

## BAB 5

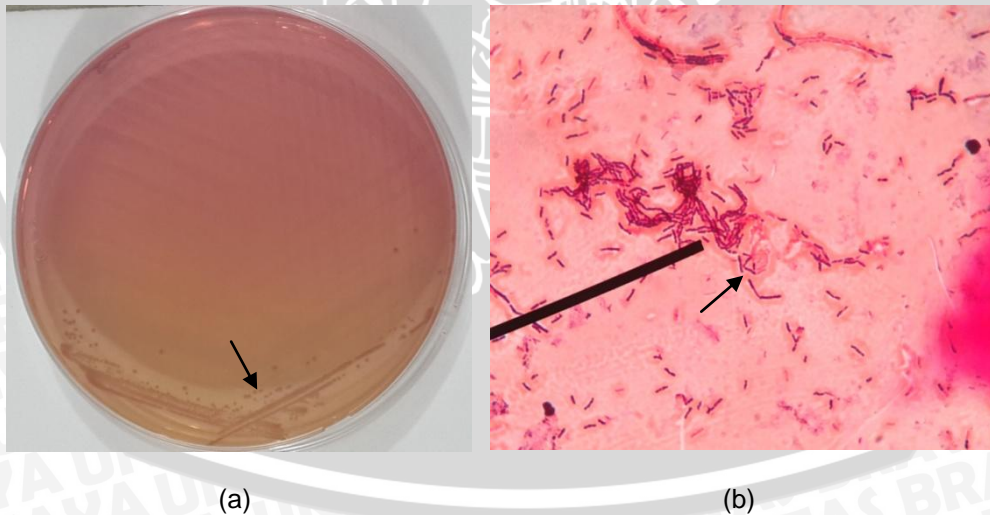
## HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

## 5.1 Data Hasil Penelitian

1. Hasil Identifikasi *Acinetobacter baumannii*

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Acinetobacter baumannii* yang didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Sebelum bakteri digunakan untuk penelitian, dilakukan identifikasi ulang yang meliputi penggoresan pada media agar *MacConkey*, pewarnaan Gram dan *Microbact Test*.

Hasil dari penggoresan bakteri pada media agar *MacConkey* menunjukkan koloni bakteri yang bulat, cembung, tidak berwarna atau pucat (tidak memfermentasikan laktosa). Pada uji pewarnaan Gram menunjukkan bakteri berbentuk batang dan berwarna merah (Gambar 5.1).



Gambar 5.1 *Acinetobacter baumannii* pada *MacConkey* (a) dan Pengecatan Gram (b).

Keterangan: (a) Tampak pada ujung anak panah koloni bakteri yang bulat dan memiliki warna yang pucat (tidak memfermentasikan laktosa); (b) Tampak pada ujung anak panah bakteri berbentuk batang berwarna merah yang menandakan bahwa bakteri tersebut adalah bakteri Gram negatif.

Identifikasi dilanjutkan dengan uji biokimia menggunakan *Microbact Test*. Sebelum dilakukan uji ini, bakteri diuji oksidase terlebih dahulu, yaitu dengan cara menggosokkan koloni pada *stick* oksidase dan dibiarkan selama 5 menit. Hasil uji oksidase menunjukkan hasil oksidase negatif yang ditandai dengan perubahan warna *stick* menjadi biru tua. Setelah itu dilakukan uji *Microbact* dengan memasukkan suspensi bakteri ke dalam 12A/E sumuran *Microbact System* dan diinkubasi selama 18 jam pada suhu 37°C. Berdasarkan hasil *Microbact Test*, bakteri yang diuji diyakini 94,11% merupakan bakteri *Acinetobacter baumannii* (Gambar 5.2).

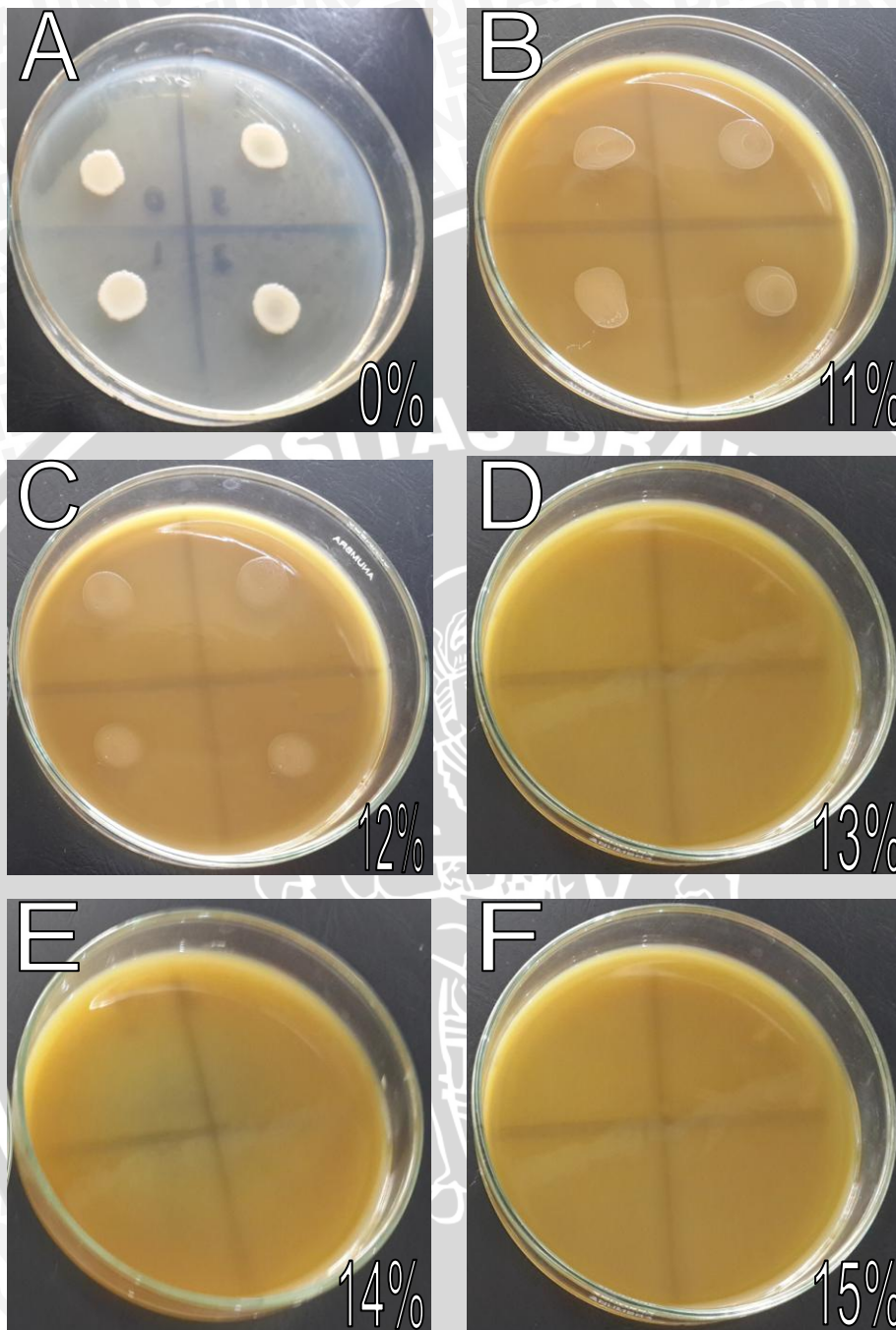
OXOID MICROBACT™ IDENTIFICATION KITS		MICROBACT™ GNB 12A/B/E, 24E															FK												
		GNB 24E										GNB 12B																	
		Oxidase	Motility	Nitrate	Lysine	Ornithine	H <sub>2</sub> S	Glucose	Mannitol	Xylose	ONPG	Indole	Urease	V-P	Citrate	TDA	Gelatin	Malonate	Inositol	Sorbitol	Rhamnose	Sucrose	Lactose	Arabinose	Adonitol	Raffinose	Salicin	Arginine	
Result / Resultado / Ergebnis / Risultat / Risultato / Resultat / Risultado / Risultat / Amortidatija					+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-													
		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 / Soma / Summe / Somme / Somma / Sum / Summa / Soma / Mpooyus					6	5	0				0			2															
Identification / Identificación / Identifikation / Identificazione / Identificatio / Identifying / Identificacão / Taxonomiy		A. baumannii 94,11%																											

Gambar 5.2 Hasil *Microbact Test*.

Keterangan: Berdasarkan angka-angka oktal pada gambar di atas, bakteri yang digunakan diyakini 94,11% sebagai *Acinetobacter baumannii*.

## 2. Hasil Penentuan KHM

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan beberapa konsentrasi ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia (Ten.) Steenis*) yang diperoleh dari eksplorasi dosis dalam penelitian pendahuluan yaitu 11%, 12%, 13%, 14% dan 15% (Lampiran 1).



Gambar 5.3 Pertumbuhan koloni *Acinetobacter baumannii* pada uji dilusi agar.

Keterangan: A: pada konsentrasi ekstrak 0%, koloni *Acinetobacter baumannii* tebal dan tidak terhitung; B: pada konsentrasi ekstrak 11%, koloni *Acinetobacter baumannii* tipis dan tidak terhitung; C: pada konsentrasi ekstrak 12%, koloni *Acinetobacter baumannii* lebih tipis bila dibandingkan dengan konsentrasi ekstrak 11%, jumlah koloni masih tidak terhitung; D: pada konsentrasi ekstrak 13%, tidak didapatkan pertumbuhan koloni *Acinetobacter baumannii*; E: pada konsentrasi ekstrak 14% tidak didapatkan pertumbuhan koloni *Acinetobacter baumannii*; F: pada konsentrasi ekstrak 15% tidak didapatkan pertumbuhan koloni *Acinetobacter baumannii*.

Gambar 5.3 menunjukkan hasil uji efektivitas KHM terhadap *Acinetobacter baumannii* dengan konsentrasi 0%, 11%, 12%, 13%, 14% dan 15%. Tampak bahwa pada konsentrasi 0% yang merupakan kontrol bakteri, terlihat adanya koloni bakteri yang tebal. Hal ini menunjukkan bahwa suspensi bakteri yang digunakan pada penelitian ini memang mengandung bakteri. Hasil pengamatan dari uji coba perlakuan dengan menggunakan ekstrak etanol daun binahong dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 5.1 Pertumbuhan Koloni Bakteri *Acinetobacter baumannii* pada Beberapa Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)

Pengulangan Konsentrasi	1	2	3	4
0%	+3	+3	+3	+3
11%	+2	+2	+2	+2
12%	+2	+2	+2	+2
13%	0	0	0	0
14%	0	0	0	0
15%	0	0	0	0

Keterangan: 0: tidak ada pertumbuhan koloni; +1: pertumbuhan koloni dapat dihitung; +2: koloni tipis dan tidak terhitung; +3: koloni tebal dan tidak terhitung; 0% sebagai kontrol bakteri (KK).

Berdasarkan Tabel 5.1, tampak bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun binahong yang diberikan, semakin sedikit koloni yang tumbuh pada media NAP. Ketebalan koloni masing-masing konsentrasi dibandingkan dengan Kontrol Bakteri. Pada konsentrasi 12% masih ditemukan adanya pertumbuhan koloni tetapi pada konsentrasi 13% tidak ditemukan adanya pertumbuhan koloni, maka konsentrasi 13% ditetapkan sebagai kadar hambat minimal (KHM).

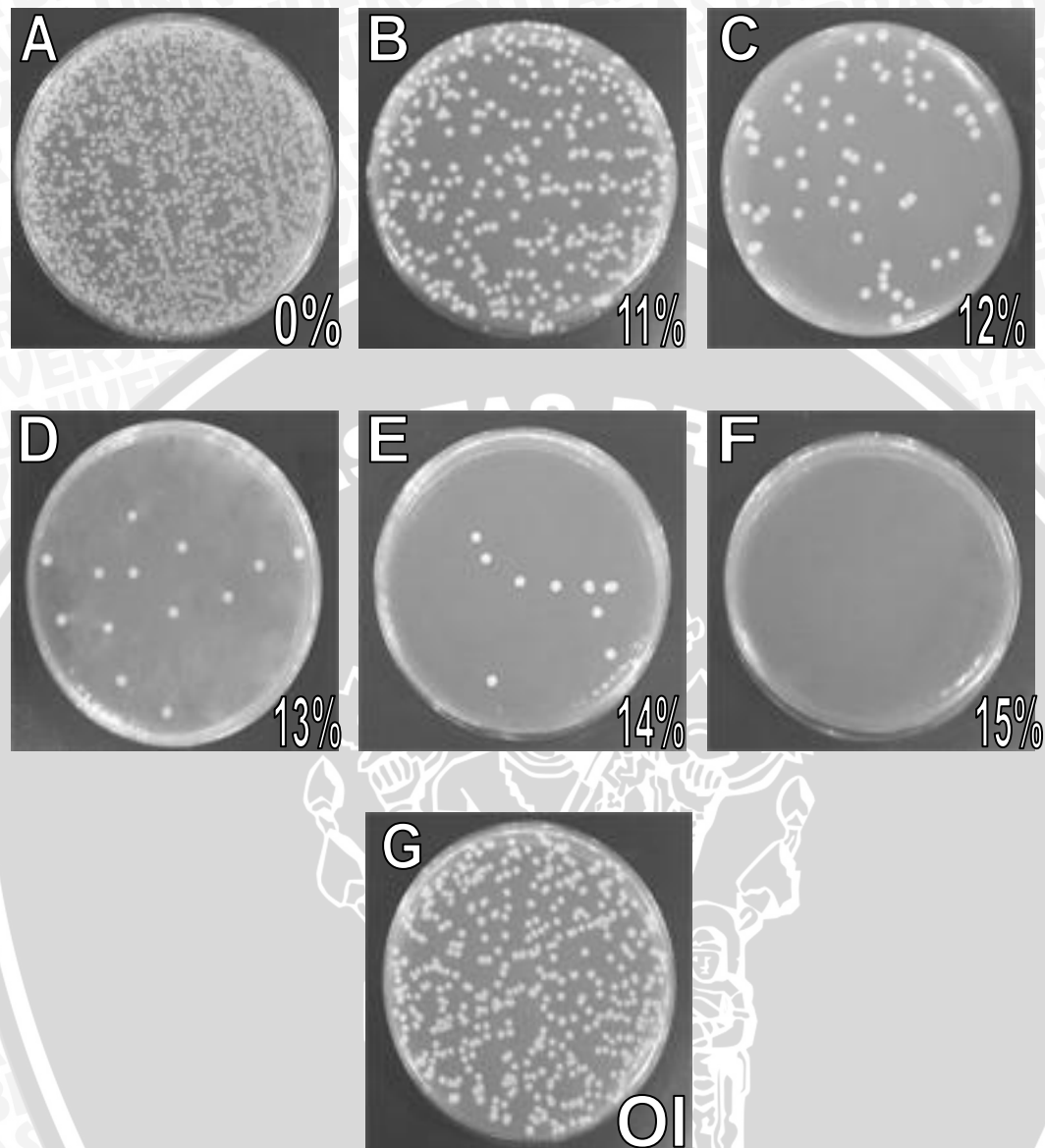
### 3. Hasil Penentuan KBM

Setelah tabung diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C dan diamati tingkat kekeruhannya untuk melihat KHM, dilakukan penanaman dengan metode penggosokan pada media NAP (*Nutrient Agar Plate*) untuk mengetahui Kadar Bunuh Minimal (KBM). Setelah itu dilakukan perhitungan jumlah koloni pada masing–masing konsentrasi dan perulangan dengan alat *colony counter*. Berikut tabel dan gambar hasil penanaman pada masing–masing konsentrasi:

Tabel 5.2 Jumlah Bakteri *Acinetobacter baumannii* Pada Berbagai Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia (Ten.) Steenis*)

Konsentrasi	Jumlah Koloni Bakteri ( CFU/plate)				Total	Rata-rata
	1	2	3	4		
0% (KK)	104200	114400	115300	100200	434100	108525
0I	4900	5800	4500	6000	21200	5300
11%	27600	28100	20500	21400	97600	24400
12%	5800	4900	5300	5400	2140	5350
13%	130	150	90	110	480	120
14%	9	7	5	11	32	8
15%	0	0	0	0	0	0

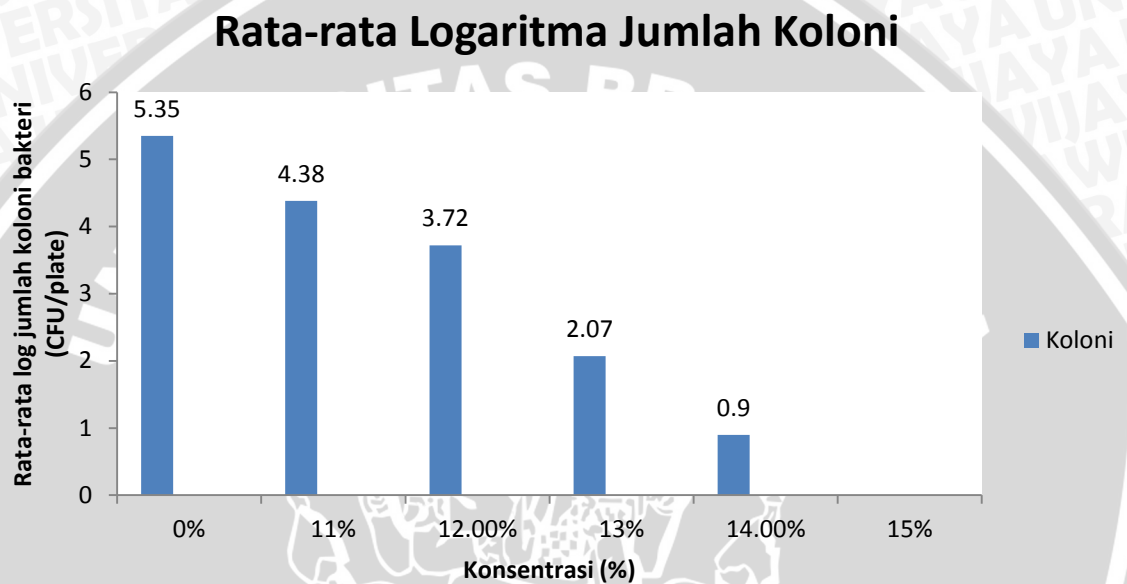
Keterangan: Jumlah Koloni Bakteri pada setiap *plate* dihitung kemudian dilakukan pengulangan 4 kali tiap konsentrasi; \*: Diperoleh KBM 15%.



Gambar 5.4 Hasil penggoresan bakteri *Acinetobacter baumannii* pada Media NAP untuk Uji KBM.

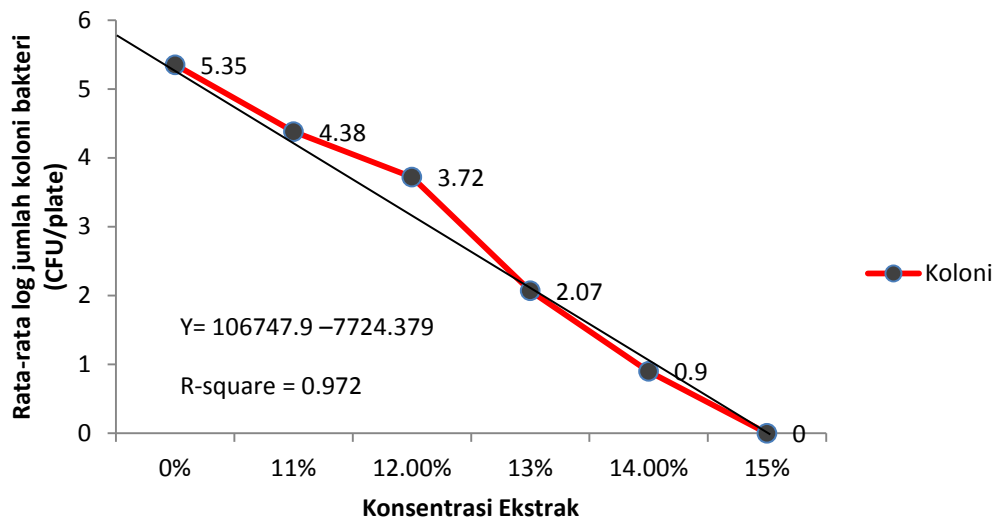
Keterangan: A: *Acinetobacter baumannii* digoreskan pada *plate* dengan konsentrasi ekstrak 0%. Tampak koloni bakteri yang tumbuh padat (berupa bintik-bintik putih) pada konsentrasi 0%; B: *Acinetobacter baumannii* dengan konsentrasi ekstrak 11%, tampak koloni bakteri yang tumbuh lebih sedikit dibandingkan 0%; C: *Acinetobacter baumannii* dengan konsentrasi ekstrak 12%. Koloni bakteri yang tumbuh lebih sedikit apabila dibandingkan dengan konsentrasi 11%; D: *Acinetobacter baumannii* dengan konsentrasi ekstrak 13%. Koloni mulai berkurang apabila dibandingkan dengan konsentrasi 12%; E: *Acinetobacter baumannii* dengan konsentrasi ekstrak 14%. Pertumbuhan koloni bakteri semakin sedikit dibandingkan dengan konsentrasi 13%; F: *Acinetobacter baumannii* dengan konsentrasi 15%. Koloni bakteri sama sekali tidak tumbuh; G: *Original Inoculum* (OI) yang digoreskan pada *plate*, digunakan sebagai acuan dalam menentukan KBM.

Berdasarkan Gambar 5.4 dan Tabel 5.2 diperoleh nilai KBM pada konsentrasi 15% ditandai dengan tidak adanya pertumbuhan koloni pada media NAP dimana konsentrasi ini memenuhi syarat KBM yaitu  $<0,1\%$  dari OI (Original Inoculum: 5300 CFU/plate). Dapat terlihat pola dimana semakin tinggi konsentrasi ekstrak, jumlah koloni bakteri semakin berkurang. Hal ini nampak jelas pada gambar berikut:



Gambar 5.5 Kurva penurunan rata-rata logaritma jumlah koloni *Acinetobacter baumannii* terhadap peningkatan konsentrasi ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)

Pengaruh peningkatan konsentrasi ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap jumlah koloni *Acinetobacter baumannii* juga dapat dilihat pada Gambar 5.6



Gambar 5.6 Kurva regresi linier rata-rata logaritma jumlah koloni untuk masing-masing konsentrasi ekstrak etanol daun binahong dimulai dari konsentrasi rendah ke konsentrasi tinggi;  $y$  = jumlah koloni bakteri,  $x$  = perlakuan dengan ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis).

## 5.2 Analisis Data

Hasil penelitian dianalisis dengan menggunakan *software* analisis statistik dan *output* hasil analisis dapat dilihat pada lampiran 4. Adapun penjelasan dari hasil statistik akan dibahas sebagai berikut:

### 1. Uji Normalitas Data

Uji statistik yang pertama adalah untuk menentukan normalitas data dengan menggunakan Uji *Kolmogorov-smirnov* (Lampiran 4). Berdasarkan pengujian normalitas data dengan menggunakan uji *Kolmogorov-smirnov* didapatkan bahwa data untuk semua kelompok mempunyai sebaran normal (uji *Kolmogorov-Smirnov*,  $p > 0,05$ ) dengan nilai  $p = 0,611$ , sehingga dapat disimpulkan bahwa data variabel tersebut menyebar mengikuti sebaran normal. Dengan demikian dapat dilakukan pengujian dengan Anova karena syarat kenormalan data telah terpenuhi.



## 2. Uji Homogenitas Varian

Setelah mengetahui bahwa data berdistribusi normal, selanjutnya menentukan data memiliki varian yang berbeda atau tidak dengan menggunakan uji homogenitas *Levene* (Lampiran 4). Pada tabel uji homogenitas didapatkan bahwa data mempunyai varian yang sama ( $p > 0,05$ ) dengan nilai  $p = 0,060$ . Dengan demikian maka analisa data dapat dilakukan dengan menggunakan uji One-way anova.

## 3. Uji Oneway ANOVA

Pada uji statistik ini, 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 binahong terhadap jumlah koloni *Acinetobacter baumannii* yang tumbuh pada media NAP. Perbedaan efek antibakteri antara setiap konsentrasi ekstrak etanol dianggap bermakna jika nilai  $p < 0,05$  atau dengan kata lain  $H_0$  ditolak. Dari hasil pengujian didapatkan bahwa nilai  $p = 0.000$  (Lampiran 4). Berdasarkan hasil tersebut maka dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan efek antibakteri antara setiap konsentrasi ekstrak etanol daun binahong terhadap jumlah koloni *Acinetobacter baumannii* yang tumbuh pada media NAP.

## 4. Uji *Post Hoc Tukey HSD* dan *Tukey HSD*<sup>a</sup>

Analisis mengenai perbedaan jumlah dari keenam kelompok diketahui dengan uji multi komparasi *Post Hoc Tukey HSD*. Adapun ringkasan dari uji multi komparasi ini tercantum dalam Tabel 5.3

Tabel 5.3 Ringkasan Nilai Signifikansi (p) Uji *Post Hoc Tukey HSD*

Konsentrasi	0%	11%	12%	13%	14%	15%
0%		0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
11%	0,000		0,000	0,000	0,000	0,000
12%	0,000	0,000		0,316	0,295	0,294
13%	0,000	0,000	0,316		1,000	1,000
14%	0,000	0,000	0,295	1,000		1,000
15%	0,000	0,000	0,295	1,000	1,000	

Keterangan: Ada perbedaan signifikan antar kelompok perlakuan ( $p=0,00$ ). Dikatakan signifikan bila  $p<0,05$ .

Terdapat perbedaan signifikan antara beberapa kelompok perlakuan dalam menurunkan rata-rata jumlah koloni ( $p = 0,00$ ). Berdasarkan hasil uji multi komparasi *Post Hoc Tukey HSD*, jumlah koloni *Acinetobacter baumannii* yang tumbuh pada media NAP dengan konsentrasi 0% dan 11% bila dibandingkan dengan semua konsentrasi menunjukkan hasil yang berbeda signifikan dengan semua jumlah koloni yang tumbuh pada media NAP dengan konsentrasi yang berbeda-beda. Pada konsentrasi 12%, 13%, 14% dan 15%, perbandingan jumlah koloni *Acinetobacter baumannii* yang tumbuh pada media NAP menunjukkan hasil yang tidak berbeda signifikan.

Tabel 5.4 Ringkasan Uji *Post Hoc Tukey HSD*<sup>a</sup>

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
15%	4	0.00		
14%	4	8.00		
13%	4	120.00		
12%	4	5350.00		
11%	4		24400.00	
0%	4			108525.00
Sig.		.294	1.000	1,000

Hasil uji perbandingan berganda menggunakan uji *Post Hoc Tukey HSD*<sup>a</sup> (Tabel 5.4) menunjukkan bahwa jumlah koloni *Acinetobacter baumannii* yang tumbuh pada media NAP konsentrasi 15% tidak berbeda signifikan dengan jumlah koloni yang tumbuh pada media NAP konsentrasi 14%, 13% dan 12%. Jumlah koloni *Acinetobacter baumannii* yang tumbuh pada media NAP konsentrasi 11% berbeda signifikan dengan semua jumlah koloni yang tumbuh pada media NAP dengan konsentrasi yang lain (Konsentrasi 12%, 13%, 14%, 15% dan 0%). Sama halnya dengan jumlah koloni yang tumbuh pada media NAP dengan konsentrasi 0% yang memberikan hasil berbeda signifikan dengan semua perlakuan konsentrasi yang lain.

Pemberian ekstrak etanol daun binahong pada konsentrasi 15% dapat menyebabkan rata-rata jumlah koloni *Acinetobacter baumannii* yang tumbuh pada media NAP paling rendah ( $mean = 0$ ) atau paling efektif daripada pemberian ekstrak etanol daun binahong pada konsentrasi lainnya. Konsentrasi 15% lebih efektif daripada konsentrasi 14%. Konsentrasi 14% lebih efektif daripada konsentrasi 13%. Konsentrasi 13% lebih efektif daripada konsentrasi 12% dan konsentrasi 12% lebih efektif daripada konsentrasi 11%. Konsentrasi 15% sampai dengan konsentrasi 11% memiliki perbedaan yang signifikan dengan konsentrasi 0%, sehingga dapat disimpulkan pemberian ekstrak etanol

daun binahong efektif dalam menurunkan jumlah koloni *Acinetobacter baumannii*. Antara konsentrasi 15% dan 100% tidak ada perbedaan signifikan, sehingga dengan konsentrasi 15% sudah cukup efektif dalam menurunkan jumlah koloni *Acinetobacter baumannii* hingga tidak ada koloni yang tumbuh.

### 5. Uji Korelasi

Uji korelasi Pearson pada penelitian ini digunakan untuk membuktikan hubungan antara peningkatan konsentrasi ekstrak etanol daun binahong terhadap rata-rata jumlah koloni. Hasil uji korelasi ini menunjukkan hasil yang signifikan ( $P\text{-value} = 0.000$ ) dengan nilai  $R = -0.986$ . Hal ini membuktikan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol daun binahong, semakin rendah rata-rata jumlah koloni bakteri *Acinetobacter baumannii*.

### 6. Uji Regresi

Berdasarkan hasil uji regresi didapatkan nilai koefisien determinasi ( $R^2$ ) yang menyatakan besarnya pengaruh pemberian ekstrak etanol daun binahong terhadap jumlah koloni *Acinetobacter baumannii* yang tumbuh pada media NAP dalam bentuk persentase, sedangkan persentase sisanya ( $1 - R^2$ ) ditentukan oleh faktor lain. Hasil uji regresi linier dari penelitian ini didapatkan nilai  $R^2 = 0,972$  (Lampiran 4), artinya jumlah bakteri *Acinetobacter baumannii* yang mati karena paparan ekstrak etanol daun binahong adalah 97,2% dimana hal ini dapat dirumuskan dengan persamaan

$$Y = 106747.9 - 7724.379 X$$

Keterangan: Y = rata-rata jumlah koloni bakteri *Acinetobacter baumannii*

X = konsentrasi ekstrak etanol daun binahong

Adapun bentuk kurva dari persamaan regresi liniernya dapat dilihat pada Gambar 5.6.