

BAB V

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Penelitian

5.1.1 Identifikasi Bakteri *Klebsiella pneumoniae*

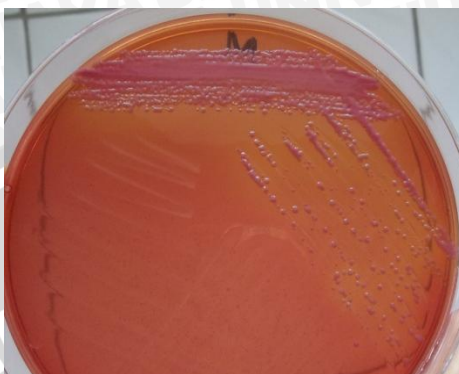
Isolat bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Bakteri tersebut sebelum digunakan, diidentifikasi ulang dengan pengecatan Gram, penanaman bakteri pada agar *MacKonkey*, dan tes *Microbact*. Hasil dari pengecatan gram pada isolat bakteri *Klebsiella pneumoniae* adalah gambaran bakteri gram negatif berwarna merah dan berbentuk batang (Gambar 5.1). Hal ini menunjukkan bahwa bakteri yang diidentifikasi merupakan bakteri *Klebsiella pneumoniae*.



Gambar 5.1 Hasil dari Pengecatan Gram Bakteri *Klebsiella pneumoniae* menunjukkan bakteri batang gram negatif berwarna merah (Perbesaran 1000x)

Identifikasi selanjutnya dengan cara penanaman bakteri pada agar *MacKonkey*. Hasil koloni yang terbentuk adalah koloni mukoid dan berwarna

merah karena memfermentasikan laktosa (Gambar 5.2). Hal ini menunjukkan bahwa bakteri yang ditanam merupakan bakteri *Klebsiella pneumoniae*.



Gambar 5.2 Penanaman Bakteri *Klebsiella pneumoniae* pada agar MacKonkey menghasilkan koloni mukoid berwarna merah

Identifikasi berikutnya adalah dengan melakukan tes *Microbact* (Gambar 5.3). Tes *Microbact* ini merupakan uji biokimia, hasil reaksi tersebut dihitung dan dijumlahkan sesuai dengan ketentuan pada tabel yang tertera. Kemudian jumlahnya disesuaikan pada *database* sehingga diperoleh hasil bahwa bakteri yang diuji merupakan bakteri *Klebsiella pneumoniae*.

OXOID
MICROBACT™
IDENTIFICATION KITS

MICROBACT™ GNB 12A/B/E, 24E

PK

GNB 24E										GNB 12B																
GNB 12A / 12E										GNB 12B																
Oxidase	Motility	Nitrate	Lysine	Ornithine	H ₂ S	Glucose	Mannitol	Xylose	ONPG	Indole	Urease	V-P	Citrate	TDA	Gelatin	Malonate	Inositol	Sorbitol	Rhamnose	Sucrose	Lactose	Arabinose	Adonitol	Raffinose	Salicin	Arginine
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1
Sum / Suma / Summe / Somma / Soma / Απορροια			4		7		5		6																	

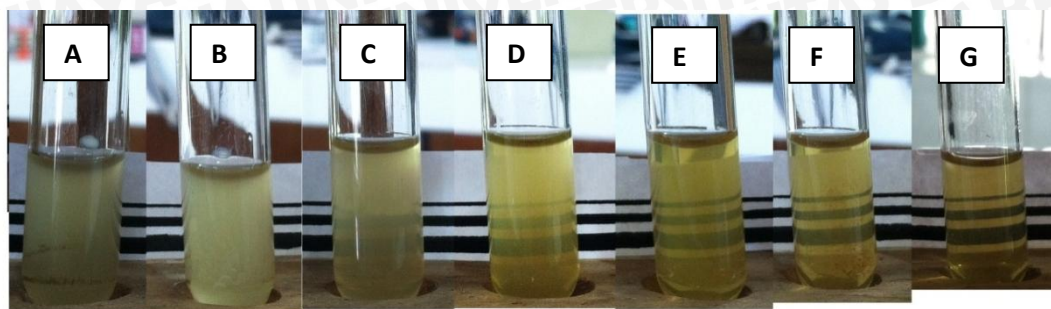
Identification / Identificación / Identifikation / Identificação / Identifizierung / Identification / Ταυτοποίηση

K. pneumoniae 97,74%

Gambar 5.3 Hasil Tes *Microbact* Bakteri *Klebsiella pneumoniae* menunjukkan bahwa kadar bakteri *Klebsiella pneumoniae* sebesar 97,74%

5.1.2 Hasil Penentuan KHM

Pada penelitian ini menggunakan lima variasi konsentrasi ekstrak daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) yaitu 17,5%, 20%, 22,5%, 25%, dan 27,5%, serta menggunakan kontrol bakteri yang berisi 2 ml bakteri dan menggunakan kontrol bahan yang berisi 2 ml bahan ekstrak daun tempuyung. Metode yang digunakan untuk menilai KHM pada penelitian ini adalah metode dilusi tabung. KHM (Kadar Hambat Minimal) adalah kadar atau konsentrasi minimal larutan ekstrak daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri uji (*Klebsiella pneumoniae*) yaitu dengan tampilan yang jernih pada biakan setelah diinkubasikan selama 18-24 jam). Pada penelitian ini, KHM dinilai secara kualitatif melalui pengamatan tingkat kekeruhan masing-masing tabung yang berisi ekstrak daun tempuyung dan bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang ditandai dengan tidak adanya kekeruhan pada larutan yang berisi biakan bakteri. Untuk dapat menentukan nilai kadar hambat minimal tersebut, digunakan kontrol bakteri sebagai pembanding tingkat kekeruhan. Tabung yang pertama menampilkan larutan yang jernih dengan ditandai dengan terlihatnya tiga garis, inilah yang merupakan KHM dari ekstrak daun tempuyung terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae*. Perbedaan tingkat kekeruhan pada masing-masing konsentrasi tabung dapat dilihat pada Gambar 5.4.



Gambar 5.4 Hasil Penentuan KHM dengan Metode Dilusi Tabung

Keterangan gambar:

- A. Kontrol bakteri atau konsentrasi 0%.
- B. Suspensi ekstrak daun tempuyung dan bakteri dengan konsentrasi 17,5%
- C. Suspensi ekstrak daun tempuyung dan bakteri dengan konsentrasi 20%
- D. Suspensi ekstrak daun tempuyung dan bakteri dengan konsentrasi 22,5%
- E. Suspensi ekstrak daun tempuyung dan bakteri dengan konsentrasi 25%
- F. Suspensi ekstrak daun tempuyung dan bakteri dengan konsentrasi 27,5%
- G. Kontrol bahan atau konsentrasi 100%

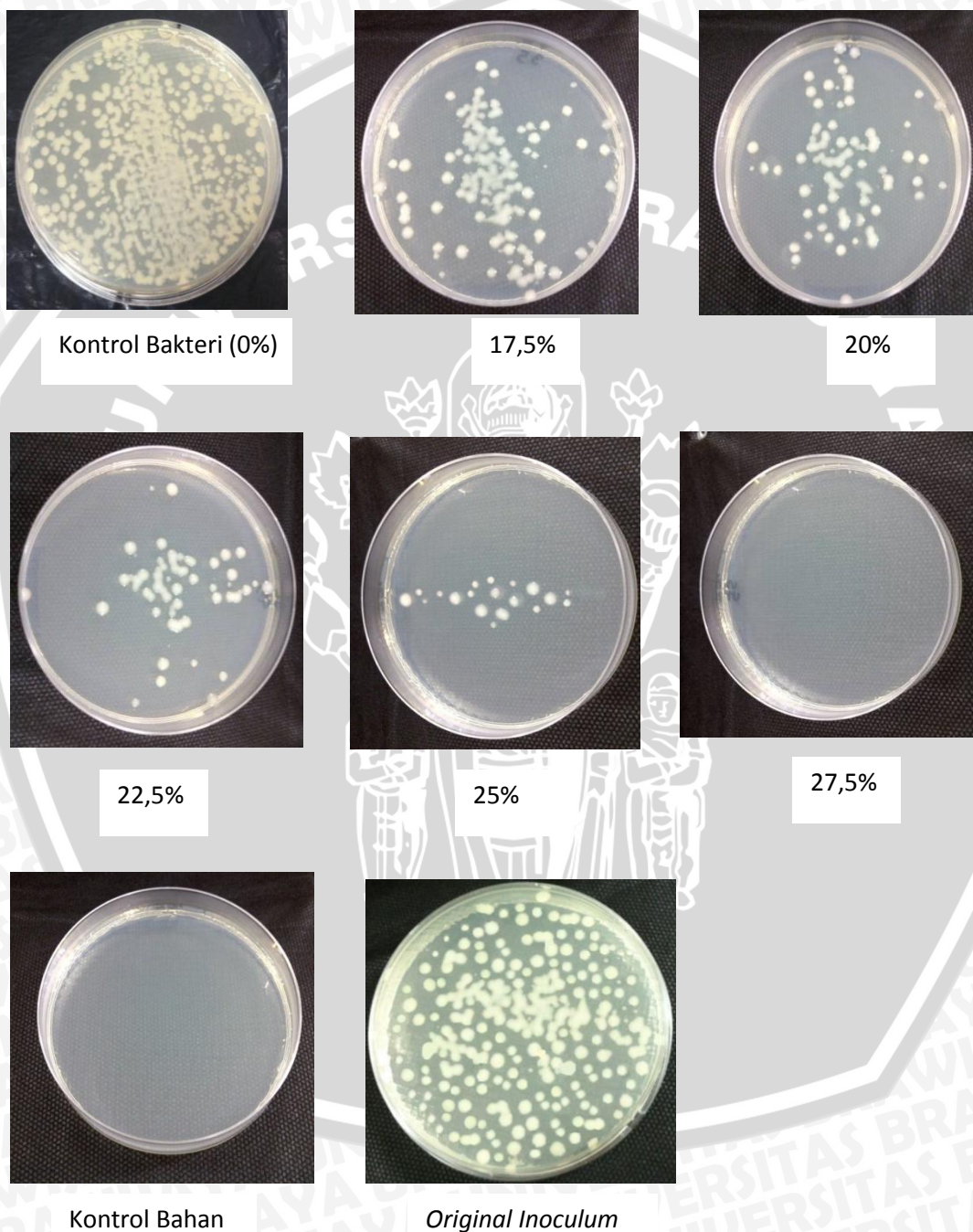
Dari hasil pengamatan, didapatkan kekeruhan pada konsentrasi 17,5% dan 20%, dan 22,5%. Kejernihan dari larutan suspensi mulai terlihat pada konsentrasi 25% ditandai dengan terlihatnya ketiga garis indikator dan semakin jernih pada konsentrasi 27,5%. KHM merupakan konsentrasi paling kecil yang tidak didapatkan kekeruhan, sehingga dalam penelitian ini dapat disimpulkan bahwa KHM pada penelitian ini terletak pada tabung dengan konsentrasi 25%.

5.1.3 Hasil Penentuan KBM

Setelah penentuan KHM, selanjutnya melakukan *streaking* pada agar NAP dari masing – masing konsentrasi tabung sebanyak 1 ose (0,01 ml). Setelah dilakukan *streaking*, seluruh agar NAP diinkubasikan ke dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 18-24 jam, kemudian dilihat jumlah koloni bakteri yang tumbuh. KBM (Kadar Bunuh Minimal) merupakan kadar terendah dari antimikroba yang mampu membunuh bakteri yang ditandai dengan tidak tumbuhnya bakteri pada NAP atau tingkat kematian koloninya lebih dari 99,9%

(bakteri yang masih tumbuh kurang dari 0,1%) dari jumlah *Original Inoculum*.

Pada penelitian ini, dapat dilihat jumlah koloni pada masing-masing konsentrasi pada Gambar 5.5.



Gambar 5.5 Hasil Pertumbuhan Koloni *Klebsiella pneumoniae* pada media NAP

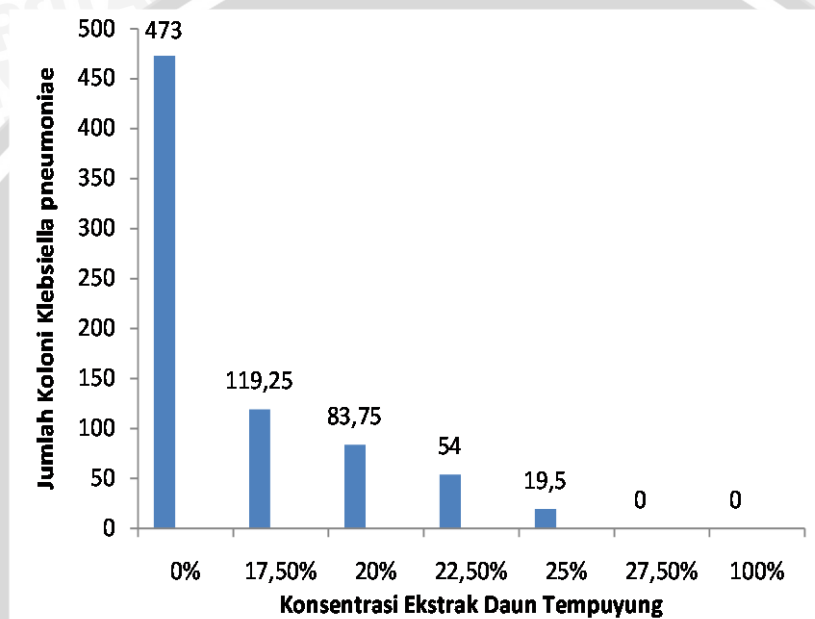
Hasil perhitungan koloni yang tumbuh di NAP pada masing-masing konsentrasi dapat dilihat pada Tabel 5.1. Jumlah koloni dihitung dengan menggunakan *colony counter*.

Tabel 5.1 Pertumbuhan Koloni *Klebsiella pneumoniae* Dalam Beberapa Konsentrasi Ekstrak Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.)

Konsentrasi	Jumlah Koloni Bakteri pada Pengulangan (x10 ² CFU/ml)				Rerata
	I	II	III	IV	
0 %	466	482	474	470	473
17,5%	114	120	120	123	119,25
20%	83	85	80	87	83,75
22,5%	53	57	51	55	54
25%	18	20	23	17	19,5
27,5%	0	0	0	0	0
100%	0	0	0	0	0
OI	388	372	391	377	382

Dari hasil perhitungan tersebut dapat dibuat grafik yang menunjukkan hubungan penurunan jumlah koloni dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak (Gambar 5.6). Jumlah pertumbuhan koloni semakin menurun seiring dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak. Jumlah koloni yang tumbuh pada konsentrasi 17,5% menurun dibandingkan dengan konsentrasi 0%, semakin menurun pada konsentrasi 20%, 22,5%, dan 25%, serta pada konsentrasi 27,5% dan 100% menunjukkan tidak ada koloni yang tumbuh (0 CFU/ml). KBM adalah 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* ($OI=382 \times 10^2$ CFU/ml) yaitu pada konsentrasi 27,5%, dan 100%. Sehingga nilai KBM yang diperoleh dari penelitian ini yaitu pada konsentrasi 27,5%.



Gambar 5.6 Grafik Pertumbuhan Koloni *Klebsiella pneumoniae* pada Setiap Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Tempuyung

5.2 Analisis Data

Hasil penelitian dianalisis menggunakan SPSS dengan cara *One-way ANOVA* untuk melihat adanya perbedaan dari setiap perlakuan. Sebelum dilakukan analisa menggunakan *One-way ANOVA*, data yang diperlukan harus memiliki distribusi normal dan ragam homogen. Hasil uji *Kolmogorov-Smirnov* pada data awal diperoleh nilai signifikansi sebesar 0,869 ($p>0,05$) sehingga disimpulkan data terdistribusi normal. Dan hasil uji homogenitas ragam (*Levene*

test) didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,06 ($p > 0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa ragam data homogen.

Setelah data penelitian terbukti terdistribusi normal dan memiliki ragam homogen, maka selanjutnya dilakukan pengujian *One-way ANOVA*. Pengujian ini dilakukan dengan bantuan program SPSS versi 18. Hasil pengujiannya dapat dilihat pada lampiran.

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

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	618539.333 ^a	5	123707.867	8889.188	.000
Intercept	374500.167	1	374500.167	26910.192	.000
Perlakuan	618539.333	5	123707.867	8889.188	.000
Error	250.500	18	13.917		
Total	993290.000	24			
Corrected Total	618789.833	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 antimikroba antara setiap konsentrasi ekstrak daun tempuyung terhadap jumlah koloni *Klebsiella pneumoniae* yang tumbuh pada media NAP. Sedangkan H_1 adalah terdapat perbedaan efek antimikroba antara setiap konsentrasi ekstrak daun tempuyung terhadap jumlah koloni *Klebsiella pneumoniae* yang tumbuh pada media NAP (kebalikan H_0). 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 setiap konsentrasi ekstrak daun tempuyung dengan pertumbuhan koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae*.

Setelah dianalisis dengan metode *One-way ANOVA*, selanjutnya dilakukan pengolahan data menggunakan *Post Hoc Test* yaitu uji pembandingan berganda (*multiple comparison*) untuk melihat perbedaan signifikan dari setiap kelompok perlakuan. Pengujian dilakukan dengan membandingkan rata-rata jumlah koloni antar konsentrasi sehingga dapat diketahui adanya perbedaan pengaruh pemberian ekstrak daun tempuyung sebagai antimikroba terhadap jumlah koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang tumbuh pada media NAP.

Tabel 5.3 Uji Post Hoc Duncan dari Efek Antimikroba setiap Konsentrasi Ekstrak Daun Tempuyung terhadap Jumlah Koloni *Klebsiella pneumoniae* yang Tumbuh pada Media NAP

Perlakuan	N	Subset					
		1	2	3	4	5	6
27,5%	4	.00					
25%	4		19.50				
22,5%	4			54.00			
20%	4				83.75		
17,5%	4					119.25	
0%	4						473.00

Keterangan: Hasil Uji Post Hoc Duncan berada pada kolom subset yang berbeda, maka menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antara perlakuan satu dengan yang lainnya

Hasil uji pembandingan berganda menggunakan uji Duncan pada Tabel 5.3 menunjukkan bahwa jumlah koloni *Klebsiella pneumoniae* yang tumbuh pada media NAP konsentrasi 27,5%, 25%, 22,5%, 20%, dan 17,5% berbeda bermakna antara satu konsentrasi dengan konsentrasi lainnya.

Pengujian selanjutnya adalah uji korelasi Pearson untuk mengetahui hubungan pemberian ekstrak daun tempuyung sebagai antimikroba terhadap

Klebsiella pneumoniae yang tumbuh pada media NAP. Berdasarkan hasil analisis uji Korelasi (Tabel 5.4), dapat diketahui bahwa pemberian ekstrak daun tempuyung sebagai antimikroba terhadap *Klebsiella pneumoniae* yang tumbuh pada media NAP didapatkan $p=0,000$ dan $r=-0,992$. Hal ini berarti terdapat hubungan yang signifikan ($p<0,05$) dengan kekuatan korelasi yang sangat kuat (r antara 0,80 – 1,00) dan arah korelasi negatif (koefisien r negatif), artinya semakin naik konsentrasi ekstrak daun tempuyung maka jumlah koloni *Klebsiella pneumoniae* akan semakin menurun.

Tabel 5.4 Uji Korelasi Hubungan Pemberian Ekstrak Daun Tempuyung terhadap Jumlah Koloni *Klebsiella pneumoniae* yang Tumbuh pada Media NAP

		Konsentrasi	Pertumbuhan Koloni
Konsentrasi	Pearson Correlation	1	-.992**
	Sig. (2-tailed)	.	.000
	N	24	24
Pertumbuhan Koloni	Pearson Correlation	-.992**	1
	Sig. (2-tailed)	.000	.
	N	24	24

Pengujian yang dilakukan selanjutnya adalah uji regresi linier. Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui seberapa besar pengaruh pemberian konsentrasi ekstrak daun tempuyung pada setiap konsentrasi terhadap jumlah koloni *Klebsiella pneumoniae* yang tumbuh pada media NAP. Dengan pengujian ini akan diperoleh persamaan regresi dan pengaruh pemberian ekstrak daun tempuyung terhadap jumlah koloni *Klebsiella pneumoniae* yang tumbuh pada media NAP yaitu $Y = 457,384 - 17,732 X$. Dimana Y adalah jumlah koloni *Klebsiella pneumoniae* yang tumbuh pada media NAP, sedangkan X adalah konsentrasi ekstrak daun tempuyung.

Berdasarkan hasil uji regresi juga didapatkan nilai koefisien determinasi (R^2) yang menyatakan besarnya pengaruh pemberian ekstrak daun tempuyung 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 daun tempuyung cukup berpengaruh terhadap jumlah koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae* yang tumbuh pada media NAP hingga 98,4%, sedangkan 1,6% keragaman jumlah koloni *Klebsiella pneumoniae* yang tumbuh pada media NAP tersebut dipengaruhi faktor selain pemberian ekstrak daun tempuyung (Tabel 5.5).

Tabel 5.5 Uji Regresi Linier Hubungan Pemberian Ekstrak Daun Tempuyung terhadap Jumlah Koloni *Klebsiella pneumoniae* yang Tumbuh pada Media NAP

Persamaan regresi	R^2	$1 - R^2$
$Y = 457,384 - 17,732 X$	0,984 (98,4%)	0,016 (1,6%)

Keterangan:

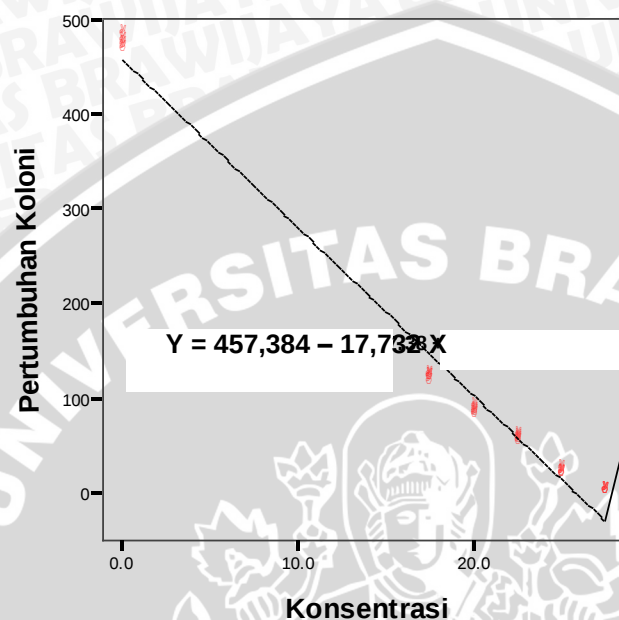
Y = jumlah koloni bakteri *Klebsiella pneumoniae*

X = konsentrasi ekstrak daun tempuyung

R^2 = koefisien determinasi

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

konsentrasi ekstrak daun tempuyung cenderung akan menurunkan jumlah koloni *Klebsiella pneumoniae* yang tumbuh pada media NAP.



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