

BAB V

HASIL DAN ANALISIS DATA

5.1 Data Hasil Penelitian

5.1.1 Hasil Identifikasi *Klebsiella pneumoniae*

Sampel bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari spesimen sputum yang dibiakkan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang diisolasi dari pasien di Rumah Sakit Saiful Anwar Malang. Sebelum dilakukan pengujian, uji identifikasi berupa mikroskopis, makroskopis, dan biokimia dilakukan terlebih dahulu untuk memastikan kemurnian bakteri *Klebsiella pneumoniae* dari spesimen tersebut. Identifikasi mikroskopis berupa pengecatan Gram, kemudian identifikasi makroskopis berupa pembiakan bakteri pada media agar *MacConkey*, serta identifikasi biokimia menggunakan *Microbact*.

Hasil identifikasi secara mikroskopis dengan pengecatan Gram pada bakteri *Klebsiella pneumoniae* didapatkan gambaran bakteri berbentuk batang dan berwarna merah (Gambar 5.1). Hal ini menunjukkan bahwa bakteri yang diidentifikasi ini merupakan bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang berbentuk basil dan warna merah menunjukkan bahwa bakteri ini berupa bakteri Gram negatif.



Gambar 5.1 Hasil Pewarnaan Gram pada Bakteri *Klebsiella pneumoniae*

Keterangan: pada panah yang ditunjuk nampak bakteri *Klebsiella pneumoniae* dengan bentuk batang dan berwarna merah dilihat dengan mikroskop dengan perbesaran 1000 kali

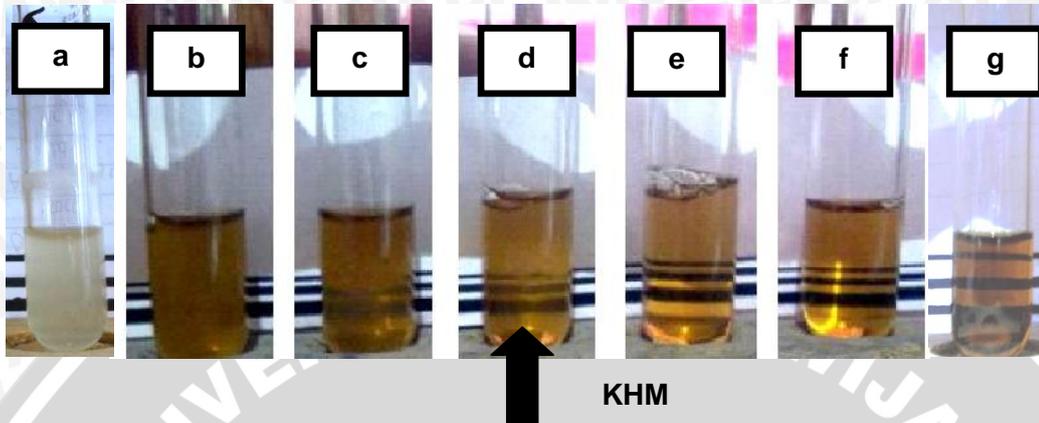
5.1.2 Hasil Uji Efektivitas Antibakteri dengan Metode Dilusi Tabung

Sebelum melakukan penelitian yang sesungguhnya, dilakukan penelitian pendahuluan dengan menggunakan metode dilusi tabung untuk menentukan rentang konsentrasi yang digunakan dalam penelitian ini. Metode dilusi tabung digunakan untuk menentukan KHM (Kadar Hambat Minimal) dan KBM (Kadar bunuh Minimal).

5.1.2.1 Hasil Penentuan KHM

Pada penelitian ini digunakan lima rentang konsentrasi ekstrak etanol daun turi merah (*Sesbania grandiflora* L.Pers) yaitu 30%, 32,5%, 35%, 37,5%, dan 40% dimana masing-masing ekstrak pada tabung sejumlah 1 ml, kemudian pada masing-masing tabung ditambahkan 1 ml bakteri, sehingga konsentrasi akhir menjadi 15%, 16,25%, 17,5%, 18,75%, dan 20%, serta konsentrasi 0% sebagai kontrol bakteri atau berisi 2 ml bakteri tanpa ekstrak dan konsentrasi 100% sebagai kontrol bahan atau berisi 2 ml ekstrak murni tanpa bakteri. KHM (Kadar Hambat Minimal) merupakan kadar terendah dari antibakteri yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri (Santoso dkk, 2011). Pada penelitian ini, KHM didapatkan secara kualitatif melalui pengamatan tingkat kekeruhan masing-masing tabung yang berisi ekstrak etanol daun turi merah dan bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang ditandai dengan tidak adanya kekeruhan pada suspensi. Untuk menentukan nilai KHM tersebut, digunakan kontrol bakteri sebagai pembanding tingkat kekeruhan dan dapat dilihat pula dari tampaknya tiga garis yang digunakan sebagai alat bantu untuk menentukan tingkat kekeruhan. Tabung yang pertama kali menunjukkan kejernihan yang dapat ditandai dengan terlihatnya tiga garis, inilah yang merupakan KHM dari ekstrak etanol daun turi merah terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae*.

Pada penelitian ini, diketahui warna ekstrak etanol daun turi merah berwarna kecoklatan bening. perbandingan tingkat kekeruhan pada masing-tabung dengan konsentrasi berbeda dapat dilihat pada Gambar 5.4.



Gambar 5.4 Hasil Uji Metode Dilusi Tabung

Keterangan gambar:

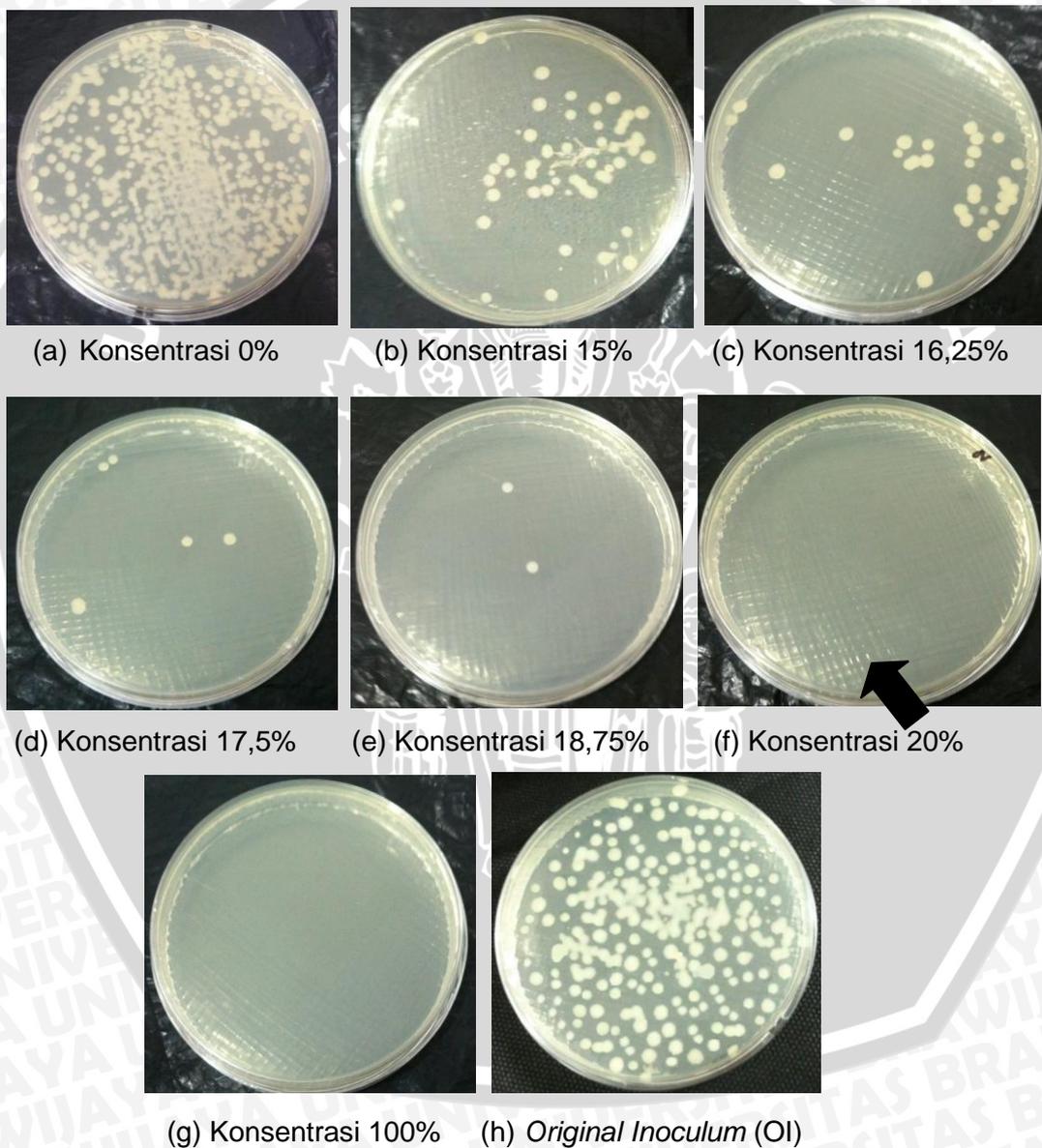
- Kontrol bakteri atau konsentrasi 0%.
- Suspensi ekstrak etanol daun turi merah dan bakteri dengan konsentrasi 15%
- Suspensi ekstrak etanol daun turi merah dan bakteri dengan konsentrasi 16,25%
- Suspensi ekstrak etanol daun turi merah dan bakteri dengan konsentrasi 17,5% (**KHM**)
- Suspensi ekstrak etanol daun turi merah dan bakteri dengan konsentrasi 18,75%
- Suspensi ekstrak etanol daun turi merah dan bakteri dengan konsentrasi 20%
- Kontrol bahan atau konsentrasi 100%

Dari hasil pengamatan dapat dilihat bahwa semakin tinggi konsentrasi maka semakin sedikit tingkat kekeruhannya. Pada kontrol bakteri dapat diamati bahwa suspensi terlihat sangat keruh, tidak satupun garis yang dapat terlihat. Pada konsentrasi 17,5% tabung sudah mulai jernih atau sudah tidak menunjukkan kekeruhan, pada konsentrasi 18,75% dan 20% suspensi tampak semakin jernih. Sehingga dapat disimpulkan bahwa KHM pada penelitian ini terletak pada tabung dengan konsentrasi 17,5%.

5.1.2.2 Hasil Penentuan KBM

Setelah KHM dapat ditentukan, selanjutnya pada masing-masing tabung diambil 1 ose yang kemudian distreaking pada media NAP. Setelah itu,

diinkubasi kedalam inkubator dengan suhu 37°C selama 18-24 jam, kemudian dilihat jumlah koloni bakteri. KBM (Kadar Bunuh Minimal) merupakan kadar terendah dari antibakteri yang mampu membunuh bakteri yang ditandai dengan tidak tumbuhnya bakteri pada NAP atau pertumbuhan koloninya kurang dari 0,1% dari jumlah *Original Inoculum* (Santoso dkk, 2011). Pada penelitian ini, dapat dilihat jumlah koloni pada masing-masing konsentrasi pada Gambar 5.5.



Gambar 5.5 Hasil Inokulasi Bakteri pada Media NAP

Keterangan gambar:

KBM dapat ditentukan yaitu pada konsentrasi 20% (yang ditunjuk panah) dimana tidak terdapat koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae* atau jumlah koloni kurang dari 0,1% dari OI

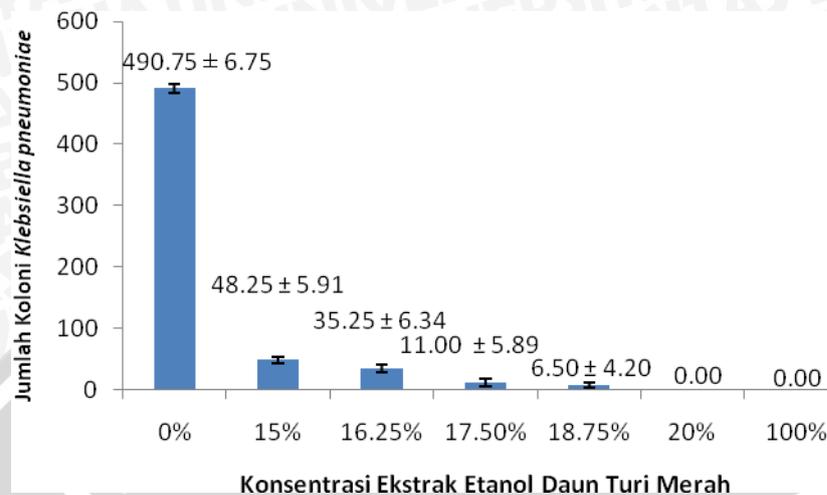
Hasil perhitungan koloni yang tumbuh di NAP pada masing-masing konsentrasi dapat dilihat pada Tabel 5.1. Jumlah koloni dihitung dengan menggunakan *colony counter*.

Tabel 5.1 Hasil Perhitungan Jumlah Koloni Tiap Plate pada Media NAP dengan Berbagai Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Turi Merah

Konsentrasi	Jumlah Koloni (CFU/Plate)				Jumlah	Rerata	Standar Deviasi
	I	II	III	IV			
0%	497	482	495	489	1963	490,75	6,75
15%	52	40	53	48	193	48,25	5,91
16,25%	29	33	44	35	141	35,25	6,34
17,5%	5	15	17	7	44	11	5,89
18,75%	2	7	12	5	26	6,50	4,20
20%	0	0	0	0	0	0	0
100%	0	0	0	0	0	0	0
OI	238	241	235	226	940	235	6,48

Dari hasil perhitungan bakteri menggunakan *colony counter* dapat disajikan dalam grafik yang menunjukkan hubungan penurunan jumlah koloni seiring peningkatan konsentrasi (Gambar 5.6). Rata-rata jumlah koloni semakin menurun seiring dengan peningkatan konsentrasi. Jumlah koloni *Klebsiella pneumoniae* yang tumbuh pada konsentrasi 15% menurun dibandingkan dengan konsentrasi 0%. Jumlah koloni *Klebsiella pneumoniae* yang tumbuh pada konsentrasi 16,25%, 17,5% dan 18,75% semakin menurun, serta pada konsentrasi 20% dan 100% menunjukkan tidak ada koloni yang tumbuh (0 koloni). KBM adalah kadar atau konsentrasi ekstrak terendah yang mampu membunuh bakteri yang ditandai dengan pertumbuhan koloni bakteri sebesar <0,1% dari *original inoculum* pada media NAP. Konsentrasi yang jumlah koloninya <0,1% *original inoculum* (OI=235 koloni) yaitu pada konsentrasi

20% dan 100%. Oleh karena itu, nilai KBM yang diperoleh dari penelitian ini yaitu pada konsentrasi 20%.



Gambar 5.6 Grafik Rata-rata dan Standar Deviasi Hasil Perhitungan Jumlah Koloni *Klebsiella pneumoniae* pada Berbagai Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Turi Merah

5.2 Analisis Data

Sebelum dilakukan analisis data dari hasil penelitian dengan menggunakan *One-way ANOVA (Analysis of Variance)*, maka diperlukan pemenuhan atas beberapa asumsi data yaitu data harus mempunyai sebaran (distribusi) normal dan mempunyai ragam yang homogen. Bila sebaran data tidak normal dan tidak homogen maka harus dilakukan transformasi data terlebih dahulu. Apabila hasil transformasi data juga menghasilkan hasil yang sama yaitu tidak normal dan tidak homogen maka dapat digunakan uji Kruskal-Wallis sebagai ganti uji *One-way ANOVA*.

Hasil uji *Kolmogorov-Smirnov* pada data awal diperoleh nilai signifikansi sebesar 0,847 ($p > 0,05$) sehingga disimpulkan data berdistribusi normal (Lampiran 3.1). Serta pada hasil uji homogenitas ragam (*Levene test*) didapatkan

nilai signifikansi sebesar 0,099 ($p > 0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa ragam data homogen (Lampiran 3.2).

Data hasil penelitian telah memenuhi syarat (asumsi) yang melandasi pengujian *One-way ANOVA*, maka selanjutnya akan dilakukan pengujian *One-way ANOVA*. Pengujian ini dilakukan dengan bantuan program SPSS versi 18.

Tabel 5.2 Uji *One-way ANOVA* dari Efek Antibakteri setiap Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Turi Merah terhadap Jumlah Koloni *Klebsiella pneumoniae* yang Tumbuh pada Media NAP

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	744832.375	5	148966.475	5163.980	.000
Within Groups	519.250	18	28.847		
Total	745351.625	23			

Pada pengujian *One-way ANOVA*, hipotesis ditentukan melalui pengujian H_0 dan H_1 . H_0 dari penelitian ini adalah tidak terdapat perbedaan efek antibakteri antara setiap konsentrasi ekstrak etanol daun turi merah terhadap jumlah koloni *Klebsiella pneumoniae* yang tumbuh pada media NAP. Sedangkan H_1 adalah terdapat perbedaan efek antibakteri antara setiap konsentrasi ekstrak etanol daun turi merah terhadap jumlah koloni *Klebsiella pneumoniae* yang tumbuh pada media NAP (kebalikan H_0). H_1 ditolak bila nilai signifikansi yang diperoleh $> 0,05$ sedangkan H_1 diterima bila nilai signifikansi yang diperoleh $< 0,05$. Berdasarkan hasil analisis *One-way ANOVA* (Tabel 5.2) diperoleh nilai signifikansi sebesar 0,000 ($p < 0,05$) sehingga H_1 diterima dan dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan efek antibakteri pada masing-masing konsentrasi ekstrak etanol daun turi merah terhadap jumlah koloni *Klebsiella pneumoniae* yang tumbuh pada media NAP (Lampiran 3.3).

Setelah dianalisis dengan metode *One-way ANOVA*, selanjutnya dilakukan pengolahan data menggunakan *Post Hoc Tukey Test* yaitu uji perbandingan berganda (*multiple comparison*) dengan tujuan untuk menilai pada kelompok konsentrasi mana yang terdapat perbedaan bermakna. Uji ini dilakukan dengan cara membandingkan rata-rata jumlah koloni antar konsentrasi sehingga dapat diketahui adanya perbedaan pengaruh pemberian ekstrak etanol daun turi merah sebagai antibakteri terhadap jumlah koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang tumbuh pada media NAP (Lampiran 3.4).

Tabel 5.3 Uji *Post Hoc Tukey* dari Efek Antibakteri setiap Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Turi Merah terhadap Jumlah Koloni *Klebsiella pneumoniae* yang Tumbuh pada Media NAP

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
20%	4	0,0000			
18.75%	4	6,5000			
17.5%	4	11,0000			
16.25%	4		35,2500		
15%	4			48,2500	
0%	4				490,7500
Sig.		,086	1,000	1,000	1,000

Hasil uji perbandingan berganda menggunakan uji *Tukey* (Tabel 5.3), menunjukkan bahwa jumlah koloni *Klebsiella pneumoniae* yang tumbuh pada media NAP konsentrasi 20% tidak berbeda signifikan dengan yang tumbuh pada media NAP konsentrasi 18,75% dan 17,5%. Jumlah koloni *Klebsiella pneumoniae* yang tumbuh pada media NAP konsentrasi 16,25% berbeda signifikan dengan semua jumlah koloni yang tumbuh pada media NAP dengan konsentrasi yang berbeda-beda. Sama halnya dengan jumlah koloni yang tumbuh pada media NAP 15% dan 0% memberikan hasil yang berbeda signifikan dengan semua perlakuan konsentrasi yang lain.

Pemberian ekstrak etanol daun turi merah pada konsentrasi 20% dan 100% dapat menyebabkan rata-rata jumlah koloni *Klebsiella pneumoniae* yang tumbuh pada media NAP paling rendah (mean = 0) atau paling efektif daripada pemberian ekstrak etanol daun turi merah pada konsentrasi yang lebih rendah. Konsentrasi 20% lebih efektif daripada konsentrasi 18,75%. Konsentrasi 18,75% lebih efektif daripada konsentrasi 17,5%. Konsentrasi 17,5% lebih efektif daripada konsentrasi 16,25% dan konsentrasi 16,25% lebih efektif daripada konsentrasi 15%. Konsentrasi 20% sampai dengan konsentrasi 15% memiliki perbedaan yang signifikan dengan konsentrasi 0%, sehingga dapat disimpulkan pemberian ekstrak etanol daun turi merah efektif dalam menurunkan jumlah koloni *Klebsiella pneumoniae*. Antara konsentrasi 20% dan 100% tidak ada perbedaan signifikan, sehingga dengan konsentrasi 20% sudah cukup efektif dalam menurunkan jumlah koloni hingga tidak ada koloni yang tumbuh. dari data tersebut, maka dapat dibentuk urutan efektivitas tiap konsentrasi terhadap jumlah koloni bakteri dari yang paling tinggi sampai yang rendah (Tabel 5.4)

Tabel 5.4 Tabel Urutan Jumlah Koloni *Klebsiella pneumoniae* sebagai Efek dari Pemberian Setiap Konsentrasi Ekstak Etanol Daun Turi Merah dalam Bentuk Notasi

Konsentrasi	Jumlah koloni bakteri <i>Klebsiella pneumoniae</i> (rerata±standar deviasi)*
20%	0 a
18.75%	6,50 ± 4,20 a
17.50%	11 ± 5,89 a
16.25%	35,25 ± 6,34 b
15%	48,25 ± 5,91 c
0%	490,75 ± 6,75 d

Keterangan:

- * Notasi yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan efek signifikan dari tiap konsentrasi. Notasi yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan efek signifikan dari tiap konsentrasi.
- * Notasi a menunjukkan konsentrasi dengan jumlah koloni bakteri terendah. Semakin rendah angka notasi menunjukkan jumlah koloni semakin besar.

Uji Korelasi *Pearson* dilakukan untuk mengetahui hubungan pemberian ekstrak etanol daun turi merah sebagai antibakteri terhadap jumlah koloni *Klebsiella pneumoniae* yang tumbuh pada media NAP. Berdasarkan hasil analisis uji Korelasi (Tabel 5.5), dapat diketahui bahwa pemberian ekstrak etanol daun turi merah sebagai antibakteri terhadap jumlah koloni *Klebsiella pneumoniae* yang tumbuh pada media NAP didapatkan $p=0,000$ dan $r=-0,988$. Hal ini berarti terdapat hubungan (korelasi) yang signifikan ($p<0,05$) dengan kekuatan korelasi yang sangat kuat (r antara $0,80 - 1,00$) dan arah korelasi yang negatif (koefisien r negatif) artinya apabila semakin naik konsentrasi ekstrak etanol daun turi merah maka jumlah koloni *Klebsiella pneumoniae* akan semakin menurun.

Tabel 5.5 Uji Korelasi Hubungan Pemberian Ekstrak Etanol Daun Turi Merah terhadap Jumlah Koloni *Klebsiella pneumoniae* yang Tumbuh pada Media NAP

Keterangan	Koefisien korelasi (r)	Nilai probabilitas (p)	Keputusan	Kesimpulan
Pemberian ekstrak etanol daun turi merah sebagai antibakteri terhadap jumlah koloni <i>Klebsiella pneumoniae</i> yang tumbuh pada media NAP	-0,988	0,000	H ₀ ditolak	Ada korelasi yang signifikan

Untuk mengetahui seberapa besar pengaruh pemberian konsentrasi ekstrak etanol daun turi merah pada setiap konsentrasi terhadap jumlah koloni *Klebsiella pneumoniae* yang tumbuh pada media NAP, digunakan analisis bentuk hubungan dengan menggunakan uji Regresi Linier, karena dari uji Korelasi belum bisa menjelaskan hal tersebut. Berdasarkan hasil analisis uji Regresi diperoleh model persamaan regresi dan pengaruh pemberian ekstrak etanol

daun turi merah terhadap jumlah koloni *Klebsiella pneumoniae* yang tumbuh pada media NAP yaitu $Y = 476,558 - 25,915 X$. Dimana Y adalah jumlah koloni *Klebsiella pneumoniae* yang tumbuh pada media NAP, sedangkan X adalah pemberian ekstrak etanol daun turi merah dengan konsentrasi tertentu. Hal ini berarti bahwa tanpa dipengaruhi oleh ekstrak etanol daun turi merah, maka jumlah koloni *Klebsiella pneumoniae* yang tumbuh pada media NAP adalah 476,558 koloni bakteri. Namun apabila mempertimbangkan pengaruh dari pemberian ekstrak etanol daun turi merah dengan konsentrasi tertentu akan menyebabkan jumlah koloni yang tumbuh pada media NAP mengalami penurunan jumlah koloni hingga 25,915 kali konsentrasi ekstrak. Mengacu pada hasil persamaan regresi tersebut, dapat diprediksi (estimasi) mengenai konsentrasi yang efektif untuk membunuh seluruh jumlah koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae* (jumlah koloni=0). Berdasarkan hasil perhitungan dengan rumus tersebut, dapat diketahui bahwa konsentrasi minimal dari ekstrak etanol daun turi merah yang dapat membunuh jumlah koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae* hingga 100% (jumlah koloni=0) adalah konsentrasi 18,89%, sedangkan apabila ditinjau dari hasil pertumbuhan koloni pada media NAP tanpa dianalisis secara statistik didapatkan bahwa konsentrasi minimal yang dapat membunuh bakteri hingga 100% (jumlah koloni=0) adalah pada konsentrasi 20%.

Berdasarkan hasil uji regresi juga didapatkan nilai koefisien determinasi (R^2) yang menyatakan besarnya pengaruh pemberian ekstrak etanol daun turi merah terhadap jumlah koloni *Klebsiella pneumoniae* yang tumbuh pada media NAP dalam bentuk persentase, sedangkan persentase sisanya ($1-R^2$) ditentukan oleh faktor lain. Jadi pemberian ekstrak etanol daun turi merah cukup berpengaruh terhadap jumlah koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang tumbuh pada media NAP hingga 97,6%, sedangkan 2,4% keragaman

jumlah koloni *Klebsiella pneumoniae* yang tumbuh pada media NAP tersebut dipengaruhi faktor selain pemberian ekstrak etanol daun turi merah (Tabel 5.6)

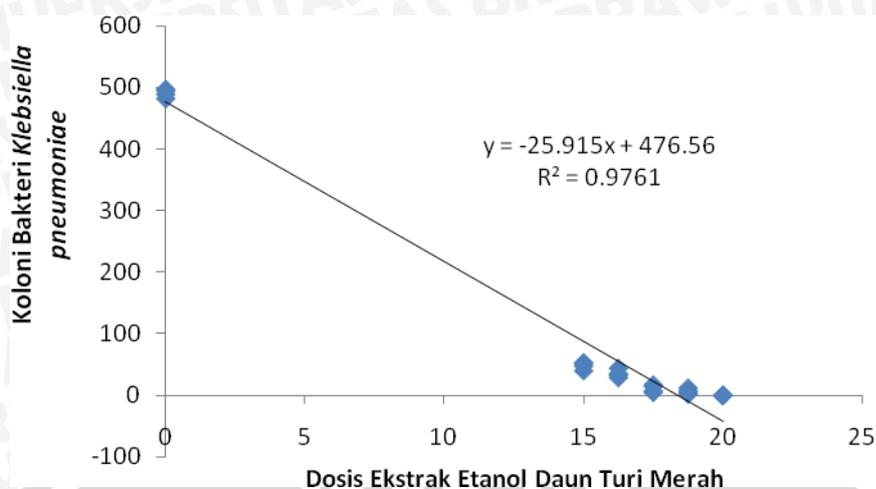
Tabel 5.6 Uji Regresi Linier Hubungan Pemberian Ekstrak Etanol Daun Turi Merah terhadap Jumlah Koloni *Klebsiella pneumoniae* yang Tumbuh pada Media NAP

Persamaan regresi	R square	1 – R square
$Y = 476,558 - 25,915 X$	0,976 (97,6%)	0,024 (2,4%)

Keterangan:

- Y = jumlah koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae*
 X = konsentrasi ekstrak etanol daun turi merah
 R square = koefisien determinasi

Adanya pengaruh yang signifikan dari pemberian ekstrak etanol daun turi merah dalam menurunkan jumlah koloni *Klebsiella pneumoniae* yang tumbuh pada media NAP dapat ditunjukkan dalam bentuk grafik linieritas (Gambar 5.7). Berdasarkan grafik linieritas tersebut, didapatkan garis regresi antara pemberian ekstrak etanol daun turi merah dengan jumlah koloni *Klebsiella pneumoniae* yang tumbuh pada media NAP yang menurun seiring peningkatan konsentrasi ekstrak etanol daun turi merah (garis mengarah kekanan bawah). Hal ini membuktikan adanya hubungan yang linier antara pemberian ekstrak etanol daun turi merah dengan jumlah koloni *Klebsiella pneumoniae* yang tumbuh pada media NAP. Arti dari linier tersebut adalah peningkatan konsentrasi ekstrak etanol daun turi merah cenderung akan menurunkan jumlah koloni *Klebsiella pneumoniae* yang tumbuh pada media NAP.



Gambar 5.7 Grafik Linieritas Hubungan Pemberian Ekstrak Etanol Daun Turi Merah terhadap Jumlah Koloni *Klebsiella pneumoniae* yang Tumbuh pada Media NAP

