

## BAB V

### HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

#### A. Gambaran Umum Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan 12 Mei 2023 sampai dengan 25 Mei 2023. Lokasi pengambilan sampel lamun *Enhalus acoroides* dilakukan di Kelurahan Lalowaru, Kec. Moramo Utara, Kab. Konawe Selatan, Sulawesi Tenggara dapat dilihat pada (Gambar 5). Proses Ekstraksi dan Uji aktivitas antibakteri dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Politeknik Bina Husada Kendari.



Gambar 5. Lokasi Pengambilan Sampel

#### B. Hasil Penelitian

Hasil penelitian dengan 5 varian konsentrasi ekstrak lamun (*Enhalus acoroides*) terhadap bakteri *Vibrio parahaemolyticus* dengan menggunakan metode *diffusi agar* yang dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Politeknik Bina Husada Kendari diperoleh zona hambat yang disajikan dalam bentuk tabel sebagai berikut :

**Tabel 2.** Hasil pengukuran zona hambat ekstrak lamun (*Enhalus acoroides*) terhadap bakteri *Vibrio parahaemolyticus*.

No	Konsentrasi %	Waktu pengamatan	Diameter zona Hambat (mm)		Rata-Rata (mm)	Interprestasi hasil
			P1	P2		
1	20%	1 x 24 jam	0	0	0	Negatif
2	40%	1 x 24 jam	0	0	0	Negatif
3	60%	1 x 24 jam	0	0	0	Negatif
4	80%	1 x 24 jam	0	0	0	Negatif
5	100%	1 x 24 jam	5,3	7,9	6,6	Resisten
6	Kontrol (+) ( <i>chloramphenicol</i> )	1 x 24 jam	30,2	37,4	33,8	Sensitif
7	Kontrol (-) ( <i>Aquadest</i> )	1 x 24 jam	0	0	0	Negatif

Keterangan :

Resisten :  $\leq 17\text{mm}$

Intermediate : 18-20

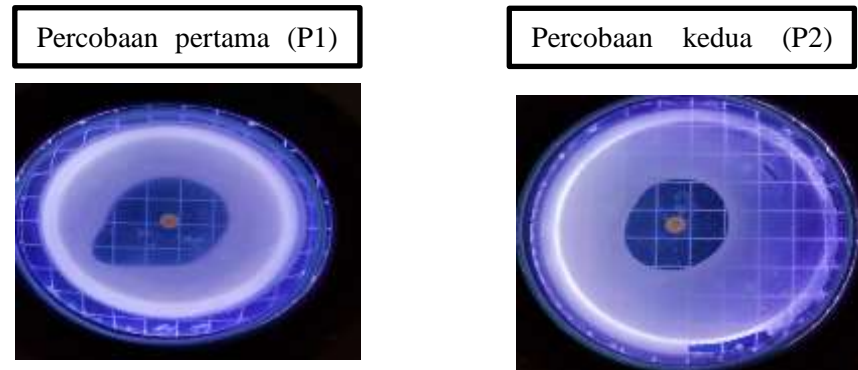
Sensitive :  $\geq 21$

P1 : Pengulangan 1

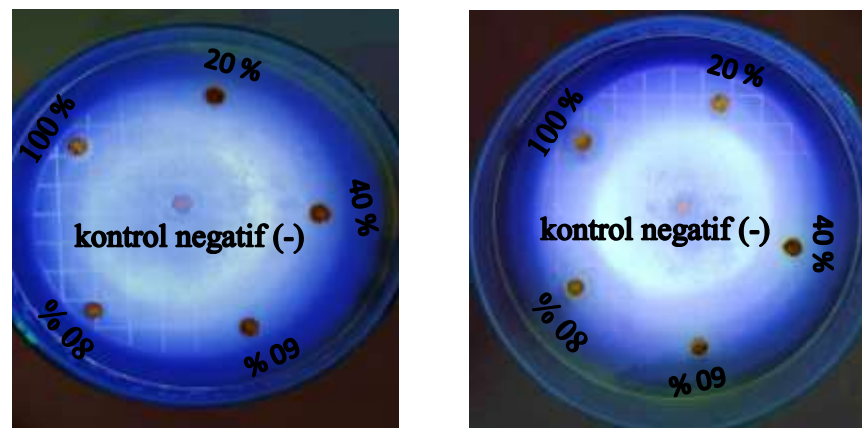
P2 : Pengulangan 2

Berdasarkan tabel 2 di atas, hasil penelitian uji daya hambat tanaman lamun (*Enhalus acoroides*) terhadap bakteri *Vibrio parahaemolyticus* yang dilakukan dengan 2 kali pengulangan, menunjukkan daya hambat yang tidak efektif. Rata-rata pengukuran diameter zona hambat dengan 2 kali pengulangan pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, dan 80% diinterpretasikan tidak memiliki daya hambat. Konsentrasi 100% zona hambat yang terbentuk pada (P1) sebesar 5,3 mm dan pada percobaan kedua (P2) sebesar 7,9 mm dengan rata-rata 6,6 mm diinterpretasikan memiliki respon daya hambat lemah (Resisten). Kontrol (+) yaitu antibiotik *Cloramfenicol* yang digunakan sebagai pembanding terhadap daya hambat ekstrak lamun (*Enhalus acoroides*) memiliki respon daya hambat yang kuat (Sensitif) terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio parahaemolyticus*.

Pengamatan hasil penelitian dilakukan dengan memperhatikan zona bening disekitar *paper disc* yang menunjukkan adanya daya hambat terhadap bakteri *Vibrio parahaemolyticus* yang dapat dilihat pada gambar dibawah ini :



**Gambar 6.** Hasil uji daya hambat kontrol (+) cloramfenicol. Perlakuan pertama (kiri) dan kedua (kanan)



**Gambar 7.** Hasil uji daya konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100%. Perlakuan pertama (kiri) dan kedua (kanan)

Pengamatan pewarnaan gram pada bakteri *Vibrio parahemolyticus* hasil identifikasi menunjukkan bakteri tersebut adalah bakteri gram negatif, dapat berfisat motil, memiliki bentuk seperti tanda koma yang mempunyai ukuran dengan lebar berkisar antara 0,5-0,8  $\mu\text{m}$  dengan panjang 1,4-2,6  $\mu\text{m}$  (Jawetz dkk, 2012). Yang dapat dilihat pada gamabar di bawah ini :



**Gambar 8.** Hasil identifikasi pewarnaan gram bakteri *Vibrio parahaemolyticus*

### C. Pembahasan

Pada penelitian uji daya hambat tanaman laumun (*Enhalus acoroides*) terhadap bakteri *Vibrio parahaemolyticus* yang dilakukan dengan beberapa tahap yaitu di mulai dari tahap pembuatan ekstrak, pembuatan media, pembuatan konsentrasi sampai dengan tahap pengujian daya hambat bakteri dengan menggunakan metode difusi agar atau *kirby bauer* dengan pengujian ekstrak laumun (*Enhalus acoroides*) yang dibuat dalam 5 varian konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% yang di Lakukan di Laboratorium Mikrobiologi Politeknik Bina Husada Kendari.

Pengujian daya hambat terhadap bakteri *Vibrio parahaemolyticus* dengan menggunakan metode difusi agar atau *kirby bauer* diinkubasi selama  $1 \times 24$  jam di dalam inkubator dengan zona hambat yang ditandai dengan terbentuknya daerah bening disekitaran *paper disk*. Pengujian ini dilakukan dengan 2 kali pengulangan. Dengan menggunakan kontrol positif dan kontrol negatif yang bertujuan sebagai pembanding untuk menentukan kemampuan ekstrak laumun (*Enhalus acoroides*) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio parahaemolyticus*. kontrol positif yang digunakan yaitu antibiotik *Cloramfenicol* dengan rata-rata hasil pengukuran zona hambat dengan 2 kali pengulangan adalah 33,8 mm yang dikategorikan sensitif terhdap bakteri *Vibrio parahaemolyticus* dan aquadest sebagai kontrol negatif dengan hasil pengukuran zona hambat adalh 0 mm yang menunjukkan bahwa kontrol negatif tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio parahaemolyticus*.

*Cloramfenicol* adalah antibiotik *broad-spectrum* yang bersifat bakteristatik terhadap gram positif aerob maupun anaerob dan bakteri gram negatif (Andrianti, 2021). Sedangkan aquadest adalah air hasil penyulingan yang bebas dari zat-zat pengotor sehingga bersifat murni dan aquadest senyawa netral yang tidak berefek terhadap pertumbuhan bakteri (Khotimah, 2017).

Berdasarkan pengamatan yang telah dilakukan, didapatkan hasil bahwa ekstrak lamun (*Enhalus acoroides*) pada konsentrasi yang paling tinggi memiliki daya hambat yang jauh lebih kecil apabila dibandingkan dengan antibiotik *Cloramfenicol* sehingga dikategorikan resisten atau tidak efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio parahaemolyticus*.

Pada hasil tabulasi data pengamatan pada tabel 2 menunjukkan pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, dan 80% setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 × 24 jam baik percobaan pertama (P1) maupun percobaan (P2) tidak ditemukan zona bening disekitaran *paper disk*. Konsentrasi 100% terbentuk zona bening disekitaran *paper disk* dengan diameter zona hambat rata-rata sebesar 6,6 mm. Jika dilihat dari ketentuan (CLSI, 2020), Bahwa zona hambat  $\leq 17$  mm dikategorikan respon daya hambat lemah (*Resisten*), zona hambat 18-20 mm dikategorikan respon daya hambat sedang (*Intermediet*), zona hambat  $\geq 21$  dikategorikan respon daya hambat sangat kuat (*Sensitif*), maka dapat dikatakan bahwa respon daya hambat pada konsentrasi 100% masuk dalam kategori resisten atau kurang efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio parahaemolyticus*.

Hasil penelitian ini tidak sejalan dengan penelitian sebelumnya oleh, (Hitijahubessy, dkk, 2021) tentang pengaruh ekstrak lamun *Enhalus acoroides* secara in vitro sebagai antibakteri *Vibrio sp.* penyebab penyakit ice-ice pada rumput laut *Eucheuma cottoni* dengan menggunakan konsentrasi 80% dan 100% yang menunjukkan peningkatan dari ukuran zona hambat yang dihasilkan yang artinya semakin tinggi konsentrasi yang digunakan maka semakin baik zona hambat yang dihasilkan.

Hasil penelitian ini tidak sejalan dengan penelitian sebelumnya, oleh (Hamzah, 2019) tentang analisis *in vitro* aktivitas antibakteri daun sisik naga (*Drymoglossum pilosellaoides*) dalam menghambat bakteri *Vibrio harveyi* dan *Vibrio parahaemolyticus* yaitu pada konsentrasi 50% sampai 100% dapat menghambat bakteri *Vibrio harveyi* dan *Vibrio parahaemolyticus*.

Ada beberapa faktor yang dapat mempengaruhi diameter zona hambat, salah satunya yaitu temperatur inkubasi, kekeruhan suspensi bakteri, ketebalan pada media dan faktor bahan organik asing yang mengganggu.

Temperatur inkubasi menjadi salah satu faktor yang dapat mempengaruhi diameter zona hambat bakteri. Suhu inkubasi untuk memperoleh pertumbuhan yang optimal, inkubasi dilakukan pada suhu 37°C (Febriana, 2019). Inkubasi pada suhu yang tidak tepat dapat menyebabkan difusi kurang baik. Pada penelitian ini suhu pada inkubasi tidak stabil, hal ini karena inkubator yang sering dibuka oleh peneliti lain dan adanya *plate* media yang ditumpuk-tumpuk lebih dari 2 *plate* pada saat inkubasi.

Faktor lain yang dapat mempengaruhi diameter zona hambat bakteri adalah kekeruhan suspensi. Jika suspensi kurang keruh maka diameter zona hambat akan lebih besar, dan sebaliknya jika suspensi lebih keruh diameter zona hambat akan semakin kecil (Sumarno dkk, 2010). Untuk mengukur kekeruhan suspensi bakteri, sebaiknya digunakan larutan *McFarland* 0,5 sebagai pembanding tingkat kekeruhan suspensi bakteri. Pada penelitian ini, tidak dilakukan pengukuran kekeruhan karena keterbatasan bahan.

Selain itu, ketebalan media dapat mempengaruhi diameter zona hambat bakteri. Ketebalan media yang efektif yaitu sekitar 4 mm. jika ketebalan media agar lebih tebal dari 4 mm difusi ekstrak akan menjadi lambat sedangkan kurang jika kurang dari 4 mm difusi ekstrak akan menjadi lambat (Zeniusa, 2019). Pada penelitian ini, media *Muller Hinton*

*Agar* (MHA) tidak dilakukan pengukuran pada media sehingga tidak diketahui secara pasti ketebalan media agar yang digunakan.

Lamun *Enhalus acoroides* memiliki senyawa aktif diantaranya adalah tannin, saponin, triterpenoid, flavonoid dan steroid yang dapat dimanfaatkan sebagai senyawa antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio parahaemolyticus*. tidak terbentuknya daya hambat bakteri juga dipengaruhi oleh bahan organik asing yang, masuk pada cawan petri saat memasukkan suspensi bakteri *Vibrio parahaemolyticus* atau masuknya bahan organik asing yang terkontaminasi bahan uji saat membuat ekstrak sehingga akan menurunkan efektifitas tannin, saponin, triterpenoid, flavonoid dan steroid (Pradana dkk, 2018).

Kekurangan pada penelitian ini yaitu pada tiap *plate* masi diletakan 6 *paper disc* yaitu dengan konsentrasi yang berbeda tiap plate sehingga dapat menyebabkan terjadi kontaminasi antara konsentrasi dalam tiap *plate*. Kemudian pada penelitian ini media pertumbuhan yang seharusnya digunakan adalah media *Thiosulfate-Citrate-Bile Salts-Sukrosa* (TCBS) khusus pertumbuhan bakteri *Vibrio parahaemolyticus*, namun pada penelitian ini menggunakan media *Muller Hinton Agar* (MHA) karena keterbatasan bahan.