

**UJI AKTIVITAS EKSTRAK BUNGA MAWAR (*Rosa hybrida*) SEBAGAI  
ANTIMIKROBA TERHADAP *Pseudomonas aeruginosa* DENGAN  
METODE DILUSI AGAR**

**TUGAS AKHIR**

**Untuk Memenuhi Persyaratan  
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Umum**



**Oleh :**

**Adiba Maulida**

**NIM : 0910714022**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG**

**2012**

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

UJI AKTIVITAS EKSTRAK BUNGA MAWAR (*Rosa hybrida*) SEBAGAI  
ANTIMIKROBA TERHADAP *Pseudomonas aeruginosa* DENGAN  
METODE DILUSI AGAR

Oleh:  
Adiba Maulida  
NIM: 0910714022

Telah diuji pada  
Hari: Jumat  
Tanggal: 2 November 2012  
dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji I

dr. Soemardini, M.Pd  
NIK.110446417

Pembimbing I

Pembimbing II

dr. Roekistiningih DMM, MS, Sp.MK (K)  
NIP. 19490206 197803 2 001

dr. Subarkah Basuki Sp. PA  
NIP. 19450328 197412 1 001

Mengetahui :  
Ketua Jurusan Kedokteran

Prof. Dr. dr, Teguh Wahyu Sardjono, DTM&H, M.Sc, Sp.ParK  
NIP. 19520410 198002 1 001

## KATA PENGANTAR

Segala puji hanya bagi Allah SWT yang telah memberi petunjuk dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir dengan judul “Uji Aktivitas Bunga Mawar (*Rosa hybrida*) Sebagai Antimikroba Terhadap *Pseudomonas aeruginosa* Secara *In Vitro* dengan Metode Dilusi Agar”.

Ketertarikan penulis akan topik ini didasari oleh fakta bahwa bakteri *Pseudomonas aeruginosa* sering menyebabkan infeksi nosokomial. Hambatan dari pengobatan infeksi ini adalah bakteri ini resisten terhadap beberapa jenis antibiotik. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan bahwa bunga mawar dapat menjadi alternatif antimikroba terhadap *Pseudomonas aeruginosa*.

Dengan selesainya Tugas Akhir ini, penulis mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada :

1. Dr.dr.Karyono Mintaroem, Sp.PA, Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah memberikan penulis kesempatan menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
2. dr. Roekistiningsih, DMM, MS, Sp.MK (K) sebagai pembimbing pertama yang dengan penuh kesabaran membimbing penulis mengerjakan Tugas Akhir dari awal pengerjaan, meneliti serta merevisi Tugas Akhir dan senantiasa memberi semangat, sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini dengan baik.
3. dr. Subarkah Basuki, Sp.PA, sebagai pembimbing kedua yang senantiasa membimbing dengan penuh kesabaran cara-cara penulisan Tugas Akhir yang benar dan analisis data, serta senantiasa memberi petuah-petuah

dan semangat, sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini dengan baik.

4. dr.Soemardini, M.Pd sebagai penguji Tugas Akhir.
5. Segenap anggota Tim Pengelola Tugas Akhir FKUB.
6. Para analis dan staf di Laboratorium Mikrobiologi yaitu Mbak Uci, Mas Slamet, Bu Yati, dan Mas Hendrik yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan penelitian ini.
7. Yang tersayang Ayahanda Edy Susilo dan Ibunda Khoiriyah serta kakak drg. Richa Rochmani A.T dan adik Aisyah Safira Zahra atas segala dukungan mental, materiil, serta semangat dan kasih sayangnya.
8. Sahabat-sahabat terbaikku TOA (Nisa, Lidia, Icmi, Ingrid, Ratih, Fada, Laili, Maya, Rayu, Ratna, Aik) atas dukungan, saran, semangat dan bantuannya selama penulisan Tugas Akhir ini.
9. Semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan Tugas Akhir ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa penulisan ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis membuka diri untuk segala saran dan kritik yang membangun.

Akhirnya, semoga Tugas Akhir ini dapat bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, 2 November 2012

Penulis

## ABSTRAK

Maulida, Adiba. 2012. **Uji Aktivitas Ekstrak Bunga Mawar (*Rosa hybrida*) Sebagai Antimikroba Terhadap *Pseudomonas aeruginosa* Dengan Metode Dilusi Agar**. Tugas Akhir, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing : (1) dr. Roekistiningsih DMM, MS, Sp.MK (K), (2) dr. Subarkah Basuki, Sp.PA.

*Pseudomonas aeruginosa* merupakan salah satu bakteri patogen yang sering menyebabkan infeksi nosokomial. Bakteri ini resisten terhadap beberapa antibiotik. Bunga mawar (*Rosa hybrida*) diduga memiliki zat yang bersifat antimikroba, antara lain flavonoid, sitronella, terpenoid, dan tanin. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh ekstrak bunga mawar (*Rosa hybrida*) terhadap pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* secara *in vitro*. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan metode dilusi agar. Konsentrasi ekstrak bunga mawar yang digunakan dalam penelitian ini adalah 0%, 0.2%, 0.3%, 0.4%, 0.5%, 0.6% dengan masing-masing pengulangan sebanyak 4 kali. Kadar Hambat Minimal (KHM) diperoleh dengan membandingkan tingkat pertumbuhan masing-masing konsentrasi ekstrak. Hasil penelitian menunjukkan bahwa KHM pada bakteri uji berada pada 0.5%. Dari Uji korelasi Spearman ( $r = -0.941$ ,  $p = 0.000$ ) didapatkan hubungan yang signifikan ( $p < 0.05$ ) dengan arah korelasi negatif yang berarti terdapat korelasi bermakna antara dua variabel (konsentrasi ekstrak terhadap jumlah koloni bakteri). Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak bunga mawar (*Rosa hybrida*) dapat menghambat pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* secara *in vitro* dengan metode dilusi agar. Dari penelitian di atas, diharapkan adanya penelitian lebih lanjut agar bisa diaplikasikan pada manusia.

**Kata kunci:** Bunga mawar, *Pseudomonas aeruginosa*, efek antimikroba, dilusi agar

## ABSTRACT

Maulida, Adiba. 2012. ***The Antimicrobial Activity of Petal Roses Extract (Rosa hybrida) Against Pseudomonas aeruginosa Using Dilution Method.*** Final Assignment, Medical Programme, Faculty of Medicine, Brawijaya University. Supervisors : (1) dr. Roekistiningsih DMM, MS, Sp.MK (K), (2) dr. Subarkah Basuki, Sp.PA.

*Pseudomonas aeruginosa* is one of the pathogen organisms that caused nosocomial infection. This organism is resistant to some antibiotics. Red roses (*Rosa hybrid*) was chosen as an alternative treatment of *Pseudomonas aeruginosa* in this study as the flower was suspected to have antibacterial substances such as flavonoid, citronellol, terpenoid, and tannin. The objective of this study was to determine the effect of red roses (*Rosa hybrida*) on *Pseudomonas aeruginosa* growth *in vitro*. This was an experimental study using the agar dilution method. The concentrations of red roses extract used in this study were 0%, 0.2%, 0.3%, 0.4%, 0.5%, 0.6% with 4 times repeatance each concentration. The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) was obtained by comparing the growth in each concentration extract. The results showed that the MIC found at the concentration of 0.5%. The Spearman correlation test ( $r = -0.941$ ,  $p = 0.000$ ) showed the significant relationship ( $p < 0.05$ ) with negative correlation that means there is a significant relationship between two variables (extract concentration towards the amount of bacteria's colonies). It can be concluded that the roses (*Rosa hybrida*) extract can inhibit *Pseudomonas aeruginosa in vitro*. From the experiment above, the writer wish there will be another continuing experiment.

**Keywords:** Red Roses, *Pseudomonas aeruginosa*, antimicrobial effect, agar dilution

DAFTAR ISI

	Halaman
Halaman Judul.....	i
Halaman Pengesahan.....	ii
Kata Pengantar.....	iii
Abstrak.....	v
Abstract.....	vi
Daftar Isi.....	vii
Daftar Gambar.....	x
Daftar Tabel.....	xi
Daftar Lampiran.....	xii
<b>BAB 1 PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
2.1.1 Taksonomi.....	5
2.1.2 Epidemiologi.....	6
2.1.3 Morfologi dan Struktur.....	7
2.1.4 Fisiologi.....	7
2.1.4.1 Biokimia dan Kultur.....	7



2.1.4.2 Resistensi Terhadap Pengaruh Fisik dan Kimia.....	8
2.1.4.3 Dasar-Dasar Virulensi.....	9
2.1.5 Struktur Antigen dan Toksin.....	10
2.1.5.1 Struktur Antigen.....	10
2.1.5.2 Toksin.....	11
2.1.6 Gejala Klinis .....	12
2.1.7 Mekanisme Kerja Antimikroba.....	14
2.1.7.1 Menghambat Sintesis Dinding Sel.....	14
2.1.7.2 Merusak Membran Sel.....	14
2.1.7.3 Menghambat Sintesis Protein.....	15
2.1.7.4 Menghambat Sintesis Asam Nukleat.....	15
2.1.7.5 Antagonis Metabolit.....	15
2.1.7.6 Resistensi Pseudomonas aeruginosa terhadap antibiotik.....	15
2.2 Bunga Mawar.....	16
2.2.1 Toksonomi dan Karakteristik Bunga Mawar.....	6
2.2.1.1 Toksonomi.....	16
2.2.1.2 Karakteristik Bunga Mawar.....	17
2.2.2 Kandungan Mawar.....	18
2.2.3 Manfaat Bunga Mawar.....	19
2.2.4 Daya Antimikroba Bunga Mawar.....	20
2.3 Tes Kepekaan Kuman terhadap Antimikroba secara <i>in Vitro</i> .....	21
2.3.1 Metode Dilusi.....	21
2.3.2 Metode Difusi Cakram.....	23





**BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN**

3.1 Kerangka Konsep.....25

3.2 Hipotesis Penelitian.....26

**BAB 4 METODE PENELITIAN**

4.1 Desain Penelitian .....27

4.2 Sampel Penelitian.....27

4.3 Tempat dan Waktu Penelitian.....27

4.4 Jumlah Pengulangan.....28

4.5 Variabel Penelitian.....28

    4.5.1 Variabel Bebas.....28

    4.5.2 Variabel Tergantung.....29

4.6 Definisi Operasional.....29

4.7 Alat dan Bahan Penelitian .....30

    4.7.1 Alat.....30

    4.7.2 Bahan.....31

4.8 Prosedur Penelitian.....32

    4.8.1 Pembuatan Ekstrak Bunga Mawar.....32

    4.8.2 Identifikasi Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.....32

        4.8.2.1 Pengecatan Gram.....32

        4.8.2.2 Tes Biokimia.....33

    4.8.3 Suspensi Bakteri Uji.....35

    4.8.4 Uji Antimikroba Ekstrak Bunga Mawar (*Rosa hybrida*)  
terhadap *Pseudomonas aeruginosa* (Tes Dilusi  
Agar).....36



4.9 Skema Prosedur .....	38
4.10 Analisis Data.....	38

**BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA**

5.1 Data Hasil Penelitian.....	40
5.1.1 Identifikasi <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	40
5.1.2 Hasil Penentuan KHM.....	41
5.2 Analisis Data.....	44
5.2.1 Uji Kruskal Wallis.....	45
5.2.2 Uji Mann Whitney.....	46
5.2.3 Uji Korelasi Spearman.....	47

<b>BAB 6 PEMBAHASAN</b> .....	49
-------------------------------	----

<b>BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	54
-----------------------------------------	----

<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	56
-----------------------------	----

<b>LAMPIRAN</b> .....	59
-----------------------	----

**DAFTAR GAMBAR**

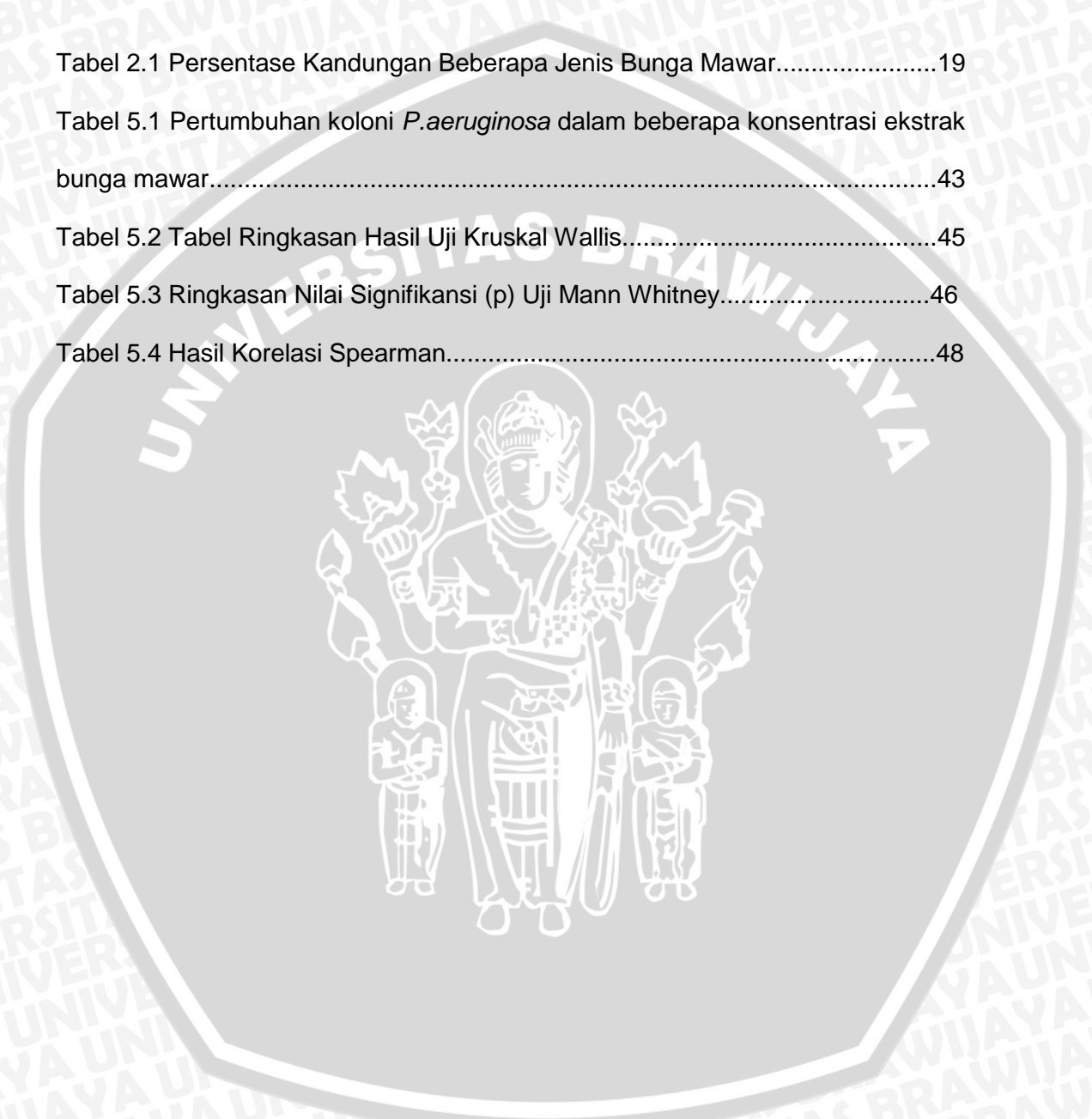


Gambar 2.1 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , di bawah mikroskop elektron.....	5
Gambar 2.2 <i>Rosa hybrida</i> .....	17
Gambar 3.1 Bagan Kerangka Konsep.....	25
Gambar 5.1 Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dengan pewarnaan Gram.....	40
Gambar 5.2 Hasil Penanaman pada medium nutrient agar, bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> menghasilkan piosianin.....	41
Gambar 5.3 Koloni bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dengan beberapa perbedaan konsentrasi ekstrak bunga mawar ( <i>Rosa hybrida</i> ).....	42



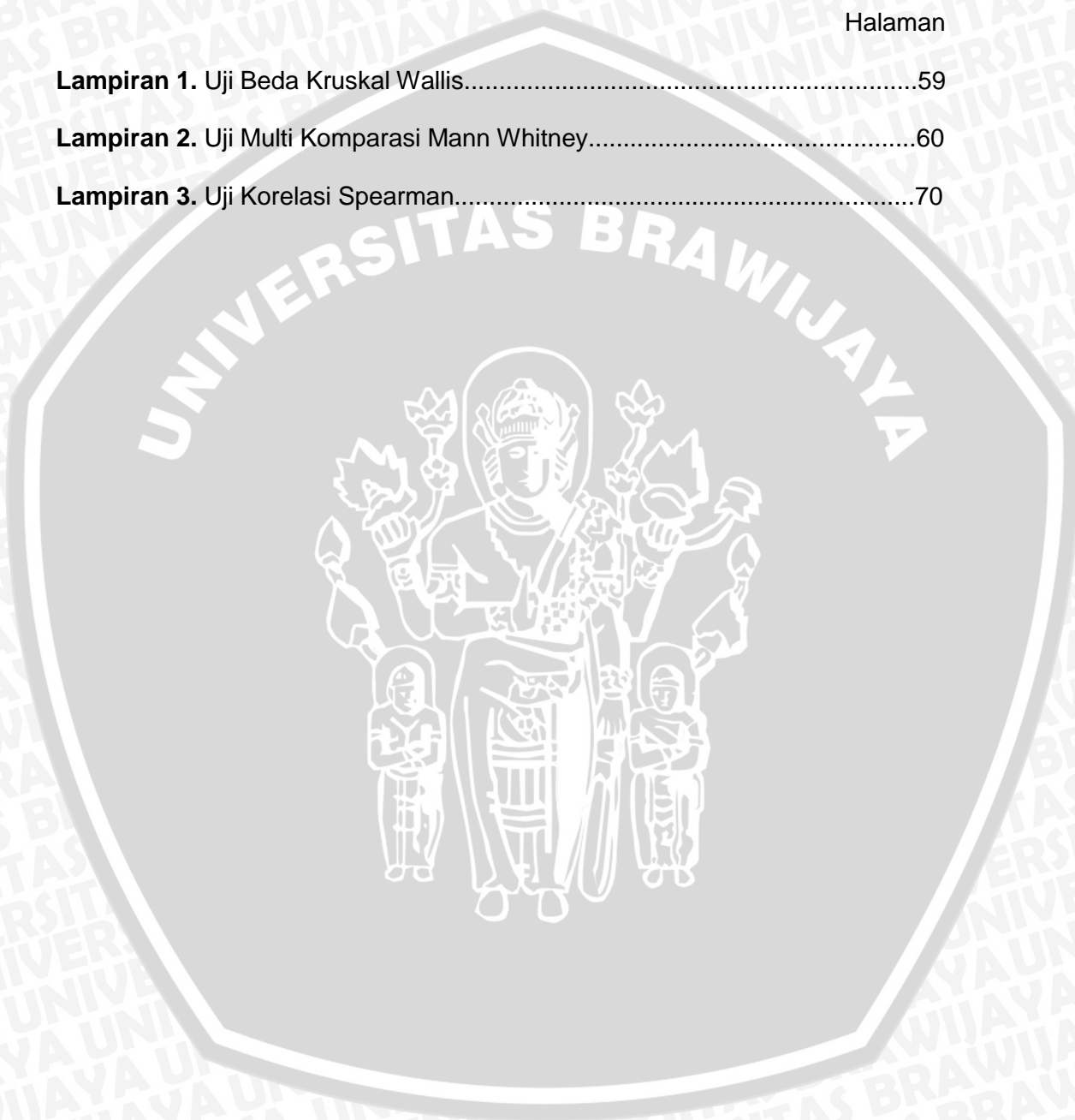
DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Persentase Kandungan Beberapa Jenis Bunga Mawar.....	19
Tabel 5.1 Pertumbuhan koloni <i>P.aeruginosa</i> dalam beberapa konsentrasi ekstrak bunga mawar.....	43
Tabel 5.2 Tabel Ringkasan Hasil Uji Kruskal Wallis.....	45
Tabel 5.3 Ringkasan Nilai Signifikansi (p) Uji Mann Whitney.....	46
Tabel 5.4 Hasil Korelasi Spearman.....	48



## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
<b>Lampiran 1.</b> Uji Beda Kruskal Wallis.....	59
<b>Lampiran 2.</b> Uji Multi Komparasi Mann Whitney.....	60
<b>Lampiran 3.</b> Uji Korelasi Spearman.....	70



## BAB 1

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

*Pseudomonas aeruginosa* dalam jumlah kecil seringkali merupakan flora normal pada intestin dan kulit manusia (Dzen dkk., 2003). *Pseudomonas aeruginosa* secara luas tersebar di alam dan sering berada pada lingkungan lembab rumah sakit. Oleh karena *Pseudomonas* tumbuh subur di lingkungan yang lembab, perhatian khusus perlu diberikan keadaan air di bak mandi, kolam air panas, dan daerah yang lembab lainnya (Jawets, 2007).

Sejak tahun 1980, infeksi nosokomial menjadi perhatian di berbagai negara, terutama Amerika dan Eropa. Angka infeksi nosokomial yang tercatat di beberapa negara berkisar antara 3,3%-9,2%, artinya sekian persen penderita yang dirawat, tertular infeksi nosokomial dan dapat terjadi secara akut maupun kronis. Infeksi nosokomial yang didapatkan oleh penderita yang sedang memperoleh perawatan di rumah sakit dapat menjadi beban tambahan secara psikologis maupun fisik bagi penderita (Darmadi, 2008).

Permasalahan infeksi nosokomial banyak mendapat perhatian para ahli, sebab di samping dapat meningkatkan morbiditas maupun morbiditas, juga menambah biaya perawatan dan obat-obatan, waktu dan tenaga yang akhirnya akan membebani pemerintah/rumah sakit, personil rumah sakit maupun penderita dan keluarganya. Hal ini jelas bertentangan dengan kebijaksanaan pembangunan bidang kesehatan yang justru menekankan peningkatan efisiensi pelayanan kesehatan. Di Indonesia, angka kesakitan dan kematian infeksi

nosokomial diperkirakan akan meningkat, mengingat keadaan rumah sakit dan kesehatan umum relatif belum begitu baik (Cermin Dunia Kedokteran, 1993).

Organisme utama yang menyebabkan infeksi nosokomial meliputi *Pseudomonas aeruginosa* (13%), *Staphylococcus aureus* (12%), *Staphylococcus* koagulase-negatif (10%), *Candida* (10%), *Enterococci* (9%) dan *Enterobacter* (8%) (Guntur, 2007). Berdasarkan CDC, *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri terbesar ke-4 yang merupakan patogen nosokomial paling umum terisolasi yaitu sebanyak 10,1 persen dari semua infeksi yang didapat di rumah sakit. Dari data-data di atas, *Pseudomonas aeruginosa* terutama merupakan patogen nosokomial (Todar, 2011).

Infeksi oleh bakteri tersebut dapat terjadi pada seseorang yang mengalami gangguan pada sistem pertahanan tubuh, misalnya pada orang yang menderita luka bakar, degenerasi keganasan, pada orang-orang dengan gangguan metabolisme atau pada penderita yang mendapatkan tindakan-tindakan invasif maupun intervensi pada saat dirawat di rumah sakit misalnya pemasangan kateter, infus, tindakan-tindakan operatif lainnya, pada penderita yang mendapatkan obat-obat immunosupresif, serta pada penderita yang mendapatkan pengobatan radiasi (Dzen dkk., 2003; Guntur, 2007). Manifestasi yang disebabkan karena infeksi *Pseudomonas* dapat bermacam-macam antara lain menyebabkan infeksi saluran kemih, infeksi sistem pernapasan, dermatitis, infeksi jaringan lunak, bakterimia, infeksi pada tulang dan sendi, infeksi gastrointestinal dan berbagai infeksi sistemik lainnya (Todar, 2011). Pada orang yang mengalami sepsis karena *Pseudomonas aeruginosa*, angka kematiannya sekitar 80% (Dzen dkk., 2003).

*Pseudomonas aeruginosa* mulai mengalami resistensi terhadap bermacam-macam antimikroba. Diantaranya 50% dari bakteri ini resisten terhadap karbenisilin dan tiarsilin. Oleh karena itu, penggunaan antibiotik tidak boleh digunakan secara sembarangan, karena akan menyebabkan resistensi terhadap bakteri tersebut (Dzen dkk., 2003).

Maka dari itu, perlu dicari alternatif antimikroba baru guna mencegah resistensi tersebut. Salah satu bahan yang berpotensi menjadi antimikroba yaitu bunga mawar. Secara umum, bunga mawar dikenal sebagai tanaman hias yang mempunyai bentuk yang indah dan bau yang harum. Tetapi, di balik fungsi keindahan tersebut, bunga mawar mempunyai fungsi farmakologis juga. Beberapa bahan kimia yang terkandung di dalam bunga mawar di antaranya sitral, sitronelol, geraniol, linaol, nerol, eugenol, feniletil, alkohol, farnesol, nonilaldehida (Hariana, 2004). Bahan-bahan tersebut yang diduga sebagai bahan yang berfungsi sebagai antimikroba. Oleh karena itu, penelitian ini akan menguji bunga mawar sebagai antimikroba terhadap pertumbuhan koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

## 1. 2 Rumusan Masalah

Apakah ekstrak bunga mawar mempunyai efek antimikroba terhadap *Pseudomonas aeruginosa* secara *in vitro*?

## 1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Mengetahui apakah ekstrak bunga mawar mempunyai efek antimikroba terhadap pertumbuhan koloni *Pseudomonas aeruginosa*



1.3.2 Mengetahui Kadar Hambat Minimal (KHM) ekstrak bunga mawar terhadap *Pseudomonas aeruginosa*

1.3.3 Mengetahui apakah peningkatan konsentrasi ekstrak bunga mawar menyebabkan penurunan jumlah pertumbuhan koloni bakteri *P.aeruginosa*

#### **1.4 Manfaat Penelitian**

##### **1.4.1 Manfaat Ilmiah**

1.4.1.1 Sebagai dasar penelitian lebih lanjut untuk menguji bunga mawar sebagai antimikroba selain terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

1.4.1.2 Sebagai dasar penelitian selanjutnya dalam menggali kegunaan/manfaat lain yang dikandung dalam bunga mawar



## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 *Pseudomonas aeruginosa*

##### 2.1.1 Taksonomi

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gamma Proteobacteria
Order	: Pseudomonadales
Family	: Pseudomonadaceae
Genus	: <i>Pseudomonas</i>
Species	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>

(Todar, 2012)



Gambar 2.1 *Pseudomonas aeruginosa*, di bawah mikroskop elektron (Gschmeissner, 2012)

### 2.1.2 Epidemiologi

*Pseudomonas* merupakan bakteri yang secara luas terdapat di dunia dan terutama di lingkungan sekitar. Bakteri ini dapat tersebar di tanah, air, tanaman, dan hewan. Di samping itu, bakteri ini sering terdapat pada sejumlah kecil flora normal di intestin dan kulit manusia. Meskipun *Pseudomonas aeruginosa* adalah flora normal di tubuh manusia, tetapi bakteri ini merupakan salah satu spesies dari genus *Pseudomonas* yang dapat menjadi patogen pada manusia (Dzen dkk., 2003).

Bakteri ini dapat ditemui di beberapa reservoir seperti di rumah sakit, klinik, ruang operasi, peralatan medis termasuk alat bantu pernapasan, makanan dan saluran pembuangan air. Selain itu, bakteri ini juga dapat menyebabkan kontaminasi pada alat-alat anestesi dan terapi pernapasan, cairan intravena, bahkan air hasil proses penyulingan (Schaechter *et al.*, 2007).

Salah satu alat yang sering ditemui di rumah sakit adalah endoskopi. Endoskopi (termasuk bronkoskopi) adalah alat-alat medik yang paling sering dihubungkan dengan terjadinya infeksi nosokomial. Suatu penelitian di Amerika Serikat membuktikan bahwa dari 414 pasien yang menjalani prosedur bronkoskopi didapati 9,4% infeksi saluran nafas dan bawah serta infeksi lewat aliran darah, dan pada 66,7% dari infeksi tersebut didapati penyebabnya adalah *Pseudomonas aeruginosa*. Selain itu menurut CDC, insiden infeksi *Pseudomonas aeruginosa* di rumah sakit Amerika Serikat rata-rata 0,4% dan merupakan patogen nosokomial tersering keempat yang biasa ditemukan dari 10,1% infeksi yang didapat di rumah sakit (Mayasari, 2005 ; Todar, 2011).

Mendukung data di atas, sekitar 1% pasien yang dirawat di ICU, terinfeksi *Pseudomonas aeruginosa*. Persentase ini akan meningkat seiring

dengan lamanya rawat inap di rumah sakit yang mencapai antara 3% dan 10%.

Pneumonia yang dihubungkan dengan pemakaian ventilator merupakan infeksi utama bakteri ini dalam hal frekuensi, morbiditas, dan mortalitas (Hauser *et al.*, 2003).

### 2.1.3 Morfologi dan Struktur

*Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri gram negatif, aerob, non fermentasi, berbentuk batang, berukuran sekitar 0.6 x 2  $\mu\text{m}$ . Hampir semua strain bakteri ini bisa bergerak (motil) dengan menggunakan satu atau beberapa flagella yang polar, dapat dijumpai dalam bentuk tunggal, berpasangan dan kadang-kadang membentuk rantai pendek (Jawetz, 2008; Cermin Dunia Kedokteran, 1999).

Dinding selnya mengandung lipopolisakarida (LPS) yang terdiri atas 2-keto-3-deoksi-asam oktanat (KDO) dan lipid A. Selain itu, pada dinding sel bakteri ini juga terdapat pili (fimbriae) yang memanjang keluar permukaan. Pada beberapa strain, individual, maupun multipel sel, dikelilingi oleh lapisan yang tipis yang tersusun oleh komponen campuran, tapi pada umumnya tersusun dari polisakarida. Pada polisakarida ekstraseluler ini, terdapat struktur yang tidak biasa yang komponennya mirip dengan algae disebut dengan *alginate polysaccharide* atau *alginate exopolysaccharide* (Shimeld *et al.*, 1999; Dzen *dkk.*, 2003).

### 2.1.4 Fisiologi

#### 2.1.4.1 Biokimia dan Kultur

*Pseudomonas aeruginosa* dapat tumbuh dengan baik pada media perbenihan yang digunakan untuk membiakkan bakteri enterik, maupun pada media pembenihan yang bersifat alkalis untuk isolasi *Vibrio cholerae* (Dzen *dkk.*, 2003). Pada kultur, bakteri ini membentuk koloni bulat halus dengan warna

kehijauan neon. Selain itu, juga sering menghasilkan pigmen pyocyanin nonfluorescent kebiruan, yang berdifusi ke agar-agar. Spesies *Pseudomonas* lain tidak menghasilkan pyocyanin. Banyak strain dari bakteri ini juga menghasilkan pigmen pyoverdin neon, yang memberikan warna kehijauan untuk agar-agar. Beberapa strain menghasilkan pigmen merah pyorubin gelap atau pyomelanin pigmen hitam. Bakteri ini dapat tumbuh secara optimal pada suhu 37°C dan juga bisa tumbuh pada suhu tinggi sekitar 42°C. Bakteri ini juga dapat tumbuh baik pada lingkungan yang banyak mengandung unsur nitrogen dan karbon (Jawetz, 2008; Todar, 2011).

*P. aeruginosa* pada kultur dapat menghasilkan beberapa jenis koloni. Jika bakteri ini memiliki jenis koloni yang berbeda, kemungkinan juga memiliki perbedaan aktivitas biokimia, enzimatik dan pola kerentanan antimikroba. Kadang-kadang tidak jelas apakah jenis koloni mewakili strain yang berbeda atau varian dari strain yang sama (Jawetz, 2007).

Isolat *P. aeruginosa* dapat menghasilkan tiga jenis koloni. Pertama, isolat alami dari tanah atau air biasanya menghasilkan koloni yang kecil dan kasar. Kedua, sampel yang diambil dari klinis secara umum menghasilkan koloni halus. Salah satu jenisnya memiliki penampakan *fried-egg* (seperti telur goreng), halus, dengan tepi rata. Jenis yang ketiga, sering diperoleh dari sekresi saluran pernapasan dan saluran kencing, memiliki tampilan yang berlendir, yang dikaitkan dengan produksi lendir alginat. Koloni halus dan berlendir yang dianggap berperan dalam kolonisasi dan virulensi (Todar, 2011).

#### 2.1.4.2 Resistensi Terhadap Pengaruh Fisik dan Kimia

*Pseudomonas aeruginosa* dapat hidup dalam beberapa cairan antiseptik yang digunakan dalam disinfeksi peralatan-peralatan medis dan endoskopi

(Schaechter *et al.*, 2007). Disinfektan yang efektif untuk membunuh bakteri ini adalah golongan fenol dan glutaraldehid, sedangkan heksaklorofen dan senyawa amonium kwaterner tidak bermanfaat. Pada keadaan yang lembab, bakteri ini dapat tumbuh dengan baik pada berbagai tempat dan alat. Tindakan sederhana yang dapat dilakukan untuk mematikan bakteri tersebut adalah dengan pendidihan terhadap alat yang dicurigai terkontaminasi (Dzen *dkk.*, 2003).

*Pseudomonas aeruginosa* juga dapat hidup di lingkungan yang kurang baik atau pada suatu keadaan yang bisa membuat bakteri lain mati. Bakteri ini dapat ditemukan dalam bak mandi air panas dengan konsentrasi klorin yang rendah dan air radioaktif dari tumpukan atom pembangkit listrik tenaga nuklir. Ada dua faktor yang menyebabkan bakteri ini bertahan dalam lingkungan ekstrim seperti yang disebutkan di atas, yaitu sekresi enzim yang dapat menghancurkan bahan-bahan toksik dan dinding sel impermeabel yang saling bertautan (Shimeld *et al.*, 1999).

#### 2.1.4.3 Dasar-Dasar Virulensi

##### 1. Faktor invasi antara lain :

- Pili yang berfungsi mengadhesi sel, menempel pada permukaan sel epitel
- Flagella yang berfungsi untuk adhesi, motilitas, dan inflamasi
- Hemolisin yang merupakan enzim fosfolipase dan glikolipid. Fosfolipase menyebabkan rusaknya jaringan sehingga memudahkan proses invasi

- Lipopolisakarida mempunyai lipid A, menginduksi terjadinya demam, leukopenia, dan syok. Selain itu, juga berfungsi untuk mengaktivasi antifagosit dan inflamasi

## 2. Faktor virulensi antara lain :

- Eksotoksin A : memiliki aktivasi adenosin-difosfat transferase, menyebabkan inaktivasi faktor elongasi dan hambatan sintesis protein dari sel eukariotik
- Eksotoksin S : mengkatalisir pemindahan bagian ADP-ribose dari NAD (nikotinamid-adenin-denukleotida) kepada sejumlah protein yang berbeda pada sel eukariotik. Berfungsi untuk membunuh sel dan menyebabkan kerusakan jaringan (Setianingrum, 2009; Dzen dkk., 2003; Shimeld *et al.*, 1999).

### 2.1.5 Struktur Antigen dan Toksin

#### 2.1.5.1 Struktur Antigen

Berdasarkan antigen O, *Pseudomonas aeruginosa* dibagi menjadi 17 serotipe. Selain antigen O atau antigen somatik dan antigen-H atau antigen flagella, bakteri ini juga memiliki *slime layer* yang bersifat antigenik. Adanya *slime layer* ini, menyebabkan sulitnya proses fagositosis (Dzen dkk., 2003).

Untuk membedakan galur yang satu dengan yang lainnya, dapat dengan melakukan reaksi serologis terhadap antigen, dengan *phage typing*, dan produksi pyosianin. Pemindahan materi genetik diantara galur *Pseudomonas aeruginosa* dapat terjadi melalui proses konjugasi dan transduksi (Dzen dkk., 2003).

### 2.1.5.2 Toksin

Toksin pada *Pseudomonas* mempunyai peranan yang sangat penting terhadap manifestasi atau gejala klinis. Ada 3 macam toksin yang dimiliki *Pseudomonas aeruginosa* meliputi :

#### a. Endotoksin

Endotoksin pada *Pseudomonas aeruginosa* ialah *lipopolysaccaride* (LPS) yang terdapat di membran luar. Komposisi endotoksin terdiri atas rantai polisakarida (rantai O), yang di berbagai spesies bervariasi dan tidak toksik melapisi luar membran. Pemberian injeksi endotoksin murni atau lipid pada hewan coba dapat menimbulkan gejala syok sepsis (Buchori *dkk.*, 2006).

#### b. Eksotoksin

*P.aeruginosa* menghasilkan 2 macam eksotoksin yaitu eksotoksin A dan eksotoksin S

- Eksotoksin A, yang bersifat letal terhadap binatang percobaan. Angka kematian binatang percobaan akibat infeksi oleh *P.aeruginosa* yang menghasilkan eksotoksin A lebih tinggi daripada yang tidak menghasilkannya
- Eksotoksin S, mengkatalisir pemindahan bagian ADP-ribose dari NAD (nikotinamid-adenin-dinukleotida) kepada sejumlah protein yang berbeda pada sel eukariotik. Berfungsi untuk membunuh sel dan menyebabkan kerusakan jaringan

(Dzen *dkk.*, 2003).



### c. Enterotoksin

*Pseudomonas aeruginosa* juga menghasilkan enterotoksin yang bertanggung jawab pada terjadinya diare (Dzen *dkk.*, 2003).

### 2.1.6 Gejala Klinis

Infeksi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* terjadi pada seseorang yang mengalami gangguan sistem pertahanan tubuh. Misalnya, pada orang yang menderita luka bakar, degenerasi keganasan, pada orang-orang dengan penyakit gangguan metabolisme, pada penderita yang mendapatkan tindakan invasif, pada penderita yang mendapatkan obat-obat immunosupresif, serta pada penderita yang mendapatkan pengobatan radiasi. Pada orang-orang usia lanjut, sering menyebabkan infeksi saluran kemih (Dzen *dkk.*, 2003).

Pada orang-orang yang sehat, *Pseudomonas aeruginosa* sering menyebabkan infeksi yang berhubungan dengan luka yang terkontaminasi dengan lingkungan di sekitar. Misalnya, luka bakar yang luas, luka karena tusukan yang dalam, luka yang terbuka setelah kecelakaan, dan lain-lain. Luka bakar yang terinfeksi, kemungkinan mempunyai pus yang berwarna biru kehijauan atau eksudat karena produksi pyosianin dan pyoverdin (Shimeld *et al.*, 1999).

Infeksi yang parah seperti kolonisasi yang terdapat pada traktus intestinal, bisa diikuti dengan bakterimia. Dalam beberapa kasus, sindrom kutaneus yang sering dikenal dengan *ecthyma gangrenosum* dapat berkembang. Hal tersebut dimulai dengan adanya satu atau beberapa lesi kulit makulopapular (biasanya terdapat pada perineum, glutea, ekstremitas, atau di daerah sekitar axilla) yang sangat nyeri, berkembang lebih besar/parah sekitar periode 2 atau 3 hari. Daerah pusat dari lesi menjadi keunguan, kemudian menjadi hitam dan

nekrosis karena invasi dan distruksi langsung arteri dan vena kecil oleh organisme bakteri ini. Rata-rata 50-70% mortalitas yang dilaporkan disebabkan oleh bakteremia yang parah (Shimeld *et al.*, 1999).

Osteomyelitis karena organisme ini bisa terjadi setelah adanya luka yang dalam dan disertai dengan fraktur pada tulang. Infeksi kemungkinan dapat terlokalisasi atau meyebar ke seluruh sumsum, korteks, dan komponen tulang yang lain. Debridemen dan terapi antibiotik diperlukan untuk pengobatan (Shimeld *et al.*, 1999).

Otitis eksterna sering disebabkan oleh *Pseudomonas aeruginosa* karena bakteri ini hidup di lingkungan yang lembab. Otitis eksterna atau sering disebut *swimmer's ear* cukup sering ditemukan pada anak-anak yang sering menghabiskan waktu di kolam renang. Telinga bisa menjadi nyeri dan gatal tetapi masih relatif jinak. Otitis media yang ganas jarang terjadi, tetapi mungkin bisa ditemukan pada orang tua dengan diabetes mellitus atau bayi yang baru lahir dengan penyakit yang mendasari (Shimeld *et al.*, 1999).

Pneumonia yang disebabkan oleh infeksi *Pseudomonas aeruginosa* merupakan masalah utama yang menyebabkan penyakit berat pada pasien-pasien yang dirawat di rumah sakit dan pasien yang disertai dengan bronkhoektasis. Lebih dari 40% pneumonia yang didapat di rumah sakit disebabkan karena *Pseudomonas* dan bakteri gram negatif lainnya. Bakteremia pada pneumonia yang disebabkan *Pseudomonas aeruginosa* sering dihubungkan dengan mortalitas yang tinggi sekitar 60-70% meskipun sudah dilakukan tatalaksana dengan antibiotik yang tepat (Schaechter *et al.*, 2007).

*Pseudomonas aeruginosa* juga dapat menjadi penyebab bakterial keratitis pada mata. Hampir 70% mikrobial keratitis karena pemakaian kontak lensa

disebabkan oleh bakteri ini. Pemakaian kontak lensa sangat rentan terhadap terjadinya infeksi bakteri, terutama *Pseudomonas aeruginosa*, maka perlu diperhatikan kebersihan dalam pemakaian kontak lensa (Onofrey *et al.*, 2005).

### **2.1.7 Mekanisme Kerja Antimikroba**

Obat antimikroba memiliki susunan kimiawi dan cara kerja yang berbeda-beda antara jenis satu obat dengan jenis yang lainnya. Antimikroba mengganggu bagian-bagian mikroba yang peka, antara lain :

#### **2.1.7.1 Menghambat Sintesis Dinding Sel**

Dasar toksisitas selektif dari golongan antimikroba ini terletak pada perbedaan struktur dinding sel. Sel prokariot terdiri dari peptidoglikan sedangkan sel eukariot tidak memiliki peptidoglikan sehingga golongan obat ini relatif aman sebagai obat antibakteri tetapi obat ini tidak mempunyai pengaruh terhadap fungi, parasit, maupun sel hospes. Obat antimikroba yang menghambat pembentukan dinding sel efektif pada saat bakteri sedang aktif membelah (Dzen *dkk.*, 2003).

Dinding sel bakteri dapat mengalami kerusakan misalnya karena pemberian enzim lisozim atau terhambatnya pembentukan dinding sel. Hal ini yang dapat menyebabkan sel bakteri lisis. Yang termasuk antimikroba golongan ini adalah antimikroba  $\beta$ -laktam, golongan penisilin, golongan sefalosprin, golongan karbapenem, klavulanat dan sulbaktam, serta antimikroba non  $\beta$ -laktam (Dzen *dkk.*, 2003).

#### **2.1.7.2 Merusak Membran Sel**

Membran sel menjaga komposisi internal sel dengan cara berfungsi di dalam permeabilitas selektif dan proses transport aktif. Rusaknya membran sel dapat menyebabkan metabolit penting di dalam sel lolos keluar dari sel sehingga

dapat menyebabkan kematian sel. Antimikroba yang dimaksud adalah golongan polomiksin B, amfoterisin B, dan senyawa Azol (Dzen *dkk.*, 2003).

#### **2.1.7.3 Menghambat Sintesis Protein**

Dasar toksisitas selektif dari antimikroba yang menghambat sintesis protein adalah struktur ribosom sek prokariot (ribosom 70S) berbeda dengan sel eukariot (ribosom 80S). Namun demikian, perlu diingat bahwa mitokondria sel eukariot berisi ribosom 70S. Yang termasuk dalam golongan ini adalah fenikol, linkomisin, eritromisin, streptomisin, dan tetrasiklin (Dzen *dkk.*, 2003).

#### **2.1.7.4 Menghambat Sintesis Asam Nukleat**

Antimikroba ini bekerja dengan cara menghambat sintesis mRNA pada transkripsi (rifampisin) atau menghambat replikasi DNA pada proses pembelahan sel. Yang termasuk golongan ini adalah asam nalidiksat, senyawa kuinolon dan mitomisin (Dzen *dkk.*, 2003).

#### **2.1.7.5 Antagonis Metabolit**

Aktivitas enzim seringkali dihambat oleh senyawa yang mempunyai struktur mirip dengan substrat asalnya. Senyawa penghambat ini bergabung dengan enzim sedemikian rupa sehingga dapat mencegah reaksi dengan substrat dan reaksi-reaksi katalitik. Senyawa penghambat tersebut bersifat analog dengan faktor-faktor pertumbuhan bakteri, misalnya vitamin, asam amino, purin, dan pirimidin. Yang termasuk dalam golongan ini antara lain sulfonamid, trimetoprim dan primetamin (Dzen *dkk.*, 2003).

#### **2.1.7.6 Resistensi *Pseudomonas aeruginosa* terhadap Antibiotik**

*Pseudomonas aeruginosa* umumnya resisten terhadap antibiotik, oleh karena itu kuman patogen ini sangat berbahaya dan perlu diwaspadai. Bakteri ini secara alami resisten terhadap antibiotik dikarenakan lapisan dinding sel yang

dimiliki oleh gram-negatif. Bakteri ini juga mempunyai kecenderungan untuk membentuk koloni di permukaan epitel dalam bentuk selaput biofilm sehingga membuat kuman ini tahan terhadap dosis terapi antibiotik. Dalam habitatnya, bakteri ini berasosiasi dengan basil *actinomyces* dan jamur, telah mengembangkan resistensi terhadap berbagai antibiotik secara alami (Todar, 2011).

*Multidrug resistant* pada *P.aeruginosa* (resisten terhadap lebih dari 1 golongan antibiotik) sudah pernah didefinisikan oleh beberapa ahli. Panresisten merupakan resistensi terhadap semua antibiotik yang direkomendasikan untuk tatalaksana empiris untuk penyakit pneumonia yang didapat karena patogen gram negatif. Antibiotik yang dimaksud antara lain cefepime, ceftazidime, imipenem, meropenem, piperacillin/tazobactam, ciprofloxacin, dan levofloxacin. *Extreme drug resistance* (XDR) pada *Pseudomonas aeruginosa* merupakan resistensi terhadap semua antibiotik yang disebutkan ditambah dengan aminoglykosida dan colistin/polymixin B (Mayers, 2009).

## 2.2 Bunga Mawar

### 2.2.1 Toksonomi dan Karakteristik Bunga Mawar

#### 2.2.1.1 Toksonomi

Kingdom : Plantae  
Divisio : Magnoliophyta  
Kelas : Magnoliopsida  
Ordo : Rosales  
Famili : Rosaceae  
Genus : *Rosa*

Species : *Rosa hybrida*

(Departemen Pertanian, 2009)



**Gambar 2.2 *Rosa Hybrida***

#### **2.2.1.2 Karakteristik Bunga Mawar**

Bunga mawar merupakan tanaman yang hidup di lingkungan semak belukar dari jenis genus *Rosa*. Mawar liar terdiri lebih dari 100 spesies, kebanyakan tumbuh di belahan bumi bagian utara yang mempunyai udara sejuk. Spesies mawar umumnya merupakan tanaman semak yang berduri atau tanaman memanjat yang tingginya bisa mencapai 2 sampai 5 meter. Walaupun jarang ditemui, tinggi tanaman mawar yang merambat di tanaman lain bisa mencapai 20 meter (Rifanawati, 2011).

Mawar yang dipakai dalam percobaan ini merupakan mawar dari spesies *Rosa hybrida*. Mawar ini merupakan mawar potong segar yang sering digunakan masyarakat umum sebagai mawar hias. Karakteristik dari mawar ini antara lain bunga tunggal, besar, kompak, dan padat. Selain itu, helaian bunga banyak dan tidak selalu harum. Tinggi tanaman maksimal 1.5 meter serta memiliki tangkai

yang panjang. Pada satu cabangnya, memiliki satu bunga pada ujungnya (Departemen Pertanian, 2009).

Pada umumnya, mawar memiliki jenis akar serabut (*radix adventitia*). Batangnya memiliki duri berbentuk seperti pengait yang berfungsi sebagai pegangan sewaktu memanjat tumbuhan lain. Namun, ada beberapa spesies mawar mempunyai duri yang tidak berkembang dan tidak tajam. Sebagian besar spesies mawar memiliki daun yang panjangnya antara 5-15 cm. Daunnya majemuk, dimana tiap tangkai daun terdiri dari paling sedikit 3 atau 5 hingga 9 atau 13 anak daun. Warna pada bunga biasanya putih dan merah jambu atau kuning dan merah pada beberapa spesies (Arya, 2010).

### 2.2.2 Kandungan Mawar

Di dalam bunga mawar, terdapat senyawa-senyawa alami yang diduga sebagai bahan antimikroba. Zat-zat yang dimaksud antara lain gerianol, eugenol, citronellol, lomonen, flavonoid, dan tanin. Selain zat –zat yang disebutkan, ada kandungan kimia lain yaitu nerol, asam geranik, terpena, pektin polyphenol, vanillin, karotenoid, stearopten, farnesol, feniletilakohol, vitamin C, B, E, K (Rifanawati, 2011).

Pigmen antosianin yang merupakan kelompok flavonoid merupakan pigmen yang paling luas dan penting karena banyak tersebar pada berbagai organ tanaman, terutama pada bagian bunga (ditemukan hampir 30% terkandung dalam berat keringnya). Salah satu pelarut yang sering digunakan untuk mengekstraksi antosianin (flavonoid) adalah etanol (Farima, 2009).

Tabel 2.1 Persentase Kandungan Beberapa Jenis Bunga Mawar

Nama Zat Aktif	Jenis Mawar dan Prosentase Zat Aktif (%)				
	Merah Tabur	Putih Tabur	Americana	Lokal	Asal Turki
Phenyl ethyl alkohol	66,7	5,31	4,97	12,99	1,98
Citronellol	7,25	13,51	13,13	27,23	43,53
Gerianol	3,37	9,03	7,91	15,18	3,25
Methyl eugenol	4,44	-	415,03	4,44	-
Beta-pipena 2,69%	2,69	9,73	16,36	4,59	-
Alfa-pipena 2,53%	2,53	1,71	2,96	1,63	-
Alfa-guaiene 1,63%	-	-	-	-	1,63
Eugenol 1,25 %	-	-	-	-	1,25
Nerol 6,26%	-	-	-	-	6,26
Linalol	-	-	-	-	1,24

(Rochim, 2009)

### 2.2.3 Manfaat Bunga Mawar

Bunga mawar selain dapat sebagai tanaman hias, bahan pewangi, juga dapat digunakan sebagai antimikroba. Dalam sebuah penelitian di London, Roziana dan Dalina berhasil menemukan uji coba bunga mawar sebagai antimikroba terhadap bakteri *E. coli*. Dalam percobaan mereka, proses ekstraksi dengan menggunakan beberapa pelarut dilakukan, pengujian aktivitas antibakteri ekstrak pada *Escherichia coli* - bakteri gram negatif, melalui metode difusi cakram Kirby-Bauer. Dalam percobaan tersebut, didapatkan hasil bahwa mawar segar yang diekstrak dengan etil asetat menunjukkan hasil yang baik. Dalam penelitian ini menunjukkan 39 mm zona hambatan pada agar Mueller Hinton,



zona diameter yang besar, menunjukkan bahwa bakteri Gram-negatif dari *E. coli* yang peka terhadap ekstrak bunga mawar. Ini berarti ekstrak potensial untuk membunuh atau menghambat pertumbuhan *E. coli*. Mereka menyimpulkan bahwa senyawa polar antara dalam mawar baik segar atau residu, mereka memberikan potensi besar sebagai agen antibakteri untuk menghambat *E. coli* (Hanaphi, 2010).

#### 2.2.4 Daya Antimikroba Bunga Mawar

Bunga mawar mengandung senyawa-senyawa kimia seperti geraniol, eugenol, citronellol, lomonen, flavonoid, dan tanin. Terpenoid dapat menyebabkan kerusakan pada membran sel bakteri. Flavonoid dapat melekat pada adhesin sedangkan alkaloid dapat mengadakan interkalasi dengan dinding sel atau DNA (Shanmugam *et al.*, 2010).

Flavonoid adalah senyawa kimia alami yang akhir-akhir ini menjadi subyek dari ilmu pengetahuan yang luas dan pengobatan. Flavonoid adalah pigmen pada tumbuhan yang didintesis dari *phenylalanine*, pada umumnya flavonoid memiliki penampilan dalam berbagai warna dari kelopak bunga. Pada saat terkena sinar matahari, umumnya flavonoid akan menunjukkan *flouroscense*. Flavonoid mencegah pembentukan atau bahkan membunuh strain dari beberapa bakteri, mencegah pembentukan enzim pada virus seperti reverse transcriptase dan protease, serta dapat juga menghancurkan beberapa protozoa yang bersifat patogen. Pada ilmu kedokteran yang modern, penggunaan flavonoid akan meningkat sebagai tatalaksana beberapa infeksi, menstimulasi hormon, neurotransmitter dan sebagai antioksidan (Shanmugam *et al.*, 2010).

Tannin merupakan senyawa organik yang dihasilkan dapat ditemukan pada ekstrak tanaman. Pada konsentrasi tinggi, tannin biasanya dapat

menghambat aktivitas enzim tetapi pada konsentrasi rendah tannin sering menstimulasi aktivitas enzim. Kegunaan tannin antara lain melindungi mukus membran, mengurangi hipersekresi membran mukus, mengurangi inflamasi, dan mencegah pendarahan pada luka kecil (Hoffmann, 2003).

### 2.3 Tes Kepekaan Kuman terhadap Antimikroba *in Vitro*

Uji kepekaan terhadap antimikroba secara *in vitro* bertujuan untuk mengetahui kepekaan suatu bahan terhadap bakteri tertentu. Pada dasarnya uji ini dapat dilakukan dengan 2 cara, yaitu metode dilusi dan metode difusi cakram (Dzen *dkk.*, 2003)

#### 2.3.1 Metode Dilusi

Metode dilusi ada 2 cara:

##### a. Dilusi Tabung

Metode ini digunakan untuk mengetahui:

- KHM (Kadar Hambat Minimal) dari antimikroba, yaitu: konsentrasi terendah pada antimikroba pada tabung yang ditunjukkan dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih (tidak ada pertumbuhan mikroba)
- KBM (Kadar Bunuh Minimal) dari antimikroba, yaitu: konsentrasi antimikroba terendah pada biakan padat yang ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni mikroba

Prinsip dari penggunaan dilusi tabung ini yaitu dengan menggunakan satu seri tabung reaksi yang diisi media cair dan sejumlah tertentu sel mikroba yang diuji. Kemudian masing-masing tabung diisi dengan bahan yang telah diencerkan secara serial. Selanjutnya, seri tabung diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-

24 jam dan diamati terjadinya kekeruhan pada tabung. Selanjutnya biakan dari semua tabung yang jernih diinokulasikan pada media agar padat, diinkubasikan dan keesokan harinya diamati ada tidaknya koloni mikroba yang tumbuh (Dzen *et al*, 2003).

#### b. Dilusi Agar

Uji kepekaan antimikroba yang lain adalah menggunakan metode dilusi agar. Metode dilusi agar digunakan untuk menentukan konsentrasi minimum yang dibutuhkan oleh suatu bahan antimikroba untuk menghambat atau membunuh mikroorganisme. Cara ini memiliki kelebihan dibanding metode lainnya karena fleksibilitasnya, yaitu:

- Dapat digunakan untuk mendapatkan hasil tes yang akurat terhadap bakteri yang tidak dapat dites dengan metode difusi cakram
- Dapat menguji obat-obatan antibiotik yang berbentuk bubuk
- Format hasil uji kepekaan antimikroba dengan metode dilusi agar dapat berupa hasil kuantitatif (KHM dalam satuan microgram per millimeter), dalam bentuk kategori (*susceptible*, *moderately susceptible*, atau *resistant*), atau dapat menggunakan keduanya.
- Dapat mendeteksi berbagai pola resistensi yang mungkin tidak terdeteksi oleh metode difusi cakram (Balows *et al.*, 1991).

Metode dilusi agar telah distandardisasi dan dapat dipercaya sehingga sering digunakan untuk mengevaluasi akurasi metode pengujian lainnya. Dengan metode ini kita dapat menguji beberapa mikroba sekaligus dan kontaminasi oleh kuman lain dapat dideteksi, tidak seperti pada metode dilusi tabung (Baron *et al.*, 1994).

Kerugian metode ini adalah lamanya waktu yang dibutuhkan dan ketergantungan terhadap tenaga ahli yang mampu melakukan prosedur pengujian mulai dari persiapan alat-alat, pembuatan medium hingga proses inokulasi (Baron *et al.*, 1994).

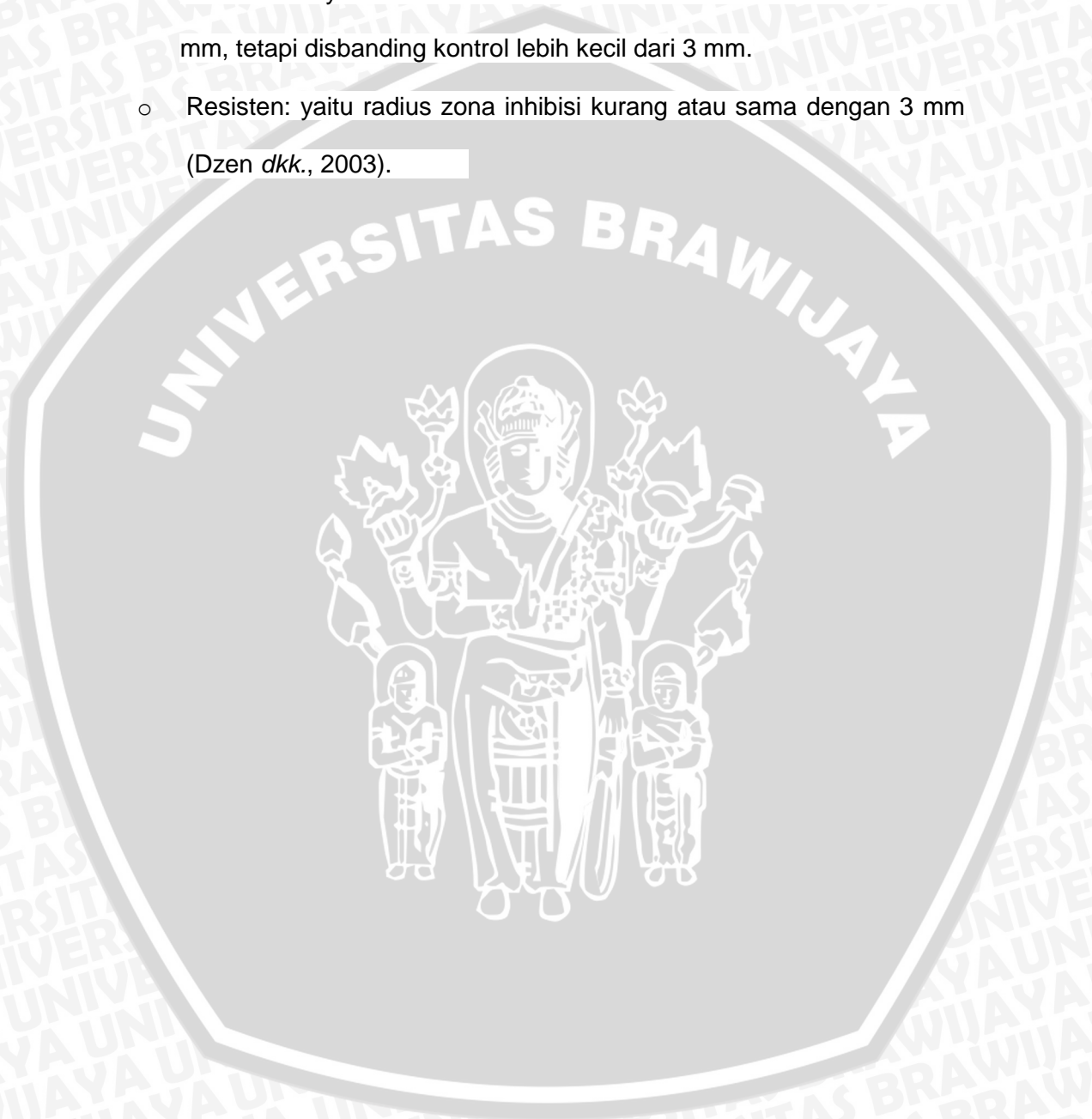
### 2.3.2 Metode Difusi Cakram

Metode difusi cakram merupakan suatu tes kepekaan antimikroba yang menggunakan cakram kertas saring yang mengandung bahan antimikroba yang telah ditentukan kadarnya. Cakram tersebut kemudian ditempatkan pada media padat yang telah diberi bakteri uji. Setelah diinkubasi, diameter area hambatan dihitung sebagai daya hambat terhadap bakteri uji. Area hambatan yang terbentuk ditunjukkan sebagai daerah yang tidak memperlihatkan adanya pertumbuhan bakteri di sekitar cakram kertas saring. (Dzen *dkk.*, 2003)

Analisis hasil uji kepekaan tersebut dapat dilakukan melalui 2 cara, sebagai berikut:

1. Cara Kirby Bauer, yaitu dengan cara membandingkan diameter dari area jernih (zona hambatan) di sekitar cakram dengan table standar yang dibuat oleh NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standard). Dengan table NCCLS ini dapat diketahui kriteria sensitif, sensitif intermediet, dan resisten.
2. Cara Joan-Stokes, yaitu dengan cara membandingkan radius zona hambatan yang terjadi antara bakteri kontrol yang sudah diketahui kepekaannya terhadap obat tersebut dengan isolate bakteri yang diuji. Pada cara Joan-Stokes, prosedur uji kepekaan untuk bakteri kontrol dan bakteri uji dilakukan bersama-sama dalam satu piring agar. Kriteria metode Joan-Stokes adalah sebagai berikut:

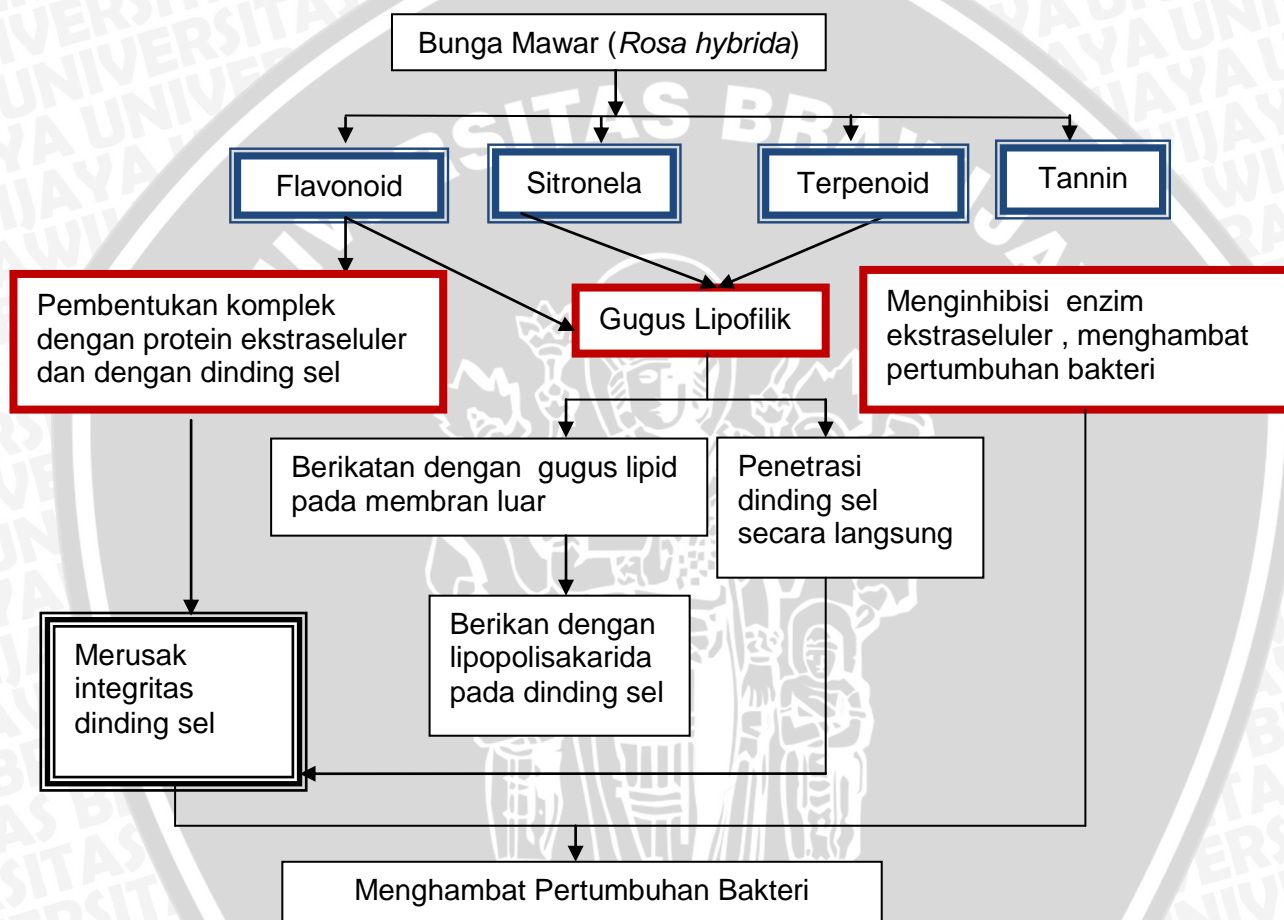
- Sensitif: yaitu radius zona inhibisi kuman tes lebih luas , sama dengan atau lebih kecil tetapi tidak lebih dari 3 mm terhadap kontrol.
  - Intermediet: yaitu radius zona inhibis kuman tes lebih besar dari 3 mm, tetapi dibanding kontrol lebih kecil dari 3 mm.
  - Resisten: yaitu radius zona inhibisi kurang atau sama dengan 3 mm
- (Dzen *dkk.*, 2003).



BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Konsep



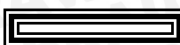
Keterangan :



: zat aktif dalam ekstrak bunga mawar



: mekanisme kerja zat aktif



: proses yang terjadi pada *Pseudomonas airugnosa*

Gambar 3.1 Bagan Kerangka Konsep



Ekstrak bunga mawar mengandung senyawa-senyawa yang mempunyai efek antimikroba, antara lain flavonoid, sitronelol, terpenoid, dan tannin. Tannin dapat menghambat enzim ekstraseluler bakteri dan menghambat pertumbuhan bakteri. Flavonoid, sitronelol, dan terpenoid merusak integritas dinding sel melalui gugus lipofiliknya. Pertama, melalui interaksinya dengan gugus lipid pada membran luar dan lipopolisakarida pada dinding sel dan yang kedua, dengan penetrasi langsung dinding sel bakteri. Flavonoid dapat membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler dan merusak integritas dinding sel. Semua mekanisme tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri

### 3.2 Hipotesis

Ekstrak bunga mawar mempunyai efek antimikroba terhadap *Pseudomonas aeruginosa*.



## BAB 4

### METODE PENELITIAN

#### 4.1 Desain Penelitian

Pada penelitian ini digunakan metode *true experimental design* dengan *post test only control group design*. Dalam penelitian ini dilakukan uji laboratorium yang bertujuan untuk mengetahui dan membuktikan efek antimikroba dari ekstrak bunga mawar terhadap pertumbuhan koloni *Pseudomonas aeruginosa* secara *in vitro*. Adapun uji kepekaan antimikroba yang dipakai untuk menentukan KHM adalah uji kepekaan antimikroba dengan metode dilusi agar.

#### 4.2 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang diambil dari sediaan kultur milik Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

#### 4.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 21 Februari 2012 sampai 4 Juli 2012 di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.



#### 4.4 Jumlah Pengulangan

Untuk menghitung jumlah pengulangan dapat diketahui dengan rumus:

$$(t-1) (r-1) \geq 15$$

Keterangan:

t = jumlah perlakuan

j = jumlah pengulangan

(Supranto, 2000)

karena jumlah perlakuan (t) adalah 6, maka:

$$(t-1) (r-1) \geq 15$$

$$(6-1) (r-1) \geq 15$$

$$5 (r-1) \geq 15$$

$$5r - 5 \geq 15$$

$$5r \geq 15+5$$

$$r \geq 4$$

Berdasarkan perhitungan di atas, maka setiap perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 4.

#### 4.5 Variable Penelitian

##### 4.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak bunga mawar yang dibuat dengan konsentrasi kadar ekstrak antara lain : 0%; 0.2%; 0.3%; 0.4%; 0,5%; 0.6% berdasarkan eksplorasi awal atau penelitian pendahuluan.

#### 4.5.2 Variabel Tergantung

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah tingkat pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* untuk menentukan KHM.

#### 4.6 Definisi Operasional

Di dalam penelitian ini ada beberapa hal yang perlu diketahui, yaitu:

- a. Sediaan ekstrak bunga mawar (*Rosa hybrida*) diperoleh dari hasil ekstraksi kelopak bunga mawar melalui metode maserasi dengan etanol. Bunga mawar segar dibeli dari pasar bunga Splendid Malang.
- b. *Pseudomonas aeruginosa* yang digunakan di dalam penelitian ini adalah bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang dimiliki oleh Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
- c. Konsentrasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah 0%, 0.2%, 0.3%, 0.4%, 0.5% dan 0.6%. Hasil penelitian dinyatakan dalam bentuk scoring, yaitu +3, +2, +1, 0, yang berarti +3 adalah koloni tumbuh tebal, tidak terhitung, diameter koloni lebar, +2 adalah koloni tumbuh tipis, tidak terhitung, diameter koloni sempit/kecil, +1 adalah koloni tumbuh sangat tipis, tidak terhitung, diameter koloni sangat kecil, dan 0 berarti tidak ada pertumbuhan.
- d. Kadar Hambat Minimal (KHM) yaitu konsentrasi terendah dari antimikroba yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan metode dilusi agar yang ditandai dengan tidak ada pertumbuhan koloni (*scoring* 0). (Hendriksen, 2003)

## 4.7 Alat dan Bahan Penelitian

### 4.7.1 Alat

Alat yang digunakan dalam pembuatan ekstrak bunga mawar, yaitu:

- Blender
- Penimbang
- Kertas saring
- Tabung ekstraksi
- Pengaduk
- *Rotary evaporator*
- Alat pemanas air
- Labu penampung hasil evaporasi
- Tabung pendingin
- Pompa sirkulasi air dingin
- Bak penampung air dingin
- Pipa plastik
- Pipa vakum
- Penampung hasil penguapan
- Oven
- Labu penampung ekstraksi

Alat yang digunakan dalam mengidentifikasi *Pseudomonas aeruginosa*, yaitu:

- Bunsen
- *Object glass*
- Mikroskop

- Minyak emersi
- Kertas penghisap

Alat yang digunakan untuk uji ekstrak bunga mawar, yaitu:

- Tabung reaksi
- Mikropipet steril ukuran 10  $\mu$ l
- Incubator
- Vortex
- Bunsen
- Korek api
- Ose
- Penggaris
- Plate kosong dan steril
- Kapas

#### 4.7.2 Bahan

- Ekstrak bunga mawar
- Aquades
- Alkohol 96%
- Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*
- Bahan pewarna pewarnaan gram: crystal violet, Lugol's iodine, 96% alkohol, safranin
- Media dilusi agar

## 4.8 Prosedur Penelitian

### 4.8.1 Pembuatan Ekstrak Bunga Mawar

- 1) Kelopak bunga mawar basah (217.47gr) yang sudah dipisahkan dengan dihaluskan menggunakan blender. Setelah halus, ditimbang lalu dibungkus menggunakan kertas saring.
- 2) Kertas saring yang berisi serbuk bunga mawar dimasukkan ke dalam tabung ekstraktor.
- 3) Etanol dituangkan ke dalam tabung ekstraksi sampai tumpah ke dalam labu lalu ditambah lagi etanol setengahnya.
- 4) Labu yang telah berisi pelarut etanol dipanaskan hingga mendidih dengan suhu 78,5°C.
- 5) Proses terjadinya sirkulasi kontinyu pelarut etanol diamati hingga semua ekstraksi dianggap telah terekstraksi.
- 6) Hasil ekstraksi lalu dievaporasi.
- 7) Hasil ekstrak yang dihasilkan adalah 14.286ml

### 4.8.2 Identifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Sebelum digunakan dalam penelitian, *Pseudomonas aeruginosa* yang akan digunakan harus diidentifikasi ulang. Identifikasi ulang yang akan dilakukan meliputi :

#### 4.8.2.1 Pengecatan Gram

Prosedur pengecatan gram yaitu :

- 1) Mengambil isolat bakteri yang telah dipreparasi sebelumnya ke atas permukaan objek glass kemudian dikeringkan dan dilakukan fiksasi dengan api.

- 2) Sediaan hapusan dituangi Kristal violet selama 1 menit, kemudian sisa Kristal violet dibuang dibilas air.
- 3) Sediaan hapusan dituangi lugol selama 1 menit, kemudian sisa lugol dibuang dan dibilas.
- 4) Sediaan hapusan dituangi alkohol 96% selama 5-10 detik lalu sisa alkohol dibuang dan dibilas dengan air.
- 5) Sediaan hapusan dituangi safranin selama 30 detik kemudian sisa safranin dibuang dan dibilas air.
- 6) Sediaan hapusan dikeringkan menggunakan kertas penghisap
- 7) Setelah kering, sediaan ditetsi minyak emersi dan diamati dibawah mikroskop dengan lensa obyektif perbesaran 100x.
- 8) Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang teramati di bawah mikroskop berupa bakteri basil (batang), gram negatif.

(Dzen *et al*, 2003)

#### 4.8.2.2 Tes Biokimia

Prosedur berberapa tes biokimia yang dilakukan untuk mengidentifikasi bakteri *Pseudomonas aeruginosa* adalah sebagai berikut :

##### 1. Tes Indol

- Medium Tryptophan broth (Indol media) diinokulasikan dengan kuman yang akan diperiksa
- Inkubasi selama 1-2 x 24 jam pada suhu 37°C
- Teteskan reagens Kovacs atau Erlich's sebanyak 5 tetes
- Hasil yang didapat yaitu negatif ditandai dengan adanya warna kuning pada medium perbenihan

## 2. Tes Methyl-Red

- Medium MR-VP diinokulasi dengan kuman yang diperiksa
- Inkubasi selama 1-2 x 24 jam pada suhu 37°C
- Setelah diinkubasi, 2.5ml dari medium dipindah ke tabung lain
- Lalu tabung ini ditetesi dengan 5 tetes indikator methyl red
- Hasil akhir yang didapat dari tes ini adalah negatif ditandai dengan adanya perubahan *Methyl-Red* menjadi kuning. Dapat ditarik kesimpulan bahwa pH yang didapat diatas 6.0

## 3. Tes Vogas-Proskauer

- Medium MR-VP diinokulasi dengan kuman yang diperiksa
- Inkubasi selama 1-2 x 24 jam pada suhu 37°C
- Tambahkan alfa-naphtol dalam alkohol absolut (15 tetes) + KOH 40% (10 tetes).
- Setelah didiamkan selama 20-30 menit, hasil yang didapat yaitu negatif dimana berwarna kuning kecoklatan

## 4. Tes Citrat

- Medium Simons's citrat diinokulasi dengan kuman yang diperiksa menggunakan ose lurus, dengan cara menggores bentuk garis lurus pada permukaan medium
- Inkubasi semalam pada suhu 37°C

- Pengamatan yang didapat yaitu positif ditandai oleh adanya koloni bakteri dipermukaan dan adanya perubahan warna menjadi biru

#### 5. Tes Motilitas

- Medium semisolid diinokulasi dengan kuman yang diperiksa, menggunakan ose lurus dengan cara menusuknya
- Inkubasi semalam pada suhu 37°C
- Lalu dievaluasi pada cahaya yang terang
- Hasilnya yaitu positif dengan adanya pertumbuhan secara difus (cloudy growth) khususnya pada ujung dan dasar media perbenihan

#### 6. Tes Urease

- Medium cair yang mengandung urea diinokulasi dengan kuman yang diperiksa
- Inkubasi semalam pada suhu 37°C
- Hasil yang didapatkan negatif, ditandai dengan adanya warna kekuningan pada hasil

#### 7. Pembedihan Pada Agar MacConkey

- Medium MacConkey yang sudah disiapkan diberi kuman kemudian diinkubasi 18-24 jam pada suhu 37°C
- Pada hari ke-2, hasil biakan dari McConkey tampak warna medium kehijauan akibat pigmen piosianin yang didifusikan ke dalam medium

(American Society For Microbiology, 2012)



#### 4.8.3 Suspensi Bakteri Uji

Bakteri dipindahkan ke dalam tabung yang berisi *NA broth* dan diinkubasi dalam inkubator pada suhu optimum 35-37°C selama 18-24 jam. Setelah itu, dilakukan pengenceran dengan media kultur cair bakteri sampai konsentrasi bakteri  $10^8$  / ml didapat.

1 ml kultur (dari konsentrasi bakteri  $10^8$ / ml) ditambahkan ke dalam 9 ml NaCl untuk mendapatkan konsentrasi bakteri  $10^7$ /ml. Lalu proses pengenceran diulang lagi dengan menambahkan 1 ml kultur (dari konsentrasi bakteri  $10^7$ /ml) ke dalam 9 ml NaCl untuk mendapatkan pengenceran akhir yang mengandung konsentrasi bakteri  $10^6$  /ml. Konsentrasi bakteri  $10^6$  /ml tersebut yang digunakan dalam penelitian.

#### 4.8.4 Uji Antimikroba Ekstrak Bunga Mawar (*Rosa hybrida*) terhadap *Pseudomonas aeruginosa* (Tes Dilusi Agar)

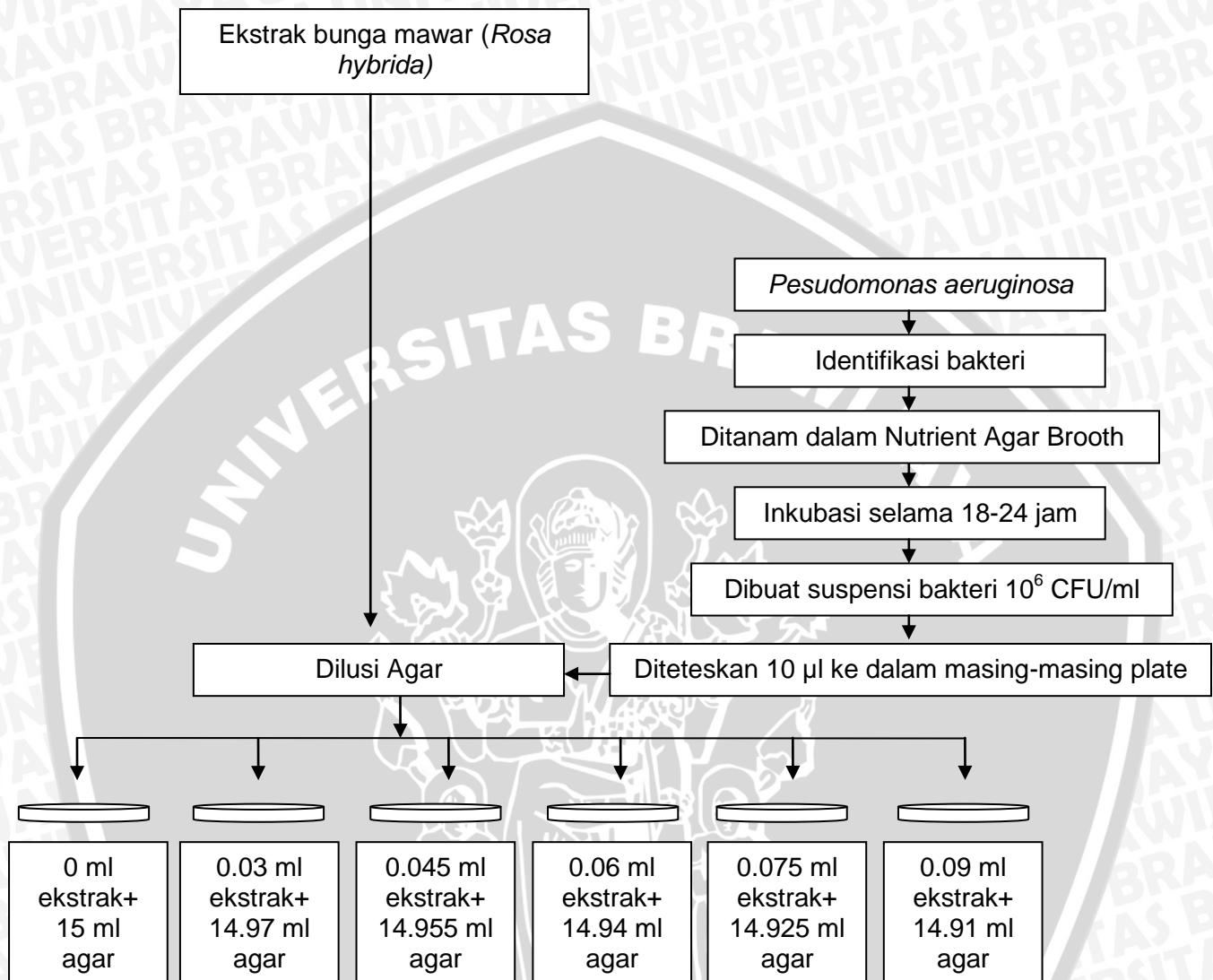
Tes dilusi agar dilakukan untuk menentukan KHM yang tidak dapat diketahui menggunakan metode dilusi tabung. Hal ini disebabkan ekstrak bunga mawar (*Rosa sp.*) berwarna keruh dan menggumpal sehingga mengganggu visualisasi untuk menentukan KHM.

Prosedur tes dilusi agar:

1. Disediakan 6 *plate* berdiameter 9 cm dan telah diberi tanda sesuai konsentrasinya. Masing-masing *plate* diisi dengan ekstrak bunga mawar dengan konsentrasi 0%, 0.2%, 0.3%, 0.4%, 0.5% dan 0.6% dan dicampur dengan nutrient agar yang sebelumnya telah disterilisasi selama kurang lebih 30 menit dengan menggunakan autoclaf.

2. Volume total yang dipakai dalam setiap *plate* (agar+ekstrak) adalah 15 ml, jadi volume ekstrak yang dimasukkan ke dalam *plate* 0%, 0.2%, 0.3%, 0.4%, 0.5% dan 0.6% adalah berturut-turut 0 ml, 0.03 ml, 0.045 ml, 0.06 ml, 0.075 ml dan 0.09 ml. Sedangkan sisanya adalah volume agar yang telah dipanaskan.
3. Bakteri uji yang dipakai adalah bakteri dengan daya konsentrasi  $10^6$  CFU/ml.
4. Setiap *plate* tersebut dibagi 4 untuk masing-masing konsentrasi karena dalam penelitian ini menggunakan 4 pengulangan yang akan ditetesi bakteri uji sebanyak  $10 \mu\text{l}$  . Kemudian semua *plate* diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$ .
5. Koloni yang tumbuh pada agar *plate* diamati. *Plate* dengan konsentrasi terendah dimana sudah tidak didapatkan pertumbuhan bakteri adalah *plate* dengan konsentrasi yang dapat disebut sebagai Kadar Hambat Minimum

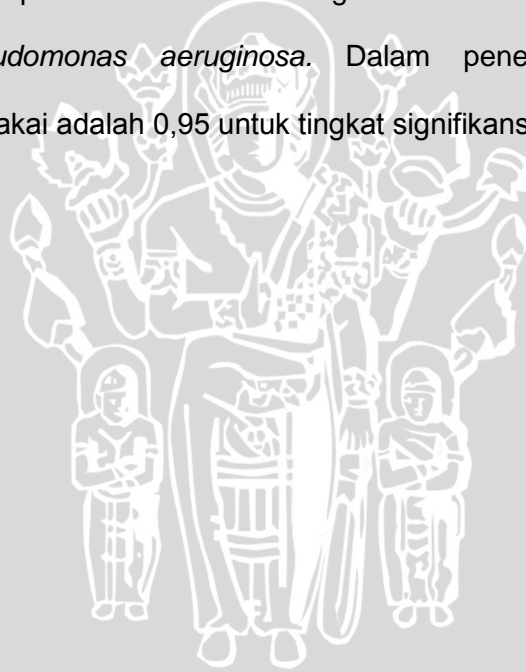
#### 4.9 Skema Prosedur



#### 4.10 Analisis Data

Data yang diperoleh adalah data kualitatif dari hasil pertumbuhan koloni *Pseudomonas aeruginosa* pada agar plate yang telah diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam berupa data konsentrasi ekstrak bunga mawar (*Rosa hybrida*) dan pertumbuhan koloni bakteri. Analisis yang digunakan adalah uji

statistik Kruskal Wallis untuk mengetahui perbedaan pengaruh dari berbagai konsentrasi ekstrak bunga mawar terhadap *Pseudomonas aeruginosa* sehingga dapat disimpulkan apakah ekstrak bunga mawar mempunyai pengaruh antimikroba yang signifikan terhadap *Pseudomonas aeruginosa*, uji Mann Whitney yang digunakan untuk mengetahui perbedaan pengaruh pemberian ekstrak bunga mawar sebagai antimikroba terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada setiap konsentrasi yang diberikan, dan uji korelasi Spearman untuk mengetahui besarnya keeratan hubungan pemberian perlakuan terutama yang disebabkan oleh pemberian ekstrak bunga mawar dengan pertumbuhan koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Dalam penelitian ini, besar kepercayaan yang dipakai adalah 0,95 untuk tingkat signifikansi ( $\alpha$ ) = 0,05.



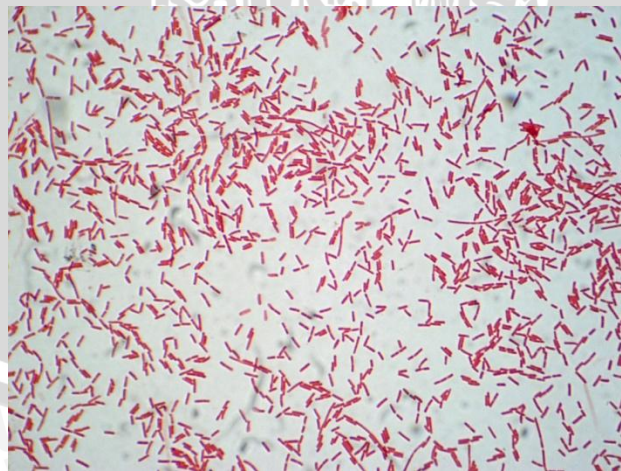
## BAB 5

## HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA

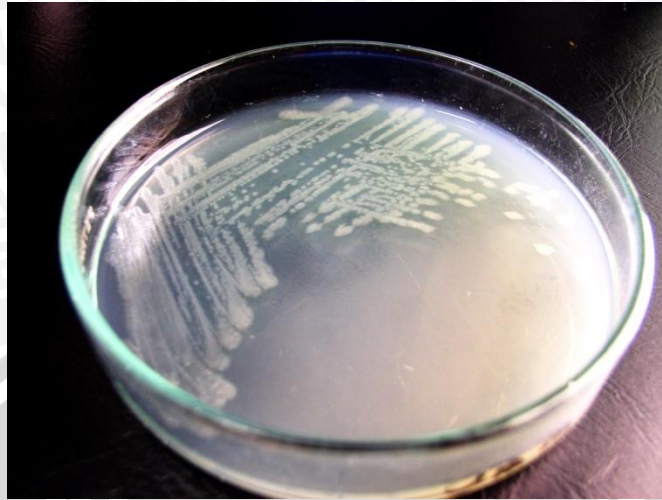
## 5.1 Data Hasil Penelitian

5.1.1 Identifikasi *Pseudomonas aeruginosa*

Dalam penelitian ini sampel yang digunakan adalah bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang dimiliki Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Sebelum dilakukan penelitian, sebelumnya dilakukan identifikasi ulang yang meliputi pewarnaan gram dan tes biokimia. Dari pewarnaan gram didapatkan bakteri berbentuk batang, gram negatif berwarna kemerahan dan pada tes biokimia memberikan hasil tes indole -, MR (Methyl Red) -, VP (Voges-Proskauer) -, citrat +, motilitas +, urease -. Pada penanaman di medium nutrient agar, koloninya berwarna biru kehijauan karena *Pseudomonas aeruginosa* menghasilkan pigmen yang bernama piosianin.



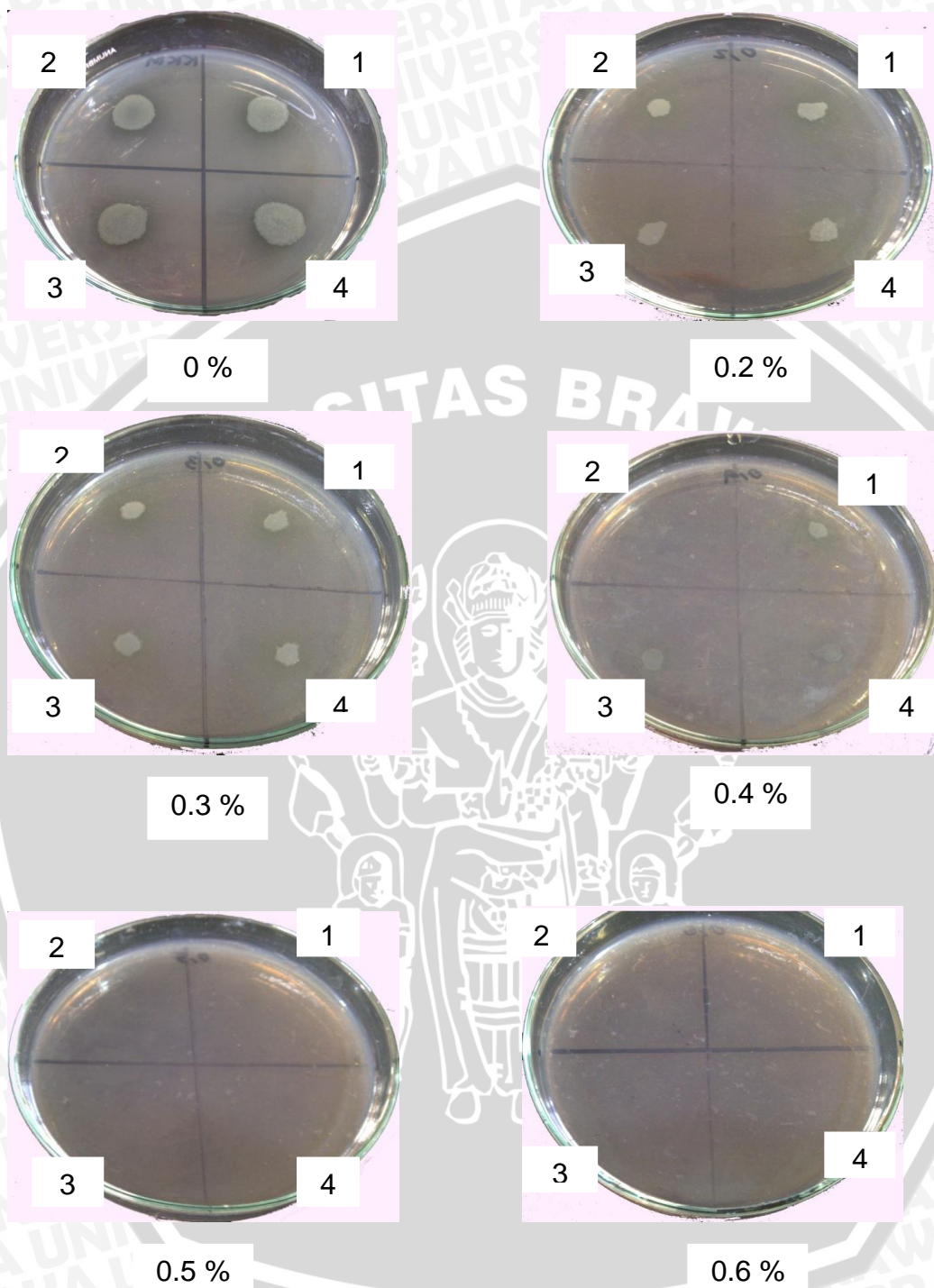
Gambar 5.1 Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan pewarnaan Gram



**Gambar 5.2 Hasil Penanaman pada medium nutrient agar, bakteri *Pseudomonas aeruginosa* menghasilkan piosianin**

#### **5.1.2 Hasil Penentuan KHM**

Pada penelitian ini, menggunakan beberapa konsentrasi ekstrak bunga mawar dari hasil eksplorasi dengan variasi konsentrasi 0.2%, 0.3%, 0.4%, 0.5%, 0.6% serta satu kontrol kuman tanpa diberi konsentrasi ekstrak bunga mawar (konsentrasi 0%). Pengamatan pertumbuhan koloni kuman untuk menentukan KHM dilakukan tanpa menggunakan alat khusus (menggunakan mata telanjang). Konsentrasi ekstrak terendah yang dilarutkan pada medium agar yang tidak ditumbuhi koloni bakteri menunjukkan Kadar Hambat Minimal (KHM) dari ekstrak bunga mawar terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. Hasil penentuan KHM dapat dilihat pada gambar berikut :



Gambar 5.3 Koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan beberapa perbedaan konsentrasi ekstrak bunga mawar (*Rosa hybrida*)

Pada gambar diatas menunjukkan bahwa pada kontrol positif terdapat sejumlah koloni bakteri yang menunjukkan bahwa suspensi bakteri yang digunakan pada percobaan benar-benar mengandung bakteri, selain itu kontrol positif juga digunakan untuk membandingkan ketebalan kuman pada masing-masing konsentrasi ekstrak. Pengamatan dilakukan setelah plat diinkubasi pada suhu 35°C selama 18-24. Merujuk pada gambar, tampak bahwa semakin tinggi pemberian dosis ekstrak bunga mawar maka semakin sedikit/tipis/kecil koloni bakteri yang dapat dilihat pada setiap titik-titik tempat penetesan bakteri. Hasil pengamatan dari uji coba perlakuan dengan menggunakan ekstrak bunga mawar dapat dilihat pada tabel berikut :

**Tabel 5.1 Pertumbuhan koloni *P.aeruginosa* dalam beberapa konsentrasi ekstrak bunga mawar**

Konsentrasi	Pengulangan Bakteri Ke-			
	1	2	3	4
0%	+3	+3	+3	+3
0.2%	+2	+2	+2	+2
0.3%	+2	+2	+2	+1
0.4%	+1	0	+1	0
0.5%	0	0	0	0
0.6%	0	0	0	0

Keterangan : +3 : koloni tumbuh tebal, tidak terhitung, diameter koloni lebar  
 +2 : koloni tumbuh tipis, tidak terhitung, diameter koloni sempit/kecil  
 +1 : koloni tumbuh sangat tipis, tidak terhitung, diameter koloni sangat kecil  
 0 : tidak ada pertumbuhan koloni

Berdasarkan hasil pengamatan terhadap pertumbuhan koloni bakteri *P.aeruginosa* pada agar plate dalam beberapa konsentrasi ekstrak bunga mawar, berdasarkan tabel 5.1 menunjukkan hasil yang bervariasi. Adanya pengaruh pemberian ekstrak bunga mawar terhadap pertumbuhan bakteri



tampak bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak semakin sedikit pertumbuhan koloni pada plate. Pada konsentrasi terendah dimana sudah tidak ada pertumbuhan koloni bakteri didefinisikan sebagai kadar hambat minimal ekstrak bunga mawar sebagai antimikroba. Dari tabel dapat dijelaskan bahwa kadar hambat minimal (KHM) pada pengulangan 1 adalah 0.5% karena pada konsentrasi tersebut, sudah tidak ditemukan adanya pertumbuhan koloni. Pengulangan 2 mempunyai nilai KHM 0.4%, pengulangan 3 mempunyai KHM 0.5% dan pengulangan 4 mempunyai KHM 0.4%.

Setelah itu, dari hasil penelitian akan dianalisa dengan menggunakan beberapa uji statistik, diantaranya uji Kruskal Wallis untuk mengetahui adanya perbedaan efektivitas tiap variasi konsentrasi ekstrak bunga mawar terhadap pertumbuhan bakteri *P.aeruginosa*, serta pengujian dengan korelasi Spearman untuk mengetahui besarnya keeratan hubungan pemberian ekstrak bunga mawar dengan pertumbuhan koloni bakteri *P.aeruginosa*.

## 5.2 Analisis Data

Hasil penelitian dianalisis dengan menggunakan spss 15 dan output hasil analisis dapat dilihat pada lembar lampiran. Penjelasan dari hasil pengujian akan dibahas sebagai berikut. Penelitian ini menggunakan variabel nominal, sehingga analisis data menggunakan uji statistik Kruskal Wallis. Uji Kruskal Wallis dilakukan guna mengetahui apakah terdapat perbedaan jumlah koloni bakteri *P.aeruginosa* paska terpapar oleh ekstrak bunga mawar dengan berbagai konsentrasi. Selanjutnya dilakukan uji multi komparasi Mann Whitney guna melihat apakah terdapat perbedaan jumlah koloni bakteri *P.aeruginosa* diantara dua macam konsentrasi bunga mawar yang berbeda.

### 5.2.1 Uji Kruskal Wallis

Uji Kruskal Wallis menggunakan variabel nominal yang digunakan dengan tujuan untuk mengetahui perbedaan dari pertumbuhan koloni bakteri *P.aeruginosa* yang dihasilkan pada agar plate di setiap perlakuan pemberian ekstrak bunga mawar dalam beberapa konsentrasi.

Selanjutnya, dari hasil penelitian yang berupa pertumbuhan koloni bakteri *P.aeruginosa* pada agar plate kemudian diolah dan dianalisis untuk mengetahui adanya perbedaan pengaruh dari beberapa konsentrasi ekstrak bunga mawar terhadap pertumbuhan koloni bakteri *P.aeruginosa* pada agar plate dengan menggunakan uji Kruskal Wallis. Dikatakan terdapat perbedaan jumlah koloni yang bermakna jika  $p < 0.05$ . Dari uji beda Kruskal Wallis, terdapat perbedaan yang bermakna atau signifikan jumlah koloni bakteri paska terpapar oleh ekstrak pada berbagai konsentrasi ( $p = 0.001$ ) atau dengan kata lain perbedaan konsentrasi ekstrak mengakibatkan perbedaan jumlah koloni bakteri. Di bawah ini adalah hasil uji Kruskal Wallis dari pertumbuhan koloni bakteri *P.aeruginosa* pada setiap perlakuan :

**Tabel 5.2 Tabel Ringkasan Hasil Uji Kruskal Wallis**

Test Statistics <sup>a,b</sup>	
	bakteri
Chi-Square	21.641
Df	5
Asymp. Sig.	.001

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping variable : ekstrak\_mawar

Dikatakan ada perbedaan signifikan jika nilai  $p < 0.05$ . Dari pengolahan data yang didapat seperti yang diatas, nilai  $p$  yang diperoleh adalah 0.001. Sehingga

dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan efek antimikroba pada pemberian ekstrak bunga mawar terhadap pertumbuhan koloni bakteri *P.aeruginosa*.

### 5.2.2 Uji Mann Whitney

Setelah dilakukan uji Kruskal Wallis, diteruskan dengan uji multi komparasi Mann Whitney. Uji Mann Whitney digunakan untuk melihat apakah terdapat perbedaan jumlah koloni bakteri antara dua macam dosis yang berbeda.

Adapun ringkasan dari uji multi komparasi ini tercantum dalam tabel di bawah ini:

**Tabel 5.3 Ringkasan Nilai Signifikansi (p) Uji Mann Whitney**

P	0%	0.2%	0.3%	0.4%	0.5%	0.6%
0%		0.029	0.029	0.029	0.008	0.029
0.2%	0.029		0.686	0.029	0.029	0.029
0.3%	0.029	0.686		0.057	0.029	0.029
0.4%	0.029	0.029	0.057		0.343	0.343
0.5%	0.008	0.029	0.029	0.343		1.000
0.6%	0.029	0.029	0.029	0.343	1.000	

Keterangan :  $p < 0.05$  : ada perbedaan yang signifikan

$p > 0.05$  : tidak ada perbedaan yang signifikan

Sumber : Data primer yang diolah

Dari data yang diperoleh di atas, menunjukkan bahwa pertumbuhan koloni bakteri *P.aeruginosa* pada kelompok kontrol (konsentrasi 0%) dengan kelompok konsentrasi 0.2%, 0.3%, 0.4%, 0.5%, dan 0.6% ( $p < 0.05$ ).

Pertumbuhan koloni pada konsentrasi 0.2% berbeda signifikan ( $p < 0.05$ ) dengan konsentrasi 0%, 0.4%, 0.5% dan 0.6%, namun konsentrasi 0.2% tidak berbeda signifikan ( $p > 0.05$ ) dengan konsentrasi 0.3%. Pertumbuhan koloni pada konsentrasi 0.3% berbeda signifikan dengan konsentrasi 0%, 0.5%, dan 0.6%, namun tidak berbeda signifikan dengan konsentrasi 0.2% dan 0.4%. Pertumbuhan koloni bakteri pada konsentrasi 0.4% berbeda signifikan dengan konsentrasi 0%, 0.2%, 0.5%, dan 0.6%, namun tidak berbeda signifikan dengan

konsentrasi 0.3%. Pertumbuhan koloni pada konsentrasi 0.5% berbeda signifikan dengan konsentrasi 0%, 0.2%, 0.3%, dan 0.4%, tetapi tidak berbeda signifikan dengan konsentrasi 0.6%. Pada konsentrasi 0.6%, pertumbuhan koloni berbeda signifikan dengan konsentrasi 0%, 0.2%, 0.3% dan 0.4%, namun tidak berbeda signifikan dengan konsentrasi 0.5%.

Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa sebagian besar dari setiap perlakuan pada penelitian ini berbeda secara signifikan terhadap pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* yang dihasilkan pada difusi agar plate. Pertumbuhan koloni antara konsentrasi 0.5% dan 0.6% tidak berbeda signifikan, namun berbeda signifikan dengan konsentrasi kontrol (0%). Dari kesimpulan ini dapat dianalisis bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak bunga mawar yang diberikan mempengaruhi tingkat pertumbuhan koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan mempunyai efek sebagai antimikroba pada konsentrasi tertentu.

### 5.2.3 Uji Korelasi Spearman

Uji korelasi non parametrik Spearman digunakan untuk mengetahui hubungan dari pemberian ekstrak bunga mawar terhadap pertumbuhan koloni bakteri *P.aeruginosa* pada dilusi agar plate yang berskala ordinal. Hasil dari uji Korelasi Spearman adalah dalam tabel sebagai berikut :

Tabel 5.4 Hasil Korelasi Spearman

		ekstrak_mawar	bakteri
Spearman's rho	ekstrak_mawar	1.000	-.941**
	Correlation Coefficient		
	Sig. (2-tailed)	.	.000
	N	24	24
	bakteri	-.941**	1.000
	Correlation Coefficient		
	Sig. (2-tailed)	.000	.
	N	24	24

Uji korelasi non parametric Spearman menunjukkan nilai signifikansi (*P-value*) = 0,000 ( $p < 0,05$ ) dan *correlation coefficient* -0.941 yang berarti terdapat korelasi bermakna antara dua variabel (konsentrasi ekstrak terhadap jumlah koloni bakteri). *Spearman correlation coefficient* (*r*) bernilai negatif berarti korelasinya berbanding terbalik, yang artinya semakin tinggi dosis/konsentrasi ekstrak, maka semakin rendah jumlah koloni bakteri, serta menunjukkan korelasi yang sangat kuat ( $r > 0.799$ ).

## BAB 6

### PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk membuktikan efek antimikroba dari ekstrak bunga mawar (*Rosa hybrida*.) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode dilusi agar. Metode ini digunakan untuk mengetahui KHM karena pada penelitian terdahulu KHM tidak dapat ditentukan dengan metode *tube dilution test*. Penentuan KHM dilakukan dengan membandingkan pertumbuhan koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang diinokulasikan pada medium dilusi agar pada temperatur 37°C selama 18-24 jam.

Isolat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang digunakan berasal dari bakteri yang dimiliki Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Brawijaya Malang. Sebelum digunakan bakteri diidentifikasi terlebih dahulu.

Konsentrasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak bunga mawar dengan variasi 0.2%, 0.3%, 0.4%, 0.5%, 0.6% dan kelompok kontrol tanpa diberi ekstrak bunga mawar (konsentrasi 0%). Besarnya konsentrasi tersebut ditentukan berdasarkan pada penelitian pendahuluan yang dilakukan sebelumnya menggunakan dilusi agar plate.

Dari penelitian terdahulu Kadar Hambat Minimal (KHM) dari ekstrak bunga mawar terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* tidak dapat ditentukan menggunakan *tube dilution test*. Hal ini dikarenakan bahan ekstrak bunga mawar berwarna keruh seiring dengan bertambahnya konsentrasi dan terdapat gumpalan/endapan yang banyak. Bahan ekstrak yang menggumpal dalam *tube*

*dilution test* menyebabkan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* bersembunyi dibalik gumpalan ekstrak dan zat aktif dalam ekstrak tidak menyebar secara merata.

Senyawa aktif ekstrak bunga mawar didapatkan melalui proses ekstraksi dengan cara maserasi dari serbuk kelopak bunga mawar dan menggunakan pelarut etanol. Etanol digunakan sebagai bahan pelarut karena senyawa aktif yang terkandung di dalam bunga mawar bersifat larut etanol, dengan adanya kesamaan salah satu strukturnya, yaitu adanya gugus  $-OH$ . Meskipun menggunakan etanol, efek antimikroba ekstrak bunga mawar terhadap *Pseudomonas aeruginosa* diperkirakan bukan disebabkan etanol, karena dalam proses pembuatannya ekstrak telah mengalami proses evaporasi dan dioven pada suhu  $80^{\circ}C$  sedangkan titik didih etanol adalah  $78^{\circ}C$ , sehingga dengan demikian dapat diasumsikan seluruh pelarut etanol sudah menguap. Hasil ekstrak yang didapatkan dari proses ekstraksi dan evaporasi berupa cairan pekat berwarna merah tua.

Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang digunakan dalam penelitian ini setelah diidentifikasi dengan pengecatan gram dan dengan tes-tes biokimia antara lain tes indole, Methyl Red, Voges-Proskauer, tes citrat, motilitas, urease dan perbenihan dalam media MacConkey.

Dalam menentukan KHM, nilai yang diamati adalah jumlah pertumbuhan koloni pada medium agar ditetaskan  $10^4$  bakteri/10 $\mu$ l bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan diinkubasi selama 18-24 jam kemudian dilihat pertumbuhannya. Pertumbuhan kuman berupa *spot* atau titik-titik tetesan yang berdiameter 6-7 mm. Nilai KHM dari ekstrak bunga mawar pada penelitian ini didefinisikan sebagai konsentrasi di mana bakteri *Pseudomonas aeruginosa* tidak tumbuh

(scoring 0). Dari hasil pengamatan didapatkan koloni bakteri tidak tumbuh pada konsentrasi 0.5% dan 0.6%.

Pada percobaan yang dilakukan, terlihat pertumbuhan koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* cenderung semakin menurun dengan semakin tingginya konsentrasi bunga mawar menunjukkan hubungan yang erat antara konsentrasi ekstrak bunga mawar terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

Berdasarkan penilaian secara deskriptif menurut penilaian kualitatif terhadap pertumbuhan koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang dihasilkan pada medium agar, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak bunga mawar mempunyai efek sebagai antimikroba terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dibandingkan kelompok kontrol (konsentrasi 0%). Data-data dari pertumbuhan koloni yang didapat dalam penelitian ini kemudian dilakukan uji statistik dengan menggunakan Uji Kruskal Wallis, Uji Mann Whitney, dan Uji Korelasi Spearman. Dari hasil uji statistik tersebut dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan dari pemberian berbagai konsentrasi ekstrak bunga mawar meskipun pada beberapa konsentrasi menunjukkan tidak ada perbedaan atau relatif sama perlakuan. Dari hasil korelasi Spearman ( $r = -0.941$ ,  $p = 0.000$ ) didapatkan hubungan yang signifikan ( $p < 0.05$ ) dengan arah korelasi yang negatif (karena koefisien korelasi bernilai negatif). Hal tersebut menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak bunga mawar akan cenderung menurunkan pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* yang dihasilkan pada dilusi agar plate dibandingkan dengan konsentrasi yang lebih rendah.

Kemampuan ekstrak bunga mawar dalam menghambat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* mungkin disebabkan karena bunga mawar



mengandung senyawa-senyawa aktif, dan hasil resultan dari senyawa tersebut menimbulkan efek sebagai antimiroba. Senyawa-senyawa yang terkandung di dalam kelopak bunga mawar antara lain Flavonoid, Sitronela, Terpenoid dan Tannin

Flavonoid mempunyai kemampuan untuk membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler dan dinding sel. Flavonoid yang bersifat lipofilik mungkin juga akan merusak membran mikroba. Flavonoid dapat melekat pada adhesin yang terdapat pada permukaan sel. Flavonoid juga dapat menyebabkan denaturasi protein.

Tannin merupakan senyawa organik yang dihasilkan dapat ditemukan pada ekstrak tanaman. Pada konsentrasi tinggi, tannin biasanya dapat menghambat aktivitas enzim tetapi pada konsentrasi rendah tannin sering menstimulasi aktivitas enzim.

Adanya beberapa bahan yang memiliki efek antibakteri tersebut memberikan efek yang sinergis terhadap menurunnya jumlah bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada penelitian ini. Adapun senyawa aktif utama yang memiliki efek sebagai antimikroba belum dapat ditentukan karena proporsi dari masing-masing kandungan belum diketahui.

Dengan melihat fakta hasil penelitian ini yang didapatkan efek hambat pertumbuhan koloni *Pseudomonas aeruginosa* seiring dengan peningkatan konsentrasi perlakuan, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak bunga mawar (*Rosa hybrida*) terbukti memiliki efek antimikroba terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. Hal ini membuktikan bahwa hipotesa yang telah disusun sebelumnya adalah benar.

Kelemahan dari penelitian ini adalah bakteri yang digunakan hanya 1 strain saja. Sehingga belum diketahui apakah ekstrak ini juga dapat menghambat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dalam strain yang berbeda. Kadar pasti dari masing-masing bahan aktif yang berada dalam ekstrak bunga mawar (*Rosa hybrida*) belum diketahui dalam penelitian ini karena penelitian ini hanya untuk menguji KHM dari pertumbuhan koloni *Pseudomonas aeruginosa*. Dalam penelitian ini juga hanya menggunakan 1 metode, yaitu metode dilusi agar, sehingga belum diketahui apakah ekstrak bunga mawar juga dapat sebagai antimikroba dalam metode penelitian lain.



## BAB 7

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan dalam penelitian ini, dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Ekstrak bunga mawar (*Rosa hybrida*) mempunyai efek antimikroba terhadap pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*
2. Nilai Kadar Hambat Minimal (KHM) dari ekstrak bunga mawar sebagai antimikroba terhadap bakteri *P.aeruginosa* adalah 0.5%.
3. Peningkatan konsentrasi ekstrak bunga mawar menyebabkan penurunan jumlah pertumbuhan koloni bakteri *P.aeruginosa*.

#### 7.2 Saran

Adanya berbagai kekurangan dalam penelitian ini maka perlu diadakan penelitian lebih lanjut, antara lain :

- Perlu dilakukan pengujian untuk mengetahui kandungan pasti dan kadarnya yang terkandung dalam ekstrak bunga mawar sehingga dapat diketahui secara pasti zat aktif utama yang memiliki aktifitas antimikroba terbesar terhadap bakteri yang dijadikan penelitian
- Perlu di lakukan penelitian lebih lanjut dengan metode lain, misalnya dengan difusi cakram untuk mengetahui kemampuan ekstrak bunga mawar sebagai antimikroba terhadap bakteri *P.aeruginosa*.

- Perlu dilakukan pengujian lebih lanjut secara *in vivo* untuk mengetahui dosis efektif, dosis lethal, dosis toksik, efek samping serta dilanjutkan dengan pengujian pada manusia sebelum digunakan untuk keperluan pengobatan medis pada masyarakat luas.
- Perlu dilakukan penelitian ekstrak bunga mawar terhadap beberapa strain *Pseudomonas aeruginosa* yang berbeda



## DAFTAR PUSTAKA

American Society For Microbiology. 2012. *Microbe Library*.  
<http://www.microlibrary.org> diakses pada 8 Oktober 2012 pukul 19.30 WIB

Armando, Rochim. 2009. *Memproduksi 15 Minyak Asiri Berkualitas*, Penebar Swadaya, Bogor, hal. 74-76

Arya, Arnadi. 2010. *Morfologi Mawar*.  
<http://www.scribd.com/doc/34804576/MORFOLOGI-MAWAR> diakses pada 15 November 2011 pukul 19.30 WIB

Baron, E.J., S.M. Fenegold. 1994. *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology 7th Ed.* USA: CV Mosby Company.

Buchori, Prihatini. 2006. *Diagnosis Sepsis Menggunakan Procalcitonin*, Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory, 12 (3) ; 128

Darmadi. 2008. *Infeksi Nosokomial; Problematika dan Pengendaliannya*, Salemba Medika, Jakarta, hal. 1-2.

Departemen Pertanian. 2009. *Standar Operasional Prosedur Budidaya Bunga Potong Mawar (Rosa hybrida)* <http://mkb-online.org/web/index.php/MKB/article/download/64/54> diakses pada 9 Oktober 2012 pukul 17.00 WIB

Dzen, Sjoekoer M, Roekistiningsih, S. Santoso, S. Winarsih. 2003. *Bakteriologi Medik*, Bayu Media, Malang.

Farima, Devi. 2009. *Karakterisasi dan Ekstraksi Simplisia Tumbuhan Bunga Mawar (Rosa hybrida L.) Serta Formulasinya dalam Sediaan Pewarna Bibir*. Skripsi. Tidak diterbitkan, Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara, Medan.

Gschmeissner, Steve. 2012. *Pseudomonas aeruginosa* bacteria, SEM <http://www.sciencephoto.com/media/12423/enlarge> diakses pada 10 Oktober 2012 pukul 17.00 WIB

Guntur. *The Role of Cefepime: Empirical Treatment in Critical Illness*, *Dexa Media*, 2007, 20 (2); 59-60.

Hanaphi RM, Samsudin D. 2010. *Roses not only beautiful, but healing*, <http://www.physorg.com/news/2010-10-roses-beautiful.html> diakses pada 3 Desember 2011 pukul 19.30 WIB

Hariana, Arief. 2005. *Tanaman Obat dan Khasiatnya Seri 1*, Penebar Swadaya, Depok, hal. 59.

Hauser AR, Rello J. 2003. *Severe Infections Caused by Pseudomonas aeruginosa*, Kluwer Academic Publishers, USA, p. 171.

Hendriksen, Rene S. 2003. *Laboratory Protocols Level 2 Training Course MIC Susceptibility Testing of Salmonella and Campylobacter 4<sup>th</sup> edition* diakses pada 9 Oktober 2012 pukul 19.30 WIB

Hoffman, David. 2003. *Medical Herbalism: The Science and Practice of Herbal Medicine*. Healing Arts Press, USA, p. 116-117

Jawetz E., Melnick J.L., Adelberg E.A. 2007. *Medical Microbiology Twenty-Fourth Edition*, McGraw-Hill Companies Inc., USA

Mayasari, Evita. 2005. *Pseudomonas aeruginosa; Karakteristik, Infeksi dan Penanganan*. Makalah. Tidak diterbitkan, Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara, Medan.

Mayers, Douglas. 2009. *Antimicrobial Drug Resistance: Clinical and Epidemiological Aspects*, Humana Press, USA, p. 812-813

Onofrey BE, Skorin Leonid, Holdeman R. 2005. *Ocular Therapeutics Handbook: A Clinical Manual*, Lippincott Williams & Wilkins, USA, p.178

Schaechter M, Engleberg NC, DiRita V, Dermody, TS. 2007. *Mechanisms of Microbial Disease Fourth Edition*, Lippincott Williams & Wilkins, USA, p. 218-220.

Setianingrum, Findra. 2009. *Pola Kepekaan Bakteri Gram Negatif pada Penderita Infeksi Saluran Napas Bawah Terhadap Siprofloksasin di Laboratorium Mikrobiologi Klinik Departemen Mikrobiologi FKUI 2001-2005*. Skripsi. Tidak diterbitkan, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.

Shanmugam S, Kumar TS, Selvam KP. 2010. *Laboratory Handbook on Biochemistry*, PHI Learning Private Limited, New-Delhi, p. 95-96

Shimeld, LA. 1999. *Essentials of Diagnostic Microbiology*, Delmar Publishers, USA, p. 207-214.

Supranto, J. 2000. *Teknik Sampling untuk Survei dan Eksperimen*. PT. Rineka Cipta, Jakarta

Suwandi, Usman. Peran Media untuk Identifikasi Mikroba Patogen, *Cermin Dunia Kedokteran*, 1999, 124 ; 23

Todar Kenneth. 2011. *Pseudomonas aeruginosa*. USA: Wisconsin University. (online). <http://textbookofbacteriology.net/pseudomonas.html> diakses pada 15 November 2011 pukul 19.30 WIB

Triatmodjo, P. Tinjauan Mikrobiologi Makanan, Minuman dan Air pada Beberapa Rumah Sakit di Jakarta, *Cermin Dunia Kedokteran*, 1993, 83 (2); 37

LAMPIRAN

Lampiran 1. Uji Beda Kruskal Wallis

Ranks			
ekstrak_mawar		N	Mean Rank
bakteri	kontrol (0%)	4	22.50
	konsentrasi 0.2%	4	17.00
	konsentrasi 0.3%	4	15.75
	konsentrasi 0.4%	4	8.75
	konsentrasi 0.5%	4	5.50
	konsentrasi 0.6%	4	5.50
Total		24	

Test Statistics <sup>a,b</sup>	
	bakteri
Chi-Square	21.641
df	5
Asymp. Sig.	.001

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:  
ekstrak\_mawar





## Lampiran 2. Uji Multi Komparasi Mann Whitney

ekstrak_mawar		N	Mean Rank	Sum of Ranks
bakteri	kontrol (0%)	4	6.50	26.00
	konsentrasi 0.2%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics <sup>b</sup>	
	bakteri
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.646
Asymp. Sig. (2-tailed)	.008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: ekstrak\_mawar

ekstrak_mawar		N	Mean Rank	Sum of Ranks
bakteri	kontrol (0%)	4	6.50	26.00
	konsentrasi 0.3%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics<sup>b</sup>

	bakteri
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.530
Asymp. Sig. (2-tailed)	.011
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: ekstrak\_mawar

Ranks			
ekstrak_mawar	N	Mean Rank	Sum of Ranks
bakteri kontrol (0%)	4	6.50	26.00
konsentrasi 0.4%	4	2.50	10.00
Total	8		

Test Statistics <sup>b</sup>	
	bakteri
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.494
Asymp. Sig. (2-tailed)	.013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: ekstrak\_mawar

**Ranks**

ekstrak_mawar		N	Mean Rank	Sum of Ranks
bakteri	kontrol (0%)	4	6.50	26.00
	konsentrasi 0.5%	4	2.50	10.00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	bakteri
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.646
Asymp. Sig. (2-tailed)	.008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: ekstrak\_mawar

**Ranks**

ekstrak_mawar		N	Mean Rank	Sum of Ranks
bakteri	kontrol (0%)	4	6.50	26.00
	konsentrasi 0.6%	4	2.50	10.00
	Total	8		

**Test Statistics<sup>b</sup>**



	bakteri
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.646
Asymp. Sig. (2-tailed)	.008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: ekstrak\_mawar

Ranks			
ekstrak_mawar	N	Mean Rank	Sum of Ranks
bakteri konsentrasi 0.2%	4	5.00	20.00
konsentrasi 0.3%	4	4.00	16.00
Total	8		

Test Statistics <sup>b</sup>	
	bakteri
Mann-Whitney U	6.000
Wilcoxon W	16.000
Z	-1.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	.317
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.686 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: ekstrak\_mawar

**Ranks**

ekstrak_mawar	N	Mean Rank	Sum of Ranks
bakteri konsentrasi 0.2%	4	6.50	26.00
konsentrasi 0.4%	4	2.50	10.00
Total	8		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	bakteri
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.494
Asymp. Sig. (2-tailed)	.013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: ekstrak\_mawar

**Ranks**

ekstrak_mawar	N	Mean Rank	Sum of Ranks
bakteri konsentrasi 0.2%	4	6.50	26.00
konsentrasi 0.5%	4	2.50	10.00
Total	8		

**Test Statistics<sup>b</sup>**



	bakteri
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.646
Asymp. Sig. (2-tailed)	.008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: ekstrak\_mawar

Ranks			
ekstrak_mawar	N	Mean Rank	Sum of Ranks
bakteri konsentrasi 0.2%	4	6.50	26.00
konsentrasi 0.6%	4	2.50	10.00
Total	8		

Test Statistics <sup>b</sup>	
	bakteri
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.646
Asymp. Sig. (2-tailed)	.008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: ekstrak\_mawar

**Ranks**

ekstrak_mawar	N	Mean Rank	Sum of Ranks
bakteri konsentrasi 0.3%	4	6.25	25.00
konsentrasi 0.4%	4	2.75	11.00
Total	8		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	bakteri
Mann-Whitney U	1.000
Wilcoxon W	11.000
Z	-2.139
Asymp. Sig. (2-tailed)	.032
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.057 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: ekstrak\_mawar

**Ranks**

ekstrak_mawar	N	Mean Rank	Sum of Ranks
bakteri konsentrasi 0.3%	4	6.50	26.00
konsentrasi 0.5%	4	2.50	10.00
Total	8		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	bakteri
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.530
Asymp. Sig. (2-tailed)	.011



Exact Sig. [2\*(1-tailed Sig.)] .029<sup>a</sup>

- a. Not corrected for ties.
- b. Grouping Variable: ekstrak\_mawar

**Ranks**

ekstrak_mawar		N	Mean Rank	Sum of Ranks
bakteri	konsentrasi 0.3%	4	6.50	26.00
	konsentrasi 0.6%	4	2.50	10.00
Total		8		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	bakteri
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.530
Asymp. Sig. (2-tailed)	.011
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 <sup>a</sup>

- a. Not corrected for ties.
- b. Grouping Variable: ekstrak\_mawar

**Ranks**

ekstrak_mawar		N	Mean Rank	Sum of Ranks
bakteri	konsentrasi 0.4%	4	5.50	22.00
	konsentrasi 0.5%	4	3.50	14.00
Total		8		

**Test Statistics<sup>b</sup>**



	bakteri
Mann-Whitney U	4.000
Wilcoxon W	14.000
Z	-1.528
Asymp. Sig. (2-tailed)	.127
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.343 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: ekstrak\_mawar

Ranks			
ekstrak_mawar	N	Mean Rank	Sum of Ranks
bakteri konsentrasi 0.4%	4	5.50	22.00
konsentrasi 0.6%	4	3.50	14.00
Total	8		

Test Statistics <sup>b</sup>	
	bakteri
Mann-Whitney U	4.000
Wilcoxon W	14.000
Z	-1.528
Asymp. Sig. (2-tailed)	.127
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.343 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: ekstrak\_mawar

**Ranks**

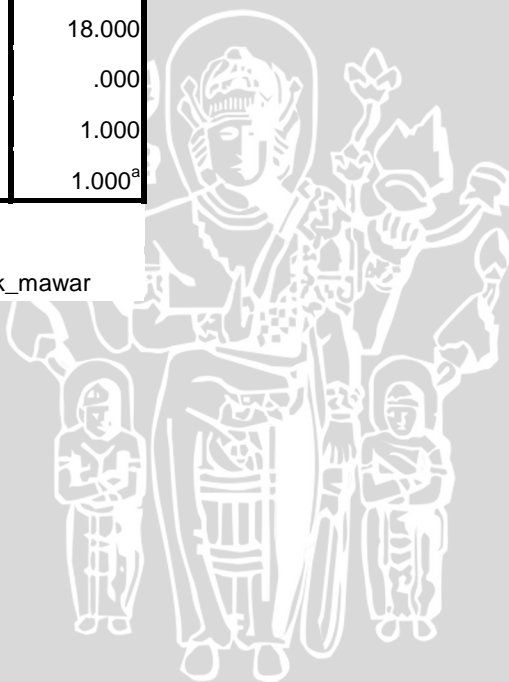
		ekstrak_mawar	N	Mean Rank	Sum of Ranks
bakteri	konsentrasi 0.5%		4	4.50	18.00
	konsentrasi 0.6%		4	4.50	18.00
Total			8		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	bakteri
Mann-Whitney U	8.000
Wilcoxon W	18.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: ekstrak\_mawar



### Lampiran 3. Uji Korelasi Spearman

Correlations			ekstrak_mawar	bakteri
Spearman's rho	ekstrak_mawar	Correlation Coefficient	1.000	-.941**
		Sig. (2-tailed)	.	.000
		N	24	24
	bakteri	Correlation Coefficient	-.941**	1.000
		Sig. (2-tailed)	.000	.
		N	24	24

\*\* . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

