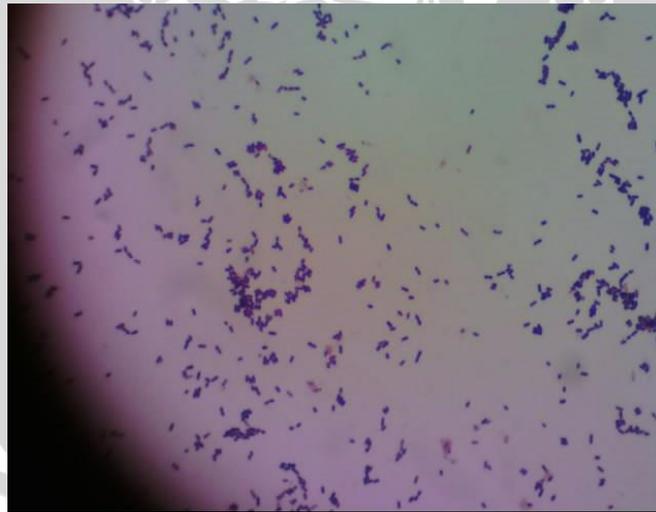


BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Identifikasi *Streptococcus mutans*.

Hasil streaking pada *Brain Heart Infusion Agar* (BHIA) isolat bakteri *Streptococcus mutans* menunjukkan koloni bakteri berbentuk bulat dengan permukaan sedikit cembung. Teksturnya halus, licin terkadang saling bertumpuk. Koloni berwarna kuning keputihan dan sedikit transparan. Koloni bakteri *Streptococcus mutans* sangat lengket dengan *Brain Heart Infusion Agar* (BHIA). Pada perwarnaan gram dan pengamatan dibawah mikroskop dengan perbesaran 100x, didapatkan gambaran sel bakteri berbentuk bulat, lonjong atau bulat lonjong berantai seperti terlihat pada gambar 5.1.



Gambar 5. 1 Gambar Mikroskopik dengan perbesaran 100x Pewarnaan Gram *Streptococcus mutans*

Keterangan : Tampak bentuk bulat lonjong berwarna ungu

Hasil tes katalase tidak terdapat adanya gelembung udara pada isolat bakteri *Streptococcus mutans* seperti pada gambar 5.2. Hasil tes optochin bakteri *Streptococcus mutans* menunjukkan hasil reaksi negatif yaitu dengan tidak adanya zona hambatan di sekeliling *disk optochin* seperti terlihat pada gambar 5.3.



Gambar 5. 2 Gambar hasil tes katalase *Streptococcus mutans*

Keterangan : Tampak tidak adanya gelembung udara



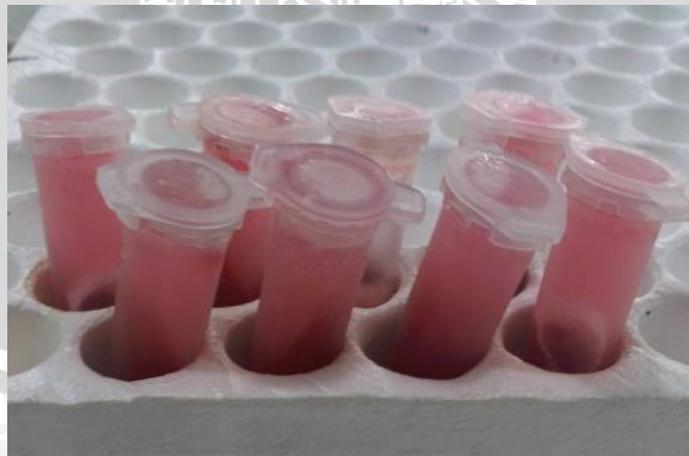
Gambar 5. 3 Gambar hasil tes Optochin *Streptococcus mutans*

Keterangan : tidak adanya zona hambat pada *disk optochin*.

Serangkaian tes identifikasi bakteri ini digunakan untuk memastikan bahwa isolat bakteri yang digunakan oleh peneliti adalah benar bakteri *Streptococcus mutans* karena sesuai dengan sifat-sifat bakteri yang berwarna ungu dalam pengecatan gram, menimbulkan gelembung udara pada tes katalase dan tidak adanya zona hambat pada *disk optochin*.

5.2. Hasil Isolasi Jus Buah Anggur Merah (*Vitis vinifera*)

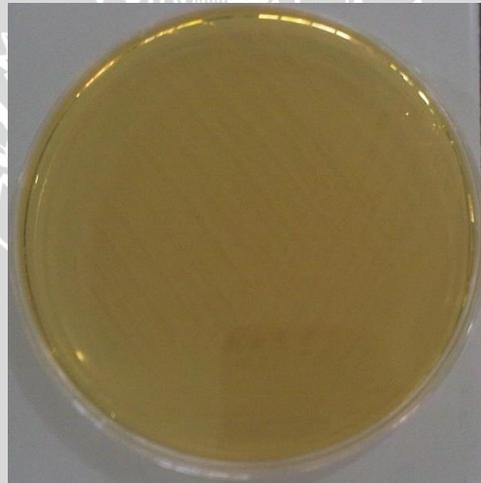
Hasil isolasi jus buah anggur merah (*Vitis vinifera*) yaitu berwarna bening merah muda, ekstraknya encer dan jernih jika dicampur dengan aquades larutan tersebut menjadi homogen dengan warna bening merah muda seperti pada gambar 5.4. Apabila larutan tersebut dicampur dengan *Brain Heart Infusion Broth (BHIB)* dan diinkubasi 18-24 jam pada suhu 37° C, akan didapatkan larutan berwarna bening warna merah muda dan terdapat sedikit debris di bagian bawah tabung.



Gambar 5. 4 Gambar hasil isolasi jus buah anggur merah (*Vitis vinifera*)

5.3 Hasil Penelitian Eksploratif

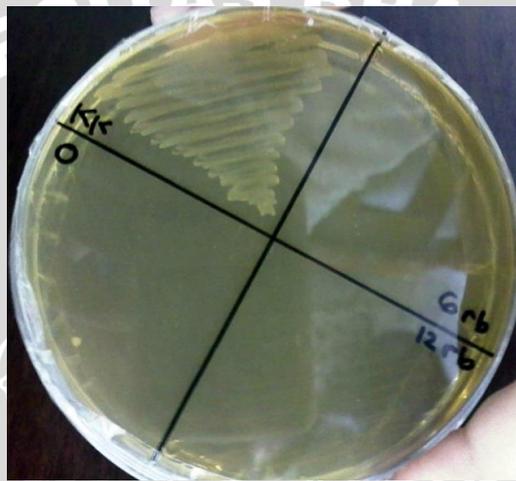
Penelitian eksploratif dilakukan sebelum penelitian eksperimental. Penelitian eksploratif dilakukan bertujuan untuk memperoleh metode yang terbaik dan rentang konsentrasi yang dapat menghambat bakteri *Streptococcus mutans*. Hasil uji eksploratif yang pertama yaitu tidak terdapat kontaminasi bakteri pada media BHIA seperti pada gambar 5.5. Hal tersebut menunjukkan bahwa hasil uji sterilisasi sudah berhasil dan suspensi supernatan jus buah anggur merah tidak terdapat kontaminasi dari bakteri lain atau steril.



Gambar 5.5 Gambar Hasil Uji Sterilisasi
Keterangan : tidak ada kontaminasi bakteri

Setelah uji sterilisasi selesai, maka langkah selanjutnya yaitu mencari kecepatan sentrifugasi untuk memperoleh hasil isolasi jus buah anggur merah (*Vitis vinifera*) yang mempunyai kecepatan paling efektif mempunyai nilai kadar hambat dan nilai kadar bunuh. Ada 3 variabel kecepatan yaitu jus buah anggur yang tidak di sentrifugasi, supernatan jus buah anggur merah dengan kecepatan

6.000 rpm dan supernatan jus buah anggur merah dengan kecepatan 12.000 rpm. Berdasarkan tingkat kejernihan dan tidak adanya pertumbuhan koloni streptococcus mutans pada media BHIA seperti pada gambar 5.6, maka diambil pada kecepatan 12.000 rpm karena pada kecepatan 12.000 rpm memiliki suspensi paling jernih, sehingga memudahkan dalam mencari KHM dan KBM.



Gambar 5.6 Uji kecepatan sentrifugasi pada jus buah Anggur

Uji eksplorasi selanjutnya bertujuan untuk mengetahui rentang konsentrasi yang dapat menghambat bakteri *Streptococcus mutans*. Supernatan jus buah anggur merah dengan kecepatan sentrifugasi 12.000 rpm selama 30 menit diencerkan dengan pengenceran yang berbeda-beda. Pengenceran yang pertama yaitu dengan pengenceran tabung perbandingan 1/10. Pengencerannya yaitu 1/5, 1/50, 1/500, 1/5000. Diamati pada media agar BHIA, Hasilnya pada semua konsentrasi pada 4 tabung dengan perlakuan yang berbeda masih terdapat pertumbuhan bakteri seperti pada gambar 5.7. Pada eksplorasi yang pertama masih terdapat pertumbuhan koloni bakteri, maka

peneliti melanjutkan eksplorasi selanjutnya dengan metode pengenceran yang kedua adalah pengenceran seri. konsentrasinya yaitu 50%, 25%, 12.5%, 6.25%, 3.125%, 1.56%. Hasil pada media agar BHIA semua konsentrasi pada 6 tabung dengan konsentrasi yang berbeda masih terdapat pertumbuhan bakteri seperti pada gambar 5.8.



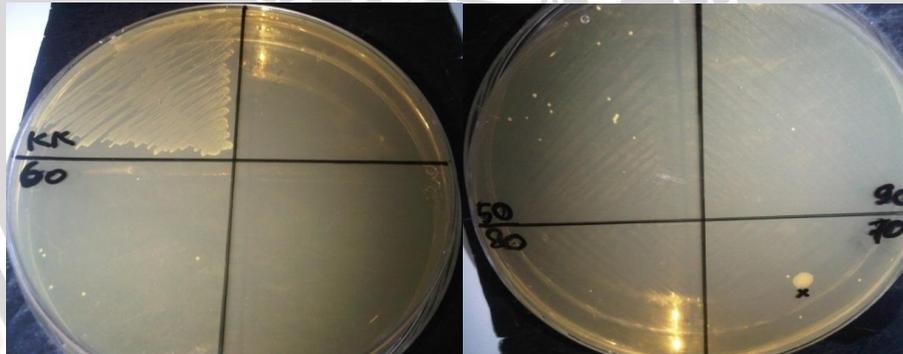
Gambar 5.7 Uji Eksplorasi 1 Jus Buah Anggur



Gambar 5.8 Uji Eksplorasi 2 Jus Buah Anggur

Berdasarkan uji eksplorasi konsentrasi yang pertama dan kedua disimpulkan bahwa rentang konsentrasi lebih dari konsentrasi 50%, karena pada konsentrasi kurang dari 50% masih terdapat pertumbuhan bakteri

Streptococcus mutans pada media BHIA. Rentang konsentrasi yaitu 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%. Diamati pada media agar BHIA hasilnya pada ke 6 tabung konsentrasi seperti pada gambar 5.9. Pada Konsentrasi 50% tampak pertumbuhan koloni bakteri *Streptococcus mutans* sebanyak 15 koloni. Konsentrasi 60% tampak pertumbuhan koloni bakteri *Streptococcus mutans* sebanyak 6 koloni. Konsentrasi 70% tampak pertumbuhan koloni bakteri *Streptococcus mutans* sebanyak 3 koloni. konsentrasi 80% tampak pertumbuhan koloni bakteri *Streptococcus mutans* sebanyak 2. Konsentrasi 90% tampak pertumbuhan koloni bakteri *Streptococcus mutans* sebanyak 1 koloni. Berdasarkan hasil dari penelitian eksplorasi tersebut maka peneliti mengambil rentang konsentrasi yaitu mulai dari 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 98%.

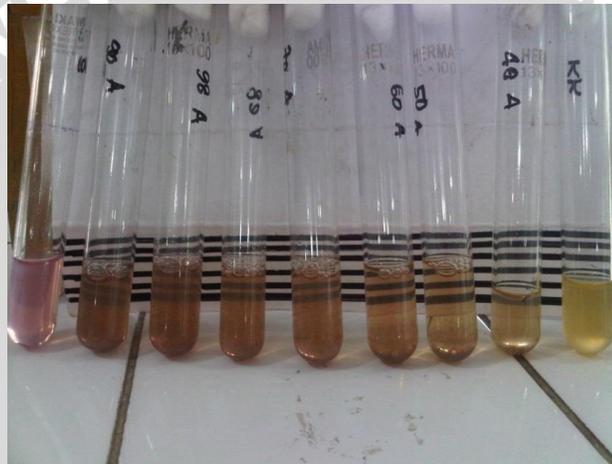


Gambar 5.9 Uji Eksplorasi 3 Jus Buah Anggur

5.4 Hasil Uji Efektivitas Antibakteri dengan Penentuan Nilai KHM

KHM (Kadar Hambat Minimal) ditentukan dari mengukur tingkat kejernihan dengan menggunakan spektrofotometer. Penentuan KHM dengan menggunakan spektrofotometer dikarenakan untuk mengukur hasil tingkat

kekeruhan secara obyektif dan mendapatkan angka yang valid. Pada penelitian sebelumnya pengukuran untuk mencari nilai KHM dengan menggunakan metode Mc Firland yaitu dengan mengamati tingkat kekeruhan pada tabung berdasarkan 3 baris garis hitam yang tampak dibalik tabung seperti pada gambar 5.10, tetapi dengan metode tersebut hasil pengukurannya subyektif karena pengukurannya dilakukan dengan cara visual saja.



Gambar 5.10 Perbandingan Tingkat Kekeruhan Tiap konsentrasi Jus Buah Anggur

Tabel 5.1 Hasil Spektrofotometer

Konsentrasi	Pengulangan 1 (AU)	Pengulangan 2 (AU)	Pengulangan 3(AU)	Pengulangan 4AU)
98%	0,382	0,247	0,313	0,364
90%	0,410	0,403	0,389	0,390
80%	0,580	0,405	0,487	0,480
70%	0,671	0,560	0,593	0,590
60%	0,852	0,580	0,607	0,637

50%	0,828	0,828	0,816	0,822
40%	1,109	0,852	0,827	0,870
Kontrol Bahan	0,656	0,656	0,656	0,656
Kontrol Kuman	1,455	1,455	1,455	1,455

Pada tabel 5.1 menunjukkan hasil dari pengukuran tingkat kejernihan dengan menggunakan spektrofotometer. Satuan dari hasil spektrofotometer yaitu AU (Astronomi Unit). Nilai spektrofotometer diukur berdasarkan tingkat kejernihan. Semakin jernih suspensi maka nilai spektrofotometer semakin rendah dan sebaliknya semakin keruh suspensi maka semakin besar nilai spektrofotometer. Berdasarkan hasil spektrofotometer nilai KHM supernatan jus buah anggur merah terhadap *Streptococcus mutans* pada konsentrasi 60%. Pada konsentrasi 60% hasil rerata spektrofotometer sama dengan hasil rerata nilai kelompok kontrol bahan yaitu 0,656 AU.

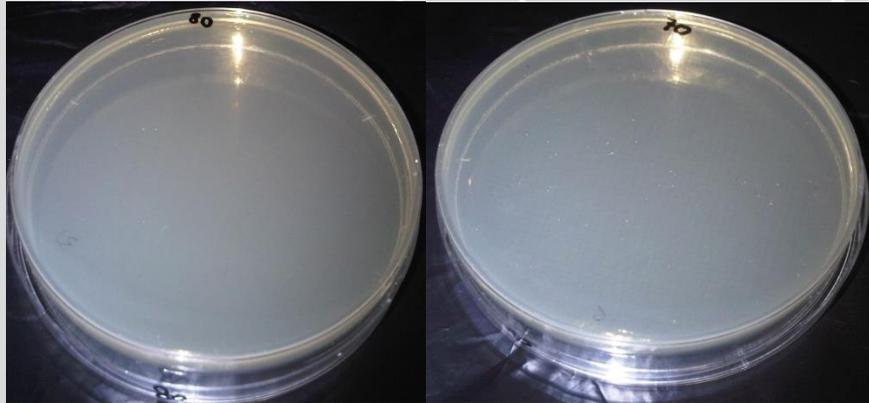
5.5 Hasil Uji Efektivitas Antibakteri dengan Penentuan Nilai KBM

Hasil Penggoresan pada BHI agar pada konsentrasi 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 98% dapat dilihat pada gambar 5.11. Pada konsentrasi 80%, 90% dan 98% tidak terdapat pertumbuhan koloni bakteri *Streptococcus mutans* pada media BHIA.



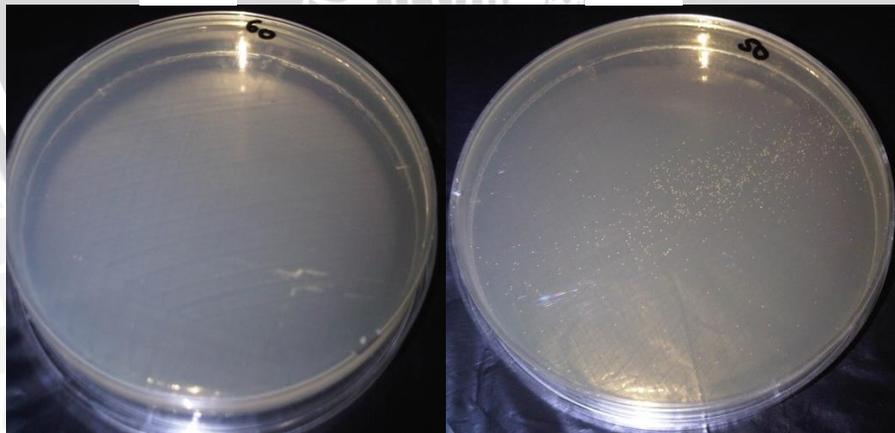
(a)

(b)



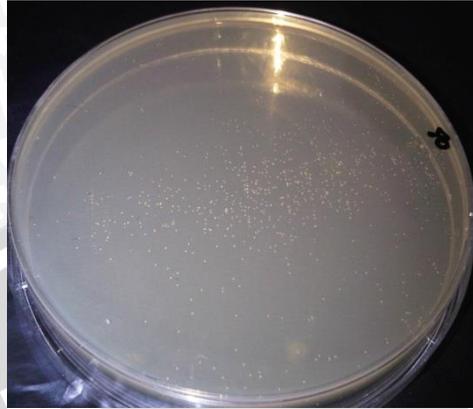
(c)

(d)



(e)

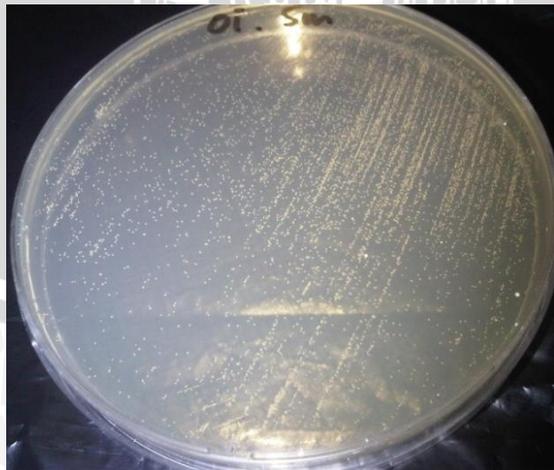
(f)



(g)

Gambar 5.11 Pertumbuhan Koloni *Streptococcus mutans* pada media BHIA

Berdasarkan hasil pertumbuhan dan penghitungan koloni bakteri *Streptococcus mutans* tersebut dapat ditentukan KBM (Kadar Bunuh Minimal) dari jus buah anggur yaitu pada BHI yang tidak ditumbuhi koloni atau jumlah koloni < dari 0,1% dari *Original inoculum*. *Original inoculum* dapat dilihat pada gambar 5.11. KBM pada konsentrasi jus 80% pada isolate *Streptococcus mutans* yang diteliti.



Gambar 5.12 *Original inoculum* Bakteri *Streptococcus mutans* pada BHIA

Masing-masing *plate* dihitung jumlah koloni bakterinya dengan menggunakan *colony counter*. Pertumbuhan koloni pada *Original inoculum* (OI) juga dihitung yaitu terdapat hasil sebesar 4960 CFU/Plate.

Hasil pengamatan terhadap jumlah koloni bakteri *Streptococcus mutans* yang dihasilkan pada media BHI dalam beberapa konsentrasi jus buah anggur (*Vitis vinifera*) dan kontrol positif pada table 5.2 menunjukkan hasil yang cukup bervariasi. Jumlah koloni *Streptococcus mutans* yang dihasilkan pada media BHI cenderung semakin menurun ketika diberi konsentrasi lebih tinggi. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa pemberian perlakuan berupa supernatan jus buah anggur merah mempunyai pengaruh sebagai antibakteri yang berbeda jika dibandingkan dengan kontrol bakteri pada media BHI agar tersebut.

Tabel 5.2 Jumlah Bakteri pada Media BHIA

Konsentrasi	Pengulangan 1 (CFU/Plate)	Pengulangan 2 (CFU/Plate)	Pengulangan 3 (CFU/Plate)	Pengulangan 4 (CFU/Plate)
40%	330 x 10 ⁶	322 x 10 ⁶	335 x 10 ⁶	329 x 10 ⁶
50%	215 x 10 ⁶	237 x 10 ⁶	210 x 10 ⁶	222 x 10 ⁶
60%	116 x 10 ⁶	121 x 10 ⁶	119 x 10 ⁶	117 x 10 ⁶
70%	43 x 10 ⁶	37 x 10 ⁶	32 x 10 ⁶	35 x 10 ⁶
80%	0	0	0	0
90%	0	0	0	0
98%	0	0	0	0

Kontrol Bahan	0	0	0	0
Original Inokulum	4963×10^6	4963×10^6	4963×10^6	4963×10^6

Data pada tabel 5.2 yang merupakan data hasil perhitungan jumlah koloni bakteri *Streptococcus mutans* yang dihitung dengan menggunakan *colony counter*. Dari data tersebut dibuat grafik rerata jumlah koloni yang menunjukkan hubungan antara pemberian berbagai konsentrasi jus buah anggur dengan jumlah koloni *Streptococcus mutans* yang tumbuh pada medium BHI. Pada tabel tersebut terlihat bahwa pada konsentrasi 80%, 90%, 98% sudah tidak terdapat pertumbuhan koloni bakteri *Streptococcus mutans*, tetapi pada konsentrasi 40%, 50%, 60%, 70% masih terdapat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dengan jumlah sesuai dengan tabel 5.2.

5.6 Analisis Data KHM

Penentuan untuk mengetahui nilai kadar hambat minimal dilakukan dengan pengukuran pada spektrofotometer. Hasil Penelitian ini dianalisis menggunakan analisis statistic SPSS versi 18.0 untuk *windows*. Analisis data untuk mencari KHM (Kadar Hambat Minimal) yaitu dengan melalui beberapa uji SPSS. Uji SPSS terdiri dari uji asumsi data, Analisis *One Way ANOVA*, uji *Multiple Comparison*, uji Korelasi *Pearson*, uji Regesi *Linier*.

5.6.1 Uji Asumsi Data

Penelitian untuk mencari KHM dengan menggunakan data hasil spektrofotometer, data hasil spektrofotometer terlihat dalam table 5.3.

Tabel 5.3 Nilai KHM

Kelompok	Rerata	Standar Deviasi
40%	0.84875	0.01738
50%	0.8375	0.01511
60%	0.65725	0.02124
70%	0.57625	0.0125
80%	0.44075	0.38759
90%	0.39075	0.008302
98%	0.20825	0.403354
Bahan	0.656	0
Kuman	1.455	0

Berdasarkan uji normalitas dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk* (Lampiran 3) didapatkan nilai signifikansi $p > 0,05$ pada setiap kelompok yang berarti data terdistribusi normal. Selain uji normalitas juga diperlukan uji homogenitas varian data. Berdasarkan hasil uji homogenitas setelah dilakukan transformasi (Lampiran 3) diketahui nilai signifikansi yaitu $0,058$ ($p > 0,05$). Hasil uji homogenitas menunjukkan bahwa varian data adalah homogen.

5.6.2 Analisis *One-Way Anova*

Berdasarkan uji *One-Way ANOVA* (Lampiran 3) didapatkan angka signifikansi $0,000$ ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa efek perubahan konsentrasi supernatan jus buah anggur merah terhadap tingkat kekeruhan/ nilai absorbansi (AU) adalah berbeda secara signifikan pada taraf kepercayaan 95%.

5.6.3 *Multiple Comparison*

Uji perbandingan Berganda (*multiple comparison*) menggunakan Analisis *Post Hoc Tamhane* yang digunakan untuk menunjukkan kelompok perlakuan mana yang memberikan efek paling signifikan. Dengan metode ini

akan dilakukan perbandingan yang berganda terhadap tingkat kekeruhan tabung atau nilai absorbansi antar konsentrasi. Berdasarkan hasil analisis *Post Hoc Tamhane* (lampiran 3) dapat diketahui bahwa ada perbedaan yang signifikan hampir di setiap kelompok perlakuan. terhadap tingkat kekeruhan/ nilai absorbansi (AU) yang menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan.

5.6.3 Analisis Korelasi *Pearson*

Analisis korelasi *Pearson* digunakan untuk mengetahui seberapa besar derajat keeratn hubungan antara dosis supernatan jus buah anggur merah dengan tingkat kekeruhan tabung/ nilai absorbansi (AU). Koefisien korelasi disimbolkan dengan huruf (r), besarnya koefisien korelasi antara -1 s/d 1. Bila nilainya mendekati -1 atau 1, maka hubungan kedua variable tersebut sangat kuat. Sedangkan bila nilainya 0 berarti tidak terdapat hubungan kedua variable tersebut (Sunyoto *dkk.*,2013).

Berdasarkan uji korelasi *Pearson* didapatkan nilai signifikansi 0.000 yang berarti terdapat hubungan antara konsentrasi supernatan jus buah anggur merah terhadap tingkat kekeruhan tabung/ nilai basorbansi (AU). Pada uji korelasi (lampiran 3) yang dilakukan dalam penelitian ini, didapatkan nilai koefisien korelasi *Pearson* yaitu $r = -0,978$. Nilai ini menunjukkan bahwa hubungan antar variabelnya sangat erat. Sebab nilainya mendekati -1 yang berarti terdapat hubungan kedua variabel kuat negatif. Tanda negatif menunjukkan hubungan yang terbalik yaitu bahwa semakin tinggi konsentrasi jus buah anggur merah semakin rendah tingkat kekeruhan pada tabung atau

semakin rendah konsentrasi supernatan jus buah anggur merah semakin tinggi tingkat kekeruhan pada tabung.

5.6.4 Analisis Regesi Linier

Analisis Regesi merupakan analisis yang digunakan untuk mengetahui bentuk hubungan antara dosis supernatan jus buah anggur dan nilai absorbansi tabung serta besarnya pengaruh peningkatan konsentrasi jus terhadap tingkat absorbansi. Berdasarkan hasil Uji *regresi linier* (Lampiran 3) didapatkan nilai Adjusted R Square (R^2) = 0.954 yang artinya persentase pengaruh pemberian jus buah anggur terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* adalah 95.4% sedangkan 4.6% dipengaruhi variabel pengganggu yang tidak diteliti. Faktor-faktor tersebut bisa berasal dari dalam penelitian ini sendiri maupun variabel pengganggu dari luar.

Rumus umum koefisien regesi yaitu $Y = a + bX$. Dimana Nilai konstanta (a), Koefisien Regesi (b), variabel bebas (X), variable terikat (Y). Hubungan antara konsentrasi jus buah anggur terhadap jumlah koloni bakteri *Streptococcus mutans* dapat dinyatakan dengan rumus $Y = (1,287) - (0,102)X$, dimana Y adalah tingkat kekeruhan/ nilai absorbansi (AU) sedangkan X adalah konsentrasi supernatan jus buah anggur.

5.7 Analisis Data KBM

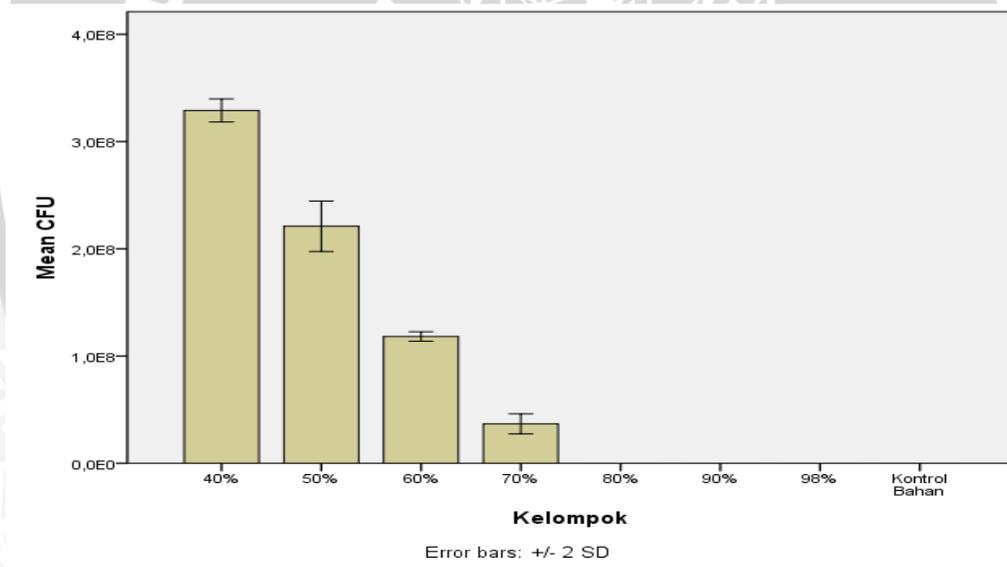
5.7.1 Uji Asumsi Data

Analisis dengan uji statistic *one-way Anova* diperlukan pengujian untuk mengetahui apakah data tersebut dapat dianalisis dengan *Anova* atau

tidak. Hasil penelitian mencari KBM pada jus buah anggur terdapat pada tabel 5.4.

Tabel 5.4 Nilai KBM

Konsentrasi	N	Rerata	Simpang Baku
40%	4	$3,29 \times 10^6$	$5,35 \times 10^4$
50%	4	$2,21 \times 10^6$	$1,18 \times 10^5$
60%	4	$1,18 \times 10^6$	$2,22 \times 10^4$
70%	4	$3,68 \times 10^5$	$4,65 \times 10^4$
80%	4	0	0
90%	4	0	0
98%	4	0	0



Gambar 5.13. Diagram batang rata-rata jumlah koloni pada masing-masing kelompok perlakuan

Berdasarkan uji normalitas dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk* (Lampiran 2) didapatkan nilai signifikansi $p > 0,05$ pada setiap kelompok yang berarti data terdistribusi normal. Selain uji normalitas juga diperlukan uji homogenitas varian data yang menggunakan uji *Levene* (*Levene test*

homogeneity of variance). Berdasarkan hasil uji homogenitas setelah dilakukan transformasi (Lampiran 2) diketahui nilai signifikansi yaitu 0,058 ($p > 0,05$). Hasil uji homogenitas menunjukkan bahwa varian data adalah homogen.

5.7.2 Analisis *One-Way ANOVA*

Berdasarkan uji *One-Way ANOVA* (Lampiran 2) didapatkan angka signifikansi 0,000 ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa efek perubahan konsentrasi jus buah anggur merah terhadap jumlah koloni *Streptococcus mutans* adalah berbeda secara signifikan pada taraf kepercayaan 95%.

5.7.3 *Multiple Comparison*

Uji perbandingan Berganda (*multiple comparison*) menggunakan Analisis *Post Hoc Tamhane* yang digunakan untuk menunjukkan kelompok perlakuan mana yang memberikan efek paling signifikan. Dengan metode ini akan dilakukan perbandingan yang berganda terhadap jumlah koloni bakteri *Streptococcus mutans* yang dihasilkan pada medium BHI antar konsentrasi. Berdasarkan hasil analisis *Post Hoc Tamhane* (lampiran 2) dapat diketahui bahwa ada perbedaan yang signifikan hampir di setiap kelompok perlakuan. Sedangkan untuk konsentrasi 80% terhadap konsentrasi 90% dan 98% serta konsentrasi 90% terhadap konsentrasi 98% tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan.

5.7.4 Analisis Korelasi Pearson

Berdasarkan uji korelasi Pearson didapatkan nilai signifikansi 0.000 yang berarti terdapat hubungan antara konsentrasi jus buah anggur merah terhadap jumlah koloni bakteri *Streptococcus mutans*. Pada uji korelasi (lampiran 2) yang dilakukan dalam penelitian ini, didapatkan nilai koefisien korelasi Pearson yaitu $r = -0,925$. Nilai ini menunjukkan bahwa hubungan antar variabelnya sangat erat. Sebab nilainya mendekati -1 yang berarti terdapat hubungan kedua variabel kuat negatif. Tanda negatif menunjukkan hubungan yang terbalik yaitu bahwa semakin tinggi konsentrasi supernatan jus buah anggur merah semakin sedikit jumlah koloni bakteri *Streptococcus mutans* yang tumbuh atau semakin rendah konsentrasi supernatan jus buah anggur merah semakin tinggi jumlah koloni bakteri *Streptococcus mutans* yang tumbuh.

5.7.5 Analisis Regesi Linier

Analisis Regesi merupakan analisis yang digunakan untuk mengetahui bentuk hubungan antara dosis supernatan jus buah anggur merah dan jumlah koloni *Streptococcus mutans* serta besarnya pengaruh peningkatan konsentrasi jus terhadap jumlah koloni *Streptococcus mutans*. Berdasarkan hasil Uji *regresi linier* (Lampiran 2) didapatkan nilai Adjusted R Square (R^2) = 0.856 yang artinya persentase pengaruh pemberian supernatan jus buah anggur merah terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* adalah 85.6% sedangkan 14.4% dipengaruhi variabel pengganggu yang tidak diteliti. Faktor-faktor tersebut bisa berasal dari dalam penelitian ini sendiri maupun variabel pengganggu dari luar.

Rumus umum koefisien regresi yaitu $Y=a+bX$. Dimana Nilai konstanta (a), Koefisien Regresi (b) , varibel bebas (X), variable terikat (Y). Hubungan antara konsentrasi jus buah anggur terhadap jumlah koloni bakteri *Streptococcus mutans* dapat dinyatakan dengan rumus $Y = (4,974 \times 10^6) - (5,691 \times 10^6) X$, dimana Y adalah jumlah koloni bakteri *Streptococcus mutans* sedangkan X adalah konsentrasi jus buah anggur. Dari persamaan ini dapat diinterpretasikan bahwa setiap peningkatan dosis ekstrak sebesar 1% akan diiringi penurunan jumlah koloni secara signifikan sebanyak $5,691 \times 10^6$ koloni bakteri.

