana semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan, maka pertumbuhan koloni bakteri akan semakin terhambat.

