

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

1.1 Gambaran Ekstrak Etanol Kismis

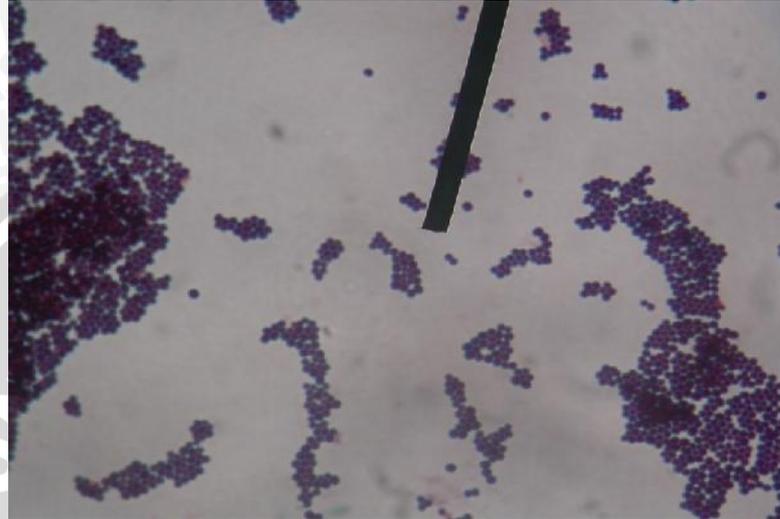
Ekstrak etanol kismis berasal dari ekstraksi kismis seberat 100 gram menggunakan pelarut etanol dengan metode ekstraksi sokhlet menghasilkan 30 ml ekstrak kismis berwarna coklat kehitaman. Ekstraknya kental dan jika dicampur aquadest larutan tersebut menjadi homogen dan berwarna coklat kehitaman. Apabila larutan tersebut dicampur dengan *Brain Hearth Infusion Broth* dan diinkubasi 18-24 jam dalam suhu 37°C, akan didapatkan larutan berwarna coklat kehitaman tanpa meninggalkan debris atau endapan dibagian bawah tabung.

1.2 Hasil Identifikasi *S. mutans*

Isolat bakteri *S. mutans* yang digunakan oleh peneliti diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi FKG Unair yang kemudian dikultur di Laboratorium Mikrobiologi FKUB dan diberi kode Strain 2302-unr. Sebelum bakteri digunakan, dilakukan uji identifikasi terlebih dahulu untuk memastikan bakteri tersebut adalah benar *S. mutans*. Isolat bakteri di-*streaking* ulang di *Brain Heart Infusion Agar* (BHIA) kemudian diidentifikasi dengan pewarnaan Gram lalu dilanjutkan dengan tes katalase dan tes optochin.

Hasil *streaking* pada medium *Brain Heart Infusion Agar* (BHIA) isolat bakteri *S. mutans* menunjukkan koloni bakteri yang berbentuk bulat dengan permukaan sedikit cembung. Teksturnya halus, licin dan terkadang saling bertumpuk. Koloni bakteri *S. mutans* sangat lengket pada *Brain Heart Infusion Agar* (BHIA). Koloni berwarna kuning keputihan dan agak transparan. Pada

perwarnaan Gram dan pengamatan di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000x, didapatkan gambaran sel bakteri berbentuk bulat seperti terlihat pada Gambar 5.1.



Gambar 5.1 *S. mutans* (pengecatan Gram, perbesaran 1000 X, berwarna ungu, berbentuk bulat)

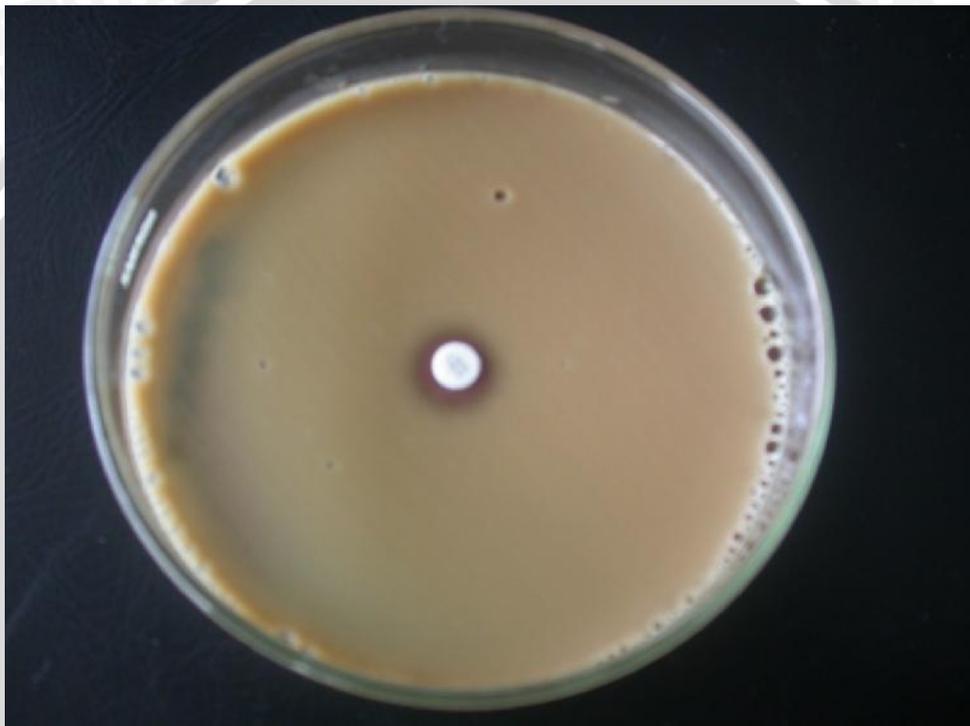
Pada pengamatan hasil tes katalase tidak didapati adanya gelembung udara seperti terlihat pada Gambar 5.2.



Gambar 5.2 Tes Katalase *S. mutans*

Keterangan : Bakteri *S. mutans* menunjukkan hasil negatif (tidak adanya gelembung udara)

Pada tes optochin bakteri *S. mutans* menunjukkan hasil reaksi negatif. Hasil negatif ini ditunjukkan dengan tidak adanya zona hambatan di sekeliling disk optochin seperti terlihat pada Gambar 5.3 Tes ini digunakan untuk membedakan bakteri *Streptococcus pneumoniae* yang peka terhadap optochin dan bakteri *S. mutans* yang resisten terhadap optochin.



Gambar 5.3 Tes optochin pada *S. mutans*

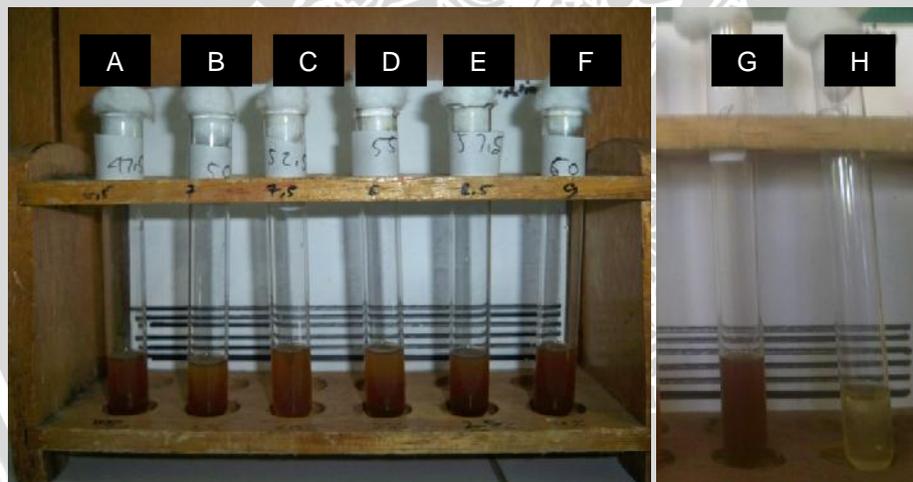
Keterangan: Bakteri *S. mutans* menunjukkan hasil negatif (tidak adanya zona hambatan di sekeliling disk optochin)

1.3 Hasil Uji Aktivitas Antimikroba dengan Penentuan Nilai KHM

Penelitian pendahuluan dilakukan untuk memperoleh rentang konsentrasi seminimal mungkin agar hasil yang diperoleh lebih teliti, rentang konsentrasinya adalah 100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,125; dan 1,57625% (v/v). Hasilnya tumbuh pada semua konsentrasi dengan jumlah koloni paling sedikit pada konsentrasi 50%. Oleh karena itu, penyempitan dilakukan kembali untuk menentukan berapa konsentrasi yang tepat untuk digunakan dalam penelitian.

Konsentrasi yang digunakan dalam penyempitan kedua adalah 30, 35, 40, 45, 50, 55, dan 60% (v/v). Hasilnya bakteri tumbuh pada semua konsentrasi kecuali pada konsentrasi 60%. Peneliti akhirnya menggunakan rentang konsentrasi dari 47,5% sampai 60% dengan rentang antar konsentrasi 2,5% (v/v).

Kadar Hambat Minimal (KHM) adalah kadar terendah dari antibakteri yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri (ditandai dengan tidak adanya kekeruhan pada tabung), setelah diinkubasikan selama 18-24 jam (*Dzen et al.*, 2010). Tingkat kekeruhan larutan ekstrak kismis diamati untuk menentukan KHM. Hasil uji dilusi tabung dengan konsentrasi 47,5%, 50%, 52,5%, 55%, 57,5%, 60%, dan kontrol bakteri disajikan pada Gambar 5.4.



Gambar 5.4 Hubungan Peningkatan Konsentrasi Ekstrak Etanol Kismis dengan Tingkat Kekeruhan

Keterangan: A. Suspensi bakteri dan ekstrak etanol kismis konsentrasi 47,5%, B. Suspensi bakteri dan ekstrak etanol kismis konsentrasi 50%, C. Suspensi bakteri dan ekstrak etanol kismis konsentrasi 52,5%, D. Suspensi bakteri dan ekstrak etanol kismis konsentrasi 55%, E. Suspensi bakteri dan ekstrak etanol kismis konsentrasi 57,5%, F. Suspensi bakteri dan ekstrak etanol kismis konsentrasi 60%, G. Kontrol ekstrak etanol kismis, H. Kontrol bakteri dengan konsentrasi ekstrak etanol kismis 0%.

Berdasarkan Gambar 5.4, perbedaan kekeruhan antar konsentrasi tidak dapat diamati karena semua warna tabung keruh jika dibandingkan dengan

kontrol bakteri. Oleh karena itu, pengamatan langsung tingkat kekeruhan tiap konsentrasi secara visual tidak dapat ditentukan sehingga nilai KHM tidak bisa ditentukan.

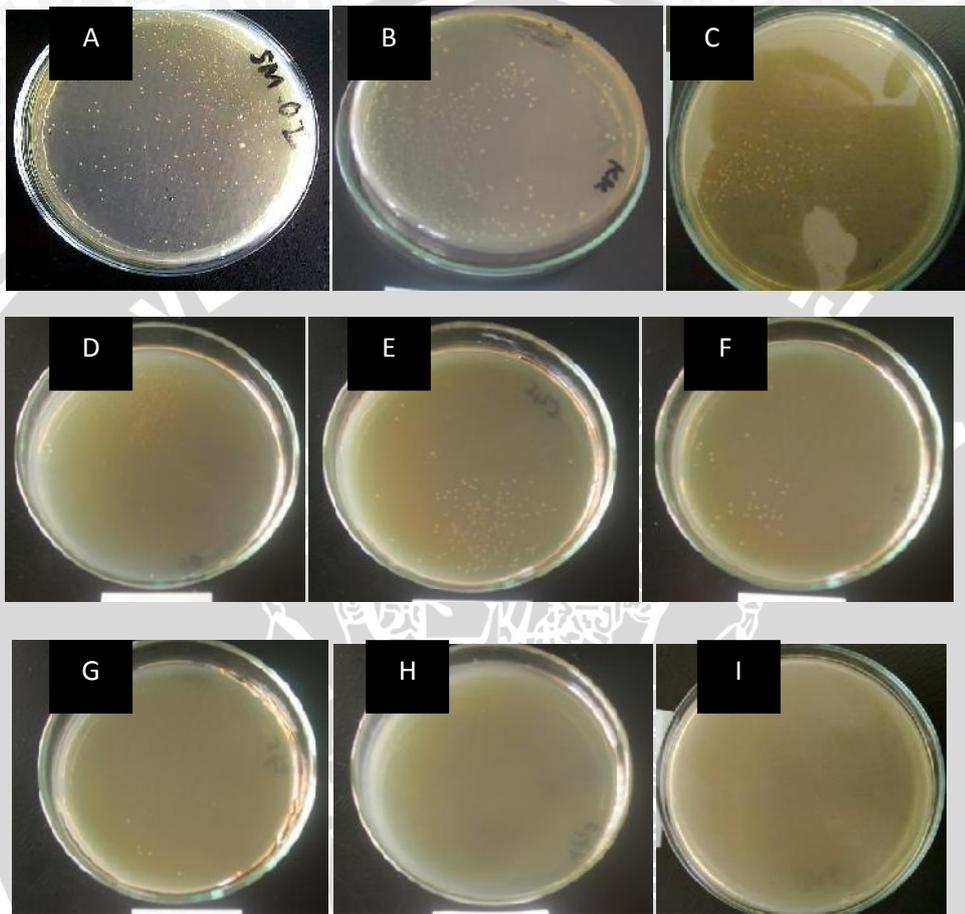
1.4 Hasil Uji Aktivitas Anti Mikroba dengan Penentuan Nilai KBM

Setelah tabung diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C dan diamati tingkat kekeruhannya untuk melihat KHM, setiap konsentrasi ekstrak tersebut diinokulasi pada BHIA. Kemudian, BHIA diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Penghitungan jumlah koloni yang tumbuh pada masing-masing konsentrasi BHIA dihitung keesokan harinya dengan menggunakan *colony counter* (Tabel 5.1).

Kadar Bunuh Minimal (KBM) adalah kadar terendah dari antibakteri yang dapat membunuh bakteri (ditandai dengan tidak tumbuhnya bakteri pada BHIA) atau pertumbuhan koloninya kurang dari 0,1% dari jumlah koloni inokulum awal (*Original Inoculum/OI*) pada medium BHIA yang telah dilakukan penggoresan sebanyak satu ose (Dzen *et al.*, 2010). Hasil penggoresan pada BHIA dapat dilihat pada Gambar 5.5.

Berdasarkan hasil penggoresan pada BHIA dan penghitungan pada *colony counter*, terlihat pada Gambar 5.5a dan Tabel 5.1 rerata pertumbuhan bakteri pada *Original Inoculum* adalah sebanyak 30×10^4 CFU/*plate*. Pada gambar dan tabel yang sama menunjukkan bahwa pertumbuhan bakteri pada kontrol yaitu penanaman bakteri *S. mutans* tanpa pemberian ekstrak etanol kismis masih lebih banyak dari *Original Inoculum* (OI). Pertumbuhan bakteri yang lebih tinggi dari OI juga terdapat pada konsentrasi 47,5% dan 50%. Walaupun KHM tidak dapat ditentukan tetapi pada tabel terlihat bahwa pada konsentrasi 52,5% dan 55% terjadi penurunan pertumbuhan bakteri yang signifikan pada tiap

cawan petri. Penentuan kadar bunuh minimal dari ekstrak etanol kismis adalah pertumbuhan koloni yang kurang dari 0,1% *Original Inoculum* yang artinya 0,1% dari 300000 adalah 300.



Gambar 5.5 Pertumbuhan Koloni *S. mutans* pada BHIA

Keterangan : A. Pertumbuhan koloni bakteri pada *Original Inoculum*, B. Pertumbuhan koloni bakteri pada konsentrasi ekstrak 0% atau kontrol bakteri atau kontrol positif, C. Pertumbuhan koloni bakteri pada konsentrasi ekstrak etanol kismis 47,5%, D. Pertumbuhan koloni bakteri pada konsentrasi ekstrak etanol 50%, E. Pertumbuhan koloni bakteri pada konsentrasi ekstrak etanol kismis 52,5%, F. Pertumbuhan koloni bakteri pada konsentrasi ekstrak etanol kismis 55%, G. Pertumbuhan koloni bakteri pada konsentrasi ekstrak etanol kismis 57,5%, H. Pertumbuhan koloni bakteri pada konsentrasi ekstrak etanol kismis 60%, H. Kontrol positif yang merupakan hasil *streaking* dari kontrol ekstrak etanol kismis

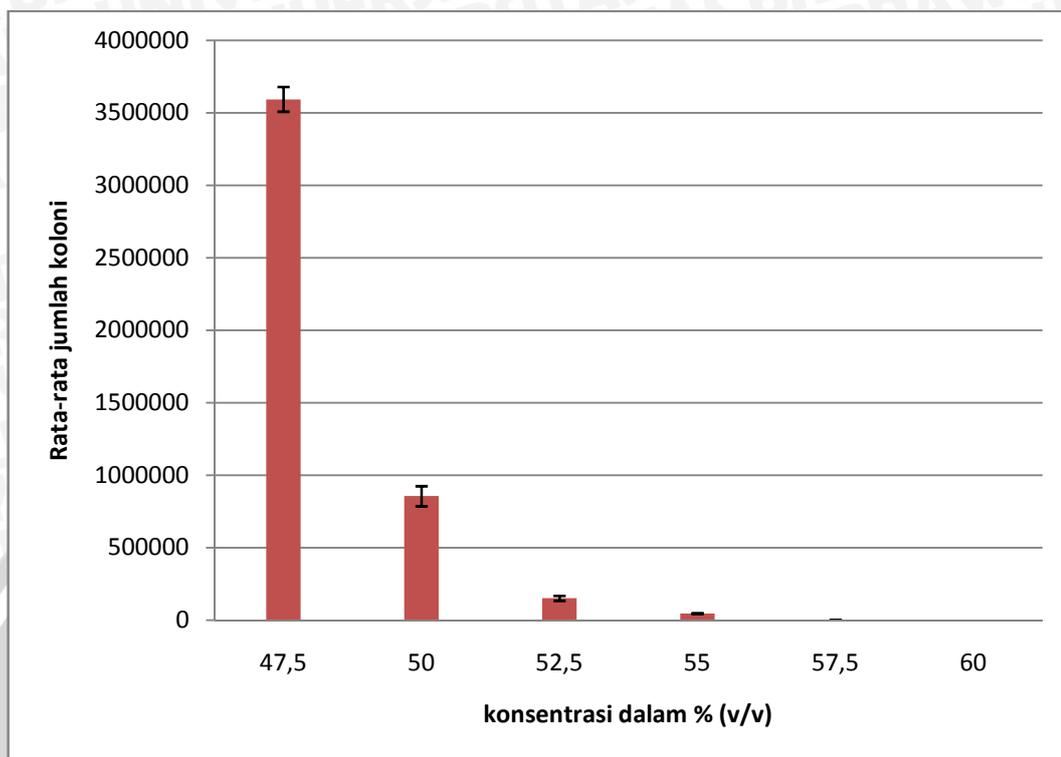
Berdasarkan hasil penggoresan pada BHIA dan penghitungan pada *colony counter*, terlihat pada Gambar 5.5a dan Tabel 5.1 rerata pertumbuhan

bakteri pada *Original Inoculum* adalah sebanyak 30×10^4 CFU/plate. Pada gambar dan tabel yang sama menunjukkan bahwa pertumbuhan bakteri pada kontrol yaitu penanaman bakteri *S. mutans* tanpa pemberian ekstrak etanol kismis masih lebih banyak dari *Original Inoculum* (OI). Pertumbuhan bakteri yang lebih tinggi dari OI juga terdapat pada konsentrasi 47,5% dan 50%. Walaupun KHM tidak dapat ditentukan tetapi pada tabel terlihat bahwa pada konsentrasi 52,5% dan 55% terjadi penurunan pertumbuhan bakteri yang signifikan pada tiap cawan petri. Penentuan kadar bunuh minimal dari ekstrak etanol kismis adalah pertumbuhan koloni yang kurang dari 0,1% *Original Inoculum* yang artinya 0,1% dari 300000 adalah 300.

Tabel 5.1 Hasil Penghitungan Koloni Bakteri yang Tumbuh Pada BHIA per 1/1000 ml

Konsentrasi	Rerata	Standar deviasi
KK	$189,75 \times 10^5$	$\pm 29,86 \times 10^3$
47,5%	$359,3 \times 10^4$	$\pm 85,26 \times 10^3$
50%	$85,5 \times 10^4$	$\pm 69,34 \times 10^3$
52,5	$15,11 \times 10^4$	$\pm 17,15 \times 10^3$
55%	$4,6 \times 10^4$	$\pm 2,94 \times 10^3$
57,5%	13×10^2	$\pm 216,02$
60%	0	0
OI	30×10^4	

Untuk penyajian data hasil perhitungan jumlah koloni bakteri *S. mutans* selanjutnya akan ditulis dengan format rerata \pm standar deviasi.



Gambar 5.6 Diagram rerata dan standar deviasi jumlah koloni bakteri *S. mutans*

Keterangan : 1. Konsentrasi ekstrak 47,5%; 2. Konsentrasi ekstrak 50% 3. Konsentasi ekstrak 52,5%; 4. Konsentrasi ekstrak 55%; 5. Konsentrasi ekstrak 57,5%; 6. Konsentrasi ekstrak 60%

Berdasarkan Tabel 5.1 dapat dilihat bahwa nilai KBM dari ekstrak etanol kismis terhadap *S. mutans* adalah 60%. Selain itu dapat diamati adanya penurunan jumlah koloni bakteri yang tumbuh seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak. Rerata jumlah koloni juga semakin menurun seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak.

1.5 Analisis Data

Analisis data yang digunakan adalah uji statistik *one way* ANOVA dan uji statistik korelasi-regresi. Sebagai prasyarat analisis statistik parametrik diperlukan beberapa pengujian pendahuluan. Syarat menggunakan uji parametrik *One-Way* ANOVA adalah data terdiri dari 2 (dua) kelompok/lebih,

data memiliki distribusi yang normal yaitu bila nilai signifikansinya lebih dari 0,05, dan varian data/homogenitas harus sama dengan nilai signifikansi lebih dari 0,05. Jika distribusi tidak normal dan varians data/homogenitas tidak sama, maka harus dilakukan transformasi terlebih dahulu (Dahlan, 2006).

Uji normalitas data yaitu Kolmogorov-Smirnov Test, dilakukan untuk mengetahui distribusi/sebaran data normal atau tidak (Dahlan, 2006). Melalui uji normalitas data diperoleh nilai signifikansi sebesar 0,02 ($p > 0,05$) yang menunjukkan bahwa distribusi data tidak normal, oleh karena itu dilakukan transformasi data menggunakan fungsi akar kuadrat. Hasil transformasi data diuji kembali menggunakan uji normalitas dan menghasilkan nilai signifikansi sebesar 0,53 ($p > 0,05$) yang menunjukkan bahwa distribusi data normal (Lampiran 5).

Tes homogenitas dilakukan untuk mengetahui varians data/homogenitas. Berdasarkan uji homogenitas terhadap hasil transformasi, diperoleh nilai signifikansi sebesar 0,081 ($p > 0,05$) yang menunjukkan bahwa varians data/homogenitas data adalah sama (Lampiran 5). Dari kedua uji tersebut, dapat disimpulkan bahwa data yang diperoleh memenuhi syarat untuk dilakukan uji *one way* ANOVA.

1.5.1 Uji *One-Way* ANOVA

One-Way ANOVA merupakan pengujian untuk mengetahui perbedaan nyata antar konsentrasi ekstrak etanol kismis terhadap rerata pertumbuhan koloni *S. mutans*. Dari hasil uji *One-Way ANOVA* (Lampiran 5) didapatkan angka signifikansi 0,000 ($p < 0,05$). Hal ini berarti bahwa pemberian ekstrak etanol kismis dengan konsentrasi mulai 47,5% menyebabkan jumlah rata-rata koloni *S. mutans* berbeda secara signifikan pada taraf kepercayaan 95%.

1.5.2 Uji Post-Hoc Tukey

Uji *Post-Hoc Tukey* merupakan uji perbandingan berganda (*multiple comparisons*). Uji ini menunjukkan pasangan kelompok sampel (kelompok perlakuan atau konsentrasi dan jumlah koloni) yang memberikan perbedaan yang signifikan dan yang tidak memberikan perbedaan secara signifikan. Dari hasil uji *Post-Hoc Tukey* dapat diketahui bahwa ada perbedaan yang signifikan di setiap pasangan kelompok sampel yang ditunjukkan oleh angka signifikansi 0,000 ($p < 0,05$). Untuk mengetahui kelompok konsentrasi mana yang rata-ratanya tidak berbeda dilakukan uji lanjut *Homogenous Subsets*.

Tabel. 5.2 Hasil uji lanjut *Homogenous Subsets*

		Akar Jumlah Bakteri					
Tukey HSD ^a		Subset for alpha = 0.05					
Konsentrasi	N	1	2	3	4	5	6
60%	4	.0000					
57.5%	4	35.9562					
55%	4		214.3948				
52.5%	4			388.4183			
50%	4				924.2312		
47.5%	4					1895.5134	
0%	4						4355.9297
Sig.		.321	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

Keterangan: Subset pada kolom yang sama menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan rata-rata yang signifikan

1.5.3 Uji Korelasi dan Regresi

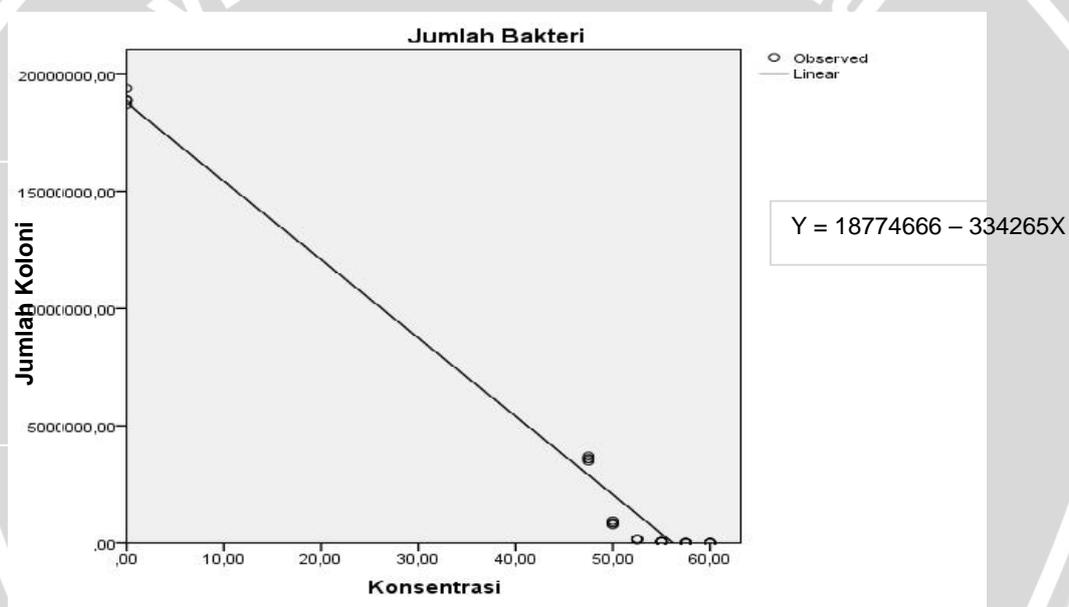
Korelasi *Pearson* digunakan untuk mengukur kekuatan hubungan dua variabel atau lebih yang berskala interval (parametrik). Dalam penelitian ini, uji korelasi *pearson* digunakan untuk membuktikan korelasi antara peningkatan konsentrasi ekstrak etanol kismis dengan pertumbuhan koloni bakteri *S. mutans* (Sarwono, 2008).

Korelasi dapat bernilai positif atau negatif. Korelasi positif menunjukkan arah yang sama hubungan antar variabel. Artinya jika variabel 1 besar maka variabel 2 semakin besar pula. Sebaliknya korelasi negatif menunjukkan arah yang berlawanan, artinya jika variabel 1 besar, maka variabel 2 menjadi kecil (Sarwono, 2008). Hasil uji korelasi *Pearson* (lampiran 5) menunjukkan angka signifikansi 0.000 ($p < 0,05$) yang berarti terdapat hubungan yang bermakna antara pemberian ekstrak etanol kismis dengan jumlah koloni bakteri *S. mutans*. Besar koefisien korelasi *Pearson* yaitu $R = -0,911$. Tanda negatif menunjukkan hubungan yang terbalik yaitu bahwa semakin tinggi konsentrasi etanol kismis maka semakin sedikit jumlah koloni bakteri yang tumbuh, dan sebaliknya. Nilai 0,911 menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang sangat kuat antara perlakuan konsentrasi dengan pertumbuhan bakteri (nilai lebih dari 0,75).

Analisis Regresi (Lampiran 5) digunakan untuk menentukan model yang paling sesuai untuk pasangan data serta dapat digunakan untuk membuat model dan menyelidiki hubungan antara dua variabel atau lebih. Dalam penelitian ini uji regresi digunakan untuk mengetahui sejauh mana hubungan antara peningkatan konsentrasi dengan kemampuan penghambatan terhadap koloni.

Koefisien Determinasi *Adjusted R Square* (R^2) sebesar 0,982 berarti bahwa kontribusi pemberian ekstrak etanol kismis dalam menurunkan jumlah koloni bakteri *S. mutans* sebesar 98% sedangkan sisanya 2% disebabkan oleh faktor-faktor lain yang tidak diteliti. Faktor-faktor tersebut bisa merupakan akibat dari kandungan zat aktif lain dari ekstrak etanol kismis yang bersifat memperkuat bakteri atau akibat bisa dari resistensi bakteri itu sendiri. Hubungan antara perubahan konsentrasi ekstrak etanol kismis dengan pertumbuhan koloni bakteri *S. mutans* dapat dinyatakan dengan rumus $Y = 18774666 - 334265X$. Y adalah

jumlah koloni bakteri *S. mutans* sedangkan X adalah konsentrasi ekstrak etanol kismis. Hal ini berarti tanpa pemberian ekstrak etanol kismis maka jumlah koloni *S. mutans* yang dihasilkan pada medium BHA akan meningkat konstan yaitu 18774666. Dengan pengaruh ekstrak maka setiap peningkatan konsentrasi ekstrak etanol kismis 1% justru menyebabkan penurunan jumlah koloni bakteri hingga 334265 koloni bakteri. Hasil persamaan tersebut dapat dilihat dalam grafik persamaan linier pada Gambar 5.7.



Gambar 5.7 Grafik Persamaan Linier Uji Regresi Jumlah Koloni *S. mutans* terhadap Konsentrasi Ekstrak etanol kismis

Keterangan : $Y = 18774666 - 334265X$, sumbu Y adalah jumlah koloni dan sumbu X adalah konsentrasi ekstrak etanol kismis