

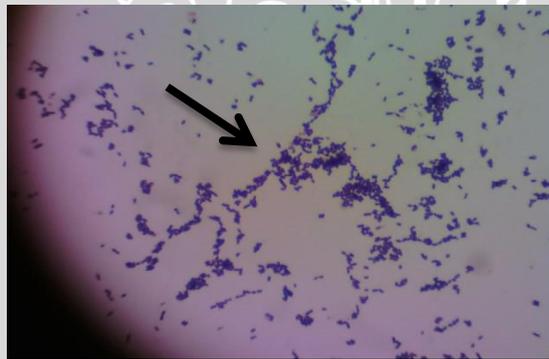
BAB V

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Penelitian

5.1.1 Identifikasi Bakteri

Uji identifikasi bakteri dilakukan sebelum dilakukan uji efek antibakteri. Penelitian ini menggunakan isolat bakteri *Streptococcus mutans* yang disediakan oleh Laboratorium Mikrobiologi FKUB. Sebelum bakteri digunakan, dilakukan uji identifikasi terlebih dahulu untuk memastikan bakteri tersebut adalah *Streptococcus mutans*. Tahap identifikasi bakteri terdiri dari pewarnaan gram, tes katalase, dan tes *optochin*. Tahap pertama dari proses uji identifikasi bakteri adalah pewarnaan gram dengan pengamatan dibawah mikroskop objektif perbesaran 400x. Hasil dari pewarnaan gram, didapatkan hasil bakteri bulat (*coccus*) bergerombol seperti anggur, berwarna ungu, gram positif (Gambar 5.1).



Gambar 5.1 Hasil Pewarnaan Gram Bakteri *Streptococcus mutans* Dengan Perbesaran 1000x

Bakteri *Streptococcus mutans* menunjukkan warna ungu pada pewarnaan gram, berbentuk bulat, dan bergerombol seperti anggur

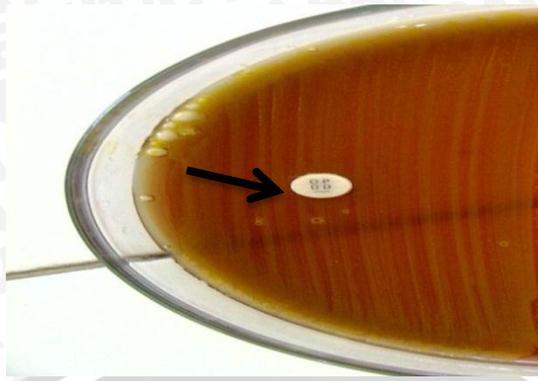
Tahap kedua adalah tes katalase. Dilakukan dengan menyediakan pembenihan cair bakteri *Streptococcus mutans* pada object glass kemudian ditetesi dengan larutan H₂O₂ 3 %. Hasil untuk *Streptococcus mutans* adalah tidak terdapat gelembung yaitu, tes katalase negatif (gambar 5.2).



Gambar 5.2 Hasil Tes Katalase Bakteri *Streptococcus mutans* menggunakan H₂O₂ 3 %

Streptococcus mutans menunjukkan tes katalase negatif tidak terdapat gelembung.

Tahap ketiga tes *optochin*. Dilakukan dengan melakukan streaking bakteri sebanyak 1 ose pada BAP (Blood Agar Plate) kemudian letakkan *optochin* disk ditengah inokulum dengan penjepit steril. Hasil tes *optochin* bakteri *Streptococcus mutans* menunjukkan hasil reaksi negatif yaitu dengan tidak adanya zona hambatan di sekeliling *disk optochin* (gambar 5.3).



Gambar 5.3 Hasil Tes *Ophthochin* Bakteri *Streptococcus mutans* Pada Media *Disk Ophthochin*

Streptococcus mutans menunjukkan hasil negatif dengan tidak tampak adanya zona hambatan di sekeliling *disk ophthochin*

5.1.2 Hasil Ekstraksi Daun Meniran

Ekstrak daun meniran berwarna hijau tua kecoklaan dan keruh. Ekstrak daun meniran berbentuk cair dan jika dicampur dengan akuades larutan tersebut bersifat homogen dan berwarna hijau tua kecoklatan.

5.1.3 Hasil Uji Efek Antibakteri

5.1.3.1 Hasil Penentuan Kadar Hambat Minimal

Pada awal penelitian, dilakukan uji pendahuluan terlebih dahulu. Tujuannya adalah untuk mendapatkan rentang konsentrasi semiminal mungkin agar hasil yang diperoleh lebih teliti. Konsentrasi yang diujikan dalam tahap ini diturunkan secara serial , yaitu 50%, 25%, 12,5%, 6,2%, 3,1%, dan 1,5 % (Gambar 5.4 a dan 5.4b).

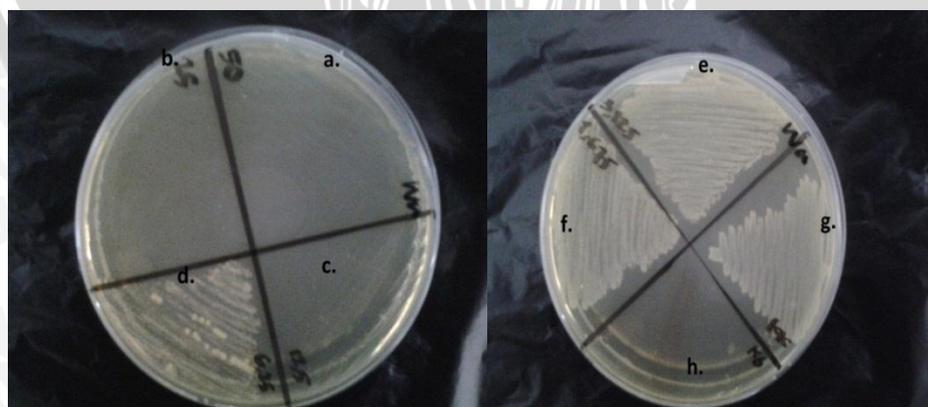


Gambar 5.4a Hasil Pengamatan Kekeruhan Serial Tabung Uji Pendahuluan

Tampak seluruh tabung keruh dan tidak dapat diamati kejernihannya

Keterangan Gambar :

- A. Tabung dilusi dengan konsentrasi ekstrak 50%
- B. Tabung dilusi dengan konsentrasi ekstrak 25%
- C. Tabung dilusi dengan konsentrasi ekstrak 12,5%
- D. Tabung dilusi dengan konsentrasi ekstrak 6,2%
- E. Tabung dilusi dengan konsentrasi ekstrak 3,2%
- F. Tabung dilusi dengan konsentrasi ekstrak 1,5%
- G. Kontrol positif dengan konsentrasi ekstrak 0%
- H. Kontrol negatif dengan konsentrasi ekstrak 100%

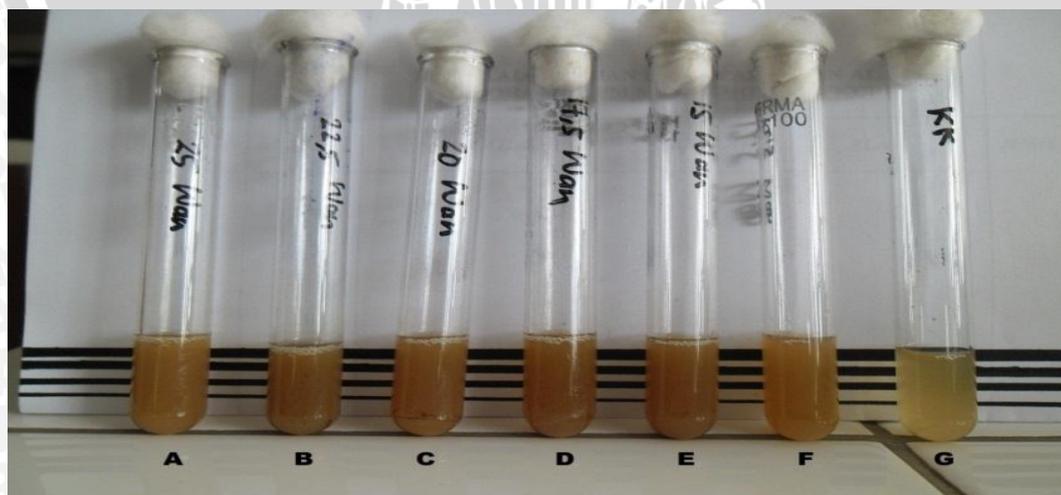


Gambar 5.4b Hasil Uji Pendahuluan *Streaking* Pada Media BHIA

Keterangan gambar :

- A. Pertumbuhan koloni bakteri pada konsentrasi 50%.
- B. Pertumbuhan koloni bakteri pada konsentrasi 25%.
- C. Pertumbuhan koloni bakteri pada konsentrasi 12,5%,
- D. Pertumbuhan koloni bakteri pada konsentrasi 6,2%
- E. Pertumbuhan koloni bakteri pada konsentrasi 3,1%
- F. Pertumbuhan koloni bakteri pada konsentrasi 1,5%
- G. Kontrol positif dengan konsentrasi ekstrak 0%
- H. Kontrol negatif dengan konsentrasi ekstrak 100%

Berdasarkan hasil penelitian pendahuluan didapatkan bahwa tidak terdapat pertumbuhan pada konsentrasi 25% dan masih terdapat bakteri yang tumbuh pada konsentrasi 12,5%. Oleh karena itu, pada penelitian ini menggunakan ekstrak daun meniran (*Phyllanthus niruri Linn*) dengan enam macam konsentrasi dengan rentang 2,5 % yaitu, sebagai berikut : 25%, 22,5%, 20%, 17,5 %, 15%, dan 12,5%. Setelah tabung diinkubasi selama 18-24 jam, dilakukan pengamatan secara visual terhadap kekeruhan masing-masing tabung dalam serial tabung dilusi (Gambar 5.5). KHM (Kadar Bunuh Minimal) ditandai dengan tidak adanya kekeruhan pada tabung, setelah diinkubasi selama 18-24 jam (Dzen dkk., 2003).



Gambar 5.5. Hasil Pengamatan Kekeruhan Serial Tabung Dilusi

Keterangan gambar :

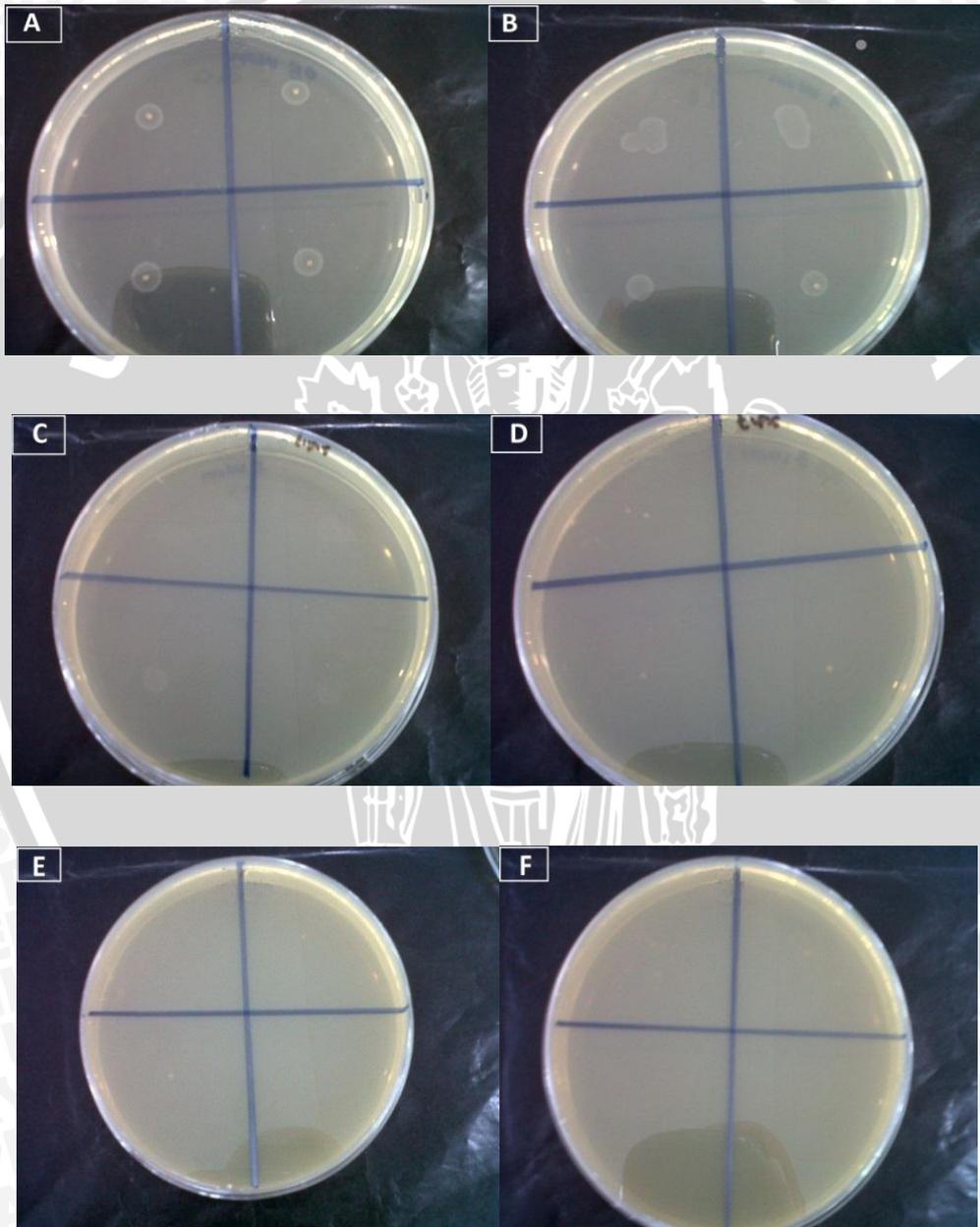
- A. Tabung dilusi dengan konsentrasi ekstrak 25%.
- B. Tabung dilusi dengan konsentrasi ekstrak 22,5%.
- C. Tabung dilusi dengan konsentrasi ekstrak 20%
- D. Tabung dilusi dengan konsentrasi ekstrak 17,5%.
- E. Tabung dilusi dengan konsentrasi ekstrak 15%.
- F. Tabung dilusi dengan konsentrasi ekstrak 12,5%.
- G. Kontrol positif dengan konsentrasi ekstrak 0%.

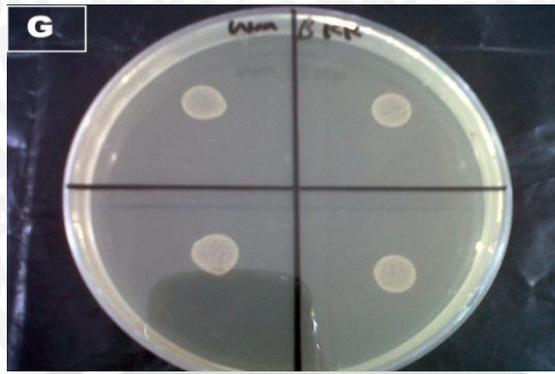
Berdasarkan hasil pengamatan, semua tabung menunjukkan kekeruhan dibandingkan dengan kontrol bakteri. Kekeruhan terjadi kemungkinan disebabkan karena ekstrak daun meniran yang dari awal berwarna hijau tua kecoklatan dan terdapat banyak endapan. Oleh karena itu, Kadar Hambat Minimal (KHM) tidak dapat ditentukan secara visual, sehingga dilakukan penelitian uji Kadar Hambat Minimal (KHM) dengan metode dilusi agar.

Penentuan Kadar Hambat Minimal (KHM) dengan menggunakan dilusi agar yang tiap konsentrasi ekstrak daun meniran dicampurkan dengan medium *Mueller Hinton Agar* (MHA) yang masih cair. Setelah itu campuran ini kemudian didinginkan hingga MHA yang mengandung ekstrak daun meniran terbentuk menjadi medium padat dalam bentuk agar. Medium agar yang telah menjadi padat disimpan dalam refrigerator dengan suhu 5° C hingga siap dipakai. Pada hari dilaksanakan perlakuan, agar tersebut diberi 1 tetes suspensi bakteri (0,1 mL) dengan kepadatan 10⁶ CFU/ ml, kemudian dibiarkan mengering terlebih dahulu sebelum dimasukkan kedalam inkubator. Setelah 18-24 jam didalam inkubator dengan suhu 37° C, amati pertumbuhan bakteri yang terjadi.

Berdasarkan Gambar 5.6, tampak bahwa konsentrasi 0% yang merupakan kontrol bakteri terlihat adanya koloni yang tebal. Hal ini menunjukkan suspensi bakteri yang digunakan dalam penelitian ini memang mengandung bakteri. Sedangkan pada konsentrasi 15% dan 17,5% tidak terdapat

pertumbuhan bakteri, pada konsentrasi ekstrak 12,5%, 10%, 7,5%, dan 5% masih terdapat pertumbuhan koloni bakteri. Oleh karena itu, nilai Kadar Hambat Minimal (KHM) ekstrak daun meniran terhadap *Streptococcus mutans* adalah konsentrasi ekstrak 15% .





Gambar 5.6 Hasil Penelitian KHM dengan Metode Dilusi Agar

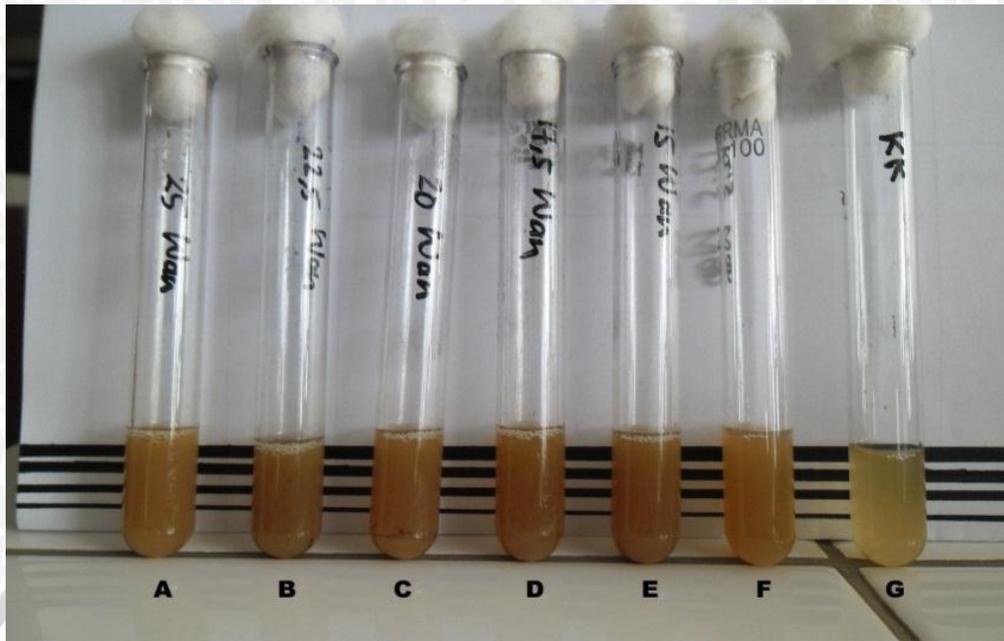
Keterangan gambar :

- Media agar dengan konsentrasi 5%, terdapat pertumbuhan koloni bakteri.
- Media agar dengan konsentrasi 7,5%, terdapat pertumbuhan koloni bakteri.
- Media agar dengan konsentrasi 10%, terdapat pertumbuhan koloni bakteri.
- Media agar dengan konsentrasi 12,5%, terdapat pertumbuhan koloni bakteri.
- Media agar dengan konsentrasi 15%, tidak terdapat pertumbuhan koloni bakteri.
- Media agar dengan konsentrasi 17,5%, tidak terdapat pertumbuhan koloni bakteri.
- Media agar dengan konsentrasi 0% sebagai kontrol positif.

5.1.3.2 Hasil Penentuan Kadar Bunuh Minimal

Serial tabung yang telah diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37° C (Gambar 5.7), tiap konsentrasi ekstrak dalam masing-masing tabung diinokulasikan pada media BHIA. BHIA diinkubasikan pada suhu 37° C selama 18-24. jam. Selanjutnya dilakukan perhitungan jumlah koloni yang tumbuh pada masing-masing BHIA dihitung menggunakan *colony counter*.

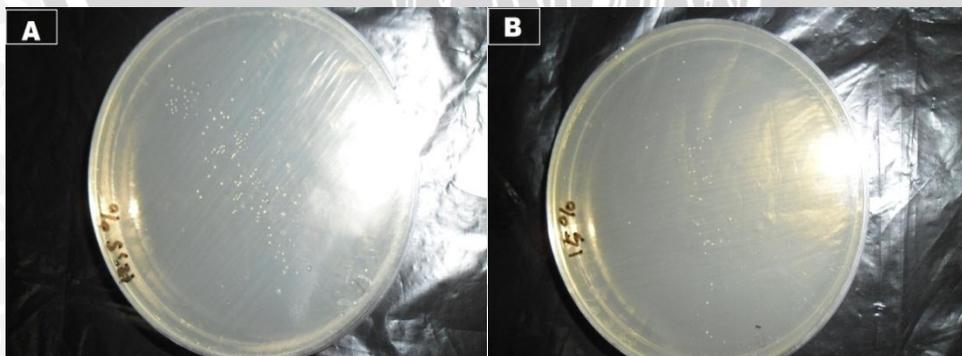
Kadar Bunuh Minimal (KHM) adalah kadar terendah dari antibakteri yang membunuh bakteri. Hal ini ditandai dengan tidak tumbuhnya bakteri pada BHIA atau pertumbuhan koloninya kurang dari 0,1 % dari jumlah inokulum awal (*original inoculum*) pada medium BHIA yang telah dilakukan penggoresan sebanyak 1 ose (Dzen *et al.*, 2003). Gambar 5.8 menunjukkan hasil *streaking* pada BHIA.

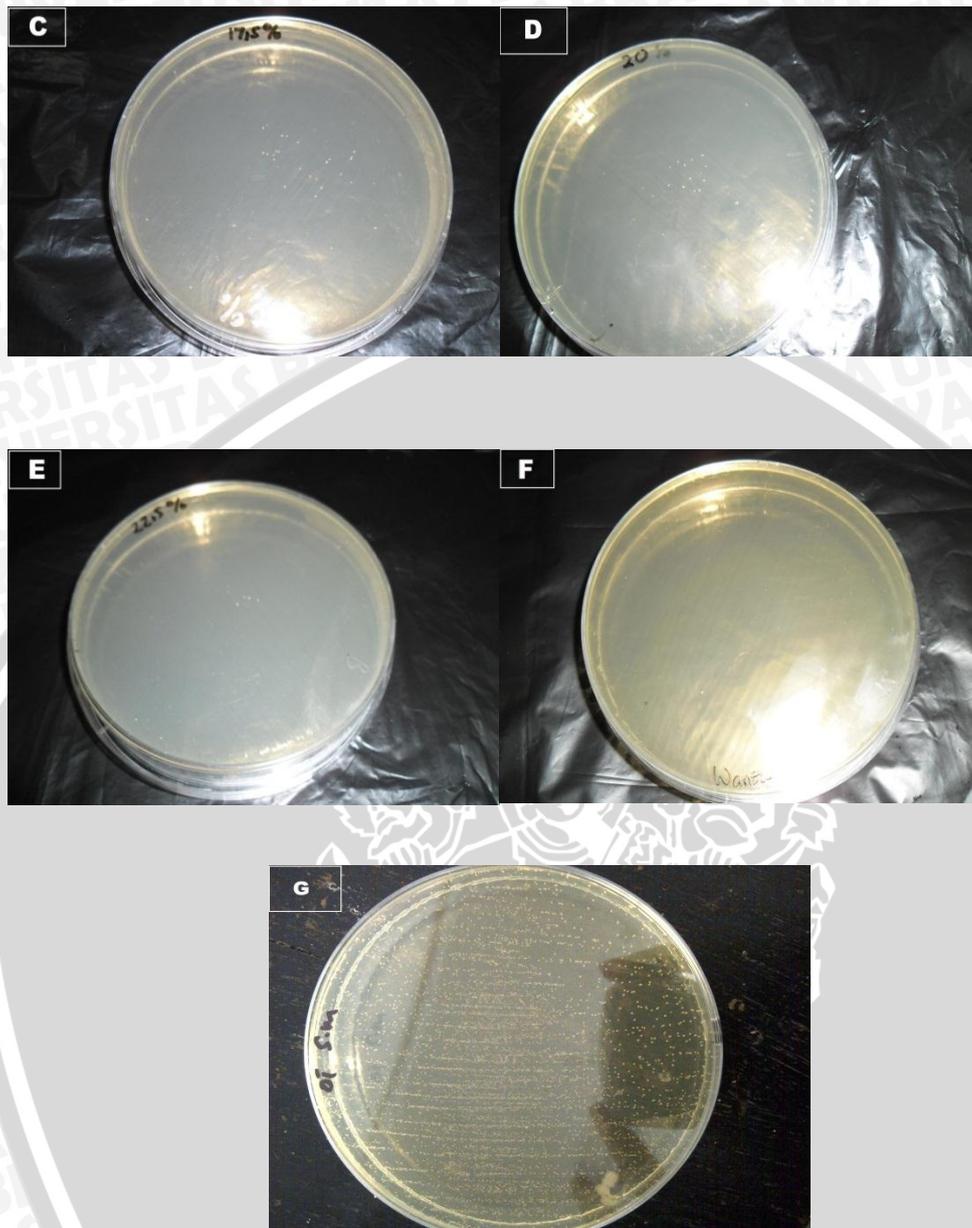


Gambar 5.7 Serial Tabung Dilusi

Keterangan gambar :

- A. Tabung dilusi dengan konsentrasi ekstrak 25%.
- B. Tabung dilusi dengan konsentrasi ekstrak 22,5%.
- C. Tabung dilusi dengan konsentrasi ekstrak 20%
- D. Tabung dilusi dengan konsntrasi ekstrak17,5%.
- E. Tabung dilusi dengan konsentrasi ekstrak15%.
- F. Tabung dilusi dengan konsentrasi ekstrak12,5%.
- G. Kontrol positif dengan konsentrasi ekstrak 0%.





Gambar 5.8 Pertumbuhan Koloni *Streptococcus mutans* pada Media BHIA

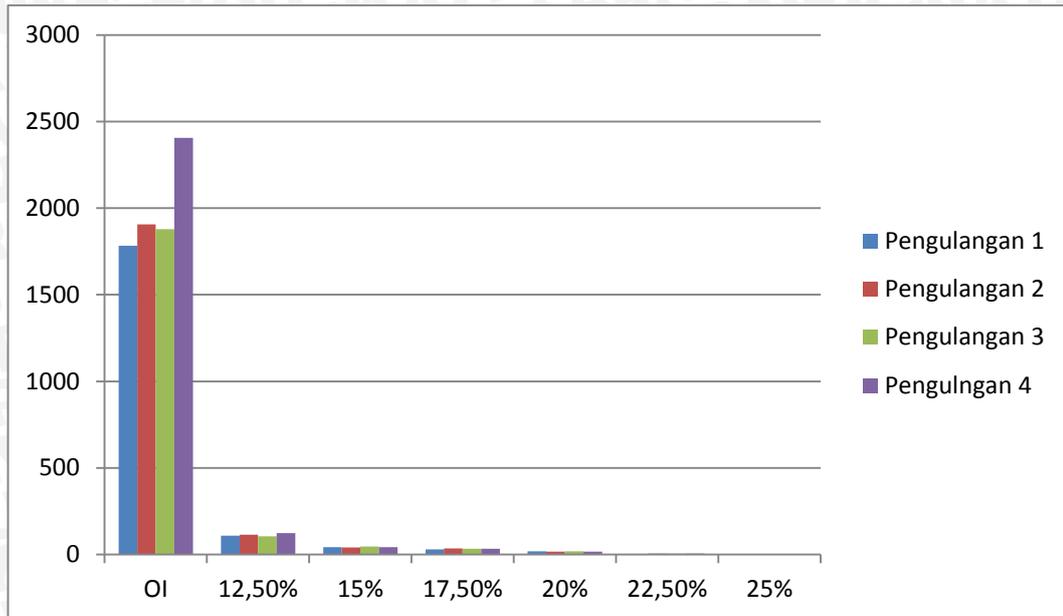
Keterangan gambar :

- Pertumbuhan koloni bakteri pada konsentrasi 12,5%, terdapat pertumbuhan koloni bakteri.
- Pertumbuhan koloni bakteri pada konsentrasi 15%, terdapat pertumbuhan koloni bakteri.
- Pertumbuhan koloni bakteri pada konsentrasi 17,5%, terdapat pertumbuhan koloni bakteri.
- Pertumbuhan koloni bakteri pada konsentrasi 20%, terdapat pertumbuhan koloni bakteri.

- e. Pertumbuhan koloni bakteri pada konsentrasi 22,5%, terdapat pertumbuhan koloni bakteri.
- f. Pertumbuhan koloni bakteri pada konsentrasi 25%, tidak terdapat pertumbuhan koloni bakteri.
- g. Pertumbuhan koloni bakteri pada *Original Inoculum*.

Dari hasil keseluruhan data, hasil pertumbuhan dan perhitungan koloni keempat isolat bakteri *Streptococcus mutans* dapat ditentukan KBM (Kadar Bunuh Minimal) dari ekstrak daun meniran, yaitu tidak adanya koloni atau jumlah koloni kurang dari 0,1 % dari *original inoculum* pada BHIA. Jumlah koloni bakteri dihitung dengan menggunakan *colony counter*. Hasil perhitungan koloni yang tumbuh di BHIA pada masing-masing konsentrasi ekstrak daun meniran dan *original inoculum* dapat dilihat pada lampiran 1.

Berdasarkan hasil penelitian yang tertera pada tabel (Lampiran 1) serta gambar 5.9, dapat dilihat bahwa pertumbuhan jumlah koloni tertinggi didapatkan pada konsentrasi ekstrak daun meniran 12.5% pada setiap pengulangan yang dilakukan, sedangkan pada konsentrasi 22,5 % terdapat sedikit koloni bakteri, kemudian pada konsentrasi 25 % tidak didapatkan pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Jumlah rata-rata dari hasil penggoresan *Original Inoculum* menghasilkan bakteri sebanyak 1993, maka hasilnya yang merupakan KBM adalah plate dengan pertumbuhan bakteri sebanyak kurang dari 0,1 % dari jumlah koloni pada *Original Inoculum* sehingga KBM dari ekstrak daun meniran terhadap *Streptococcus mutans* adalah sebesar 25 %.



Gambar 5.9 Gambar Grafik Perbandingan Jumlah Koloni Pada Masing-masing Konsentrasi dan Original Inoculum

Pada grafik diatas tampak adanya penurunan jumlah koloni bakteri seiring dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak etanol daun meniran dalam empat kali pengulangan percobaan.

5.2 Analisis Data

Untuk mengetahui apakah ada perbedaan antara masing-masing konsentrasi dilakukan uji analisis data dengan metode One-Way ANOVA. Uji statistik *One-Way ANOVA* digunakan untuk mengetahui adanya pengaruh pemberian berbagai konsentrasi ekstrak daun meniran (*Phyllanthus ninuri* Linn) terhadap jumlah koloni bakteri *Streptococcus mutans*. Sedangkan uji korelasi regresi digunakan untuk mengetahui kekuatan hubungan peningkatan konsentrasi ekstrak daun meniran terhadap jumlah koloni *Streptococcus mutans* dan mengetahui sifat hubungan tersebut, apakah dengan peningkatan konsentrasi akan terjadi penurunan jumlah koloni, sebaliknya, atau tidak

berhubungan. Analisis data menggunakan IBM SPSS (*Statistical Product of Service Solution*) versi 17.0.

Syarat menggunakan uji parametrik *One-Way ANOVA* adalah data terdiri dari dua kelompok atau lebih, data memiliki distribusi normal yaitu bila nilai signifikansinya lebih dari 0.05 dan varian data atau homogenitas harus sama dengan nilai signifikansi lebih dari 0.05. Uji normalitas data yaitu Kolmogorov-Smirnov Test dilakukan untuk mengetahui sebaran data normal atau tidak (Dahlan, 2004). Tes homogenitas dilakukan untuk mengetahui varian data atau homogenitas data.

a. Normalitas data

Untuk menguji apakah sampel penelitian merupakan jenis sampel dengan distribusi normal maka digunakan pengujian *Kolmogorov-Smirnov test* terhadap masing-masing variabel.

Dari uji *Kolmogorov-Smirnov* (Lampiran 2), terlihat data variabel yang akan diuji, yaitu data jumlah koloni bakteri *Streptococcus mutans* yang dihasilkan dari media BHI dari penelitian menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,1 ($p > 0.05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa data pada variabel tersebut tersebar mengikuti sebaran normal. Dengan demikian dapat dilakukan pengujian dengan menggunakan *One Way ANOVA*, karena asumsi kenormalan distribusi data telah terpenuhi.

b. Homogenitas Data

Untuk mendeteksi ada atau tidaknya homogenitas dilakukan dengan uji kesamaan ragam yaitu uji *Levene* (*Levene test homogeneity of variances*) (Lampiran 3). Oleh karena nilai signifikansi (p) dari uji *Levene* sebesar 0,07

($p > 0,05$). Sehingga dapat dilakukan pengujian dengan *One Way ANOVA* pada tahap berikutnya, karena asumsi homogenitas data telah terpenuhi.

5.2.1 Uji *One-Way ANOVA*

Penelitian ini menggunakan variabel numerik dengan satu faktor yang ingin diketahui yaitu perbedaan jumlah koloni bakteri *Streptococcus mutans* yang dihasilkan pada medium BHI pada setiap perlakuan terutama yang disebabkan oleh pemberian ekstrak daun meniran dengan variasi konsentrasi ekstrak daun meniran.

One-way ANOVA merupakan pengujian untuk mengetahui perbedaan nyata antar konsentrasi ekstrak daun meniran terhadap rata-rata jumlah koloni bakteri *Streptococcus mutans*. Dari hasil uji *One-Way ANOVA* (Lampiran 4) didapatkan angka signifikansi 0,000 ($p < 0,05$). Hal ini berarti efek pemberian berbagai tingkat konsentrasi ekstrak terhadap rata-rata koloni bakteri *Streptococcus mutans* adalah berbeda secara signifikan pada taraf kepercayaan 95%.

5.2.2 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 yang tidak memberikan perbedaan signifikan. Dari hasil uji *Post Hoc Tukey* (Lampiran 5) didapatkan perbandingan bermakna antara konsentrasi 12,5% dengan konsentrasi 15%, 17,5%, 20% 22,5%, dan 25% dengan nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$). Untuk mengetahui kelompok konsentrasi mana yang rata-ratanya tidak berbeda dilakukan uji lanjut Homogenous Subsets (Lampiran 6). Pada uji Homogenous

subsets ini menunjukkan bahwa konsentrasi yang tidak berbeda signifikan adalah 22,5% dan 25%, sedangkan pada konsentrasi 12,5%, 15%, 17,5%, dan 20% menunjukkan perbedaan signifikan.

5.2.3 Uji Korelasi dan Regresi

Uji korelasi *Pearson* (Lampiran 7) menunjukkan angka signifikansi 0,00 ($p < 0,05$) yang berarti terdapat hubungan yang bermakna antara pemberian ekstrak daun meniran terhadap *Streptococcus mutans*. Besar koefisien korelasi *Pearson* yaitu, $R = -0,894$. Tanda negatif menunjukkan hubungan yang terbalik yaitu bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun meniran maka semakin sedikit jumlah koloni bakteri yang tumbuh, dan sebaliknya. Koefisien Determinasi *Adjust R Square* sebesar 0,8 berarti bahwa kontribusi pemberian ekstrak daun meniran sebesar 80% sedangkan 20% sisanya disebabkan oleh faktor yang tidak diteliti. Faktor tersebut kemungkinan disebabkan akibat dari lama penyimpanan ekstrak atau akibat resistensi bakteri itu sendiri. Hubungan antara perubahan konsentrasi ekstrak daun meniran terhadap *Streptococcus mutans* dapat dinyatakan dengan rumus $Y = 185,1 - 0,796X$. Y adalah jumlah koloni *Streptococcus mutans* sedangkan X adalah konsentrasi ekstrak daun meniran. Tanda pengurangan pada persamaan di atas berarti bahwa setiap penambahan konsentrasi ekstrak akan mengakibatkan penurunan jumlah koloni bakteri.