

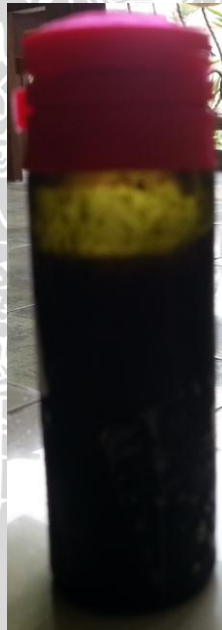
## BAB 5

### HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

#### 5.1 Hasil Penelitian

##### 5.1.1 Ekstrak Daun Ceremai

Ekstrak daun ceremai yang digunakan untuk penelitian ini diperoleh dari 100 gram serbuk kering daun ceremai yang diekstrak dengan metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Didapatkan ekstrak daun ceremai sebanyak 20 gram. Bentuk ekstrak ini cair, kental, berwarna hijau tua, dan tidak terdapat endapan.



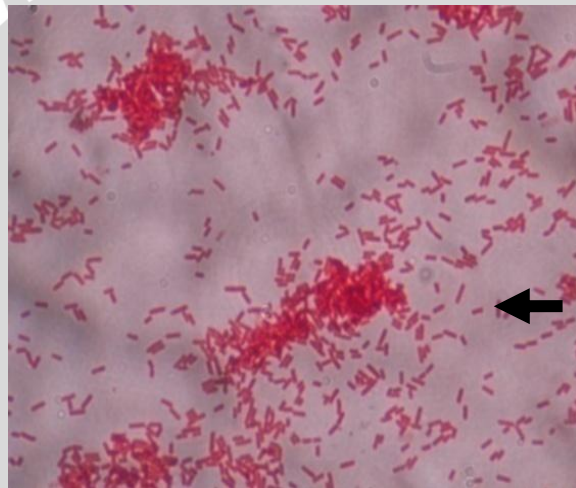
**Gambar 5.1** Ekstrak Daun Ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels.).

##### 5.1.2 Identifikasi *Salmonella* Typhi

Sebelum melakukan uji efek antimikroba, terlebih dahulu dilakukan identifikasi bakteri *Salmonella* Typhi yang tersedia di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. *Salmonella* Typhi yang digunakan

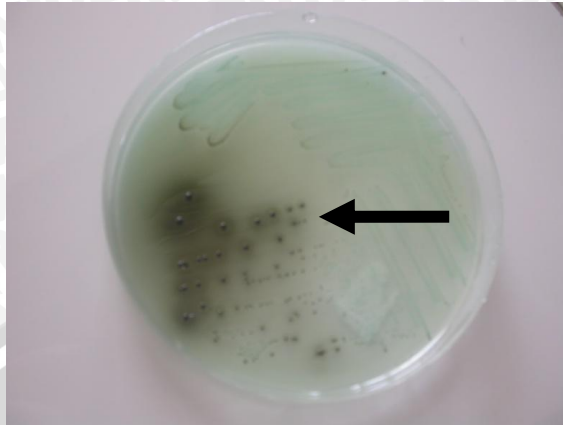
adalah hasil isolat yang berasal dari pasien yang terinfeksi *Salmonella Typhi* dari Malang.

Identifikasi bakteri dilakukan melalui empat tahap. Tujuan dari melakukan identifikasi adalah untuk mengetahui bentuk pertumbuhan, koloni dan karakteristik pada bakteri, serta memastikan bahwa bakteri yang didapatkan merupakan *Salmonella Typhi*, bukan *serotype* *Salmonella* lainnya. Tahap pertama adalah pewarnaan Gram yang menunjukkan bakteri berbentuk batang berwarna merah yang merupakan bakteri Gram Negatif (Gambar 5.2).



**Gambar 5.2** Pewarnaan Gram pada *Salmonella Typhi* berbentuk batang berwarna merah.

Tahap kedua adalah penanaman bakteri pada medium agar *Bismuth Sulfite Agar* (BSA). Pada medium BSA, *Salmonella Typhi* akan memberikan karakteristik koloni yang khas, yaitu berwarna hitam atau yang biasa disebut *Black Jet Colony* (Gambar 5.3).



**Gambar 5.3** Penanaman Bakteri pada Medium Padat BSA. *Salmonella* Typhi menunjukkan gambaran koloni khas berwarna hitam (*black jet colony*).

Tahap ketiga adalah penanaman bakteri pada medium miring *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA). Pada medium miring TSIA ditemukan warna merah pada bagian miring (*slant*) yang menunjukkan reaksi basa, warna kuning pada pangkal tabung (*butt*) yang menunjukkan reaksi asam dan terjadinya fermentasi dextrosa, warna hitam pada bekas garis yang menunjukkan adanya produksi  $H_2S$ , serta tidak ada gas yang diproduksi (Gambar 5.4).



**Gambar 5.4** Penanaman Bakteri pada Medium Miring TSIA. *Salmonella* Typhi menunjukkan warna merah pada bagian miring (*slant*), warna kuning pada pangkal tabung (*butt*), warna hitam pada bekas garis, dan tidak ada gas yang diproduksi.



Tahap keempat adalah pengujian dengan *Microbact 12E*. Pada pengujian dengan *Microbact 12E* menunjukkan 12 serial warna sumuran *Salmonella Typhi* pada sumuran A (Gambar 5.5).



GNB 24E																											
GNB 12A / 12E												GNB 12B															
Oxidase	Motility	Nitrate	Lysine	Ornithine	H <sub>2</sub> S	Glucose	Mannitol	Xylose	ONPG	Indole	Urease	V-P	Citrate	TDA	Gelatin	Malonate	Inositol	Sorbitol	Rhamnose	Sucrose	Lactose	Arabinose	Adonitol	Raffinose	Salicin	Arginine	
			+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-													
4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	
			5			6			0			0															

*S. typhi* 99,91 %

**Gambar 5.5** Identifikasi Bakteri pada *Microbact 12E* yang menunjukkan 12 serial warna sumuran bakteri *Salmonella Typhi* pada sumur A

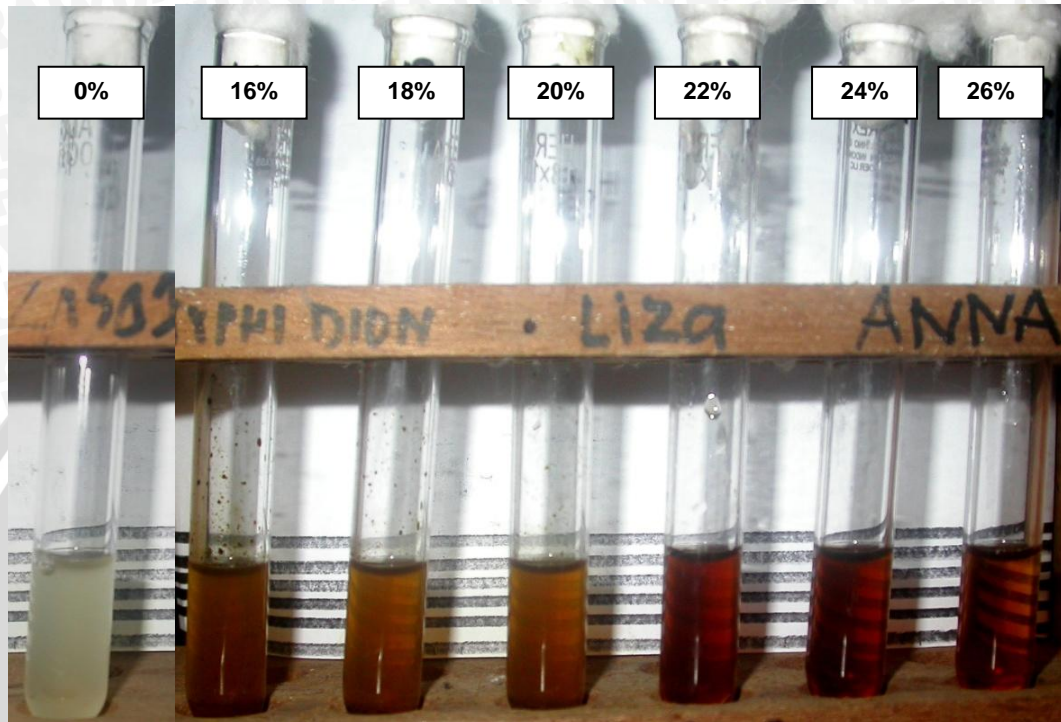
Berdasarkan hasil dari tahapan identifikasi dapat disimpulkan bahwa bakteri yang akan diuji merupakan *Salmonella Typhi*.

### 5.1.3 Hasil Pengamatan Kadar Hambat Minimum (KHM)

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan konsentrasi ekstrak daun ceremai, dengan variasi 0% (Kontrol Kuman), 16%, 18%, 20%, 22%, 24%, dan 26% berdasarkan penelitian pendahuluan. Pengamatan pertumbuhan bakteri untuk menentukan KHM menggunakan metode dilusi tabung dengan cara mengamati tingkat kekeruhan pada masing-masing tabung yang dibantu dengan kertas putih bergaris-garis hitam yang diposisikan tepat dibelakang tabung. Bila semakin jernih maka garis hitam semakin terlihat, menandakan terhambatnya pertumbuhan bakteri. Sebaliknya, bila semakin keruh maka garis hitam akan



semakin tidak tampak, ini menandakan banyak bakteri yang tumbuh pada tabung tersebut.



**Gambar 5.6** Dilusi tabung dengan beberapa konsentrasi ekstrak daun ceremai terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella Typhi* untuk uji KHM.

Gambar 5.6 menunjukkan percobaan untuk mengetahui KHM dengan metode dilusi tabung yang berisi campuran ekstrak daun ceremai dan bakteri dengan konsentrasi 0% (Kontrol Kuman), 16%, 18%, 20%, 22%, 24%, dan 26%. Tabung akan diinkubasikan selama 24 jam kemudian dilihat tingkat kekeruhannya menggunakan kertas bergaris-garis hitam yang diposisikan tepat di belakang tabung.

Hasil pengamatan pada tabung (Gambar 5.6) setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam tampak bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun ceremai yang diberikan, semakin sedikit bakteri yang tumbuh (bandingkan dengan tabung KK atau konsentrasi 0% dan garis-garis hitam semakin jelas).

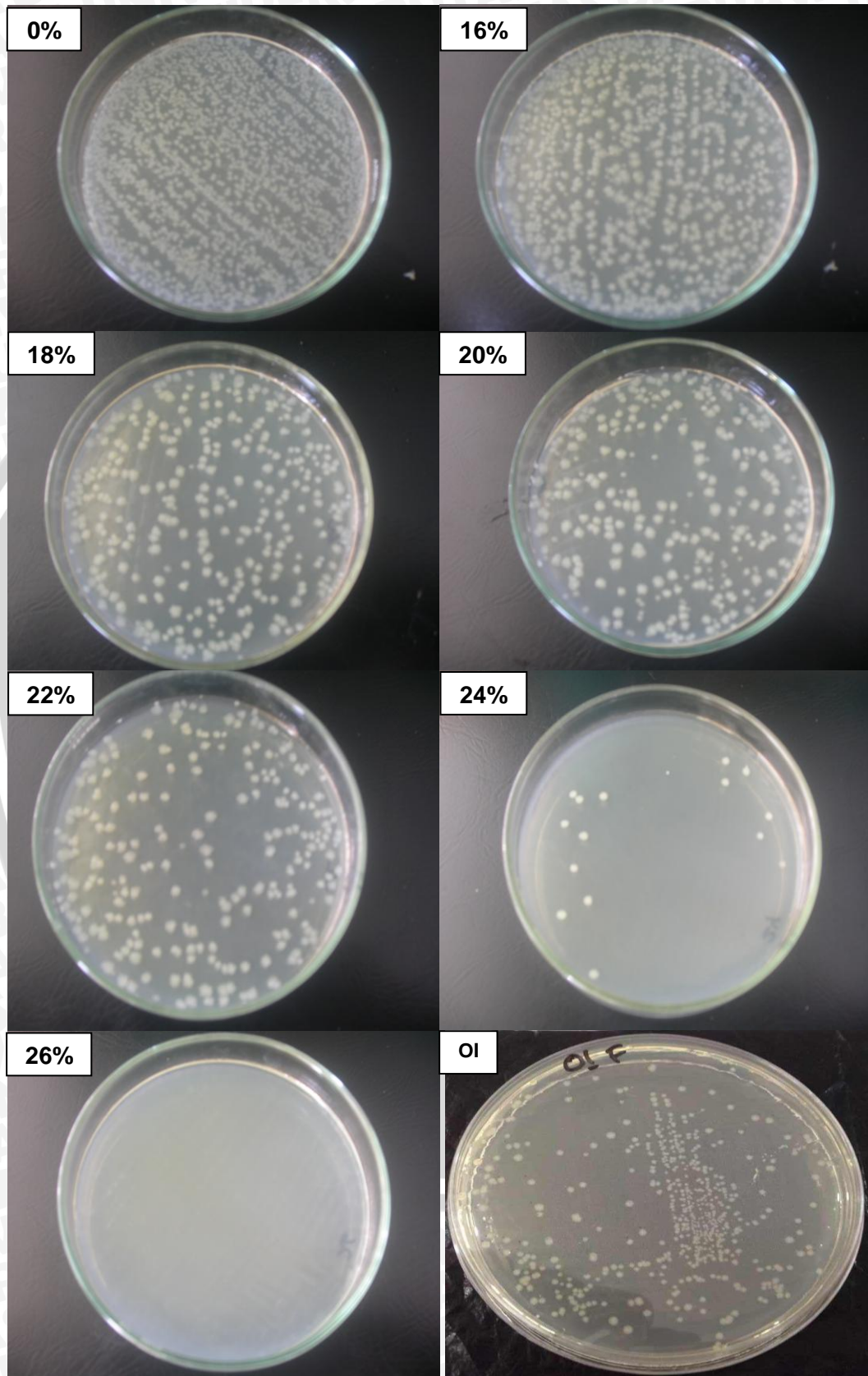


Konsentrasi terendah yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri disebut sebagai kadar hambat minimum (KHM) ekstrak daun ceremai sebagai antimikroba. Berdasarkan Gambar 5.6, penulis menetapkan konsentrasi 22% sebagai kadar hambat minimum (KHM) karena konsentrasi ini merupakan konsentrasi minimal yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri, dapat dilihat dari mulai berkurangnya kekeruhan tabung dan garis-garis hitam mulai tampak.

#### 5.1.4 Hasil Pengukuran Kadar Bunuh Minimum (KBM)

Berdasarkan data hasil penelitian, Kadar Bunuh Minimum (KBM) dari ekstrak daun ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) terhadap *Salmonella* Typhi diperoleh pada konsentrasi 26%. Hal ini ditunjukkan dengan tidak adanya koloni bakteri yang tumbuh pada konsentrasi 26%, dimana keadaan ini sama dengan keadaan pada kontrol bahan. Oleh sebab itu, dapat disimpulkan bahwa konsentrasi ekstrak daun ceremai yang memiliki Kadar Bunuh Minimum (KBM) terhadap *Salmonella* Typhi adalah pada konsentrasi 26%, karena pada konsentrasi di atas 26%, tidak didapatkan pertumbuhan bakteri pada medium *Nutrient Agar Plate* (NAP).

Berikut gambar dan tabel hasil penanaman pada masing-masing konsentrasi :



Gambar 5.7 Hasil *Streaking Salmonella Typhi* pada Medium NAP

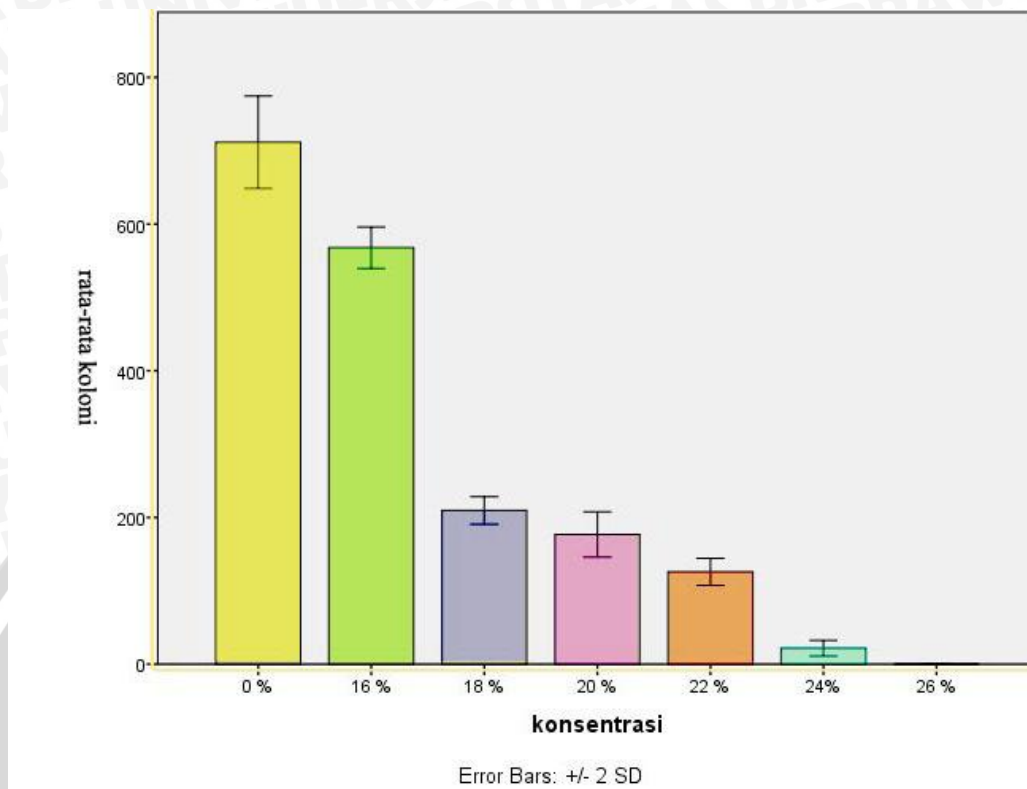


**Tabel 5.1** Jumlah Koloni *Salmonella* Typhi pada Berbagai Konsentrasi Ekstrak Daun Ceremai

Konsentrasi Ekstrak	Pengulangan				Rata-rata Koloni $\pm$ Standar Deviasi
	1	2	3	4	
0%	698	749	676	723	711.5 $\pm$ 31.52
16%	551	585	564	571	567.75 $\pm$ 14.17
18%	208	214	197	219	209.5 $\pm$ 9.46
20%	173	195	158	181	176.75 $\pm$ 15.45
22%	123	138	116	127	126 $\pm$ 9.21
24%	15	27	20	25	21.75 $\pm$ 5.37
26%	0	0	0	0	0
OI	150	148	147	145	147.5 $\pm$ 11.31

Berdasarkan Tabel 5.1 dibuat grafik yang menunjukkan hubungan koloni bakteri yang tumbuh dengan berbagai konsentrasi ekstrak (Gambar 5.8). Dari gambar tersebut diperoleh nilai KBM pada konsentrasi 26% yang memenuhi syarat KBM yaitu kurang dari 0,1% jumlah OI (*Original Inoculum* : 1065 CFU/mL) yang artinya <0,1% dari 1065 adalah 1,065 CFU/mL. Dapat terlihat juga pada tabel pola dimana semakin tinggi konsentrasi ekstrak, jumlah koloni bakteri semakin berkurang. Hal ini tampak lebih jelas pada gambar berikut:





**Gambar 5.8** Grafik Rata-rata Koloni dan Standar Deviasi. Terdapat perbedaan jumlah koloni yang bermakna antara kelompok konsentrasi 0% jika dibandingkan dengan semua kelompok perlakuan.

## 5.2 Analisis Data

Data jumlah koloni bakteri *Salmonella* Typhi terlebih dahulu diuji untuk normalitas dan homogenitasnya sebagai uji prasyarat agar bisa dilakukan uji beda parametrik *One way ANOVA*. Jika dari hasil uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov* menunjukkan distribusi data yang normal ( $p > 0.05$ ) dan uji homogenitas yang menyatakan bahwa data penelitian homogen ( $p > 0.05$ ), maka dapat dilakukan uji beda parametrik *One way ANOVA*.

Berdasarkan hasil uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov*, distribusi data jumlah koloni bakteri tidak normal ( $p = 0,000$ ) dan berdasarkan hasil uji homogenitas, data tidak homogen ( $p = 0,005$ ), sehingga data jumlah koloni bakteri tidak dapat dianalisis dengan uji beda *One way ANOVA*. Kemudian data

jumlah koloni ditransformasi dan dilakukan uji normalitas dan homogenitas kembali.

Dilakukan transformasi data dengan melakukan logaritma terhadap data jumlah koloni, untuk kemudian dianalisis kembali dengan uji normalitas dan homogenitas. Bila data transformasi jumlah koloni terdistribusi normal dan homogen maka bisa dilanjutkan ke uji beda *One way ANOVA*.

Hasil data transformasi jumlah koloni terdistribusi normal (*Kolmogorov-Smirnov*,  $p = 0.085$ ) dan homogen ( $p = 0.076$ ). Dengan demikian data bisa diolah dengan menggunakan uji beda parametric *One way ANOVA*.

Uji beda parametric *One way ANOVA* dilakukan guna mengetahui apakah terdapat perbedaan jumlah koloni bakteri *Salmonella* Typhi setelah terpapar oleh ekstrak dengan berbagai konsentrasi. Dikatakan terdapat perbedaan jumlah koloni yang bermakna jika  $p < 0.05$ . Dari uji beda *One way ANOVA*, terdapat perbedaan yang bermakna atau signifikan jumlah koloni bakteri paska terpapar oleh ekstrak pada berbagai konsentrasi ( $p = 0.000$ ) atau dengan kata lain perbedaan konsentrasi ekstrak mengakibatkan perbedaan jumlah koloni bakteri. kelompok konsentrasi ( $p < 0.05$ ). Adapun ringkasan dari uji multi komparasi ini tercantum dalam tabel pada Lampiran.

Selanjutnya, dilakukan uji multi komparasi *Post Hoc Tukey* guna melihat apakah terdapat perbedaan jumlah koloni bakteri antara dua macam dosis yang berbeda. Terdapat perbedaan jumlah koloni yang bermakna antara kelompok konsentrasi 0% jika dibandingkan dengan semua kelompok perlakuan ( $p < 0.05$ ). Jumlah koloni bakteri pada konsentrasi 26% berbeda signifikan dengan semua kelompok konsentrasi ( $p < 0.05$ ). Adapun ringkasan dari uji multi komparasi ini tercantum dalam tabel pada Lampiran.



Uji korelasi parametrik *Pearson* menunjukkan nilai signifikansi (*P-value*) = 0.000 ( $p < 0.05$ ) dan *correlation coefficient* -0.900 yang berarti terdapat korelasi bermakna antara dua variabel (konsentrasi ekstrak terhadap jumlah koloni bakteri). *Pearson correlation coefficient* ( $r$ ) bernilai negatif berarti korelasinya berbanding terbalik, yang artinya semakin tinggi dosis atau konsentrasi ekstrak, maka semakin rendah jumlah koloni bakteri, serta menunjukkan korelasi yang sangat kuat ( $r > 0.982$ ). Tabel data dapat dilihat pada Lampiran.

Uji regresi linier merupakan uji statistik yang dilakukan untuk mengetahui besar pengaruh variabel independen (ekstrak dengan berbagai konsentrasi) terhadap variabel dependen (jumlah koloni bakteri). Nilai  $R^2$  (*R square*) dari tabel *Model Summary* menunjukkan bahwa 96.4% ( $0.964 \times 100\%$ ) dari variabel jumlah koloni bakteri dipengaruhi oleh variabel independen yakni paparan ekstrak. Dengan kata lain sebanyak 96.4% bakteri mati dikarenakan oleh paparan ekstrak. Persamaan garis regresi menggunakan metode kuadrat terkecil (*least square method*) yang di dapat adalah:

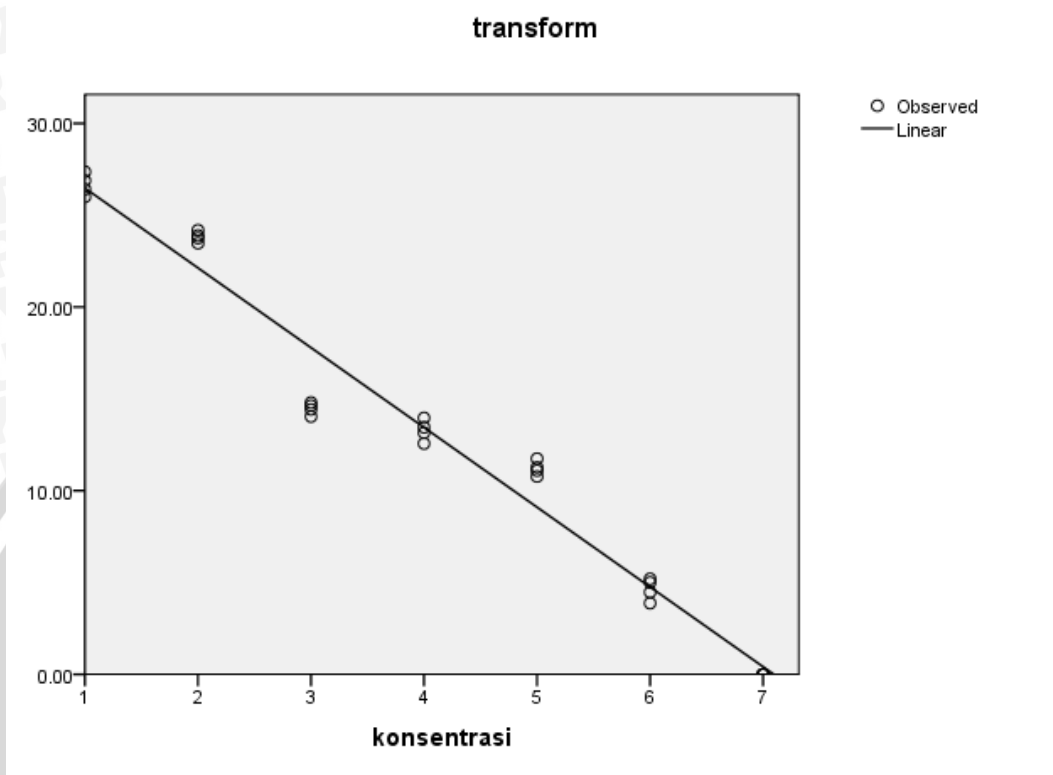
$$y = 30.821 - 4.344x$$

Keterangan:

$y$  = jumlah koloni bakteri (dalam bentuk hasil transformasi, untuk melihat nilai aktual jumlah koloni maka dilakukan *Len y* atau antilogaritma  $y$ );

$x$  = konsentrasi ekstrak etanol daun ceremai.

Adapun bentuk kurva dari persamaan regresi di atas adalah sebagai berikut:



**Gambar 5.9** Kurva Regresi Linier Jumlah Koloni untuk Masing-masing Konsentrasi Ekstrak Daun Ceremai

