

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

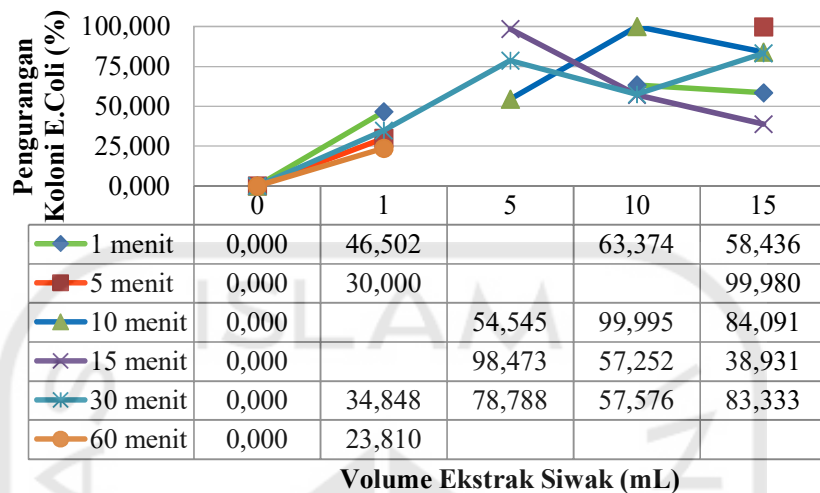
4.1. Uji Penyisihan Bakteri *Escherichia coli*

Penyisihan kandungan bakteri *Escherichia coli* dilakukan menggunakan ekstrak siwak dan residu siwak sebagai berikut.

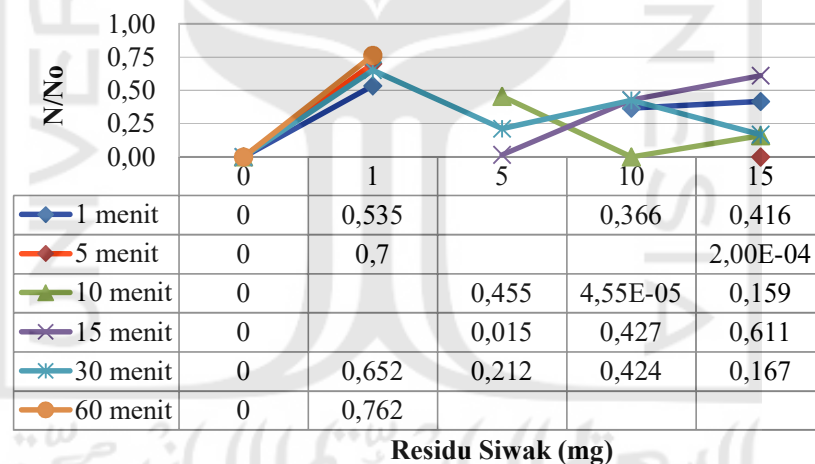
4.1.1. Uji Penyisihan Bakteri *Escherichia coli* menggunakan Ekstrak Siwak

Pengujian diawali dengan menambahkan ekstrak siwak dengan variasi volume atau massa tertentu ke dalam sampel air yang mengandung bakteri kemudian digoyangkan selama waktu kontak dan dihitung besar penyisihan koloni yang terjadi (Persamaan 3.2.). Semua sampel dibandingkan dengan kontrol yang sama sekali tidak ditambahkan ekstrak. Selanjutnya sampel tidak langsung diuji pada media, tetapi dilakukan pengenceran terlebih dahulu untuk mempermudah penghitungan koloni.

Pada awalnya sampel yang diuji merupakan sampel yang diencerkan dari 10^{-1} hingga 10^{-5} , hal tersebut dilakukan karena jumlah koloni belum diketahui secara pasti. Namun setelah dilakukan pengujian, pada sampel 10^{-3} hingga 10^{-5} tidak terlihat adanya koloni disebabkan jumlah koloni pada sampel tidak besar, sehingga digunakan pengenceran 10^{-1} dan 10^{-2} untuk pengolahan data lebih lanjut. Didapatkan hasil berupa pengaruh antara volume ekstrak siwak yang digunakan terhadap penyisihan koloni E.Coli sebagai berikut (Gambar 4.1.).



Gambar 4.1. Pengaruh Variasi Volume Ekstrak Siwak terhadap Persentase Penyisihan Koloni E.Coli



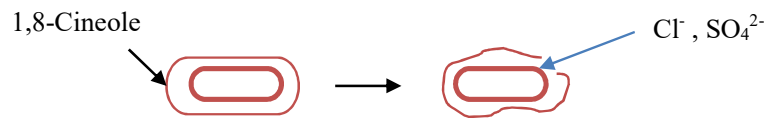
Gambar 4.2. Pengaruh Variasi Volume Ekstrak Siwak terhadap Penyisihan Koloni E.Coli

Pada waktu kontak 1, 5, dan 10 menit digunakan hasil dari pengenceran sampel 10^{-2} sedangkan pada waktu kontak 15, 30, dan 60 menit, pengenceran sampel 10^{-1} diaplikasikan untuk data pengamatan. Hal ini dikarenakan pada waktu kontak 1, 5, dan 10 menit, waktu kontak ekstrak dan koloni E.Coli masih singkat sehingga perubahan jumlah koloni tidak terlihat jika digunakan faktor

pengenceran yang kecil. Lain halnya dengan jumlah koloni pada waktu kontak yang relatif lebih lama yaitu 15, 30, dan 60 menit pada pengenceran 10^{-1} sudah terlihat perubahannya.

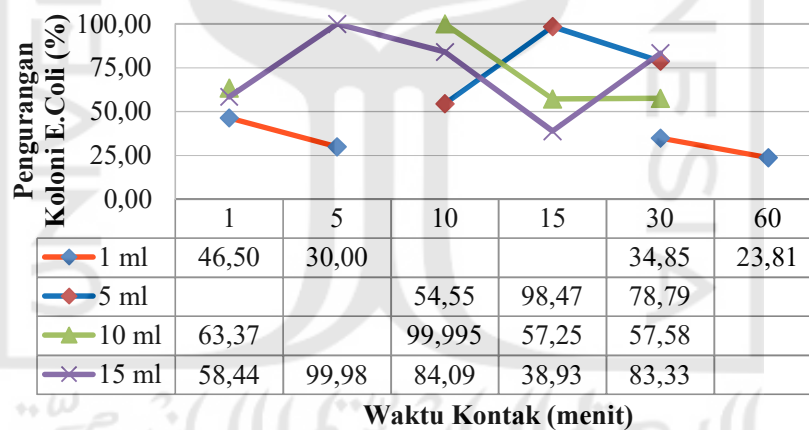
Gambar 4.1. menunjukkan hasil penyisihan bakteri E.Coli secara keseluruhan terhadap variasi volume ekstrak yang digunakan. Penyisihan koloni E.Coli mampu mencapai 99,980% atau 3,7-log reduksi pada volume penambahan ekstrak 15 ml di waktu kontak 5 menit sedangkan saat waktu kontak 10 menit penyisihan koloni 99,995% atau 4,3-log reduksi terjadi pada penambahan ekstrak 10 ml. Jika dilihat secara umum, penyisihan koloni E.Coli telah mengalami kenaikan sejak penambahan volume 1 ml di seluruh waktu kontak, kecuali di waktu kontak 5, 10, dan 15 menit yang mengalami penurunan terlebih dahulu. Sebelum akhirnya pada volume selanjutnya mengalami variasi kenaikan dan penurunan yang tidak terlalu besar, kecuali pada waktu kontak 5 menit. Di beberapa variasi penambahan volume ekstrak siwak, koloni E.Coli berada pada lingkungan optimal sehingga tidak terjadi penurunan koloni, justru sebaliknya yang terjadi, koloni E.Coli mengalami proses regenerasi, bahkan regenerasi tertinggi mencapai lebih dari 1600% (Lampiran 4), sehingga tidak ditampilkan pada gambar 4.1. Penyisihan koloni E.Coli juga disajikan ke dalam bentuk grafik N/N_0 (Gambar 4.2.)

Setelah analisis dari pengaruh variasi volume ekstrak terhadap penyisihan E.Coli dilakukan, dibuat analisis juga terkait pengaruh variasi waktu kontak terhadap penyisihan E.Coli, hasilnya ditunjukkan melalui gambar 4.4. Jika dilakukan perbandingan antara penyisihan koloni E.Coli dengan waktu kontak, dapat disimpulkan bahwa waktu kontak 10-30 menit menunjukkan aktifitas antibakteri yang cenderung positif, sedangkan di menit awal sekitar 1 hingga 10 menit penyisihan koloni E.Coli beragam. Sehingga pengaruh penyisihan koloni E.Coli dan waktu kontak dapat menunjukkan semakin sedikit volume yang ditambahkan maka semakin lama waktu yang diperlukan untuk penyisihan koloni E.Coli (Gambar 4.4.). Namun hal tersebut tetap bergantung pada keberadaan senyawa organik di dalam air.

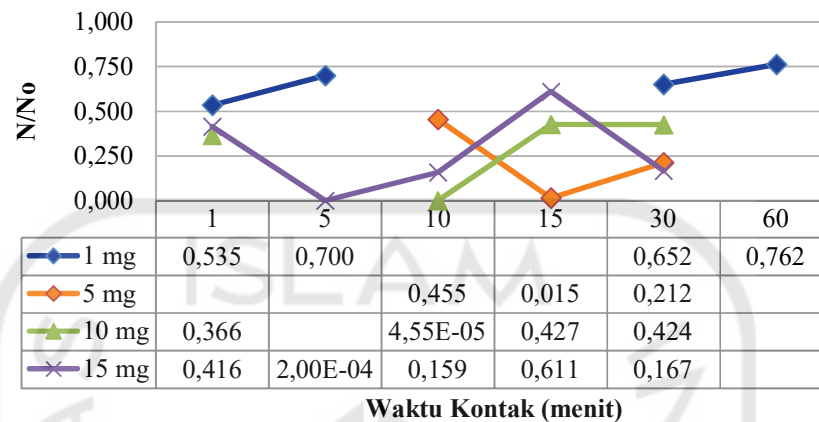


Gambar 4.3. Sifat Antibakteri Ekstrak Siwak

Sifat antibakteri diakibatkan oleh kombinasi dan sinergitas dari kandungan dari senyawa *oxygenated monoterpene* seperti 1,8-cineole dan anion (Cl^- dan SO_4^{2-}). Senyawa 1,8-cineole memiliki karakteristik hidrofobik yang mampu berakumulasi pada membran sel kemudian mengubah struktur dan fungsi membran. Setelah membran sel rusak, ion klorida melakukan oksidasi terhadap sistem enzim pada bakteri E.Coli sehingga metabolisemnya terganggu. Ion klorida dan sulfat juga turut berperan dalam mengoksidasi senyawa organik di dalam air (Fair et al, 1948; Sikkema et al, 1994).



Gambar 4.4. Pengaruh Variasi Waktu Kontak Ekstrak Siwak terhadap Persentase Penyisihan Koloni E.Coli



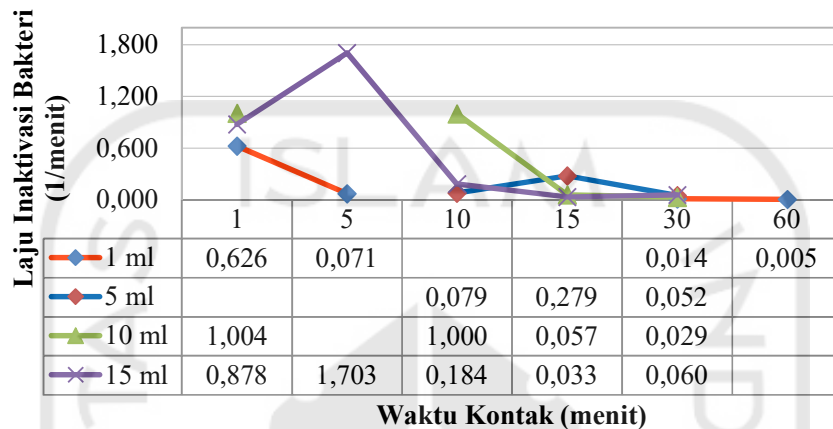
Gambar 4.5. Pengaruh Variasi Waktu Kontak Ekstrak Siwak terhadap Penyisihan Koloni E.Coli

Pada beberapa sampel uji yang terlihat pada gambar 4.1. hingga 4.4. didapatkan hasil negatif untuk persentase dan nilai N/N_0 melebihi satu (dalam hal ini tidak ditampilkan pada grafik secara langsung) dikarenakan jumlah koloni E.Coli sampel lebih banyak dibandingkan dengan kontrol. Hal ini dapat dipengaruhi oleh berbagai macam faktor, yaitu:

1. keberadaan senyawa organik di dalam air cukup banyak sehingga anion Cl^- dan SO_4^{2-} mengoksidasi terlebih dahulu senyawa organik bukan koloni E.Coli,
2. senyawa 1,8-cineole telah bereaksi dengan bakteri lain di dalam air sehingga bakteri E.Coli memiliki kesempatan hidup lebih lama, dan
3. bakteri E.Coli telah melakukan regenerasi, sehingga volume senyawa antibakteri tidak dapat membunuh seluruh koloni E.Coli.

Kemampuan ekstrak siwak dalam proses penyisihan bakteri E.Coli juga dapat diketahui melalui konstanta laju kematian berikut (Gambar 4.5.). Dari menit pertama hingga menit ke-60, nilai konstanta laju kematian mengalami penurunan karena senyawa aktif pada ekstrak siwak telah berinteraksi dengan sel bakteri. Nilai konstanta laju kematian ekstrak siwak mencapai nilai tertinggi sebesar 1,703/menit pada penambahan volume ekstrak sebesar 10 ml di waktu kontak 10

menit. Hal tersebut berarti setiap satu menit, hampir 2 koloni bakteri dapat mengalami penyisihan secara penuh.

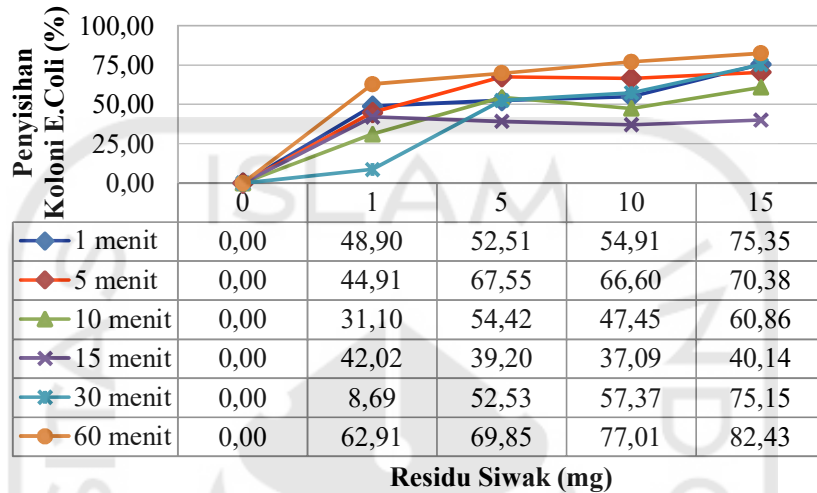


Gambar 4.6. Laju Kematian Bakteri E.Coli Setelah Penambahan Ekstrak Siwak

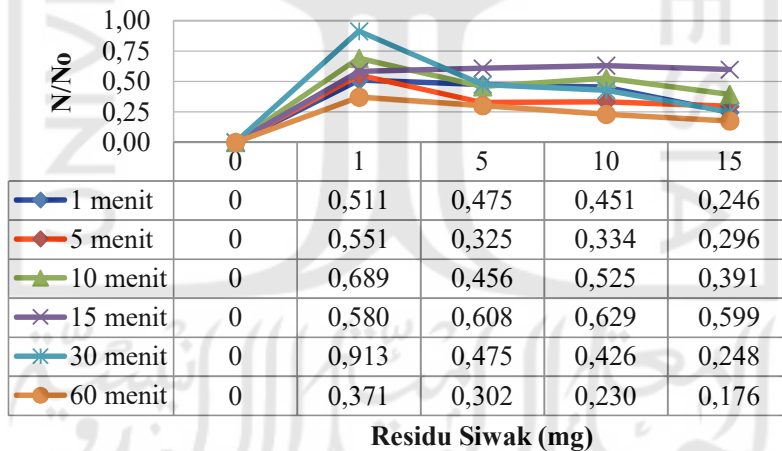
4.1.2. Uji Penyisihan Bakteri *Escherichia coli* menggunakan Residu Siwak

Pengujian berikutnya dilakukan terhadap residu (rafinat) siwak dan dianalisis seberapa besar penyisihan koloni E.Coli yang terjadi, dengan pengenceran yang digunakan untuk tiap sampel adalah 10^{-1} dan 10^{-2} . Pengenceran sampel tersebut ditentukan setelah melihat data pengujian sebelumnya yaitu pada rentang koloni E.Coli yang teramati dan karena hasil yang didapatkan merupakan data pembandingan sehingga pengenceran yang dilakukan harus identik. Hasil yang didapatkan menunjukkan aktifitas antibakteri cenderung tinggi hingga 88,80% atau 0,951-log reduksi penyisihan koloni E.Coli pada waktu kontak 10 menit dengan massa residu 15 mg pada pengenceran 10^{-2} . Pola yang terbentuk dari penyisihan yang dilakukan oleh residu, baik pada pengenceran sampel 10^{-1} maupun pada pengenceran 10^{-2} (Gambar 4.7., 4.8., 4.10, dan 4.11.) adalah semakin banyak massa yang ditambahkan, maka semakin besar penyisihan koloni E.Coli yang akan terjadi. Dapat disimpulkan pula di dalam residu terdapat senyawa antibakteri yang lebih tinggi kemampuannya dibandingkan dengan

kandungan ekstrak siwak, ditunjukkan oleh tidak adanya hasil negatif pada semua variasi massa.



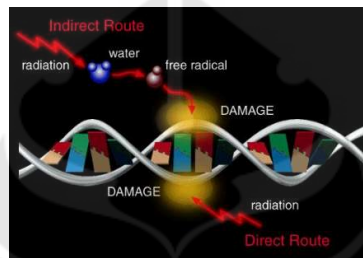
Gambar 4.7. Pengaruh Variasi Massa Residu Siwak terhadap Persentase Penyisihan Koloni E.Coli pada Pengenceran Sampel 10^{-1}



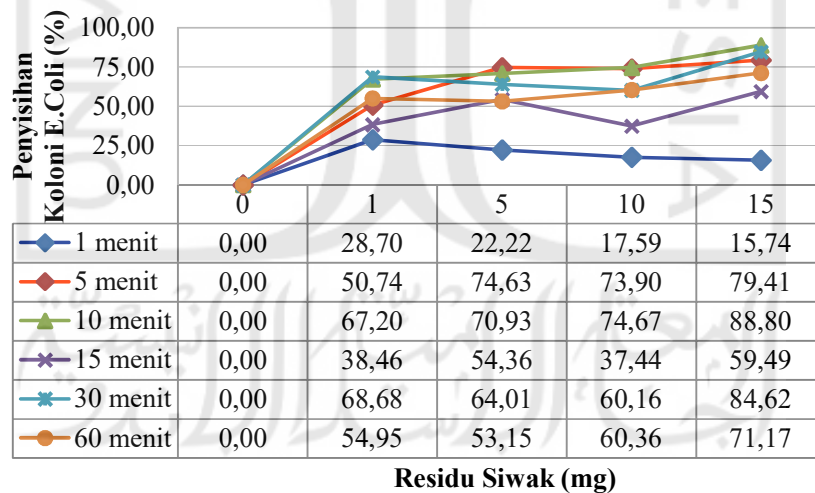
Gambar 4.8. Pengaruh Variasi Massa Residu Siwak terhadap Penyisihan Koloni E.Coli pada Pengenceran Sampel 10^{-1}

Analisis untuk mengetahui pengaruh antara waktu kontak residu siwak dengan penyisihan koloni E.Coli juga dilakukan. Residu siwak pada waktu kontak 5 dan 10 menit mengalami peningkatan aktifitas antibakteri, namun mengalami

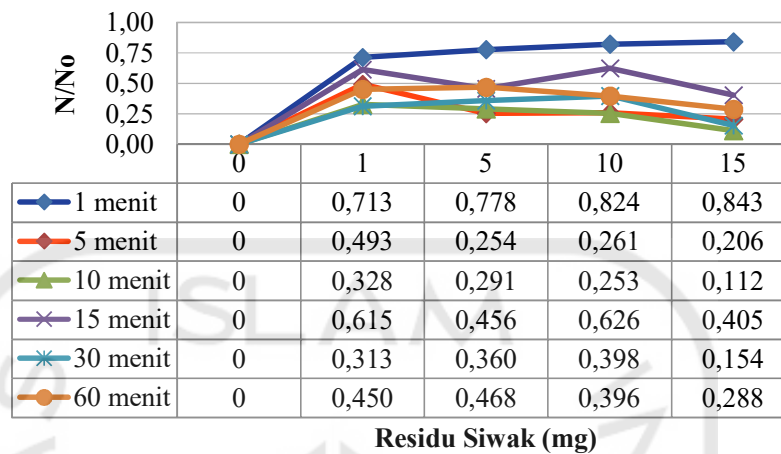
penurunan secara umum pada waktu kontak 15 menit sebelum akhirnya naik kembali di menit ke-30 (Gambar 4.12. dan 4.14.). Penurunan tersebut dimungkinkan karena menurut Lerner dan Lerner (2003), *Escherichia coli* memiliki waktu regenerasi sebesar 15 hingga 30 menit, sehingga penyisihan koloni E.Coli mengalami penurunan dapat dikatakan wajar. Sedangkan kenaikan penyisihan koloni E.Coli setelahnya terjadi karena fase eksponensial merupakan fase paling rentan dari fase pertumbuhan bakteri (Saini, 2014). Hubungan antara waktu kontak residu siwak dengan penyisihan koloni adalah tidak signifikan, karena perubahan penyisihan koloni yang terjadi cenderung naik turun.



Gambar 4.9. Efek Genotoksik (Shah, 2012)

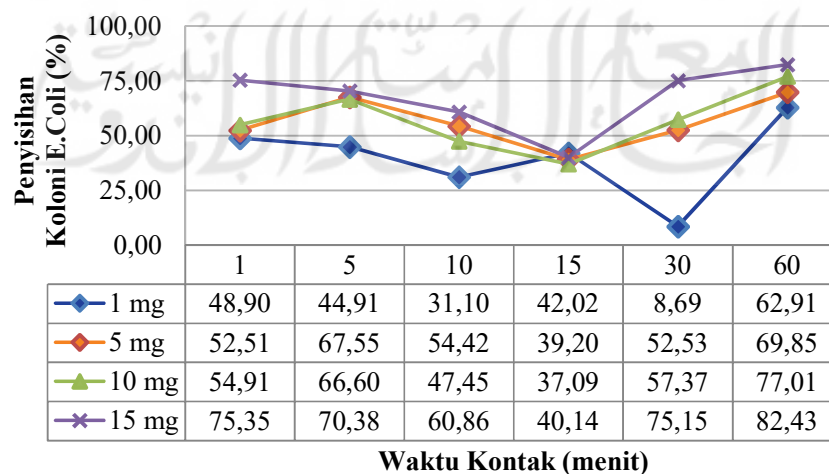


Gambar 4.10. Pengaruh Variasi Massa Residu Siwak terhadap Persentase Penyisihan Koloni E.Coli pada Pengenceran Sampel 10^{-2}

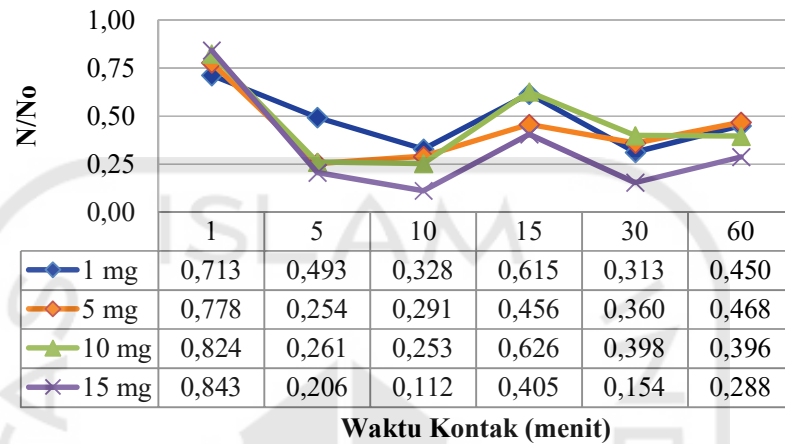


Gambar 4.11. Pengaruh Variasi Massa Residu Siwak terhadap Penyisihan Koloni E.Coli pada Pengenceran Sampel 10^{-2}

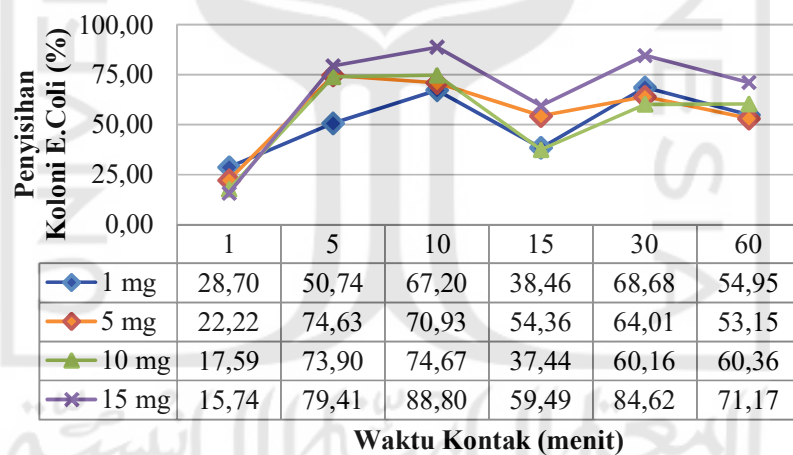
Senyawa non polar yang berperan aktif dalam aktifitas antibakteri ini terus bekerja dari menit pertama hingga waktu kontak mencapai 60 menit. *Benzylisothiocyanate* (BITC) yang merupakan senyawa non polar dominan dari siwak diindikasikan sebagai senyawa antibakteri yang berperan karena kandungannya dapat mencapai 25,61 – 52,5%. BITC memiliki efek genotoksik yang sangat kuat, khususnya terhadap bakteri E.Coli. Efek genotoksik adalah efek destruktif suatu senyawa terhadap material genetik sel seperti DNA dan RNA (Gambar 4.9.) (Al-Shohaibani and Murugan, 2012; Kassie et al, 1999; Noumi et al, 2011; Shah, 2012).



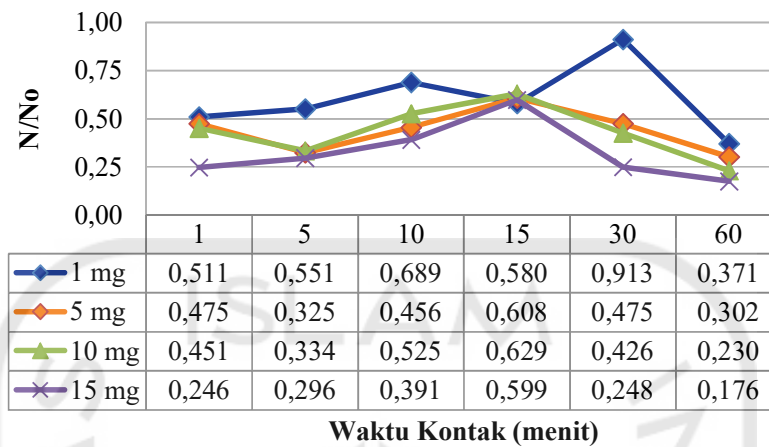
Gambar 4.12. Pengaruh Variasi Waktu Kontak Residu Siwak terhadap Persentase Penyisihan Koloni E.Coli pada Pengenceran Sampel 10^{-1}



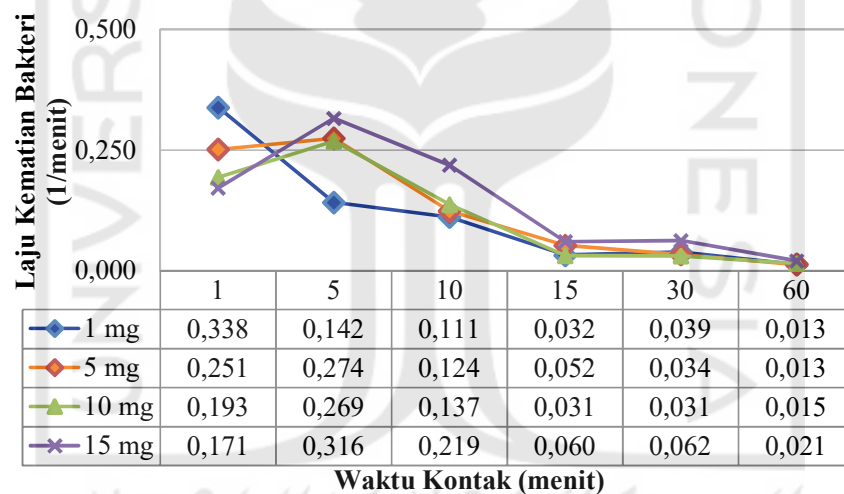
Gambar 4.13. Pengaruh Variasi Waktu Kontak Residu Siwak terhadap Penyisihan Koloni E.Coli pada Pengenceran Sampel 10^{-1}



Gambar 4.14. Pengaruh Variasi Waktu Kontak Residu Siwak terhadap Persentase Penyisihan Koloni E.Coli pada Pengenceran Sampel 10^{-1}



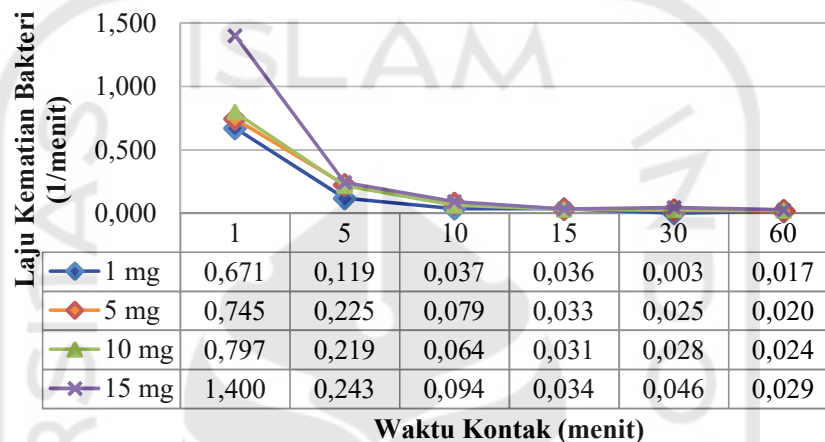
Gambar 4.15. Pengaruh Variasi Waktu Kontak Residu Siwak terhadap Penyisihan Koloni E.Coli pada Pengenceran Sampel 10^{-2}



Gambar 4.16. Laju Kematian Bakteri E.Coli Setelah Penambahan Residu Siwak pada Pengenceran Sampel 10^{-1}

Konstanta laju kematian bakteri pada residu siwak menunjukkan hasil yang serupa dengan ekstrak siwak yaitu mengalami penurunan seiring dengan bertambahnya waktu kontak, baik pada pengenceran 10^{-1} maupun 10^{-2} (Gambar 4.16. hingga 4.17.). Pada pengenceran sampel 10^{-1} , nilai konstanta berada di dalam kisaran 0,017 – 1,400/menit sedangkan pada pengenceran sampel 10^{-2}

konstanta sekitar 0,013 – 0,338/menit. Laju kematian mencapai nilai tertinggi saat penambahan 15 mg residu siwak di waktu kontak 1 menit. Memang saat dibandingkan dengan laju kematian ekstrak siwak masih memiliki nilai laju kematian yang lebih rendah, namun jika digunakan massa yang lebih tinggi bukan tidak mungkin dapat melampaui laju kematian ekstrak siwak.



Gambar 4.17. Laju Kematian Bakteri E.Coli Setelah Penambahan Residu Siwak pada Pengenceran Sampel 10^{-2}

4.2. Dosis dan Waktu Kontak Optimum

Dosis optimum adalah dosis minimal yang memiliki kemampuan tinggi. Tujuan dari keberadaan dosis optimum ini agar bahan yang digunakan dapat digunakan secara efektif dan limbah yang dihasilkan tidak berlebihan. Sedangkan waktu kontak optimum merupakan waktu kontak minimal dalam proses dengan hasil yang besar. Waktu kontak optimum diaplikasikan agar energi dan waktu yang diperlukan dalam proses dapat seefektif mungkin. Adapun faktor-faktor yang memengaruhi dosis optimum maupun waktu kontak optimum didasarkan pada faktor strategi dalam pemilihan disinfektan, yaitu: mampu menghilangkan keberadaan patogen dan mencegah produksi dari senyawa DBPs (*Disinfection by Products*) (US EPA, 1999).

Dosis optimum ekstrak dan residu siwak didapatkan dari dosis minimal yang memiliki kemampuan tinggi dalam penyisihan koloni E.Coli. Begitu pun

dengan waktu kontak optimum adalah waktu kontak paling cepat dalam mengurangi koloni E.Coli secara signifikan. Pada ekstrak siwak, dosis dan kontak optimum adalah sebesar 10 ml ekstrak siwak dengan waktu kontak 10 menit, mampu mengurangi koloni E.Coli sebanyak 99,995% atau 4,3-log reduksi. Sementara pada residu siwak, dosis dan waktu kontak optimum sebesar 5 mg residu dalam waktu kontak 5 menit, memiliki persentase penyisihan koloni E.Coli 74,63% atau 0,274-log reduksi pada pengenceran sampel 10^{-2} . Kemampuan ekstrak dan residu siwak ini dalam mengurangi koloni E.Coli dalam sampel air menunjukkan potensi besar dalam aplikasi pemanfaatan dalam disinfeksi air minum. Namun dalam aplikasi secara langsung, dosis dan kontak optimum dapat berbeda dikarenakan kandungan senyawa organik maupun koloni E.Coli yang beranekaragam tergantung dari kualitas air baku.

4.3. Keunggulan Siwak Dibandingkan Disinfektan Lain

Apabila dibandingkan dengan disinfektan yang sudah digunakan secara luas, siwak memiliki keunggulan diantaranya:

1. Senyawa polar dan non polar yang terkandung di dalam siwak dapat digunakan sebagai disinfektan sama baiknya, sehingga siwak mampu diekstrak dengan berbagai metode dan jenis pelarut.
2. Ekstrak dan residu siwak cenderung memiliki dosis dan waktu kontak yang rendah jika dibandingkan dengan larutan klorin. Untuk studi kasus sampel air sungai yang dilakukan Supriyadi dkk (2016) membutuhkan setidaknya 3,5 mg/L klorin untuk dosis optimum dan 4 mg/L untuk efisiensi 100% penyisihan koloni E.Coli. Sementara, Komala dan Ajeng (2014) menjelaskan bahwa perlu menambahkan 50 mg/L klorin selama waktu kontak 30 menit untuk menyisihkan 100% koloni E.Coli pada sampel air sumur di kawasan Purus. Untuk ekstrak siwak sendiri membutuhkan 10 mL ekstrak selama waktu kontak 10 menit dalam penyisihan 99,995% atau 4,3-log reduksi koloni E.Coli, sedangkan pada residu siwak penyisihan 88,80% atau 0,951-log reduksi dicapai dengan penambahan 15 mg residu selama waktu kontak 10 menit. Begitu pun jika ekstrak siwak dibandingkan dengan

penggunaan proses modifikasi seperti *chlorine electrolysis* yang hanya menghasilkan nilai 3,5-log reduksi (Bischoff et al, 2012).

3. Konstanta laju kematian bakteri dengan ekstrak siwak diketahui mampu mencapai 1,703/menit sedangkan residu siwak memiliki nilai tertinggi sebesar 1,400/menit. Bila dibandingkan dengan senyawa kaporit yang dilakukan oleh Komala (2014), hanya mampu mencapai nilai 0,098/menit, lebih rendah dibandingkan penggunaan ekstrak siwak.
4. Aplikasi ekstrak siwak dengan pelarut air pada proses disinfeksi memiliki kemungkinan sangat kecil membentuk senyawa DBPs saat dosis berlebih dibandingkan dengan penggunaan senyawa kimia konvensional seperti kaporit.

