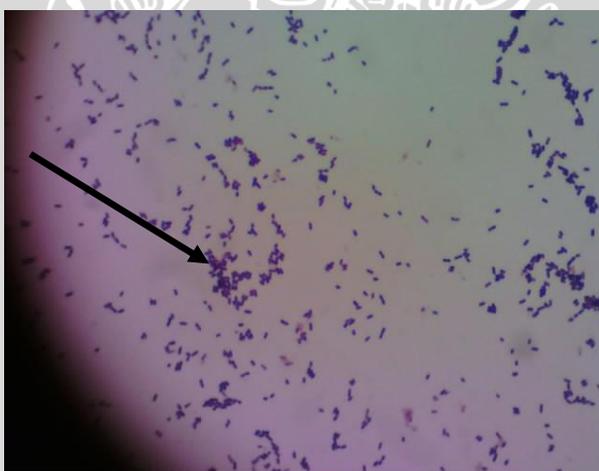


BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

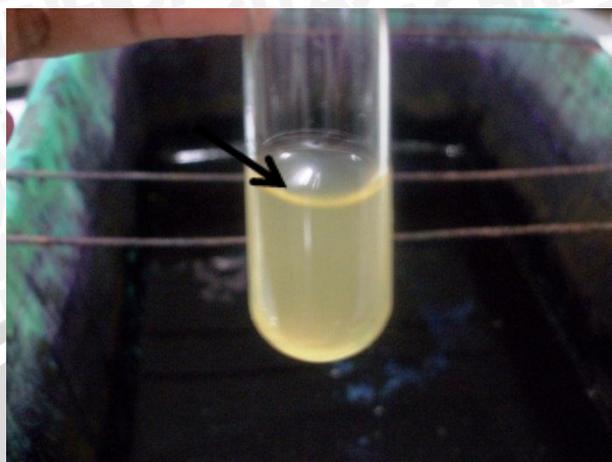
5.1 Hasil Identifikasi Bakteri *Streptococcus mutans*

Isolat bakteri *Streptococcus mutans* yang digunakan dalam penelitian ini dimiliki oleh Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Bakteri tersebut sebelumnya diidentifikasi kembali dengan pewarnaan Gram, tes katalase dan tes optochin. Setelah dilakukan pewarnaan Gram *Streptococcus mutans* diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000x. Pada pengamatan tersebut didapatkan gambaran berbentuk bulat warna ungu membentuk rantai (Gambar 5.1). Hal ini menunjukkan bahwa bakteri yang tersebut merupakan bakteri Gram Positif.



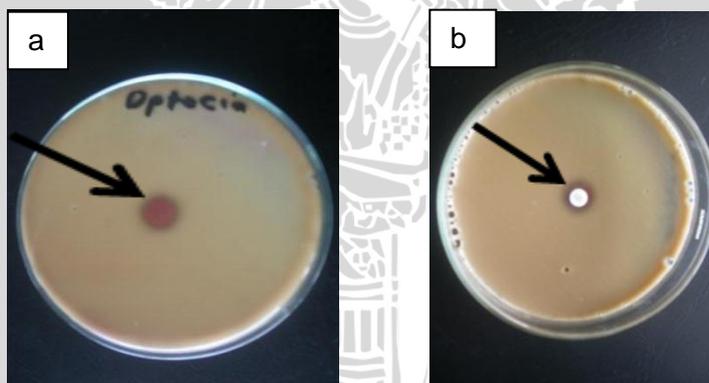
Gambar 5.1 Hasil Pewarnaan Gram Terhadap *Streptococcus mutans*

Tes *katalase* dilakukan dengan menyiapkan pembedihan cair dari bakteri *Streptococcus mutans* pada tabung reaksi kemudian ditetesi dengan larutan H_2O_2 3%. Hasil tes katalase *Streptococcus mutans* menunjukkan hasil negatif yang ditandai dengan tidak tampak adanya gelembung udara (Gambar 5.2).



Gambar 5.2 Hasil Tes Katalase Terhadap *Streptococcus mutans*

Pada tes *optochin*, *Streptococcus mutans* menunjukkan hasil reaksi negatif. Hasil ini ditunjukkan dengan zona hambatan < 14mm di sekeliling disk *optochin* (Gambar 5.3).



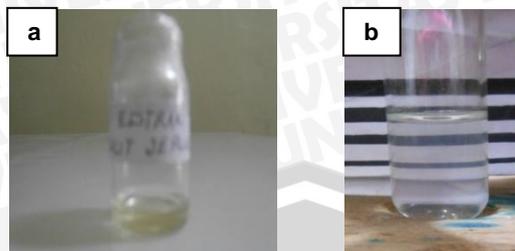
Gambar 5.3 Hasil Tes Optochin Terhadap *Streptococcus mutans*

Keterangan:

- a = Hasil tes optochin : tampak dari atas
- b = Hasil tes optochin : tampak dari bawah

5.2 Hasil Destilasi Kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*)

Pada proses destilasi kulit jeruk nipis didapatkan hasil minyak atsiri kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) sebanyak 10 ml (Gambar 5.4a). Minyak atsiri kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) berbentuk cair dan berwarna bening (Gambar 5.4b).



Gambar 5.4 Hasil Destilasi Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*)

Keterangan:

- a = Hasil destilasi kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) sebanyak 10ml dalam botol
- b = Hasil destilasi kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) berwarna bening

5.3 Hasil Uji Eksplorasi

Uji eksplorasi terlebih dahulu dilakukan sebelum dilakukan penelitian dengan konsentrasi inti. Rentang awal konsentrasi ekstrak yang digunakan adalah 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,5625% dan 0%. Pada uji eksplorasi dengan konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125% dan 1,5625% ini tidak terdapat pertumbuhan bakteri, sedangkan pada konsentrasi 0% terdapat pertumbuhan bakteri. Selanjutnya dilakukan dengan rentang konsentrasi yang lebih kecil. Hasil dari uji eksplorasi menunjukkan pada konsentrasi 1,5% sudah tidak terdapat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*. Oleh karena itu, penelitian inti dilakukan dengan menggunakan enam macam konsentrasi minyak atsiri kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) yaitu 1,5%, 0,3%, 0,06%, 0,012%, 0,0024% dan 0,00048%.

5.4 Hasil Uji Efektifitas Antibakteri dengan Penentuan Nilai KHM

Kadar hambat minimum (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 minimum), dilakukan pengamatan pada tabung konsentrasi 1,5%, 0,3%, 0,06%, 0,012%, 0,0024% dan 0,00048% secara visual untuk mengamati tingkat kekeruhan pada tabung berdasarkan baris garis hitam yang tampak dibalik tabung. Dari gambar 5.5 terlihat bahwa KHM (Kadar hambat minimum) minyak atsiri kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap koloni bakteri *Streptococcus mutans* adalah pada konsentrasi 0,3%. Hal ini ditandai dengan tiga garis hitam yang tampak pada konsentrasi tersebut.



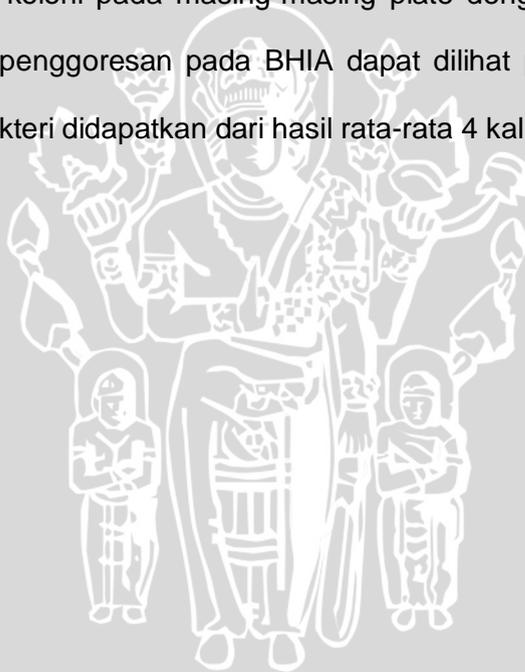
Gambar 5.5 Hubungan Peningkatan Konsentrasi Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) dengan Tingkat kekeruhan

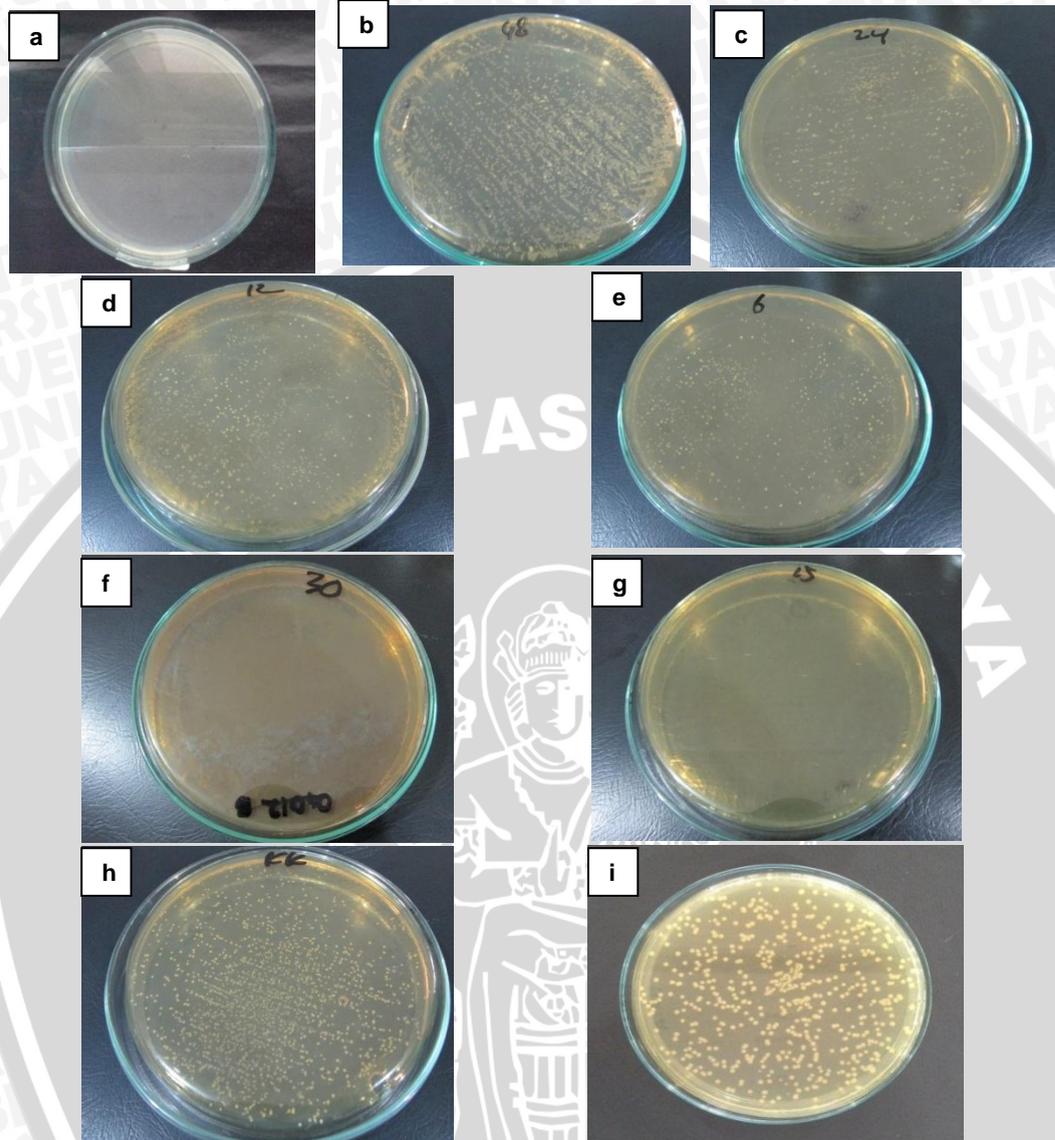
Keterangan:

- Kontrol Bahan (KB): campuran media BHIB minyak atsiri kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) konsentrasi 100%
- Campuran bakteri dan minyak atsiri kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) konsentrasi 1,5%
- Campuran bakteri dan minyak atsiri kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) konsentrasi 0,3%
- Campuran bakteri dan minyak atsiri kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) konsentrasi 0,06%
- Campuran bakteri dan minyak atsiri kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) konsentrasi 0,012%
- Campuran bakteri dan minyak atsiri kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) konsentrasi 0,0024%
- Campuran bakteri dan minyak atsiri kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) konsentrasi 0,00048%
- Kontrol Kuman (KK): campuran *Streptococcus mutans* dan akuades

5.5 Hasil Uji Efektifitas Antibakteri dengan Penentuan Nilai KBM

Tabung yang berisi suspensi bakteri *Streptococcus mutans* dan ekstrak minyak atsiri kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dengan berbagai konsentrasi diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37° C, kemudian dilakukan pengamatan tingkat kekeruhannya untuk melihat KHM (Kadar hambat minimum), tiap konsentrasi tabung yang berisi minyak atsiri kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dan bakteri *Streptococcus mutans* di *streaking* penuh pada media BHIA. Kemudian 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 BHIA dapat dilihat pada gambar 5.6, Perhitungan jumlah bakteri didapatkan dari hasil rata-rata 4 kali pengulangan.





Gambar 5.6 Pertumbuhan Koloni *Streptococcus mutans* pada BHIA

Keterangan:

- a. Pertumbuhan koloni bakteri pada Kontrol Bahan
- b. Pertumbuhan koloni bakteri pada konsentrasi 0,00048%
- c. Pertumbuhan koloni bakteri pada konsentrasi 0,0024%
- d. Pertumbuhan koloni bakteri pada konsentrasi 0,012%
- e. Pertumbuhan koloni bakteri pada konsentrasi 0,06%
- f. Pertumbuhan koloni bakteri pada konsentrasi 0,3%
- g. Pertumbuhan koloni bakteri pada konsentrasi 1,5%
- h. Pertumbuhan koloni bakteri pada Kontrol Kuman
- i. Pertumbuhan koloni bakteri pada *Original Inoculum*

Hasil pengamatan terhadap jumlah koloni bakteri *Streptococcus mutans* yang dihasilkan pada media BHIA dalam beberapa konsentrasi minyak atsiri kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) menunjukkan hasil yang cukup bervariasi.

Jumlah koloni bakteri *Streptococcus mutans* yang dihasilkan pada media BHIA cenderung semakin menurun ketika diberikan konsentrasi yang lebih tinggi. Dengan demikian telah terbukti bahwa pemberian perlakuan minyak atsiri kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) mempunyai pengaruh sebagai antibakteri yang berbeda tergantung dari besarnya konsentrasi yang diberikan.

KBM (Kadar bunuh minimum) adalah kadar terendah dari antibakteri yang dapat membunuh bakteri (ditandai dengan tidak tumbuhnya kuman pada BHIA) atau pertumbuhan koloni bakterinya kurang dari 0,1 % dari jumlah koloni bakteri pada OI (*Original Inoculum*). *Original Inoculum* yang didapat adalah $5,31 \times 10^5$ CFU/Plate.

Berdasarkan hasil pertumbuhan dan perhitungan koloni bakteri *Streptococcus mutans* tersebut dapat ditentukan KBM (Kadar Bunuh Minimum) dari minyak atsiri kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terdapat pada konsentrasi 0,3% (Tabel 5.1).

Tabel 5.1 Rata-rata Pertumbuhan Koloni *Streptococcus mutans*

Konsentrasi	N	Rata-rata + Standar Deviasi	Notasi
0%	4	3165,25 ± 160,776	a
0,00048%	4	1594,25 ± 486,727	b
0,0024%	4	1260,50 ± 210,316	b
0,012%	4	1162,75 ± 139,495	b
0,06%	4	774,25 ± 94,894	b
0,3%	4	0	b
1,5%	4	0	b

Keterangan:

N : Jumlah kelompok yang diteliti

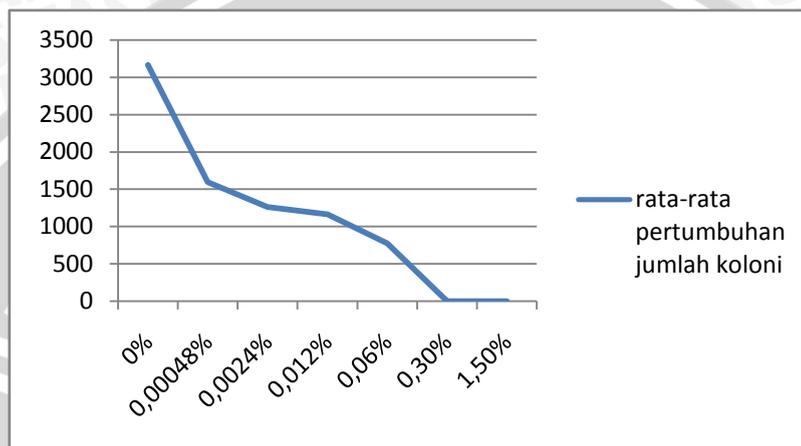
a : kelompok memiliki perbedaan bermakna pada uji statistik

b : kelompok memiliki perbedaan bermakna dan memiliki perbedaan tidak bermakna pada uji statistik

Berdasarkan tabel 5.1 dibuat diagram yang menunjukkan hubungan rata-rata pertumbuhan koloni *Streptococcus mutans* dengan berbagai

konsentrasi minyak atsiri kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*). Dari diagram tersebut dapat diamati bahwa terjadi penurunan jumlah koloni seiring dengan peningkatan konsentrasi (Gambar 5.7).

Diagram Pertumbuhan Jumlah Koloni *Streptococcus mutans* Terhadap Konsentrasi Minyak Atsiri Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*)



Gambar 5.7 Diagram Pertumbuhan Jumlah Koloni *Streptococcus mutans* Terhadap Konsentrasi minyak atsiri kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*)

5.6 Analisis Data

Uji normalitas data dilakukan menggunakan uji *Shapiro-Wilk Test*. Melalui uji normalitas data, hasil penelitian jumlah koloni bakteri *Streptococcus mutans* yang tumbuh pada minyak atsiri kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dari berbagai konsentrasi ini diperoleh nilai signifikansi koloni sebesar 0,805 ($p > 0,05$) yang menunjukkan bahwa data terdistribusi normal (Lampiran 2). Berdasarkan uji homogenitas, diperoleh nilai signifikansi sebesar 0,082 ($p > 0,05$) yang menunjukkan bahwa varian data atau homogenitas data adalah sama. (Lampiran 2). Dari data uji normalitas dan uji homogenitas yang diperoleh memenuhi syarat untuk dilakukan uji *One- Way ANOVA*.

Pada uji *One-Way* ANOVA didapatkan angka signifikansi 0,000 ($p < 0,05$) (Lampiran 2). Hal ini berarti efek pemberian berbagai tingkat konsentrasi minyak atsiri kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap jumlah koloni rata-rata *Streptococcus mutans* adalah berbeda secara signifikan pada taraf kepercayaan 95%. Uji *Post Hoc* merupakan uji yang digunakan untuk menentukan rerata yang memiliki perbedaan bermakna dan tidak bermakna (Brockopp & Hastings-Tolsma, 1995). Pada uji *Post Hoc* didapatkan perbedaan bermakna antara konsentrasi 0% dengan konsentrasi 0,00048%, 0,0024%, 0,012%, 0,06%, 0,3% dan 1,5% dengan nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$) yang menunjukkan bahwa ada perbedaan yang bermakna pada kelompok sampel yang ditunjukkan. Tidak terdapat perbedaan bermakna antara konsentrasi 1,5% dengan konsentrasi 0,3% didapatkan nilai signifikansi 1,000 ($p > 0,05$) yang menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna pada kelompok sampel yang ditunjukkan. Terdapat perbedaan bermakna antara konsentrasi 1,5% dengan 0,00048%, 0,0024%, 0,012%, dan 0% dengan nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$) yang menunjukkan bahwa ada perbedaan yang bermakna pada kelompok sampel yang ditunjukkan. Terdapat perbedaan bermakna antara konsentrasi 1,5% dengan 0,06% didapatkan nilai signifikansi 0,001 ($p < 0,05$) yang menunjukkan bahwa ada perbedaan yang bermakna pada kelompok sampel yang ditunjukkan. Terdapat perbedaan bermakna antara konsentrasi 0,3% dengan 0,00048%, 0,0024%, 0,012%, dan 0% dengan nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$) yang menunjukkan bahwa ada perbedaan yang bermakna pada kelompok sampel yang ditunjukkan. Terdapat perbedaan bermakna antara konsentrasi 0,3% dengan 0,06% didapatkan nilai signifikansi 0,001 ($p < 0,05$) yang menunjukkan bahwa ada perbedaan yang bermakna pada kelompok

sampel yang ditunjukkan. Tidak terdapat perbedaan bermakna antara konsentrasi 0,06% dengan 0,012% didapatkan nilai signifikansi 0,206 ($p > 0,05$) yang menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna pada kelompok sampel yang ditunjukkan. Tidak terdapat perbedaan bermakna antara konsentrasi 0,06% dengan 0,0024% didapatkan nilai signifikansi 0,063 ($p > 0,05$) yang menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna pada kelompok sampel yang ditunjukkan. Terdapat perbedaan bermakna antara konsentrasi 0,06% dengan 0,00048% didapatkan nilai signifikansi 0,001 ($p < 0,05$) yang menunjukkan bahwa ada perbedaan yang bermakna pada kelompok sampel yang ditunjukkan. Terdapat perbedaan bermakna antara konsentrasi 0,06% dengan 0% didapatkan nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$) yang menunjukkan bahwa ada perbedaan yang bermakna pada kelompok sampel yang ditunjukkan. Tidak terdapat perbedaan bermakna antara konsentrasi 0,012% dengan 0,0024% didapatkan nilai signifikansi 0,995 ($p > 0,05$) yang menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna pada kelompok sampel yang ditunjukkan. Tidak terdapat perbedaan bermakna antara konsentrasi 0,012% dengan 0,00048% didapatkan nilai signifikansi 0,125 ($p > 0,05$) yang menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna pada kelompok sampel yang ditunjukkan. Terdapat perbedaan bermakna antara konsentrasi 0,012% dengan 0% dengan nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$) yang menunjukkan bahwa ada perbedaan yang bermakna pada kelompok sampel yang ditunjukkan. Tidak terdapat perbedaan bermakna antara konsentrasi 0,0024% dengan 0,00048% didapatkan nilai signifikansi 0,359 ($p > 0,05$) yang menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna pada kelompok sampel yang ditunjukkan. Terdapat perbedaan bermakna antara konsentrasi

0,0024% dengan 0% dengan nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$) yang menunjukkan bahwa ada perbedaan yang bermakna pada kelompok sampel yang ditunjukkan (Lampiran 2).

Hasil uji korelasi menunjukkan angka signifikansi 0.002 ($p < 0,05$) yang berarti terdapat hubungan yang bermakna antara pemberian ekstrak minyak atsiri kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dengan pertumbuhan koloni bakteri *Streptococcus mutans* (Lampiran 2). Besar koefisien korelasi yaitu -0,563 yang berarti bahwa tanda negatif menunjukkan hubungan yang terbalik yaitu semakin tinggi konsentrasi minyak atsiri kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) maka semakin sedikit jumlah koloni bakteri *Streptococcus mutans* yang tumbuh. Koefisien korelasi sebesar 0,563 menunjukkan tingkat korelasi yang kuat. Pada uji regresi didapatkan nilai R Square sebesar 0,317 yang menunjukkan besarnya derajat keeratan hubungan antara konsentrasi minyak atsiri kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dengan jumlah koloni bakteri *Streptococcus mutans* yaitu 31,7%. Sedangkan sisanya yaitu 68,3% disebabkan faktor lain yang tidak diteliti. Faktor-faktor tersebut, misalnya kualitas dalam penyimpanan alat-alat pada laboratorium, lama penyimpanan ekstrak, suhu tempat penyimpanan ekstrak atau resistensi bakteri itu sendiri. Rumus umum koefisien regresi yaitu $Y = a + bx$. Dimana nilai konstanta (a), koefisien Regresi (b), variabel bebas (X), variabel terikat (Y). Hubungan antara konsentrasi minyak atsiri kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap jumlah koloni bakteri *Streptococcus mutans* dapat dinyatakan dengan rumus $Y = 1437 - 1122X$, dimana Y adalah jumlah koloni bakteri *Streptococcus mutans*, sedangkan X adalah konsentrasi ekstrak minyak atsiri kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*). Dari persamaan ini dapat diinterpretasikan bahwa setiap peningkatan dosis ekstrak sebesar 1% akan

diikuti dengan penurunan jumlah koloni secara signifikan sebanyak 1.112 koloni bakteri. Oleh karena itu, semakin tinggi konsentrasi pemberian minyak atsiri kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) yang dipergunakan, maka pemberian minyak atsiri kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) berpengaruh dalam menurunkan jumlah koloni bakteri *Streptococcus mutans*.

