

BAB 5

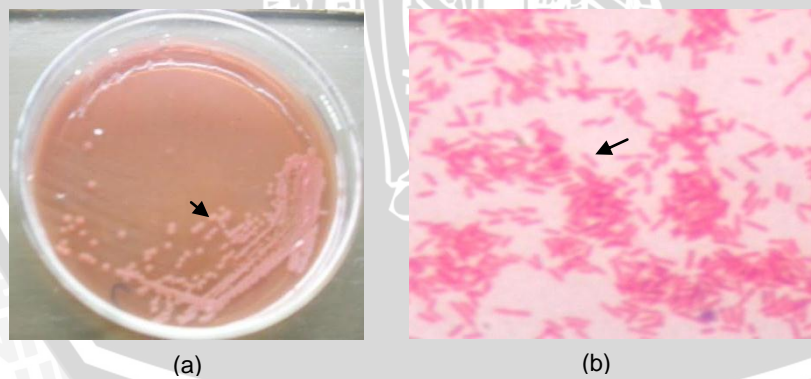
HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Data Hasil Penelitian

5.1.1 Identifikasi *Shigella dysenteriae*

Dalam penelitian ini sampel yang digunakan adalah bakteri *Shigella dysenteriae* yang didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Sebelum bakteri digunakan, dilakukan identifikasi ulang yang meliputi penggoresan pada media agar *Mac Conkey*, pewarnaan Gram dan *Microbact Test*.

Hasil dari penggoresan pada media agar *Mac Conkey* menunjukkan koloni bakteri yang bulat, cembung, dan tidak berwarna atau pucat (tidak memfermentasikan laktosa, khas pada *Shigella dysenteriae*). Pada uji pewarnaan Gram menunjukkan bakteri berbentuk batang dan berwarna merah.



Gambar 5.1 *Shigella dysenteriae* pada media *Mac Conkey* (a) dan Pengecatan Gram (b).

Keterangan: (a) Tampak pada ujung anak panah koloni bakteri bulat dan berwarna pucat (tidak memfermentasikan laktosa); (b) Tampak pada ujung petunjuk bakteri gram negatif berbentuk batang dan berwarna merah yang menandakan bahwa bakteri tersebut adalah bakteri *Shigella dysenteriae*.

Identifikasi dilanjutkan dengan uji biokimia yang menggunakan uji *Microbact* dalam penelitian ini. Bakteri diuji oksidase sebelum dilakukan uji *Microbact*, yaitu dengan cara menggoreskan koloni pada stik oksidase dan dibiarkan selama 5 menit. Hasil uji oksidase menunjukkan oksidase negatif, yaitu dengan cara perubahan warna stik menjadi biru tua. Setelah itu dilanjutkan uji *Microbact* dengan memasukkan suspensi bakteri ke dalam 12A/E sumuran *Microbact* dan diinkubasi 18 jam pada suhu 37°C. Berikut adalah hasil *Microbact* Test:

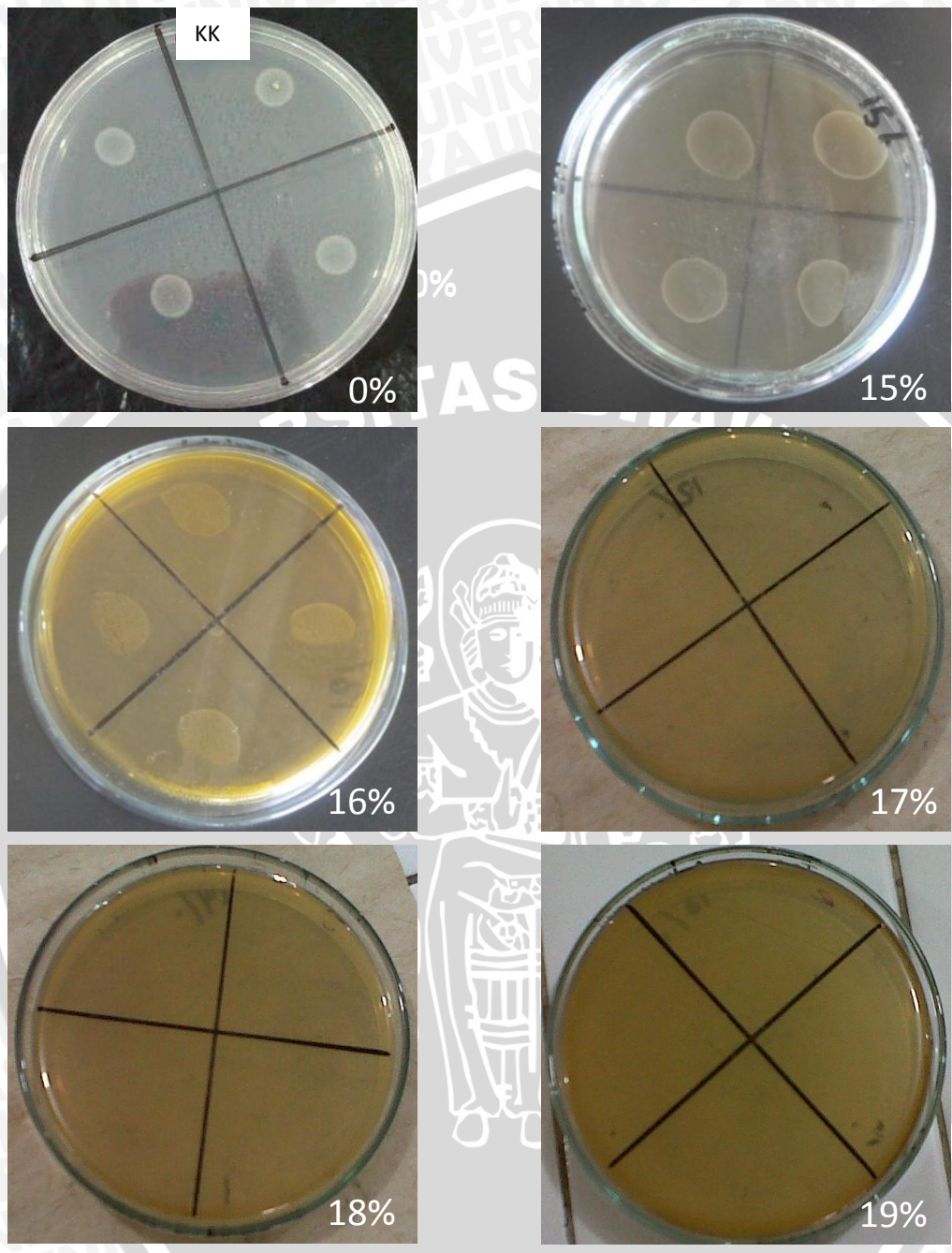
OXOID MICROBACT™ IDENTIFICATION KITS		MICROBACT™ GNB 12A/B/E, 24E																											
		GNB 12A / 12E												GNB 12B															
		Oxidase	Motility	Nitrate	Lysine	Ornithine	H ₂ S	Glucose	Mannitol	Xylose	ONPG	Indole	Urease	V-P	Citrate	TDA	Gelatin	Malonate	Inositol	Sorbitol	Rhamnose	Sucrose	Lactose	Arabinose	Adonitol	Raffinose	Salicin	Arginine	
Result / Resultado / Ergebnis / Risultat / Risultato / Resultat / Risultado / Αποτέλεσμα					-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+														
		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 / Somme / Somma / Sum / Summa / Σομια / Αθροισμα					2		2				4		1																
Identification / Identificación / Identification / Identificazione / Identifizierung / Identificação / Ταυτοποίηση		Shigella dysenteriae 95,79%																											

Gambar 5.2 Hasil Scan Microbact.

Keterangan: Berdasarkan angka-angka oktal pada gambar di atas, bakteri yang digunakan diyakini 95,79% sebagai *Shigella dysenteriae*.

5.1.2 Hasil Penentuan KHM

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan beberapa konsentrasi ekstrak etanol daun pecut kuda yang diperoleh dari penelitian pendahuluan sebelumnya. Konsentrasinya adalah 15%, 16%, 17%, 18%, dan 19%.



Gambar 5.3 Pertumbuhan koloni bakteri *Shigella dysenteriae* pada uji dilusi agar.
Keterangan: KK merupakan Kontrol Bakteri

Gambar 5.3 menunjukkan percobaan untuk mengetahui KHM dengan metode dilusi agar yang berisi campuran ekstrak etanol daun pecut kuda dan bakteri *Shigella dysenteriae* dengan konsentrasi 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, dan 0% (Kontrol Bakteri). Hasil pengamatan dari uji coba perlakuan dengan menggunakan ekstrak etanol daun pecut kuda dapat dilihat pada Tabel berikut.

Tabel 5.1 Pertumbuhan koloni *Shigella dysenteriae* pada beberapa konsentrasi ekstrak etanol daun pecut kuda (*Stachytarpheta jamaicensis* L. (Vahl))

Konsentrasi	Pengulangan			
	1	2	3	4
0%(KK)	+3	+3	+3	+3
15%	+2	+2	+2	+2
16%	+2	+2	+2	+2
17%	0	0	0	0
18%	0	0	0	0
19%	0	0	0	0

Keterangan:

0: tidak ada pertumbuhan koloni

+1: pertumbuhan koloni dapat dihitung pada *colony counter*

+2: koloni tipis dan tidak terhitung pada *colony counter*

+3: koloni tebal dan tidak terhitung pada *colony counter*

KK: kontrol bakteri

Berdasarkan Tabel 5.1, tampak bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun pecut kuda yang diberikan, semakin sedikit koloni yang tumbuh pada media NAP. Ketebalan koloni masing-masing konsentrasi dibandingkan dengan Kontrol Bakteri. Pada konsentrasi 16% masih ditemukan adanya pertumbuhan koloni tetapi pada konsentrasi 17% tidak ditemukan adanya pertumbuhan koloni, maka konsentrasi 17% ditetapkan sebagai kadar hambat minimal (KHM).

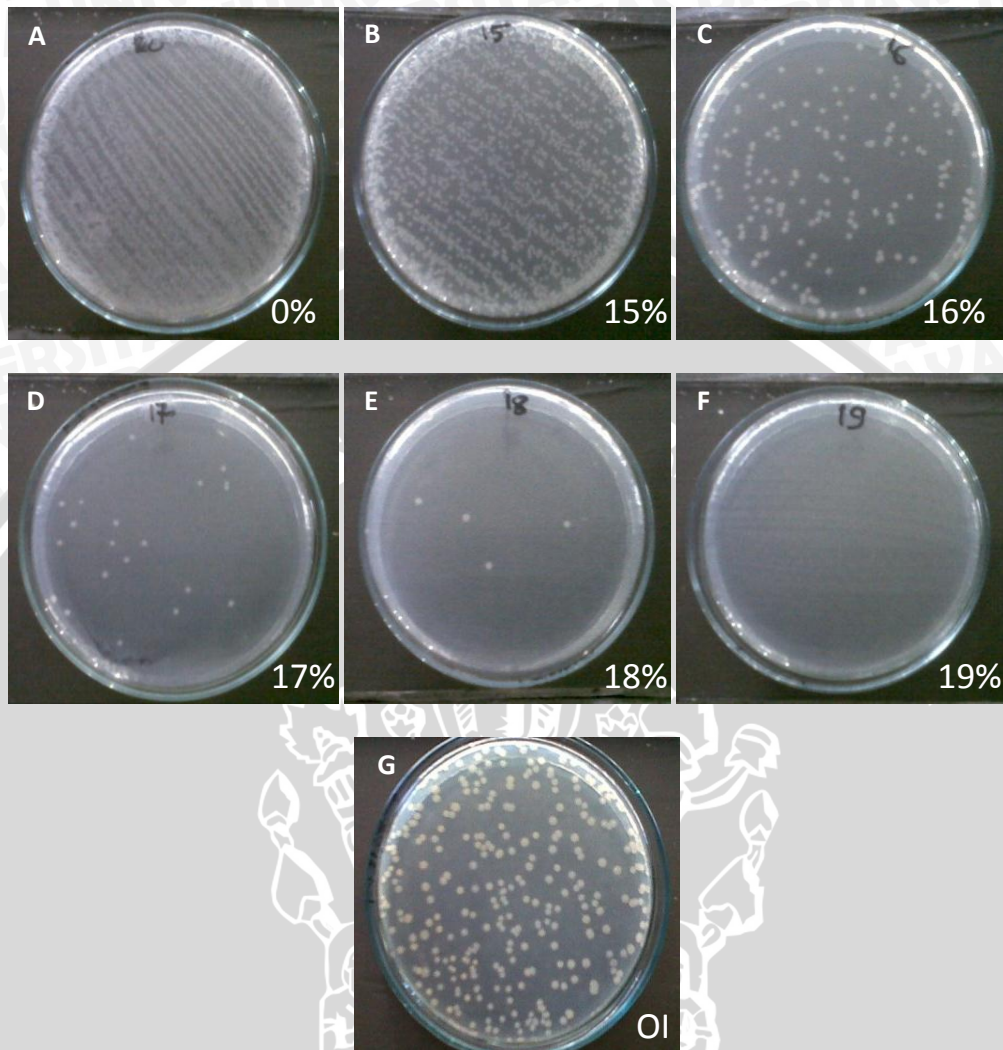
5.1.3. Hasil Penentuan KBM

Setelah tabung diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C dan diamati tingkat kekeruhannya untuk melihat KHM, dilakukan penanaman dengan metode streaking pada media NAP (*Nutirent Agar Plate*) untuk mengetahui Kadar Bunuh Minimal. Setelah itu dilakukan perhitungan jumlah koloni pada masing-masing konsentrasi dan perulangan dengan alat *colony counter*. Hasil penanaman pada masing-masing konsentrasi dapat dilihat pada Tabel 5.2 dan Gambar 5.4.

Tabel 5.2 Jumlah bakteri *Shigella dysenteriae* pada berbagai konsentrasi ekstrak etanol daun pecut kuda (*Stachytarpheta jamaicensis* L. (Vahl))

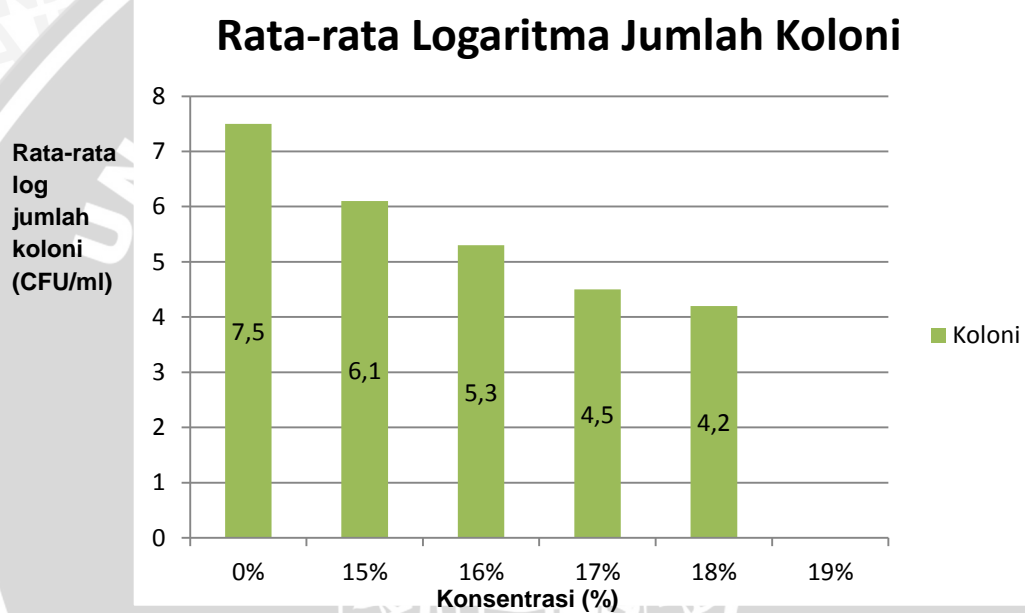
Konsentrasi	Jumlah Koloni Bakteri (x10 ³ CFU/ml)				Total	Rata-rata
	1	2	3	4		
0% (KK)	31700	32000	32900	30100	126700	31675
OI	3351	3360	3345	3384	13440	3360
15%	1094	1385	1293	1187	4959	1239,75
16%	211	186	169	207	773	193,25
17%	37	35	35	30	137	34,25
18%	17	12	18	16	63	15,75
19%	0	0	0	0	0	0*

Keterangan: Jumlah Koloni bakteri pada setiap plate dihitung kemudian dilakukan pengulangan 4 kali tiap konsentrasi; *: Diperoleh KBM 19%



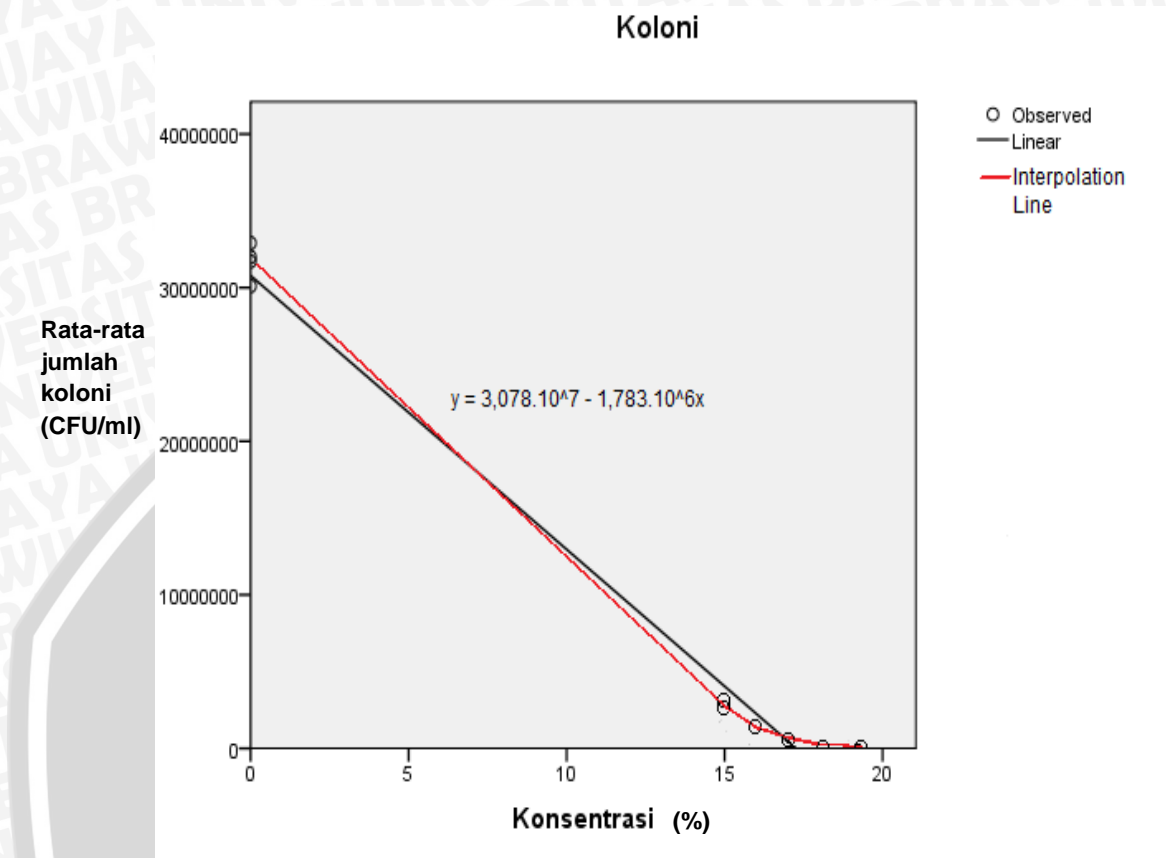
Gambar 5.4 Hasil streaking *Shigella dysenteriae* pada media NAP untuk uji KBM. Keterangan: A: *Shigella dysenteriae* digoreskan pada plate dengan konsentrasi ekstrak 0%. Tampak koloni yang tumbuh (bintik-bintik putih) pada konsentrasi 0%; B: *Shigella dysenteriae* dengan konsentrasi ekstrak 15%, tampak koloni bakteri yang tumbuh telah berkurang; C: *Shigella dysenteriae* dengan konsentrasi ekstrak 16%. Koloni bakteri yang tumbuh lebih sedikit apabila dibandingkan dengan konsentrasi ekstrak 15%; D: *Shigella dysenteriae* dengan konsentrasi ekstrak 17%. Pertumbuhan bakteri semakin sedikit apabila dibandingkan dengan konsentrasi ekstrak 16%; E: *Shigella dysenteriae* dengan konsentrasi ekstrak 18%. Dapat dilihat koloni lebih sedikit dibandingkan koloni dengan konsentrasi ekstrak 17%; F: *Shigella dysenteriae* dengan konsentrasi ekstrak 19%. Koloni bakteri sama sekali tidak tumbuh, maka diperoleh KBM 19%. 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 19% ditandai dengan tidak adanya pertumbuhan koloni pada media NAP dimana konsentrasi ini memenuhi syarat KBM yaitu $< 0,1\%$ dari OI (*Original inoculum*: 336×10^4 CFU/ml, $< 0,1\%$ OI yaitu < 3360 CFU/ml). Dapat terlihat pola dimana semakin tinggi konsentrasi ekstrak, jumlah koloni bakteri semakin berkurang. Hal ini nampak lebih jelas pada Gambar 5.5.



Gambar 5.5 Kurva penurunan rata-rata logaritma jumlah bakteri *Shigella dysenteriae* terhadap peningkatan konsentrasi ekstrak etanol daun pecut kuda (*Stachytarpheta jamaicensis* L. (Vahl))

Pengaruh peningkatan konsentrasi ekstrak etanol daun pecut kuda (*Stachytarpheta jamaicensis* L. (Vahl)) terhadap jumlah koloni bakteri *Shigella dysenteriae* juga dapat dilihat pada Gambar 5.6.



Gambar 5.6 Kurva regresi linier jumlah koloni untuk masing-masing konsentrasi ekstrak etanol daun pecut kuda dimulai dari konsentrasi rendah ke konsentrasi tinggi; y = jumlah koloni bakteri, x = perlakuan dengan ekstrak etanol daun pecut kuda (*Stachytarpheta jamaicensis* L. (Vahl)).

5.2 Analisis Data

Hasil penelitian dengan program *SPSS (Statistical Product of Service Solution)* dan output hasil analisis dapat dilihat pada lembar lampiran 6. Adapun penjelasan dari pengujian dapat dibahas sebagai berikut.

5.2.1 Uji Normalitas dan Homogenitas

Data jumlah koloni bakteri *Shigella dysenteriae* diuji terlebih dahulu untuk normalitas dan homogenitasnya sebagai uji prasyarat agar bisa dilakukan uji beda parametrik *One Way Anova*. Jika dari hasil uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov* menunjukkan distribusi data yang normal ($p > 0,05$) dan uji homogenitas

menyatakan bahwa data penelitian homogen ($p > 0,05$), maka dapat dilakukan uji beda parametrik. Berdasarkan hasil uji normalitas *Kolmogorov - Smirnov*, distribusi data jumlah koloni bakteri *Shigella dysenteriae* tidak normal ($p = 0,000$) dan berdasarkan hasil uji homogenitas, data tidak homogen ($p = 0,009$). Sehingga data jumlah koloni bakteri tidak dapat dianalisa dengan uji beda *One Way Anova*.

Dilakukan transformasi data dengan melakukan logaritma terhadap data jumlah koloni bakteri *Shigella dysenteriae*, untuk kemudian dianalisis kembali dengan uji normalitas dan homogenitas. Bila data transformasi jumlah koloni terdistribusi normal dan homogen, maka bisa dilanjutkan ke uji beda *One Way Anova*. Hasil uji normalitas *Kolmogorov - Smirnov* didapatkan distribusi data jumlah koloni bakteri *Shigella dysenteriae* normal ($p = 0,108$) dan homogen ($p = 0,065$). Dengan demikian, data bisa diolah dengan menggunakan uji beda parametrik *One Way Anova*.

Dari uji beda *One Way Anova*, didapatkan nilai rata-rata jumlah koloni bakteri *Shigella dysenteriae* dari keenam konsentrasi berbeda secara signifikan ($p = 0,002$). Dengan demikian pemberian ekstrak etanol daun pecut kuda memberikan pengaruh terhadap rata-rata jumlah koloni bakteri *Shigella dysenteriae*.

5.2.2 Uji *Pos Hoc Tukey*

Selanjutnya dilakukan uji multi komparasi *Pos Hoc Tukey* guna melihat apakah terdapat perbedaan jumlah koloni bakteri antara dua macam dosis yang berbeda. Adapun ringkasan dari uji multi komparasi ini tercantum dalam tabel 5.3.

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

Konsentrasi	0%	15%	16%	17%	18%	19%
0%		0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
15%	0,000		0,000	0,000	0,000	0,000
16%	0,000	0,000		0,000	0,000	0,000
17%	0,000	0,000	0,000		0,000	0,000
18%	0,000	0,000	0,000	0,000		0,000
19%	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	

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

Terdapat perbedaan jumlah koloni yang bermakna antara kelompok konsentrasi 0% jika dibandingkan dengan semua kelompok perlakuan ($p < 0,05$). Jumlah koloni bakteri pada konsentrasi 19% yang merupakan dosis maksimal, berbeda signifikan dengan semua kelompok konsentrasi ($p < 0,05$). Dengan demikian dapat dikatakan bahwa dosis 19% masih lebih baik dari dosis lain dalam menurunkan jumlah koloni secara signifikan (lihat tabel 5.3).

5.2.3 Uji Korelasi *Pearson*

Uji korelasi parametrik *Pearson* menunjukkan nilai signifikansi (*P-value*) = 0,001 ($p < 0,05$) dan *correlation coefficient* -0,951 yang berarti terdapat korelasi atau hubungan bermakna antara kedua variabel (konsentrasi ekstrak terhadap jumlah koloni bakteri). *Pearson correlation coefficient* (*r*) bernilai negatif berarti korelasinya berbanding terbalik, yang artinya semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol daun pecut kuda, maka semakin rendah jumlah koloni bakteri *Shigella dysenteriae*, serta menunjukkan korelasi yang sangat kuat ($r > 0,799$). Dengan

demikian dapat dikatakan bahwa kematian koloni bakteri *Shigella dysenteriae* memang sangat kuat dipengaruhi oleh ekstrak etanol daun pecut kuda.

Catatan: r = koefisien korelasi, menunjukkan kekuatan korelasi. Korelasi lemah ($r < 0,500$), korelasi sedang ($r = 0,500-0,599$), korelasi kuat ($r = 0,600-0,799$), dan korelasi sangat kuat ($r > 0,799$).

5.2.4 Uji Regresi Linier

Uji regresi linier merupakan uji statistik yang dilakukan untuk mengetahui besar pengaruh variabel independen (ekstrak dengan berbagai konsentrasi) terhadap variabel dependen (jumlah koloni bakteri). Nilai R^2 (*R square*) dari tabel *Model summary* menunjukkan bahwa 96,9% ($0,969 \times 100\%$) dari variabel jumlah koloni bakteri *Shigella dysenteriae* dipengaruhi oleh variabel independen yakni paparan ekstrak etanol daun pecut kuda. Dengan kata lain sebanyak 96,9% bakteri mati oleh karena paparan ekstrak etanol daun pecut kuda. Persamaan garis regresi menggunakan metode kuadrat terkecil (*least square method*) yang didapat adalah:

$$Y = 3,078.10^7 - 1,783.10^6x$$

Keterangan: Y = jumlah koloni bakteri *Shigella dysenteriae*;

X = konsentrasi ekstrak etanol daun pecut kuda