

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

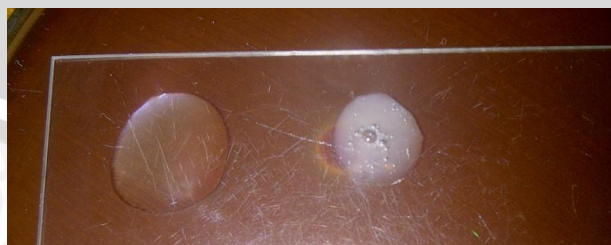
5.1. Hasil Identifikasi Bakteri *Streptococcus pyogenes*

Identifikasi bakteri *S. pyogenes* dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dengan melakukan pewarnaan gram, tes katalase dan tes cakram basitrasin. Pada pewarnaan gram dan pengamatan di bawah mikroskop objektif perbesaran 1000x didapatkan bakteri berbentuk bulat dan membentuk rantai. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri tersebut merupakan bakteri Gram positif (Gambar 5.1.1)



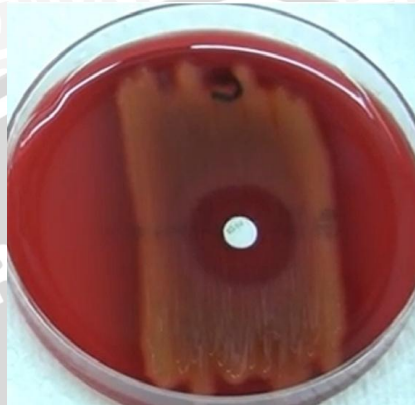
Gambar 5.1.1 Gambar mikroskopis pewarnaan gram bakteri *S. pyogenes*

Hasil dari tes katalase menunjukkan bahwa tidak terdapat gelembung udara, hal ini berarti bahwa tes katalase negatif dan menandakan bahwa bakteri ini merupakan bakteri *Streptococcus* (Gambar 5.1.2).



Gambar 5.1.2 Gambar hasil tes katalase pada *S. pyogenes* (sebelah kiri) yang menunjukkan tidak ada gelembung udara

Pada tes cakram basitrasin, koloni bakteri ini menghasilkan zona inhibisi di sekitar cakram di area plate, yang menandakan bahwa bakteri ini adalah bakteri *S. pyogenes* yang bersifat β -hemolitik.



Gambar 5.1.3 Gambar hasil tes cakram basitrasin bakteri *S.pyogenes*

5.2 Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius Roxb*)

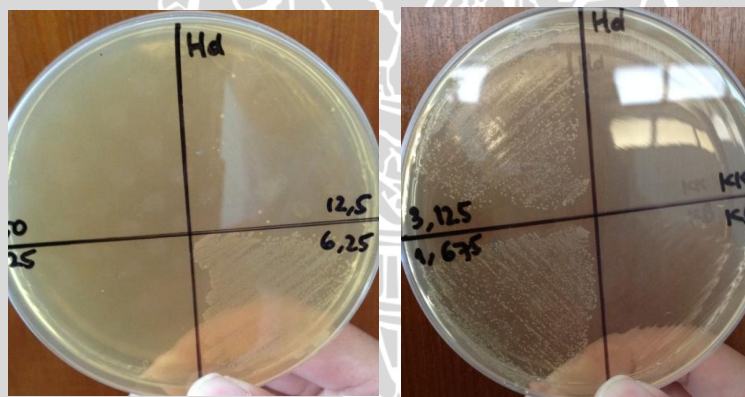
Daun pandan wangi yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari beberapa rumah di Jalan sigura-gura, Malang. Daun pandan wangi kemudian dilakukan uji determinasi di Fakultas Biologi Universitas Brawijaya, hasilnya diketahui bahwa daun yang diambil adalah benar daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius Roxb*) (Lampiran 1). Daun pandan wangi di ekstrak sesuai dengan prosedur pembuatan ekstrak etanol daun pandan wangi dan didapatkan hasil ekstrak etanol daun pandan sebanyak 15 ml.



Gambar 5.2 Hasil ekstrak etanol daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius Roxb*.)

5.3 Uji Eksplorasi

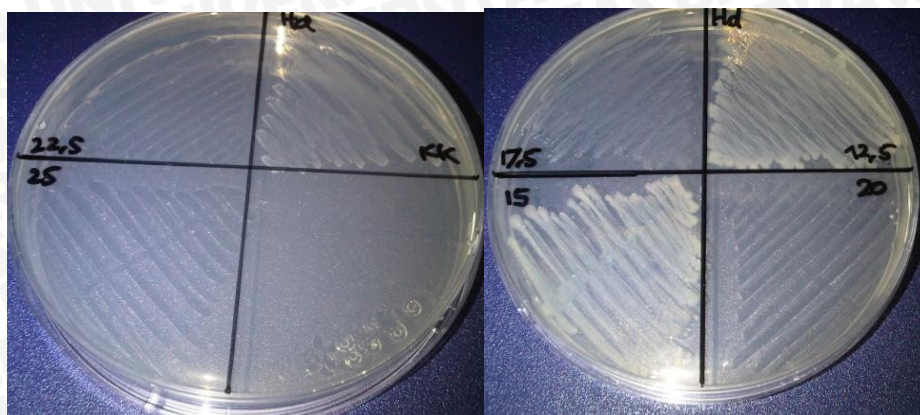
Sebelum dimulai penelitian, dilakukan uji eksplorasi dahulu untuk mendapatkan konsentrasi perlakuan. Berdasarkan hasil uji eksplorasi pertama didapatkan pada konsentrasi 25% sudah tidak terdapat pertumbuhan koloni bakteri *S. pyogenes* (Gambar 5.3.1). Kemudian dilakukan uji eksplorasi kedua dengan perapatan dosis selisih 2,5% yaitu, konsentrasi 12,5%, 15%, 17,5%, 20%, 22,5%, dan 25% (Gambar 5.3.2). Hasilnya pada konsentrasi 22,5% sudah tidak terdapat pertumbuhan koloni bakteri *S. pyogenes* dan pada konsentrasi 15% koloni bakteri yang tumbuh penuh di seluruh plate dan tidak dapat dilakukan perhitungan. Kemudian dilakukan uji eksplorasi ketiga dengan perapatan dosis kembali sehingga didapatkan konsentrasi yang tepat pada penelitian ini yaitu 17%, 19%, 21%, 23%, 25% (Gambar 5.3.3)



Gambar 5.3.1 Uji eksplorasi 1

Keterangan gambar :

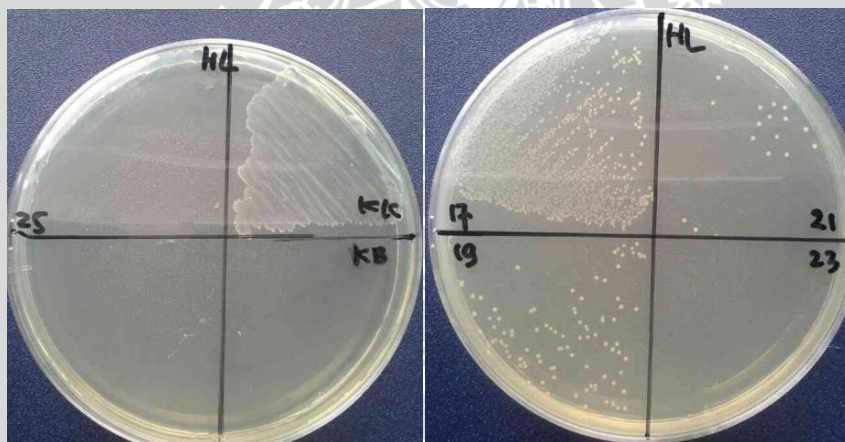
- | | | |
|--------|---|--|
| 50% | = | tidak ada pertumbuhan koloni bakteri <i>S. pyogenes</i> |
| 25% | = | tidak ada pertumbuhan koloni bakteri <i>S. pyogenes</i> |
| 12,5% | = | tampak sedikit pertumbuhan koloni bakteri <i>S. pyogenes</i> |
| 6,25% | = | tampak banyak pertumbuhan koloni bakteri <i>S. pyogenes</i> |
| 3,125% | = | tampak banyak pertumbuhan koloni bakteri <i>S. pyogenes</i> |
| 1,675% | = | tampak banyak pertumbuhan koloni bakteri <i>S. pyogenes</i> |
| KK | = | tampak pertumbuhan koloni bakteri <i>S. pyogenes</i> |
| KB | = | hasil streaking ekstrak etanol daun pandan wangi steril |



Gambar 5.3.2 Uji eksplorasi 2

Keterangan gambar :

- 25% = tidak ada pertumbuhan koloni bakteri *S. pyogenes*
- 22,5% = tidak ada pertumbuhan koloni bakteri *S. pyogenes*
- 20% = tidak ada pertumbuhan koloni bakteri *S. pyogenes*
- 17,5% = tampak pertumbuhan koloni bakteri *S. pyogenes*
- 15% = tampak banyak pertumbuhan koloni bakteri *S. pyogenes*
- 12,5% = tampak banyak pertumbuhan koloni bakteri *S. pyogenes*
- KK = tampak pertumbuhan koloni bakteri *S. pyogenes*



Gambar 5.3.3 Uji eksplorasi 3

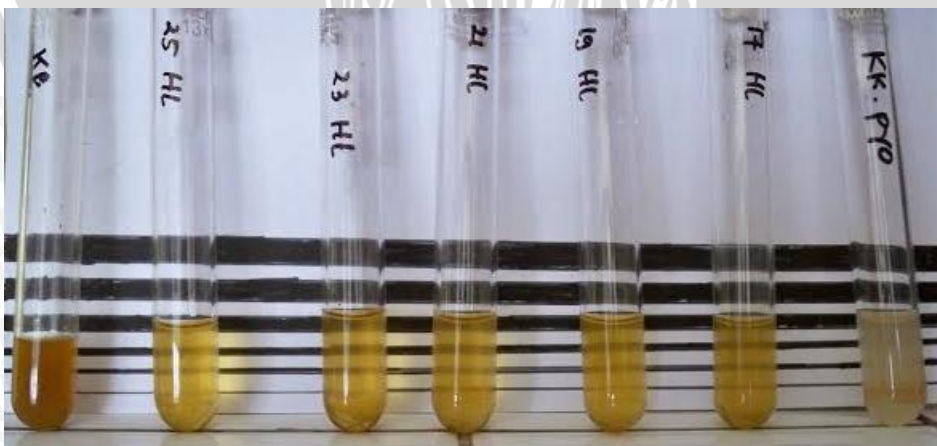
Keterangan gambar :

- 25% = tidak ada pertumbuhan koloni bakteri *S. pyogenes*
- 23% = tidak ada pertumbuhan koloni bakteri *S. pyogenes*
- 21% = tampak sedikit pertumbuhan koloni bakteri *S. pyogenes*
- 19% = tampak sedikit pertumbuhan koloni bakteri *S. pyogenes*
- 17% = tampak sedikit pertumbuhan koloni bakteri *S. pyogenes*
- KK = tampak pertumbuhan koloni bakteri *S. pyogenes*
- KB = hasil streaking ekstrak etanol daun pandan wangi steril

5.4 Hasil Uji Efektifitas Antibakteri dengan Penentuan Nilai KHM

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan 5 macam konsentrasi yang dilakukan pada penelitian penggulangan yaitu konsentrasi 17%, 19%, 21%, 23%, 25% serta kontrol kuman yang berisi bakteri *S. pyogenes* tanpa penambahan ekstrak bahan dan kontrol negatif yang berisi 100% ekstrak etanol daun pandan wangi tanpa penambahan kuman.

Kadar hambat minimal (KHM) adalah kadar atau konsentrasi terendah dari bahan antibakteri yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri, ditentukan melalui uji dilusi tabung (yang ditandai dengan tidak adanya kekeruhan pada tabung setelah tabung di inkubasi selama 18-24 jam dalam suhu 37° C). Untuk menentukan KHM (kadar hambat minimal), dilakukan pengamatan kualitatif untuk mengamati tingkat kekeruhan pada tabung berdasarkan 5 baris garis hitam yang tampak dibalik tabung. Dari gambar 5.4 terlihat bahwa KHM (Kadar hambat minimal) ekstrak etanol daun pandan wangi terhadap koloni bakteri *S. pyogenes* adalah pada konsentrasi 21 % yang telah dibandingkan dengan medium (*Nutrient Broth*) yang telah ditambahkan bahan dengan konsentrasi 21% tanpa bakteri *S. pyogenes*.



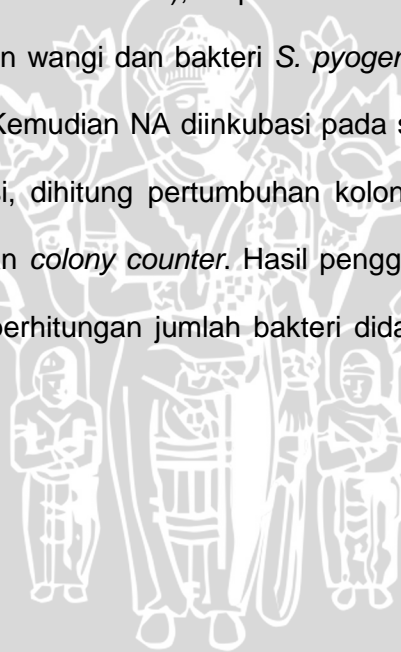
Gambar 5.4 Hasil Pengamatan Uji Dilusi Tabung

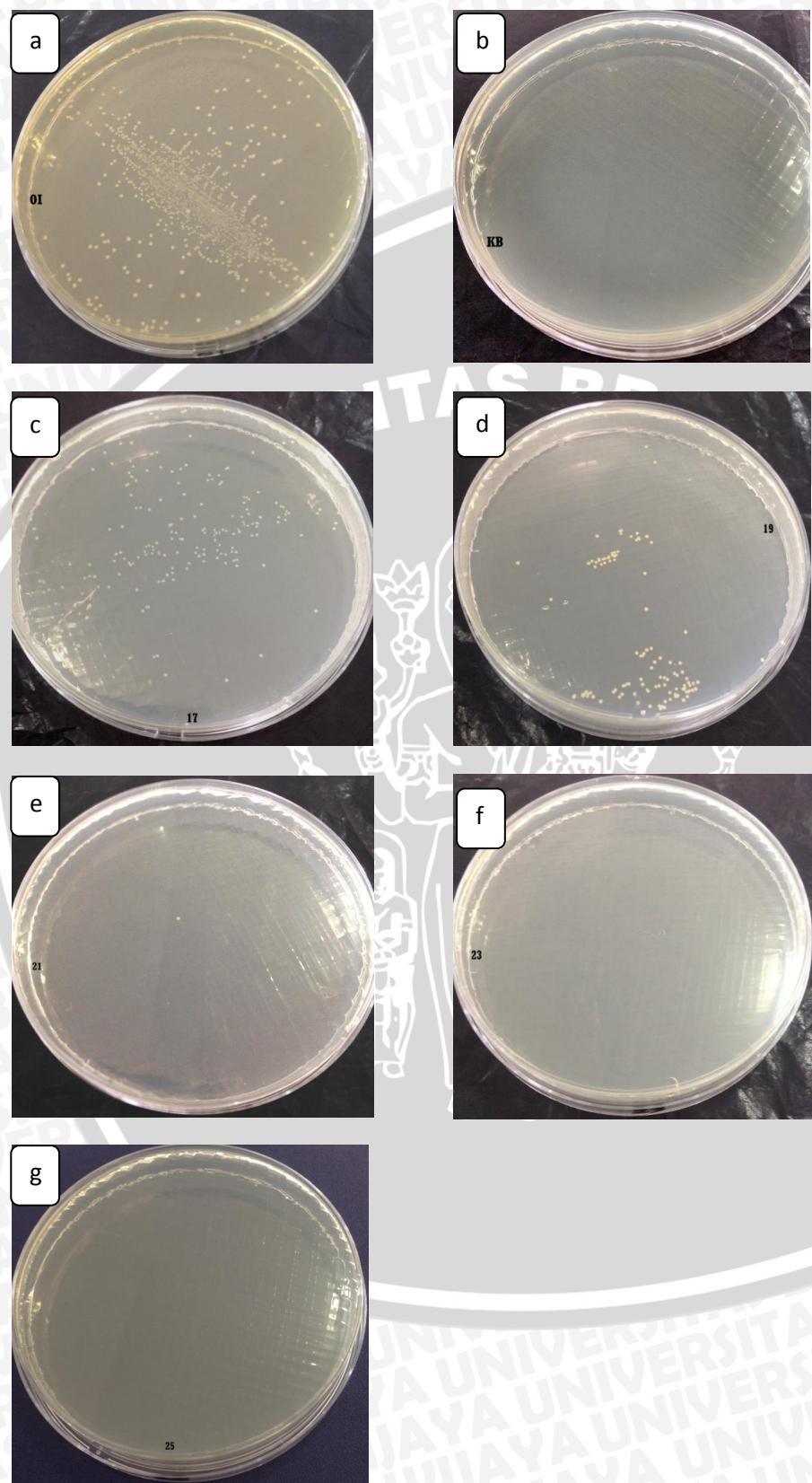
Keterangan gambar :

KB (kontrol bahan) tampak keruh ditandai dengan tidak tampaknya garis
Konsentrasi 25% tampak jernih ditandai dengan 4 garis tampak jelas
Konsentrasi 23% tampak jernih ditandai dengan 4 garis tampak jelas
Konsentrasi 21% tampak jernih ditandai dengan 4 garis tampak jelas
Konsentrasi 19% tampak agak jernih ditandai dengan 3 garis tampak jelas
Konsentrasi 17% tampak agak jernih ditandai dengan 3 garis tampak jelas
KK (kontrol kuman) tampak keruh ditandai dengan tidak tampaknya garis

5.5 Hasil Uji Efektifitas Antibakteri dengan Penentuan Nilai KBM

Setelah tabung yang berisi suspensi bakteri *S. pyogenes* dan ekstrak etanol daun pandan wangi dengan berbagai konsentrasi diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37° C, kemudian dilakukan pengamatan tingkat kekeruhannya untuk melihat KHM (Kadar hambat minimal), tiap konsentrasi tabung yang berisi ekstrak etanol daun pandan wangi dan bakteri *S. pyogenes* di *streaking* penuh pada NA (*Nutrient Agar*). Kemudian NA diinkubasi pada suhu 37° C selama 18-24 jam. Setelah diinkubasi, dihitung pertumbuhan koloni pada masing-masing plate dengan menggunakan *colony counter*. Hasil penggoresan pada NA dapat dilihat pada gambar 5.5, perhitungan jumlah bakteri didapatkan dari hasil rata-rata 4 kali pengulangan.





Gambar 5.5 Hasil Penggoresan bakteri *S. pyogenes*

Keterangan gambar :

- (a) *Original Inoculum* (OI) bakteri *S. pyogenes* sebesar 1011 CFU/plate
- (b) Kontrol bahan (ekstrak etanol daun pandan wangi) tampak steril
- (c) Pertumbuhan koloni bakteri *S. pyogenes* pada konsentrasi ekstrak etanol daun pandan wangi 17% sebesar 163 CFU/plate
- (d) Pertumbuhan koloni bakteri *S. pyogenes* pada konsentrasi ekstrak etanol daun pandan wangi 19% sebesar 67 CFU/plate
- (e) Pertumbuhan koloni bakteri *S. pyogenes* pada konsentrasi ekstrak etanol daun pandan wangi 21% sebesar 2 CFU/plate
- (f) Tidak terdapat pertumbuhan koloni bakteri *S. pyogenes* pada konsentrasi ekstrak etanol daun pandan wangi 23%
- (g) Tidak terdapat pertumbuhan koloni bakteri *S. pyogenes* pada konsentrasi ekstrak etanol daun pandan wangi 25%

KBM (Kadar bunuh minimal) adalah kadar terendah dari antibakteri yang dapat membunuh bakteri (ditandai dengan tidak tumbuhnya kuman pada NA) atau pertumbuhan koloni bakterinya kurang dari 0,1 % dari jumlah koloni bakteri pada OI (*Original Inoculum*).

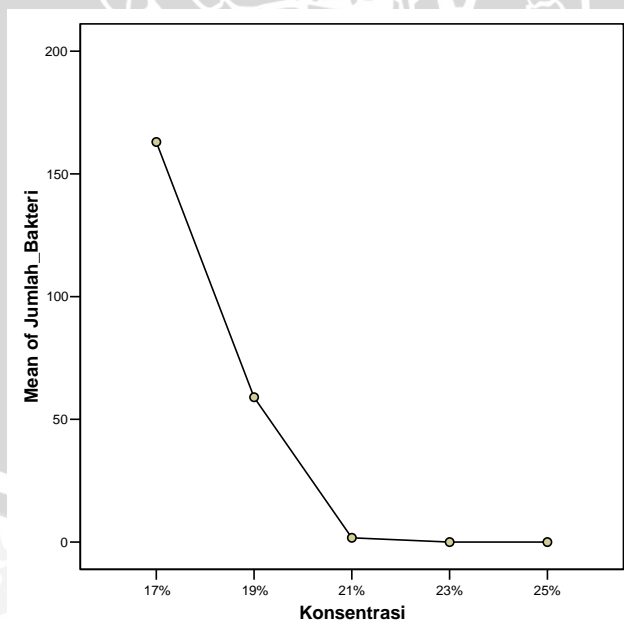
Berdasarkan hasil pertumbuhan dan perhitungan koloni bakteri *S. pyogenes* tersebut dapat ditentukan KBM (Kadar Bunuh Minimal) dari ekstrak etanol daun pandan wangi terdapat pada konsentrasi 23%.

Hasil pengamatan terhadap jumlah koloni bakteri *S. pyogenes* yang dihasilkan pada media NA dalam beberapa konsentrasi ekstrak etanol daun pandan wangi menunjukkan hasil yang cukup bervariasi (tabel 5.5). Jumlah koloni bakteri *S. pyogenes* yang dihasilkan pada media NA cenderung semakin menurun ketika diberikan konsentrasi yang lebih tinggi. Dengan demikian telah terbukti bahwa pemberian perlakuan ekstrak etanol daun pandan wangi mempunyai pengaruh sebagai antibakteri yang berbeda tergantung dari besarnya konsentrasi yang diberikan.

Tabel 5.5 Hasil Perhitungan jumlah Koloni Bakteri *S. pyogenes* pada NA

Konsentrasi	17%	19%	21%	23%	25%	KB	OI
Pengulangan I (CFU/Plate)	184	61	1	0	0	0	1011
Pengulangan II (CFU/Plate)	116	78	3	0	0	0	1011
Pengulangan III (CFU/Plate)	159	45	2	0	0	0	1011
Pengulangan IV (CFU/Plate)	193	52	1	0	0	0	1011
Rata-rata	163	59	2	0	0	0	1011

Grafik 5.5 Hasil Perhitungan jumlah Koloni Bakteri *S. pyogenes* pada NA



5.6 Analisis Data Hasil Penelitian

5.6.1 Uji Normalitas Data dan Homogenitas

Uji normalitas data dilakukan menggunakan uji Kolmogorov-Smirnov Test, Melalui uji normalitas data, hasil penelitian jumlah koloni bakteri *S. pyogenes* yang tumbuh pada ekstrak etanol daun pandan wangi dari berbagai konsentrasi ini diperoleh nilai signifikansi sebesar 0,07 ($p = >0,05$) yang menunjukkan bahwa data terdistribusi normal (Lampiran 2).

Berdasarkan uji homogenitas, diperoleh nilai signifikansi sebesar 0,391 ($p = >0,05$) (Lampiran 2) dan data terdiri dari 3 kelompok (kelompok 1, 2 dan 3) yang dikelompokkan berdasarkan nilai rata-rata yang hampir sama (Lampiran 2). Hal ini menunjukkan bahwa varian data atau homogenitas data adalah sama. Dari data uji normalitas dan uji homogenitas dapat diperoleh memenuhi syarat untuk dilakukan uji *One-Way ANOVA*..

5.6.2 Uji *One-Way ANOVA*

Dari hasil uji *One-Way ANOVA* didapatkan angka signifikansi 0,000 ($p = <0,05$) (Lampiran 2). Hal ini berarti efek pemberian berbagai tingkat konsentrasi ekstrak etanol daun pandan wangi terhadap jumlah koloni rata-rata *S. pyogenes* adalah berbeda secara signifikan pada taraf kepercayaan 95%.

Pada uji Post Hoc didapatkan perbandingan bermakna antara konsentrasi 17% dengan konsentrasi 19%, 21%, 23% dan 25% dengan nilai signifikansi 0,000. Terdapat perbandingan tidak bermakna antara konsentrasi 21% dengan konsentrasi 23% dan 25% dengan nilai signifikansi 1,000 (Lampiran 2)

5.6.3 Uji Korelasi-Regresi

Hasil uji korelasi menunjukkan angka signifikansi 0.000 ($p = >0,05$) yang berarti terdapat hubungan yang bermakna antara pemberian ekstrak etanol daun pandan wangi dengan pertumbuhan koloni bakteri *Streptococcus pyogenes* (Lampiran 2). Besar koefisien korelasi yaitu -0,838 yang berarti bahwa tanda negatif menunjukkan hubungan yang terbalik yaitu semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun pandan wangi maka semakin sedikit jumlah koloni bakteri *Streptococcus pyogenes* yang tumbuh, dan sebaliknya.

Pada uji regresi didapatkan Koefisiensi Determinasi *Adjusted R Square* diperoleh sebesar 0,703 yang berarti bahwa kontribusi pemberian ekstrak etanol daun pandan wangi dalam menurunkan jumlah koloni bakteri *S. pyogenes* sebesar 70.3% sedangkan sisanya 29,6% dapat disebabkan oleh faktor-faktor lain yang tidak diteliti (Lampiran 2). Faktor-faktor tersebut bisa disebabkan merupakan akibat dari lama penyimpanan hasil ekstrak, kandungan zat lain yang bersifat memperkuat kuman, suhu tempat penyimpanan ekstrak, suhu inkubasi bakteri, kualitas dalam penyimpanan alat-alat laboratorium atau akibat resistensi bakteri itu sendiri. Hubungan antara perubahan konsentrasi ekstrak etanol daun pandan wangi dengan pertumbuhan koloni bakteri *S. pyogenes* dapat dinyatakan dengan rumus $Y = 449 - 19,25X$ (Lampiran 2). Y adalah jumlah koloni bakteri *S.pyogenes* sedangkan X adalah jumlah konsentrasi ekstrak etanol daun pandan wangi. Hal ini berarti tanpa pemberian ekstrak etanol daun pandan wangi maka jumlah koloni bakteri *S.pyogenes* yang tumbuh akan meningkat konstan 449×10^4 (karena pada input data kepangkatan jumlah koloni bakteri tidak dimasukkan, jadi harus dikalikan 10^4). Dengan pengaruh ekstrak etanol daun pandan wangi, maka setiap peningkatan konsentrasi

ekstrak etanol daun pandan wangi 1% akan menyebabkan penurunan jumlah koloni bakteri hingga $19,25 \times 10^4$ koloni bakteri.

