

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Karakteristik objek penelitian

Penelitian ini memfokuskan pada biji kepuh dan *virgin coconut oil* sebagai objek penelitian. Biji kepuh yang digunakan harus segar dan bebas dari kerusakan. Sebanyak 3kg biji segar digunakan dalam proses ekstraksi. Biji kepuh segar kemudian dikeringkan menggunakan metode oven pada suhu 50°C selama 24 jam dan dihaluskan menjadi serbuk simplisia sebanyak 310 gram. Ekstrak dibuat dengan merendam 300 gram serbuk simplisia dalam 1500 ml etanol 96% dengan metode maserasi, yang diulang sebanyak 2 kali. Setelah pemekatan menggunakan evaporator, diperoleh ekstrak pekat sebanyak 31 gram. Gambar biji kepuh dan hasil ekstraksi dengan menggunakan etanol dan metode maserasi terdapat pada gambar 7a dan 7b.



(a). Biji kepuh yang telah dikeringkan



(b). Ekstrak pekat biji kepuh

Gambar 7. (a) Biji kepuh (b) Ekstrak pekat

Ekstrak hasil evaporasi merupakan sampel yang akan diujikan pada bakteri *Staphylococcus aureus*. Sampel ekstrak etanol biji kepuh diujikan dalam berbagai konsentrasi yaitu 10%, 15%, 20%, 25% dan 40% yang diencerkan dengan pelarut *virgin coconut oil*.

2. Hasil uji fitokimia ekstrak etanol biji kepuh, *virgin coconut oil*, dan kombinasi ekstrak etanol biji kepuh dengan *virgin coconut oil*.

Berdasarkan hasil uji fitokimia yang sudah dilakukan terhadap sampel ekstrak etanol biji kepuh, *virgin coconut oil*, dan kombinasi ekstrak etanol biji kepuh dengan *virgin coconut oil* di Laboratorium Kimia Terapan Poltekkes Kemenkes Denpasar diperoleh hasil yang dapat dilihat pada tabel 4, 5 dan 6 sebagai berikut :

Tabel 4.

Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Biji Kepuh

No.	Uji Fitokimia	Warna	Keterangan
1.	Alkaloid	Dragendruf : Endapan merah jingga Mayer wagner : Endapan Putih kekuningan	Positif Positif
2.	Saponin	Kuning bening (masih terdapat busa)	Positif
3.	Fenol	Hijau	Positif
4.	Flavonoid	Kuning	Positif
5.	Tanin	Hijau kehitaman	Positif

Berdasarkan data pada tabel 4 diatas, dapat diketahui bahwa pada ekstrak etanol biji kepuh mengandung senyawa alkaloid, saponin, fenol, flavonoid dan juga tanin.

Tabel 5.

Hasil Uji Fitokimia *Virgin Coconut Oil*

No.	Uji Fitokimia	Warna	Keterangan
1.	Alkaloid	Dragendurf : Endapan merah jingga Mayer wagner : Endapan Putih kekuningan	Positif Positif
2.	Saponin	Kuning bening (masih terdapat busa)	Positif
3.	Fenol	Putih bening	Negatif
4.	Flavonoid	Putih keruh	Negatif
5.	Tanin	Putih bening	Negatif

Berdasarkan data pada tabel 5 diatas, dapat diketahui bahwa pada *virgin coconut oil* mengandung senyawa alkaloid dan juga saponin.

Tabel 6.

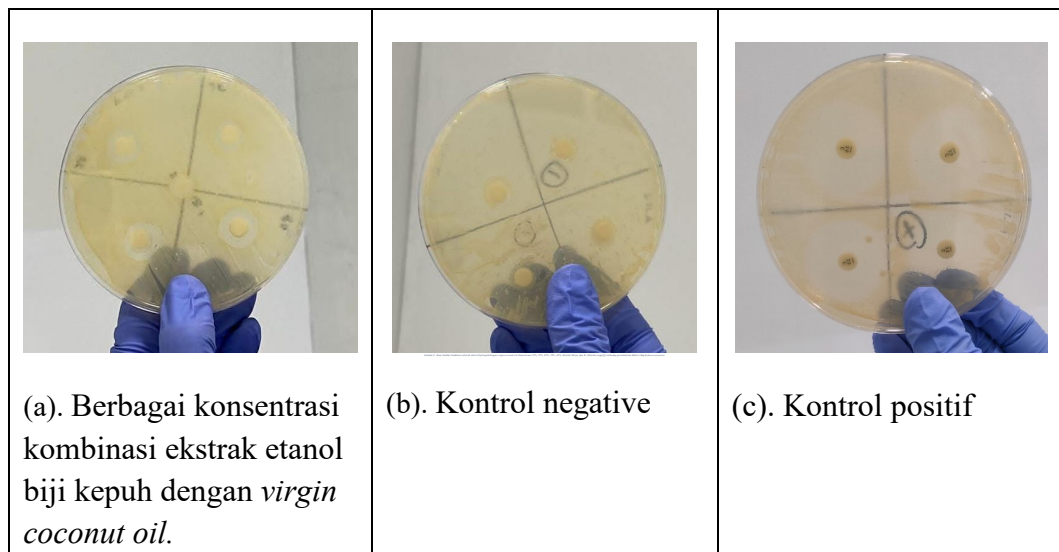
Hasil Uji Fitokimia Kombinasi Ekstrak Etanol Biji Kepuh dengan *Virgin Coconut Oil*

No.	Uji Fitokimia	Warna	Keterangan
1.	Alkaloid	Dragendurf : Endapan merah jingga Mayer wagner : Endapan Putih kekuningan	Positif Positif
2.	Saponin	Kuning bening (masih terdapat busa)	Positif
3.	Fenol	Hijau	Positif
4.	Flavonoid	Kuning	Positif
5.	Tanin	Hijau kehitaman	Positif

Berdasarkan data pada tabel 6 diatas, dapat diketahui bahwa pada hasil kombinasi ekstrak etanol biji kepuh dengan *virgin coconut oil* mengandung senyawa alkaloid, saponin, fenol, flavonoid dan juga tannin.

3. Hasil uji antibakteri kombinasi ekstrak etanol biji kepuh dengan *virgin coconut oil* terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Uji aktivitas antibakteri kombinasi ekstrak etanol biji kepuh dengan *virgin coconut oil* menggunakan lima perlakuan yaitu konsentrasi 10%, 15%, 20%, 25% dan 40% dilakukan dengan empat kali pengulangan menggunakan metode difusi cakram. Kemampuan ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening di sekeliling cakram sebagaimana disajikan pada Gambar 8 dibawah ini :



Gambar 8. Zona hambat kombinasi ekstrak etanol biji kepuh dengan *virgin coconut oil* (konsentrasi 10%, 15%, 20%, 25%, 40%, Kontrol Kerja, dan K- (Kontrol negatif)) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*

4. Pengukuran diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*

a. Kontrol kerja

Pada penelitian ini kontrol kerja yang digunakan adalah kloramfenikol 30µg. Hasil dari pengukuran diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* pada kontrol kerja kloramfenikol dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7.

**Diameter Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* pada
Kontrol Kerja**

Kontrol	Diameter Zona Hambat (mm)				Rerata (mm)
	I	II	III	IV	
Kontrol Kerja (Kloramfenikol 30µg)	24.25	24.75	24.80	25.30	24.77

Data pada tabel 7, menunjukkan bahwa kloramfenikol 30µg mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan rerata diameter zona hambat sebesar 24,7 mm.

b. Kontrol negatif

Dalam penelitian ini, NaCl 0,9% berfungsi sebagai kontrol negatif. Temuan menegaskan bahwa kontrol negatif tidak memperlihatkan pembentukan zona bening pada cakram. Pengulangan eksperimen menunjukkan bahwa tidak terdapat zona hambat terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* oleh NaCl 0,9%, dengan diameter zona hambat yang diamati adalah nol milimeter.

c. Diameter zona hambat kelompok perlakuan

Penelitian ini memfokuskan pada pemanfaatan campuran ekstrak etanol biji kepuh dan minyak kelapa murni pada variasi konsentrasi yang berbeda, yakni 10%, 15%, 20%, 25%, dan 40%. Metode yang diterapkan adalah difusi cakram Kirby Bauer dengan empat kali pengulangan. Data mengenai diameter zona hambat untuk tiap konsentrasi dapat ditemukan dalam Tabel 8.

Tabel 8.

Diameter Zona Hambat Berbagai Konsentrasi Kombinasi Ekstrak Etanol Biji Kepuh dengan *Virgin Coconut Oil* Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*

Konsentrasi (%)	Diameter Zona Hambat (mm)				Rerata (mm)
	I	II	III	IV	
10	4.25	4.00	4.50	4.20	4.23
15	5.00	5.25	5.20	5.50	5.23
20	6.25	6.30	6.20	6.00	6.18
25	7.00	7.25	7.40	7.35	7,25
40	9.40	10.00	9.50	9.25	9.53

Berdasarkan data pada tabel 8, diketahui bahwa kombinasi ekstrak etanol biji kepuh dengan *virgin coconut oil* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan diameter zona hambat mulai dari 4.23 mm sampai 9.53 mm.

5. Kategori zona hambat pada berbagai konsentrasi terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*

Tabel 9 menampilkan klasifikasi respon hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* terhadap beberapa perlakuan berdasarkan rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan. Kategori aktivitas daya hambat dibagi berdasarkan ukuran diameter zona hambat (mm) yang terbentuk:

Tabel 9.

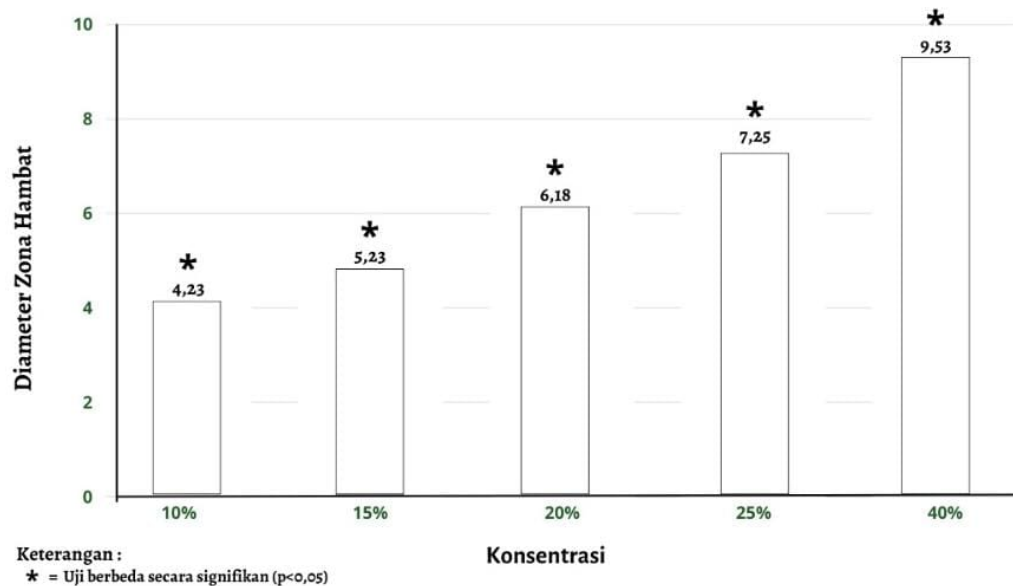
Klasifikasi Respon Zona Hambat Kombinasi Ekstrak Etanol Biji Kepuh Dengan *Virgin Coconut Oil* Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*

Konsentrasi (%)	Rerata Diameter Zona Hambat (mm)	Kategori Zona Hambat
NaCl 0,9%	0.00	Lemah
10	4,23	Lemah
15	5,23	Sedang
20	6,18	Sedang
25	7,25	Sedang
40	9,53	Sedang
Kloramfenikol 30µg)	24.77	Sangat kuat

Berdasarkan data pada tabel 9, diketahui bahwa kombinasi ekstrak etanol biji kepuh dengan *virgin coconut oil* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan kategori lemah hingga sedang.

6. Hasil uji analisis statistika

Hasil uji analisis statistika kombinasi ekstrak etanol biji kepuh dengan *virgin coconut oil* dapat dilihat pada gambar 9 dibawah ini :



Gambar 9. Diagram hasil uji statistika

Berdasarkan gambar 9 diatas, menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak etanol biji kepuh dengan *virgin coconut oil* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Hal ini ditandai dengan terbentuknya zona hambat di sekitar cakram yang menunjukkan hasil berbeda secara signifikan.

B. Pembahasan

1. Uji fitokimia ekstrak etnaol biji kepuh, *virgin coconut oil*, dan kombinasi ekstrak etanol biji kepuh dengan *virgin coconut oil*

Berdasarkan tabel 4, pada uji fitokimia ekstrak etanol biji kepuh didapatkan senyawa aktif alkaloid, saponin, fenol, flavonoid, dan tanin. Pada tabel 5, hasil uji fitokimia *virgin coconut oil* didapatkan senyawa aktif yakni alkaloid dan saponin. Sedangkan pada tabel 6 hasil uji fitokimia kombinasi ekstrak etanol biji kepuh

dengan *virgin coconut oil* didapatkan senyawa aktif alkaloid, saponin, fenol, flavonoid, dan juga tannin. Menurut Ambarwati (2017) senyawa tersebut bermanfaat sebagai antibakteri (Ambarwati, 2017). Dengan demikian hasil ini menunjukkan bahwa dengan mengkombinasikan ekstrak etanol biji kepuh dan *virgin coconut oil* memiliki bahan fitokimia yang lebih lengkap dan juga lebih kuat dibandingkan dalam kondisi tunggal.

Hasil penelitian ini juga sejalan dengan penelitian Kardinasari dkk., (2020), yang menyatakan bahwa pada uji fitokimia *virgin coconut oil* didapatkan hasil positif pada senyawa aktif alkaloid dan juga saponin (Kardinasari dkk., 2020). Sedangkan pada penelitian lainnya melaporkan bahwa pada ekstrak biji kepuh didapatkan hasil positif pada senyawa aktif alkaloid, flavonoid, fenol, saponin, dan tannin yang mampu menunjukkan sifat antibakteri (Jafri *et al.*, 2019).

2. Uji aktivitas antibakteri

Penelitian ini menganalisis efektivitas kombinasi antara ekstrak etanol biji kepuh dan *virgin coconut oil* dalam menunjukkan aktivitas antibakteri. Metode difusi cakram digunakan untuk mengukur kemampuan inhibisi pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Hal ini bertujuan untuk mengevaluasi potensi zat aktif dari biji kepuh dalam menghambat pertumbuhan bakteri tersebut.

Penelitian terbaru menunjukkan bahwa campuran ekstrak etanol dari biji kepuh dengan *virgin coconut oil* mampu secara signifikan menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi 40% dari campuran tersebut memiliki daya hambat tertinggi, dengan diameter zona hambat mencapai 9,53 mm, yang secara kategoris diklasifikasikan sebagai sedang. Studi ini mengungkapkan bahwa kombinasi ekstrak etanol biji kepuh dan *virgin*

coconut oil mengandung sejumlah bahan fitokimia seperti alkaloid, saponin, fenol, flavonoid, dan tannin yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan mekanisme kerja yang berbeda-beda. Flavonoid, dengan kandungan tertinggi dalam penelitian ini, memiliki sifat antibakteri yang mengakibatkan kerusakan pada dinding sel bakteri dan gangguan dalam proses metabolisme. Menurut Majidah et al. (2014), flavonoid memiliki tiga mekanisme antibakteri, yaitu menghambat sintesis asam nukleat, fungsi membran sitoplasma, dan metabolisme energi, serta menyebabkan kerusakan pada permeabilitas dinding sel bakteri.

Saponin, sebagai senyawa antibakteri, bertindak dengan mengurangi tegangan permukaan dinding sel bakteri, sebagaimana dijelaskan oleh Sari et al. (2015). Mereka menyatakan bahwa saponin berinteraksi dengan lipopolisakarida pada dinding sel bakteri, yang mengakibatkan peningkatan permeabilitas dinding sel dan penurunan tegangan permukaannya. Akibatnya, interaksi dengan dinding sel tersebut dapat menyebabkan pecahnya atau lisisnya, memungkinkan zat antibakteri untuk masuk ke dalam sel dengan mudah. Proses ini mengganggu metabolisme bakteri, akhirnya menyebabkan kematian mereka.

Senyawa fenol, yang ditemukan dalam jumlah yang signifikan, merupakan senyawa bioaktif dengan sifat antibakteri yang kuat. Mekanisme kerjanya melibatkan dua proses utama: mendenaturasi protein dan merusak membran sel. Menurut penelitian oleh Damayanti dkk., (2007), senyawa fenol mampu mengganggu integritas membran sel, menginaktifkan enzim, dan mendenaturasi protein. Akibatnya, permeabilitas membran sitoplasma terganggu, menghambat transportasi ion-ion organik ke dalam sel. Gangguan ini dapat menghambat pertumbuhan dan bahkan menyebabkan kematian sel.

Senyawa tanin memiliki kemampuan untuk menyebabkan pengkerutan pada dinding sel, yang mengakibatkan gangguan pada permeabilitasnya. Dampaknya adalah berkurangnya kemampuan sel untuk melakukan aktivitas hidup, yang pada akhirnya dapat menghambat pertumbuhannya atau bahkan menyebabkan kematian. Selain itu, tanin juga dapat bertindak sebagai agen antifungi dengan cara berinteraksi dengan membran sel, menginaktivasi enzim, dan mengganggu materi genetik fungi (Yulaikha, 2009).

Senyawa alkaloid, dengan kadar terendah dalam penelitian ini, memiliki mekanisme sebagai agen antibakteri dengan mengganggu komponen peptidoglikan dalam sel bakteri. Retnowati et al. (2011) mendukung pandangan ini, menegaskan bahwa senyawa alkaloid mengganggu sintesis peptidoglikan, menyebabkan ketidaksempurnaan dalam pembentukan dinding sel bakteri. Sebagai akibatnya, sel bakteri tidak dapat membentuk lapisan dinding sel secara lengkap, hanya memiliki membran sel yang terganggu.

Hasil uji statistik menunjukkan perbedaan signifikan antara konsentrasi berbagai tingkat (10%, 15%, 20%, 25%, dan 40%). Analisis deskriptif melalui tabel ANOVA menampilkan perbedaan dalam diameter zona hambat pada berbagai tingkat konsentrasi. Rata-rata diameter zona hambat adalah 4.2375 untuk konsentrasi 10%, 5.2375 untuk konsentrasi 15%, 6.1875 untuk konsentrasi 20%, 7.2500 untuk konsentrasi 25%, 9.5375 untuk konsentrasi 40%, dan 24.7750 untuk kloramfenikol 30 μ g.

Hasil analisis homogenitas varians menunjukkan bahwa varians kelompok berbeda ($p = 0,628$), memvalidasi penggunaan uji ANOVA. Nilai signifikansi di atas 0,05 menunjukkan validitas, sementara di bawah menunjukkan sebaliknya.

Nilai signifikansi untuk perbedaan diameter konsentrasi adalah 0,000. Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak etanol biji kepuh dengan *virgin coconut oil* signifikan memengaruhi pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ($P = 0,000$). Dalam konteks ini, hipotesis nol diterima, memerlukan uji lanjutan.

Berdasarkan analisis menggunakan uji Tukey HSD, hasil menunjukkan perbedaan yang signifikan antara perlakuan yang diberikan. Penggunaan kombinasi ekstrak etanol biji kepuh dengan *virgin coconut oil* menunjukkan variasi dalam zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, dimana dengan peningkatan konsentrasi terjadi peningkatan diameter zona hambat secara bertahap. Pada konsentrasi 10% memiliki diameter sebesar 4.23 mm, konsentrasi 15% memiliki diameter sebesar 5.23 mm, konsentrasi 20% memiliki diameter sebesar 6.18 mm, konsentrasi 25% memiliki diameter sebesar 7.25 mm, dan konsentrasi 40% memiliki diameter sebesar 9.53 mm. Temuan ini mendukung konsep yang diajukan oleh Ambarwati et al. (2017), bahwa efektivitas zat antibakteri bergantung pada konsentrasinya. Peningkatan konsentrasi ekstrak etanol biji kepuh dengan *virgin coconut oil* juga meningkatkan kandungan zat aktif yang memiliki sifat antibakteri, sehingga menghasilkan efek inhibisi yang lebih kuat terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.