

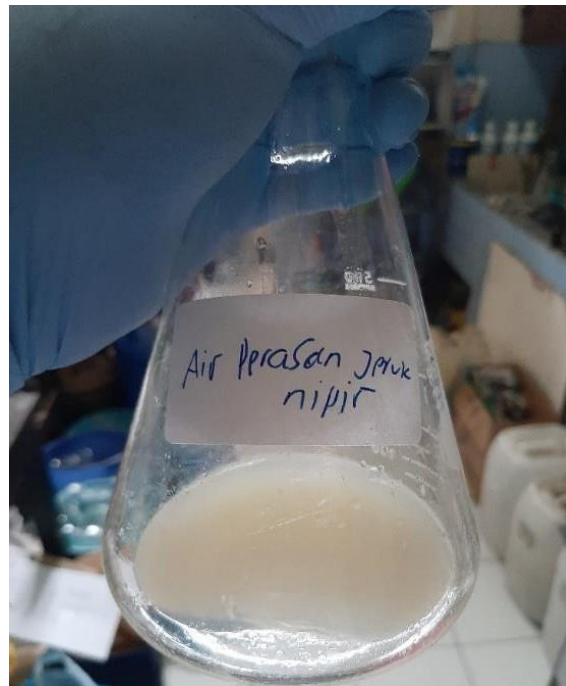
BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

IV.1. Hasil

IV.1.1. Air Perasan Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*)

Penulis menggunakan air perasan jeruk nipis yang dicuci menggunakan air mengalir, kemudian dicuci kembali menggunakan alkohol 70% sebanyak 500 ml yang didapatkan dengan mencampurkan alkohol 96% sebanyak 350 ml dengan aquades sebanyak 150 ml. Kemudian jeruk nipis dipotong menjadi 4 bagian menggunakan pisau dan telenan yang sudah disterilisasi menggunakan alkohol 96%, lalu jeruk nipis diperas secara manual menggunakan tangan dan disaring menggunakan kertas saring steril.



Gambar IV.1 Air perasan jeruk nipis

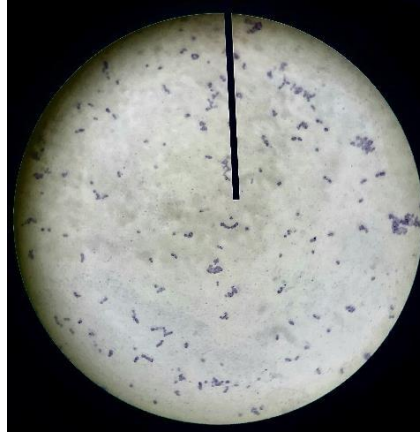
IV.1.2. Identifikasi *Streptococcus pyogenes*

Identifikasi bakteri *S. pyogenes* dilakukan dengan cara menanam bakteri pada agar darah dengan tujuan untuk melihat koloni bakteri dan mengetahui tipe hemolisa dari bakteri. Setelah ditanam pada agar darah kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, dan hasilnya tampak zona hemolisis tipe β yang bening disekitar koloni kuman. (tampak pada gambar IV.2)



Gambar IV.2 Hasil identifikasi bakteri pada agar darah

Setelah penanaman pada agar darah, peneliti melakukan pewarnaan Gram untuk melihat struktur bakteri. Hasilnya tampak bakteri berbentuk bulat, tersusun seperti rantai berwarna ungu (Streptokokus Gram positif). Berdasarkan hasil identifikasi bakteri pada agar darah dan identifikasi bakteri dengan pewarnaan Gram, didapatkan hasil bahwa bakteri yang diidentifikasi adalah bakteri *S.pyogenes*.



Gambar IV.3 Hasil identifikasi bakteri dengan pewarnaan Gram

IV.1.3. Hasil uji daya hambat air perasan jeruk nipis terhadap pertumbuhan bakteri *S.pyogenes*

Hasil uji efektivitas antibakteri air perasan jeruk nipis terhadap pertumbuhan bakteri *S.pyogenes* menggunakan metode difusi cakram Kirby-Bauer pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% dengan menggunakan kontrol positif cefotaxim dan kontrol negatif dengan aquades steril.

Bakteri *S.pyogenes* diinokulasikan pada agar Mueller Hinton kemudian pada permukaan agar ditanam cakram uji yang mengandung air perasan jeruk nipis dengan berbagai konsentrasi, kontrol positif dan kontrol negatif.

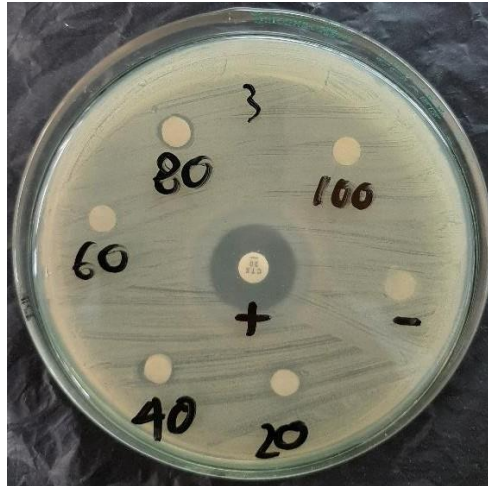
Adanya hambatan pada pertumbuhan bakteri ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening disekitar cakram yang diukur menggunakan jagka sorong. Pada penelitian ini dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali sesuai dengan rumus Federer dan hasilnya tampak pada gambar (IV.4, IV.5, IV.6, IV.7) :



Gambar IV.4 Hasil uji efektivitas air perasan jeruk nipis terhadap bakteri *S.pyogenes* percobaan pertama
Sumber: dokumen pribadi



Gambar IV.5 Hasil uji efektivitas air perasan jeruk nipis terhadap bakteri *S.pyogenes* percobaan kedua
Sumber: dokumen pribadi



Gambar IV.6 Hasil uji efektivitas air perasan jeruk nipis terhadap bakteri *S.pyogenes* percobaan ketiga
Sumber: dokumen pribadi



Gambar IV.7 Hasil uji efektivitas air perasan jeruk nipis terhadap bakteri *S.pyogenes* percobaan keempat
Sumber: dokumen pribadi

Tabel IV.1 Hasil pengukuran diameter zona hambat air perasan jeruk nipis terhadap pertumbuhan bakteri *S.pyogenes*

Pengulangan Perlakuan	Diameter Zona Hambatan (mm)						
	20%	40%	60%	80%	100%	K(+)	K(-)
1.	-	-	-	-	-	17,1	-
2.	-	-	-	-	-	17,55	-
3.	-	-	-	-	-	17,3	-
4.	-	-	-	-	-	17,2	-
Rata-Rata Zona Hambatan	-	-	-	-	-	17,28	-

Pada tabel diatas didapatkan hasil bahwa air perasan jeruk pada konsentrasi perasan jeruk nipis dengan dalam 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100% tidak mempunyai efek antibakteri terhadap *S.pyogenes*. Hal ini dibuktikan dengan tidak adanya diameter zona hambat disekitar cakram yang mengandung air perasan jeruk nipis dalam berbagai konsentrasi. Pada kontrol dengan antibiotik cefotaxim didapatkan rata-rata diameter zona hambat sebesar 17.28 mm. Hal membuktikan bahwa hipotesis nol diterima dan hipotesis alternatif ditolak.

IV.2 Pembahasan

Penulis menggunakan metode difusi cakram Kirby-Bauer untuk menguji aktivitas antibakteri air perasan jeruk nipis terhadap bakteri *S.pyogenes*. Metode ini sudah digunakan sejak tahun 1940 oleh banyak lab mikrobiologi untuk menentukan aktivitas antibakteri dan metode ini juga memiliki kelebihan yaitu cara kerja yang sederhana dan ekonomis. ²⁴

Pada penelitian ini tidak ditemukan adanya zona hambatan disekitar cakram dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% 100% dan kontrol negatif. Hal ini membuktikan bahwa air perasan jeruk nipis tidak menghambat pertumbuhan bakter *S.pyogenes*. Sedangkan pada

kontrol positif dengan cefotaxim didapatkan didapatkan zona hambatan dengan diameter rata-rata 17.28 mm yang berarti bakteri *S.pyogenes* sensitif terhadap cakram antibiotik cefotaxim.

Pada penelitian ini air perasan jeruk nipis tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S.pyogenes*. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya :

1. Metode.

Menurut Kooshari H et all, pada pengujian aktivitas antibakteri dari ekstrak tumbuhan, metode difusi sumuran dapat menunjukkan hasil yang lebih baik dibandingkan dengan metode difusi cakram Kirby-Bauer. Kemungkinan hal ini terjadi karena kurang meresapnya ekstrak tumbuhan kedalam cakram sehingga jumlah zat aktif yang berdifusi kedalam agar akan lebih sedikit jika dibandingkan dengan zat aktif yang berdifusi menggunakan metode sumuran.²⁵

2. pH

pH mempengaruhi ukuran zona hambatan pada uji efektivitas. Menurut penelitian Doughari JH pada tahun 2006 aktivitas antibakteri meningkat pada keadaan asam (pH 2-6) dan menurun pada keadaan basa, hal ini ditandai dengan zona hambatan yang tampak pada keadaan asam lebih lebar dibandingkan dengan keadaan basa. Namun, menurut American Society For Microbiology pH yang optimal untuk agar Mueller Hinton adalah 7,2 – 7,4. Hal ini dikarenakan jika pH <7,2 dapat mengurangi aktivitas antibakteri obat *aminoglycosides* dan *quinolones* serta dapat meningkatkan aktivitas antibakteri dari obat *tetracycline*. Jika pH >7,4 akan menunjukkan aktivitas yang sebaliknya.^{26,27,28}

3. Ketebalan agar

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Flanagan dan Steck pada tahun 2017, didapatkan hasil bahwa ketebalan agar Mueller Hinton yang paling optimal adalah 4 mm yang dibuktikan dengan zona hambatan yang lebih besar dibandingkan dengan agar Mueller Hinton yang memiliki ketebalan 6 mm dan 8 mm.²⁹

4. Kelembaban media.

Kelembaban media berperan penting dalam proses uji efektivitas dengan menggunakan metode difusi cakram Kirby-Bauer. Ketika cakram uji ditanam diatas agar, kelembaban agar akan menyerap zat aktif dan mendifusikannya ke dalam agar. Jika kelembaban media kurang akan menghambat difusi zat aktif pada media sehingga zona hambatan tidak terbentuk ataupun mengecil. Sebelum digunakan, agar Mueller Hinton harus dihangatkan pada suhu ruangan selama 10 – 30 menit. Untuk menjaga kelembaban, media agar tidak boleh terkena sinar matahari langsung, tidak boleh membeku dan hanya dapat digunakan selama 70 hari sejak dibuat.^{26,28}

Menurut penelitian Mukhtiasari yang melakukan uji efektivitas antibakteri air perasan jeruk nipis terhadap bakteri *S.dysentriae* dengan menggunakan metode sumuran didapatkan hasil air perasan jeruk nipis dengan konsentrasi 6,25%, 12,5%, 25%, 50% dan 100% dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S.dysentriae*. Kemudian menurut Taiwo dkk, air perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. Coli*, *Klebsiella sp.*, *Proteus sp.*, *Pseudomonas sp.* Sedangkan menurut Penelitian yang dilakukan oleh Razak dkk didapatkan hasil bahwa air perasan jeruk nipis dengan konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100% mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus*. Menurut penelitian Hajati SP yang melakukan uji efektivitas antibakteri air perasan jeruk nipis terhadap pertumbuhan *S.pyogenes*, didapatkan hasil bahwa air perasan jeruk nipis terbukti dapat menghambat pertumbuhan *S.pyogenes*.^{28,30,31}

Menurut penelitian Nikolaus T dan Nagi M yang melakukan penelitian uji aktivitas bakterisidal menggunakan beberapa ekstrak tumbuhan terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli* ATCC 11229, *Proteus mirabilis* ATCC 14159, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 pada tahun 2003, didapatkan hasil bahwa ekstrak timus lebih sensitif dalam menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dibandingkan dengan bakteri gram negatif. Kemudian menurut Kooshari H et all, yang melakukan uji aktivitas antibakteri menggunakan tumbuhan endemik Iran Utara terhadap pertumbuhan *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus epidermidis*, *Shigella dysentery* and *Enterococcus*

faecalis pada tahun 2015, didapatkan hasil bahwa ekstrak tumbuhan lebih sensitif terhadap bakteri Gram positif dibandingkan bakteri Gram negatif, hal ini mungkin terjadi karena pada bakteri Gram negatif terdapat lapisan lippo sakarida dan celah periplasmik yang menyebabkan resistensi pada bakteri Gram negatif.^{25,32}