

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Determinasi Buah Naga Merah

Determinasi tanaman buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) bertujuan untuk mengetahui kebenaran dari tanaman yang akan diteliti sehingga menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan dan kemungkinan tercampurnya dengan tanaman yang lain. Hasil determinasi menunjukkan bahwa ciri-ciri morfologi buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) yang digunakan pada penelitian ini sesuai dengan literatur. Berdasarkan hasil tersebut diketahui bahwa kulit buah yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*). Determinasi dilakukan di Laboratorium Program Studi Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret. Hasil determinasi dapat dilihat pada lampiran 1.

B. Pengambilan Bahan

Sampel bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) yang diperoleh dari pasar Cawas, Klaten, Jawa Tengah. Buah yang dipilih memiliki kriteria warna kulit merah mengkilap, jumbai atau sisik berwarna kemerahan.

C. Hasil Penetapan Kadar Air Serbuk Kulit Buah Naga Merah

Metode penetapan kadar air adalah destilasi (*Thermovolumetri*). Alat yang digunakan adalah *Bidwell – Sterling*. Bahan ditimbang sebanyak 19,8889 gram dan menambahkan pelarut *xylene* sebanyak 150 ml. Memasang rangkaian alat destilasi dan mengalirkan air melalui selang lalu menyalakan api bunsen. Berikut ini hasil penetapan kadar air serbuk kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*):

Tabel 3. Hasil Penetapan Kadar Air Serbuk Kulit Buah Naga Merah

Berat Bahan (gram)	Skala (ml)	Kadar Air (%)
19,8889	1,4	7,04%

Skala *receiver* menunjukkan angka 1,4 ml. Hasil perhitungan penetapan kadar air adalah 7,04%. Kadar serbuk kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) menunjukkan nilai pada batas normal. Kadar air yang terkandung dalam simplisia tidak boleh lebih dari 10% (Sutrisna, 2016).

D. Hasil Perkolasi Etanol 70% Kulit Buah Naga Merah

Serbuk kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) ditimbang sebanyak 100 gram kemudian direndam dengan etanol 70% selama 24 jam, kemudian dimasukkan kedalam tabung perkolatir yang telah diberi sekat berpori. Etanol 70% kemudian dialirkan dari atas ke bawah melalui serbuk terus menerus dengan kecepatan 1ml/menit dan diatur supaya cairan keluar seimbang dengan

cairan yang ditambahkan dari atas perkolator. Perkolasi dihentikan jika cairan yang keluar tidak berwarna dan jika diuapkan tidak meninggalkan sisa. Hasil perkolasi dipekatkan dengan alat *vacuum rotary evaporator* pada suhu 56°C. Perkolasi digunakan sebagai metode ekstraksi pada penelitian ini karena memiliki keuntungan yaitu proses penarikan zat berkhasiat dari tumbuhan lebih sempurna, sedangkan kerugiannya adalah membutuhkan waktu yang lama dan peralatan yang digunakan mahal. Perkolasi lebih baik dibandingkan dengan cara maserasi karena aliran cairan penyari yang diberikan dapat menyebabkan pergantian larutan menjadi konsentrasinya lebih rendah sehingga meningkatkan derajat perbedaan konsentrasi dan keberadaan ruangan di antara butir-butir serbuk simplisia membentuk saluran kapiler tempat mengalir cairan penyari menyebabkan meningkatnya perbedaan konsentrasi (Pratiwi, 2010). Hasil perhitungan rendemen ekstrak dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Rendemen Ekstrak

Serbuk Halus (gram)	Ekstrak yang didapat (gram)	Rendemen
100	14,67	14,7%

E. Hasil Uji Bebas Etanol Ekstrak Kulit Buah Naga Merah

Ekstrak etanolik kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dilakukan tes bebas alkohol yaitu dengan cara ekstrak ditambahkan asam asetat dan asam sulfat kemudian dipanaskan. Tujuan dilakukan uji bebas alkohol adalah untuk mencegah kesalahan pengamatan dalam tahap penelitian uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dikarenakan etanol memiliki aktivitas

dalam menghambat pertumbuhan bakteri dan dapat mempengaruhi hasil penelitian.

Hasil pengujian bebas etanol dari ekstrak etanolik kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) tidak terbentuk bau ester sehingga dapat dinyatakan ekstrak sudah bebas dari pelarutnya yaitu etanol 70%.

F. Hasil Identifikasi Kandungan Senyawa Kimia

Identifikasi kandungan senyawa kimia bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam ekstrak etanolik kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*). Identifikasi kandungan kimia ekstrak dapat dilihat sebagai berikut:

Tabel 5. Identifikasi Kandungan Kimia Ekstrak Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*)

Senyawa	Hasil			Pustaka
	Pereaksi	Ekstrak	Ket	
Flavonoid	2 ml ekstrak + 2 ml etanol 96% + 0,05 gram serbuk seng + 2ml HCL pekat	Terbentuk warna merah jingga	+	Hasil positif terbentuk warna merah jingga atau kuning (Rumagit <i>et al</i> , 2015)
Alkaloid	2 ml ekstrak + 5 tetes Drgendroff	Terbentuk endapan jingga	+	Hasil positif terbentuk endapan jingga (Ergina <i>et al</i> , 2014)

Lanjutan Tabel 5.

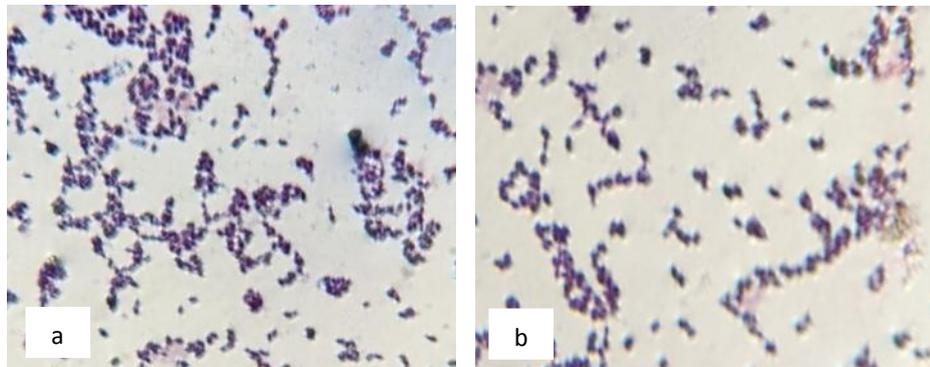
Senyawa	Hasil			Pustaka
	Pereaksi	Ekstrak	Ket	
Tanin	2 ml ekstrak + 3 tetes FeCl ₃ 1%	Terbentuk warna hijau kehitaman	+	Hasil positif terbentuk warna hijau kehitaman atau biru tua (Simaremare, 2014)
Saponin	2 ml ekstrak + 10 ml air panas, didinginkan + kocok kuat selama 10 detik + 1 tetes HCl 2N	Tidak terbentuk buih stabil	-	Hasil positif terbentuk buih stabil (Lanisthi <i>et al</i> , 2015)
Steroid	2 ml ekstrak + CH ₃ COOH glasial 10 tetes + H ₂ SO ₄ pekat 2 tetes	Tidak terbentuk warna biru atau hijau	-	Hasil positif terbentuk warna biru atau hijau (Lanisthi <i>et al</i> , 2015)
Triterpenoid	2 ml ekstrak + CH ₃ COOH glasial 10 tetes + H ₂ SO ₄ pekat 2 tetes	Tidak terbentuk warna merah atau ungu	-	Hasil positif terbentuk warna merah atau ungu (Lanisthi <i>et al</i> , 2015)

Tabel 5 menunjukkan hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak etanolik kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) positif mengandung flavonoid, alkaloid dan tanin dimana senyawa tersebut diduga memiliki aktivitas antibakteri. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak etanolik kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dapat dilihat pada lampiran 5.

G. Isolasi dan Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus*

1. Pewarnaan Gram

Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* secara mikroskop dengan pengecatan Gram. Biakan bakteri *Staphylococcus aureus* diratakan di atas objek glass yang bersih dan bebas dari lemak. Perataan dilakukan dengan menggunakan jarum ose, dikeringkan dan difiksasi serta dicat Gram. Preparat yang telah dicat Gram diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 100 kali.



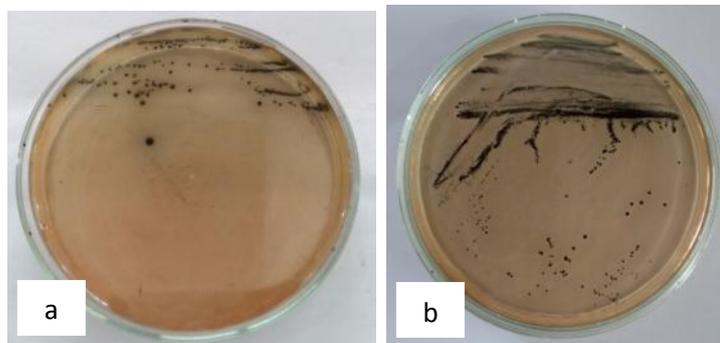
Gambar 5. Hasil Pengecatan Gram Bakteri *Staphylococcus aureus*, (a) *Staphylococcus aureus* Kultur Laboratorium (b) *Staphylococcus aureus* Isolat Sampel Pus Pasien

Berdasarkan gambar 5 dapat diketahui bahwa bakteri tersebut adalah bakteri *Staphylococcus aureus* yang merupakan bakteri Gram positif dan berbentuk bulat, berwarna ungu dan bergerombol. Hasil mikroskopis sesuai dengan literatur yang ada bahwa bakteri *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif berbentuk bulat, fakultas anaerob, tidak membentuk spora, tersusun menyerupai buah anggur, dan tidak bergerak (Kuswiyanto, 2016).

2. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan media *Vogel Johnson Agar* (VJA)

Johnson Agar (VJA)

Isolasi dan identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* dari kultur laboratorium dan isolat sampel pus pasien menggunakan media *Vogel Johnson Agar* (VJA). Bakteri *Staphylococcus aureus* diinokulasikan pada media *Vogel Johnson Agar* (VJA) yang telah ditambahkan kalium tellurit kemudian diinokulasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

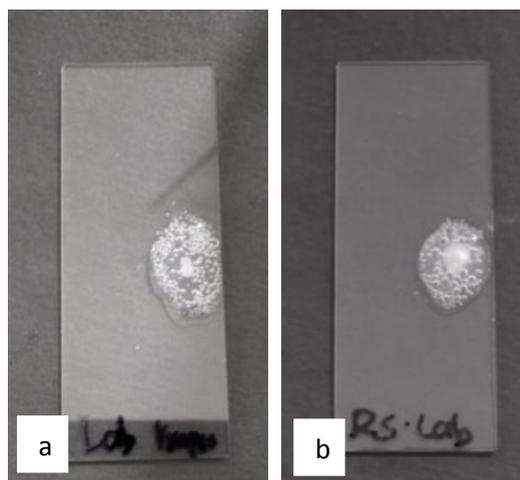


Gambar 6. Koloni Bakteri *Staphylococcus aureus*, (a) *Staphylococcus aureus* Kultur Laboratorium (b) *Staphylococcus aureus* Isolat Sampel Pus Pasien

Berdasarkan gambar 6 menunjukkan bakteri *Staphylococcus aureus* yang ditumbuhkan pada media selektif *Vogel Johnson Agar* (VJA) memiliki ciri-ciri koloni berbentuk bulat, berwarna hitam dan warna media di sekitar koloni berwarna kuning. Koloni hitam ini disebabkan karena *Staphylococcus aureus* mampu mereduksi potassium tellurite yang ditambahkan pada media menjadi logam tellurium yang mengakibatkan koloni berwarna hitam, sedangkan warna kuning di sekitar koloni diakibatkan dari adanya reaksi fermentasi manitol (Primatika *et al*, 2015).

3. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan uji katalase

Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* dengan cara koloni yang telah tumbuh pada media *Vogel Johnson Agar* (VJA) diambil dan diletakkan pada *objek glass* setelah itu ditambah larutan H_2O_2 3%, adanya gelembung gas menunjukkan bakteri *Staphylococcus aureus* menghasilkan enzim katalase. Berdasarkan gambar 7 hasil uji katalase bakteri *Staphylococcus aureus* dari kultur laboratorium dan isolat sampel pus pasien didapatkan hasil positif dengan menunjukkan adanya gelembung gas setelah ditetaskan larutan H_2O_2 3%.

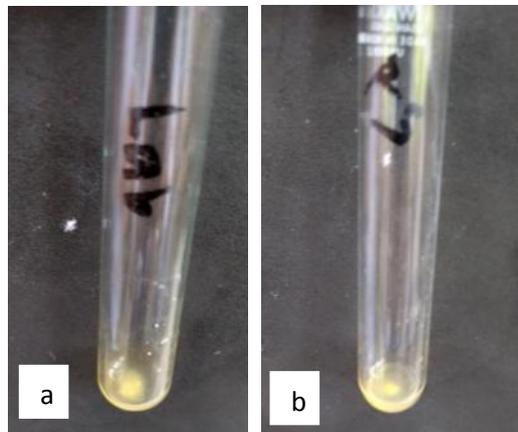


Gambar 7. Hasil Uji Katalase Bakteri *Staphylococcus aureus*, (a) *Staphylococcus aureus* Kultur Laboratorium (b) *Staphylococcus aureus* Isolat Sampel Pus Pasien

Fungsi uji katalase untuk membedakan antara bakteri *Staphylococcus* dan *Streptococcus*, dimana kelompok *Staphylococcus* bersifat katalase positif. Katalase merupakan enzim yang mengubah H_2O_2 menjadi O_2 . Hidrogen peroksida bersifat toksik terhadap sel karena menginaktivkan enzim dalam sel, terbentuk pada saat metabolisme aerob, sehingga mikroorganisme yang tumbuh dalam lingkungan aerob pasti akan menguraikan bahan tersebut (Waluyo, 2004).

4. Identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* menggunakan uji koagulase

Hasil positif uji koagulase ditunjukkan dengan terbentuknya koagulasi atau endapan putih di dasar tabung (Dewi, 2013). Berdasarkan gambar 8 hasil uji koagulase bakteri *Staphylococcus aureus* dari kultur laboratorium dan isolat sampel pus pasien didapatkan hasil positif dengan menunjukkan adanya endapan putih di dasar tabung.



Gambar 8. Hasil Uji Koagulase *Staphylococcus aureus*, (a) *Staphylococcus aureus* Kultur Laboratorium (b) *Staphylococcus aureus* Isolat Sampel Pus Pasien

Hasil positif pada uji koagulase yaitu akan terjadi penggumpalan plasma serta dapat dilihat secara kasat mata dengan adanya plak pada dinding tabung. Koagulase merupakan protein ekstraseluler yang dihasilkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* yang dapat menggumpalkan plasma dengan bantuan faktor yang terdapat dalam serum. Koagulase yang dihasilkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* dapat digunakan sebagai sarana diagnostik (Irianto, 2014).

H. Pengujian Aktivitas Antibakteri Secara Difusi Terhadap Bakteri

Staphylococcus aureus

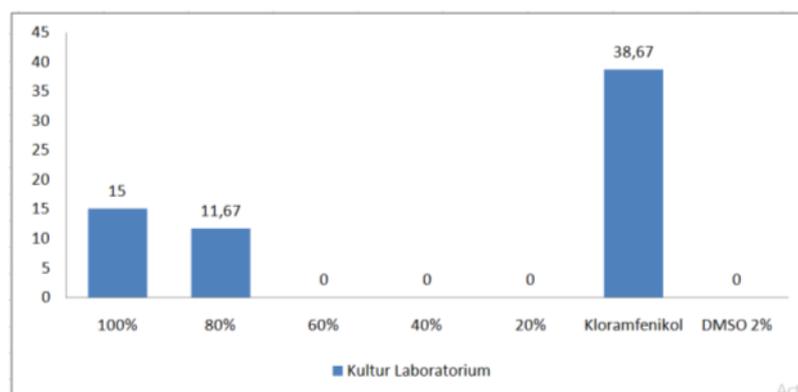
Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanolik kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dilakukan dengan metode difusi sumuran. Larutan stok dibuat dalam lima konsentrasi yaitu 100%, 80%, 60%, 40% dan 20%. Pelarut dan kontrol negatif menggunakan DMSO 2% karena DMSO tidak bersifat toksik. Kontrol positif yang digunakan adalah kloramfenikol 200 ppm karena sudah terbukti sebagai antibakteri.

Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanolik kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dari kultur laboratorium dan isolat sampel pus pasien dilakukan dengan metode difusi dengan waktu inkubasi 24 jam pada suhu 37°C. Daya antibakteri dari setiap ekstrak dapat dilihat dari adanya daerah jernih di sekitar sumuran yang diukur dengan satuan milimeter (mm). Berikut hasil uji aktivitas ekstrak etanolik kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) terhadap *Staphylococcus aureus* kultur laboratorium dan isolat sampel pus pasien yang disajikan dalam bentuk tabel 6 dan gambar 9.

Tabel 6. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dari Kultur Laboratorium

Sampel	Konsentrasi	Diameter Hambat (mm)			
		Replika			Rata-rata
		1	2	3	
Ekstrak Kulit Buah Naga Merah	100%	15	13	17	15
	80%	12	11	12	11,67
	60%	0	0	0	0
	40%	0	0	0	0
	20%	0	0	0	0
Kontrol Positif (Kloramfenikol)		36	40	40	38,67
Kontrol Negatif (DMSO 2%)		0	0	0	0

Hasil diameter daya hambat aktivitas antibakteri dalam bentuk diagram



Gambar 9. Diagram Rata-rata Diameter Daya Hambat Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dari Kultur Laboratorium

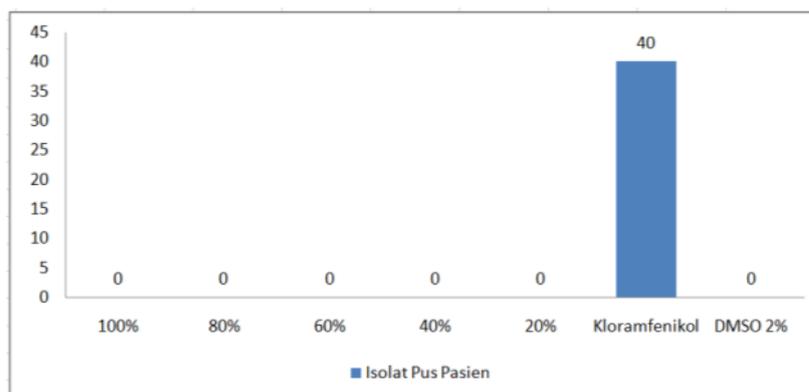
Tabel 6 menunjukkan bahwa daya hambat yang dihasilkan dari ekstrak (*Hylocereus polyrhizus*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* hanya pada konsentrasi ekstrak 100% dan 80%, sedangkan konsentrasi ekstrak 60%, 40%, dan 20% tidak menghasilkan daya hambat. Daya hambat yang paling luas dihasilkan konsentrasi ekstrak 100% dengan rata-rata diameter 15 mm, sedangkan konsentrasi ekstrak 80% menghasilkan daya hambat dengan rata-rata diameter sebesar 11,67 mm. Kloramfenikol sebagai kontrol positif memiliki rata-rata

diameter 38,67 mm. Kontrol negatif yang digunakan yaitu DMSO 2% tidak memiliki daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Gambar hasil uji antibakteri dari ekstrak etanolik kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) secara difusi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dari kultur laboratorium dapat dilihat pada lampiran 9.

Tabel 7. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dari Isolat Sampel Pus Pasien

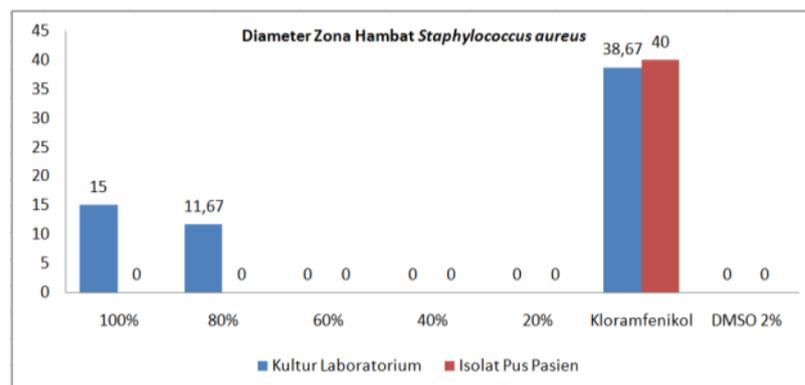
Sampel	Konsentrasi	Diameter Hambat (mm)			Rata-rata
		Replika			
		1	2	3	
Ekstrak Kulit Buah Naga Merah	100%	0	0	0	0
	80%	0	0	0	0
	60%	0	0	0	0
	40%	0	0	0	0
	20%	0	0	0	0
Kontrol Positif (Kloramfenikol)		40	40	40	40
Kontrol Negatif (DMSO 2%)		0	0	0	0

Hasil diameter daya hambat aktivitas antibakteri dalam bentuk diagram



Gambar 10. Diagram Rata-rata Diameter Daya Hambat Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanolik Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dari Isolat Sampel Pus Pasien

Tabel 7 menunjukkan bahwa ekstrak etanolik kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* tidak menghasilkan daya hambat pada semua konsentrasi. Daya hambat hanya dihasilkan oleh Kloramfenikol sebagai kontrol positif dengan rata-rata diameter sebesar 40 mm. Kontrol negatif yang digunakan yaitu DMSO 2% tidak memiliki daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Gambar hasil uji antibakteri dari ekstrak etanolik kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) secara difusi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dari isolat sampel pus pasien dapat dilihat pada lampiran 9.



Gambar 11. Perbandingan Zona Hambat Ekstrak Etanolik Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dari Kultur Laboratorium dan Isolat Sampel Pus Pasien

Berdasarkan gambar 11 menunjukkan bahwa hanya bakteri *Staphylococcus aureus* dari kultur laboratorium yang dapat dihambat pertumbuhannya oleh ekstrak etanolik kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*). Konsentrasi ekstrak yang menghasilkan zona hambat hanya konsentrasi 100% dan 80% dengan rata-rata diameter zona hambat masing-masing 15 mm dan 11,67 yang termasuk dalam kategori kuat. Pengukuran

kekuatan antibiotik – antibakteri dikelompokkan menjadi 4 kategori yaitu daerah hambatan 20 mm atau lebih termasuk kategori sangat kuat, daerah hambatan 10-20 mm kategori kuat, daerah hambatan 5-10 mm kategori sedang dan daerah hambatan ≤ 5 mm kategori lemah (Morales *et al*, 2003). Konsentrasi ekstrak 60%, 40%, dan 20% menunjukkan tidak ada zona hambat yang terbentuk, sehingga ekstrak baru dapat bekerja pada konsentrasi 80%. Berdasarkan hasil pengukuran, diameter zona hambat ekstrak etanolik kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) cenderung meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi. Efektivitas zat antibakteri dipengaruhi oleh konsentrasi zat tersebut. Peningkatan konsentrasi zat menyebabkan peningkatan kandungan senyawa aktif antibakteri sehingga kemampuannya dalam membunuh bakteri juga semakin meningkat (Roslizawaty *et al*, 2013). Ekstrak etanolik kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dari kultur isolat sampel pus pasien hal ini ditunjukkan dengan tidak adanya zona hambat yang dihasilkan oleh konsentrasi ekstrak 100%, 80%, 60%, 40%, dan 20%.

Hasil penelitian sebelumnya ekstrak etanol kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Penelitian yang dilakukan oleh Faridah *et al*. (2015), *Staphylococcus aureus* dapat dihambat pertumbuhannya dengan ekstrak kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dengan menggunakan etanol 60% yang menghasilkan diameter zona hambat sebesar 14 mm pada konsentrasi 73 mg/L. Penelitian tersebut juga

digunakan untuk menghambat *Eschericia coli*, dimana ekstrak lebih berpengaruh terhadap bakteri Gram positif dari pada bakteri Gram negatif.

Kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO 2% yang menunjukkan tidak adanya zona hambat. Pelarut DMSO merupakan pelarut organik dan tidak bersifat bakterisidal sehingga dapat dipastikan aktivitas antibakteri yang dihasilkan tidak dipengaruhi oleh DMSO (Assidqi *et al*, 2012); (Amalia *et al*, 2016). Kloramfenikol sebagai kontrol positif menghasilkan rata-rata diameter zona hambat sebesar 38,67 mm untuk bakteri *Staphylococcus aureus* dari kultur laboratorium, sedangkan rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan Kloramfenikol terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dari isolat sampel pus pasien sebesar 40 mm. Diameter zona hambat tersebut masih tinggi daripada yang dihasilkan oleh ekstrak etanolik kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*), hal ini disebabkan karena Kloramfenikol efektif terhadap beberapa kuman anaerob serta mempunyai aktivitas bakteristatik dan pada dosis tinggi juga bersifat bakterisida. Aktivitas Kloramfenikol dalam menghambat sintesis protein adalah dengan cara mengikat ribosom, yang menyebabkan sintesis protein terhenti (Pratiwi, 2008).

Pemberian ekstrak etanolik kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dapat menghambat pertumbuhan bakteri, zona hambat yang terbentuk dapat dihubungkan dengan senyawa yang terkandung didalamnya. Menurut hasil uji fitokimia yang telah dilakukan terbukti bahwa ekstrak etanolik kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) memiliki kandungan kandungan senyawa metabolit sekunder berupa

flavonoid, alkaloid dan tanin. Mekanisme flavonoid dalam menghambat pertumbuhan bakteri, yaitu dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu keutuhan membran sel bakteri. Mekanisme kerjanya dengan cara mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi (Sabir, 2005); (Prayudhani *et al*, 2013). Alkaloid berperan sebagai antibakteri dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan yang menyebabkan lapisan dinding sel tidak terbentuk sehingga berdampak pada kematian sel (Farida *et al*, 2010). Tanin sebagai antibakteri adalah menghambat enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk, selain itu tanin memiliki aktifitas antibakteri yang berhubungan dengan kemampuannya untuk menginaktifkan adhesin sel mikroba juga menginaktifkan enzim, dan mengganggu transport protein pada pada lapisan dalam sel (Ngajow *et al*, 2013).

Methicilin Resistance Staphylococcus aureus (MRSA) merupakan *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap *Methicilin* (golongan penisilin). Penisilin menghambat protein pengikat penisilin (*penicillin-binding protein*, PBP) yang merupakan enzim dalam membran plasma sel bakteri yang secara normal terlibat dalam penambahan asam amino yang berikatan silang dengan peptidoglikan dinding sel bakteri. Resistensi bakteri terhadap penisilin dapat timbul akibat adanya mutasi yang menyebabkan dihasilkannya produksi protein pengikat penisilin yang berbeda atau akibat bakteri memerlukan gen-gen protein pengikat penisilin yang baru, selain itu resistensi juga dapat muncul akibat bakteri memiliki sistem transpor membran luar yang terbatas, yang mencegah

penisilin mencapai membran sitoplasma. Hal lain yang memungkinkan terjadinya resistensi terhadap penisilin adalah apabila bakteri memiliki kemampuan untuk memproduksi β -laktamase. Antimikroba β -laktam akan dicegah agar tidak mencapai target pada membran sitoplasma oleh enzim β -laktamase dengan cara merusaknya saat antimikroba tersebut melewati membran luar dan lapisan periplasma (Pratiwi, 2008).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri *Staphylococcus aureus* dari isolat sampel pus pasien tidak dapat dihambat pertumbuhannya oleh ekstrak etanolik kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*), hal ini kemungkinan disebabkan oleh bakteri telah terpapar antibiotik, sehingga bakteri lebih tahan dari zat kimia yang akan membunuhnya. *Staphylococcus aureus* yang telah terpapar terus-menerus oleh agen antimikroba dapat menyebabkan mikroorganisme melakukan adaptasi atau penyesuaian aktivitas metabolisme untuk melawan efek obat, misalnya dengan perubahan pola enzim. Mikroorganisme juga dapat memperkuat dinding sel sehingga menjadi permeable terhadap obat atau zat kimia yang akan membunuhnya dan perubahan sisi perlekatan pada dinding sel (Pratiwi, 2008).

I. Pengujian Aktivitas Antibakteri Secara Dilusi Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Hasil pengujian dari ekstrak etanolik kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) dilakukan dengan metode dilusi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dari kultur laboratorium dan isolat sampel pus pasien. Konsentrasi ekstrak

yang digunakan adalah 100%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dapat diketahui dari kekeruhan yang timbul pada tabung reaksi lalu digoreskan pada media agar untuk mengetahui Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) pada penelitian ini susah diamati karena sampel yang digunakan keruh, sehingga dilanjutkan dengan penggoresan pada media *Vogel Johnson Agar* (VJA). Metode dilusi bermanfaat mengetahui dosis minimal dari obat yang bersifat antibakterial. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) yang menunjukkan adanya aktivitas antibakteri dapat diketahui dengan menginokulasikan sediaan dari tabung uji pada media *Vogel Johnson Agar* (VJA) dalam cawan petri steril. Konsentrasi bunuh minimum ditentukan pada media *Vogel Johnson Agar* (VJA) dengan konsentrasi minimum yang tidak menunjukkan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Tabel 8. Hasil Dilusi Antibakteri Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dari Kultur Laboratorium dan Isolat Sampel Pus Pasien

Konsentrasi	Hasil	
	Kultur Laboratorium	Isolat Sampel Pus Pasien
100	-	+
90	-	+
80	-	+
70	+	+
60	+	+
50	+	+
K+	+	+
K-	-	-

Keterangan :

(+): ada pertumbuhan bakteri

(-): tidak ada pertumbuhan bakteri

Kontrol (-): ekstrak kulit buah naga merah 100%

Kontrol (+): suspensi bakteri

Metode dilusi digunakan untuk mengetahui konsentrasi terendah sediaan yang dapat membunuh bakteri uji. Metode ini menggunakan 1 deretan tabung reaksi yang terdiri dari 8 tabung steril dengan konsentrasi 100%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, kontrol (+), dan Kontrol (-). Tabung 1 yang merupakan kontrol negatif berisi larutan ekstrak kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) sebanyak 2 ml. Tabung 2 sampai 7 berisi masing-masing konsentrasi sebanyak 1 ml kemudian ditambahkan suspensi bakteri sebanyak 1 ml secara aseptik. Tabung 8 sebagai kontrol positif hanya berisi suspensi bakteri. Seluruh tabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam, lalu diamati kekeruhannya. Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditentukan dengan cara tabung media yang jernih diinokulasi secara goresan pada media diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Mengamati ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri pada permukaan media selektif. KBM ditunjukkan oleh konsentrasi terendah pada media *Vogel Johnson Agar* (VJA) yang tidak menunjukkan koloni bakteri yang tumbuh.

Dari hasil data penelitian didapatkan nilai Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) bakteri *Staphylococcus aureus* dari kultur laboratorium adalah 80% karena dari subkultur media *Vogel Johnson Agar* (VJA) pada konsentrasi 100%, 90%, dan 80% tidak ditumbuhi oleh bakteri sehingga konsentrasi tersebut efektif untuk membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* dari kultur laboratorium, sedangkan kultur dari isolat sampel pus pasien tidak memiliki nilai Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) karena dari subkultur media *Vogel Johnson Agar* (VJA) pada semua konsentrasi kecuali kontrol negatif ditumbuhi oleh bakteri

Staphylococcus aureus dengan warna bakteri kehitaman, sehingga disimpulkan bahwa ekstrak etanolik kulit buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*) tidak efektif untuk membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* dari isolat sampel pus pasien. Hasil dilusi bakteri *Staphylococcus aureus* dari kultur laboratorium dan isolat sampel pus pasien dapat dilihat pada lampiran 9.

J. Analisis Data

Penelitian ini di uji menggunakan uji *One Way Anova*. Syarat uji *One Way Anova* adalah data harus berdistribusi normal. Hasil uji normalitas dikatakan normal apabila signifikansi $p > 0,05$ yang artinya H_0 diterima. H_0 ditolak apabila signifikansi $p < 0,05$ yang artinya data tidak berdistribusi normal.

Hasil uji normalitas dengan *Shapiro-wilk* diperoleh signifikansi pada *Staphylococcus aureus* kultur laboratorium yaitu 0,000 dengan demikian $p < 0,05$ maka H_0 ditolak dan data tidak berdistribusi normal. Signifikansi *Staphylococcus aureus* isolat sampel pus pasien tidak dapat muncul pada *Shapiro-wilk* maupun karena semua data nol kecuali pada kontrol positif.

Syarat uji *One Way Anova* adalah data harus berdistribusi normal, tapi dari uji normalitas hasilnya adalah kedua data tidak berdistribusi normal, sehingga uji pengganti yang digunakan adalah uji *Kruskal-Wallis*. Signifikansi dari uji *Kruskal-Wallis* untuk *Staphylococcus aureus* kultur laboratorium yaitu $0,003 < 0,05$, maka H_0 ditolak artinya ada perbedaan zona hambat antara berbagai konsentrasi ekstrak yang diberikan, kontrol positif dan kontrol negatif. Signifikansi dari uji *Kruskal-Wallis* untuk *Staphylococcus aureus* isolat sampel

pus pasien yaitu $0,000 < 0,05$, maka H_0 ditolak artinya ada perbedaan zona hambat antara berbagai konsentrasi ekstrak yang diberikan, kontrol positif dan kontrol negatif.

Uji lanjutan selanjutnya yaitu uji *Mann Whitney* untuk mengetahui perbedaan rata-rata zona hambat pada dua perlakuan. Hasil uji *Man Whitney* untuk *Staphylococcus aureus* kultur laboratorium dan isolat sampel pus pasien adalah sebagai berikut:

Tabel 9. Hasil Uji *Mann Whitney* Terhadap *Staphylococcus aureus* kultur laboratorium dan isolat sampel pus pasien

Perlakuan	Pembanding	Asymp. Sig.	
		Kultur Laboratorium	Isolat Sampel Pus Pasien
Kontrol Negatif (DMSO 2%)	Ekstrak 100%	0,037	1,000
	Ekstrak 80%	0,034	1,000
	Ekstrak 60%	1,000	1,000
	Ekstrak 40%	1,000	1,000
	Ekstrak 20%	1,000	1,000
	Kontrol Positif (Kloramfenikol)	0,034	0,025
Ekstrak 100%	Ekstrak 80%	0,046	1,000
	Ekstrak 60%	0,037	1,000
	Ekstrak 40%	0,037	1,000
	Ekstrak 20%	0,037	1,000
	Kontrol Positif (Kloramfenikol)	0,046	0,025
Ekstrak 80%	Ekstrak 60%	0,034	1,000
	Ekstrak 40%	0,034	1,000
	Ekstrak 20%	0,034	1,000
	Kontrol Positif (Kloramfenikol)	0,043	0,025
Ekstrak 60%	Ekstrak 40%	1,000	1,000
	Ekstrak 20%	1,000	1,000
	Kontrol Positif (Kloramfenikol)	0,034	0,025

Lanjutan Tabel 9.

Perlakuan	Pembeding	Asymp. Sig.	
		Kultur Laboratorium	Isolat Sampel Pus Pasien
Ekstrak 40%	Ekstrak 20%	1,000	1,000
	Kontrol Positif (Kloramfenikol)	0,034	0,025
Ekstrak 20%	Kontrol Positif (Kloramfenikol)	0,034	0,025

Tabel 9 menunjukkan hasil uji *Man Whitney* untuk *Staphylococcus aureus* kultur laboratorium dan isolat sampel pus pasien. Hasil signifikan $< 0,05$ disimpulkan ada perbedaan rata-rata zona hambat pada dua perlakuan, sedangkan signifikan $> 0,05$ disimpulkan tidak ada perbedaan rata-rata zona hambat pada dua perlakuan.

Uji selanjutnya yaitu *Descriptives* untuk mengetahui konsentrasi paling baik dalam menghambat *Staphylococcus aureus* kultur laboratorium dan isolat sampel pus pasien. Mean paling besar dihasilkan oleh Kloramfenikol yaitu sebesar 40,00 pada *Staphylococcus aureus* isolat sampel pus pasien, sedangkan pada kultur laboratorium sebesar 38,67. Mean pada ekstrak dengan konsentrasi 100% terhadap *Staphylococcus aureus* kultur laboratorium sebesar 15,00, hasil ini lebih besar dibandingkan dengan ekstrak dengan konsentrasi yang lain juga terhadap *Staphylococcus aureus* isolat sampel pus pasien. Hasil mean tersebut menunjukkan bahwa ekstrak 100% merupakan ekstrak yang paling baik dalam menghambat *Staphylococcus aureus* kultur laboratorium. Hasil uji *Descriptives* dapat dilihat pada lampiran 12.