

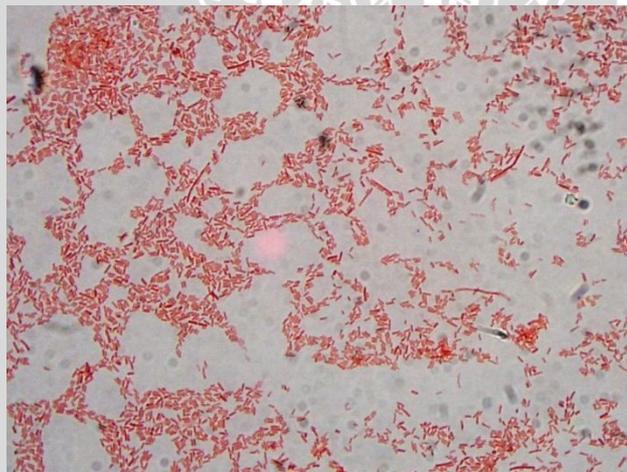
BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Data Hasil Penelitian

5.1.1 Identifikasi *Pseudomonas aeruginosa*

Dalam penelitian ini sampel yang digunakan adalah bakteri *Pseudomonas aeruginosa* milik Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Sebelum melakukan penelitian, dilakukan identifikasi terhadap bakteri yang akan digunakan untuk sample yang meliputi pewarnaan Gram dan *microbact test*. Dari pewarnaan Gram didapatkan sel bakteri berbentuk batang, gram negatif berwarna merah.



Gambar 5.1 *Pseudomonas aeruginosa* dengan pengecatan Gram (perbersaran 10x100 kali). Tampak pada gambar bakteri gram negatif berbentuk batang berwarna merah

Identifikasi dilanjutkan dengan uji biokimia, yaitu digunakan *Microbact System test*. Sebelum dilakukan uji *microbact* ini, bakteri diuji oksidase dengan menggoreskan koloni bakteri pada *stick* oksidase dan dibiarkan 5 menit. Hasil menunjukkan oksidase positif, karena terdapat perubahan warna *stick* menjadi biru tua. Setelah itu dilanjutkan uji *microbact* dengan memasukkan suspensi bakteri ke dalam 12A/E sumuran *microbact system* dan diinkubasi 18 jam pada suhu 37°C. Berikut adalah hasil *microbact test*

OXOID
MICROBACT™
IDENTIFICATION KITS

MICROBACT™ GNB 12A/B/E, 24E

850 B

		GNB 24E											GNB 12B															
		GNB 12A / 12E																										
		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	Flatfinose	Salicin	Arginine
Result / Resultado / Ergebnis / R�sultat / Risultato / Resultat / Ροσultat / Resultado / Αποτελεσμα		+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
		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 / Σομα / Αθροισμα		5			7			6			0			3			0			0			0			1		

Identification / Identificaci n /
Identifikation / Identification /
Identificazione / Identification /
Identifizierung / Identificaci o /
Ταυτοποσηση

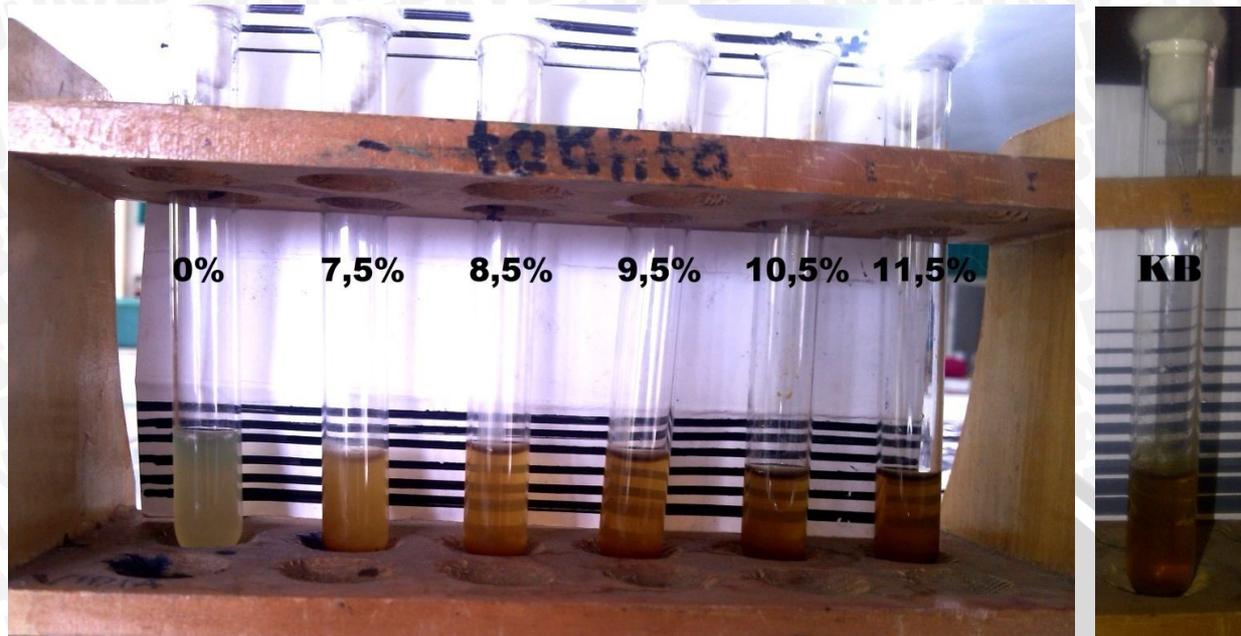
P. aeruginosa 87,29%

Gambar 5.2 Hasil Uji Microbact Test.

Berdasarkan angka-angka oktal pada gambar di atas, bakteri yang digunakan diyakini 87,29% sebagai *Pseudomonas aeruginosa*.

5.1.2 Hasil Penentuan KHM

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan beberapa konsentrasi ekstrak daun sukun yang diperoleh dari penelitian pendahuluan sebelumnya yaitu 0%, 7,5%, 8,5%, 9,5%, 10,5%, dan 11,5%. Pengamatan untuk menentukan KHM menggunakan metode dilusi tabung dengan mengamati tingkat kekeruhan pada masing-masing tabung yang dibantu dengan kertas putih bergaris-garis hitam yang diposisikan dibelakang tabung. Tabung yang jernih maka garis hitam di belakang tabung terlihat jelas, menandakan terhambatnya pertumbuhan bakteri. Sebaliknya, bila keruh maka garis hitam tidak terlalu jelas terlihat, ini menandakan banyak bakteri yang tumbuh pada tabung tersebut.



Gambar 5.3 Dilusi tabung dengan beberapa konsentrasi ekstrak daun sukun terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* untuk uji KHM. Dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak, pertumbuhan bakteri semakin berkurang. Hal ini tampak dari tabung yang jernih, diperoleh KHM 9,5%.

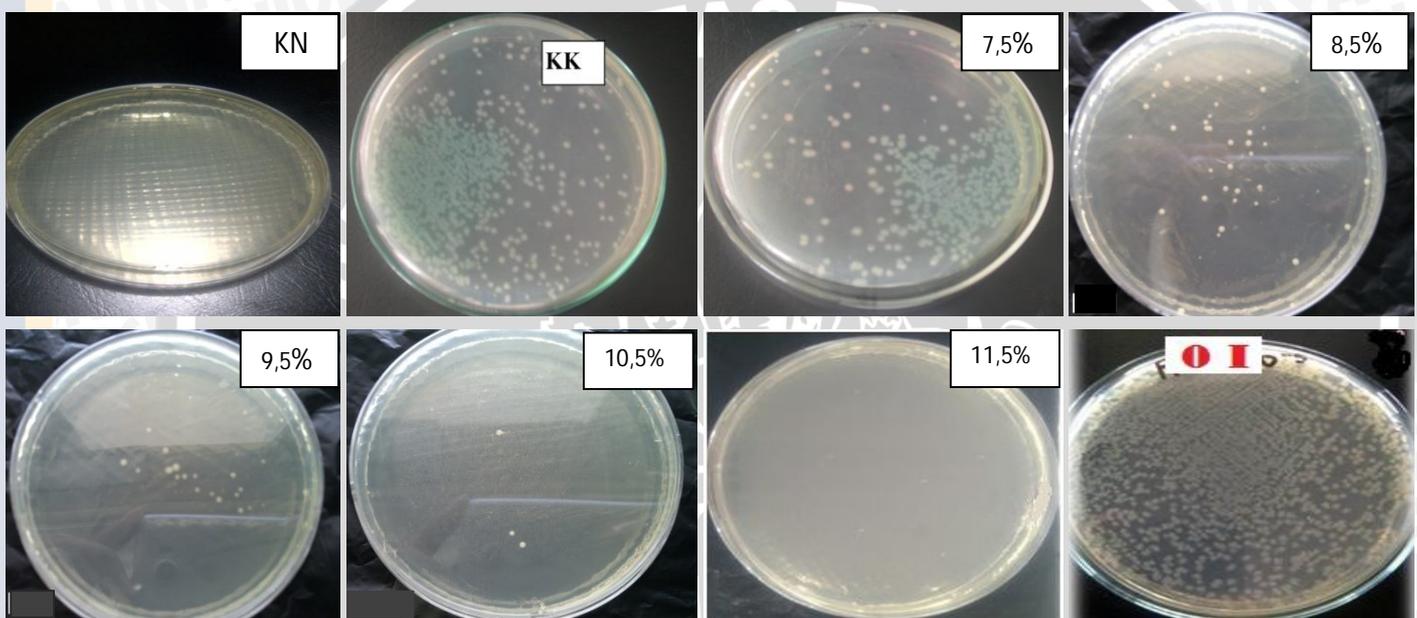
Gambar 5.3 menunjukkan percobaan untuk mengetahui KHM dengan metode dilusi tabung yang berisi campuran ekstrak daun sukun dan bakteri dengan konsentrasi 0% (Kontrol Kuman / KK), 7,5%, 8,5%, 9,5%, 10,5%, dan 11,5%. Tabung akan diinkubasikan selama 24 jam kemudian dilihat tingkat kekeruhannya menggunakan kertas bergaris-garis hitam yang diposisikan tepat di belakang tabung.

Hasil pengamatan pada tabung (Gambar 5.3) setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam tampak bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun sukun yang diberikan, semakin sedikit bakteri yang tumbuh (bandingkan dengan tabung konsentrasi 0% dan garis-garis hitam semakin jelas).

Konsentrasi terendah yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri disebut sebagai kadar hambat minimal (KHM) ekstrak daun sukun sebagai antibiotika. Berdasarkan Gambar 5.3, penulis menetapkan konsentrasi 9,5% sebagai kadar hambat minimal (KHM) karena konsentrasi ini merupakan konsentrasi minimal yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri, dapat dilihat dari tabung yang jernih.

5.1.3 Hasil Penentuan KBM

Dari hasil uji dilusi dilakukan penanaman dengan metode *streaking* 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 gambar dan tabel hasil penanaman pada masing-masing konsentrasi :



Gambar 5.4 Hasil *Streaking Pseudomonas aeruginosa* pada Medium NAP untuk uji KBM.

Pseudomonas aeruginosa digoreskan pada *plate* dengan konsentrasi ekstrak 0%; 7,5%; 8,5%; 9,5%; 10,5%; dan 11,5%

Tabel 5.1 Jumlah Koloni *Pseudomonas Aeruginosa* Pada Berbagai Konsentrasi Ekstrak Daun

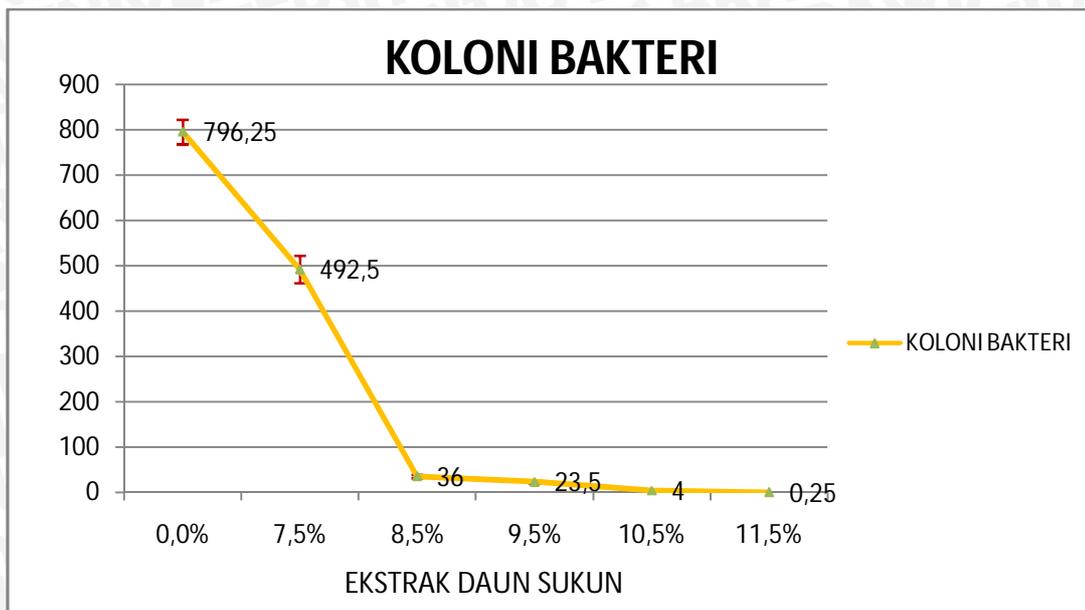
Sukun

KONSENTRASI	JUMLAH BAKTERI (CFU/PLATE)				TOTAL	RERATA	SD
	1	2	3	4			
KP	775	806	761	742	3084	771	±26,96912
7,50%	466	534	474	496	1970	492,5	±30,43572
8,50%	37	32	41	34	144	36	±3,91578
9,50%	25	19	23	27	94	23,5	±3,41565
10,50%	5	4	3	4	16	4	±0,816497
11,50%	0	0	0	1	1	0,25	±0,5
KN	0	0	0	0	0	0	±0

Keterangan: KN = kontrol negatif

KP = kontrol positif

Berdasarkan Gambar 5.4 dan Tabel 5.1 Tampak adanya pertumbuhan koloni, dimana pada konsentrasi 0% dan 7,5% pertumbuhan koloni hampir sama banyak. Sedangkan pada konsentrasi 8,5% mulai terjadi penurunan pertumbuhan koloni. Koloni bakteri tumbuh sedikit pada konsentrasi 9,5%, dan sama sekali tidak tumbuh koloni bakteri pada plate 11,5%. *Original Inoculum* (OI) yang digoreskan pada *plate*, digunakan sebagai acuan dalam menghitung KBM. Jadi dapat disimpulkan nilai KBM pada konsentrasi 11,5% dimana konsentrasi ini memenuhi syarat KBM yaitu $< 0,1\%$ dari OI (*Original Inoculum* : $2218,41 \times 10^6$ CFU/plate). Dapat terlihat pola dimana semakin tinggi konsentrasi ekstrak, jumlah koloni bakteri semakin berkurang. Selanjutnya, dari tabel 5.1 akan dibuat grafik yang menunjukkan adanya penurunan jumlah rata-rata koloni bakteri terhadap peningkatan konsentrasi ekstrak daun sukun.



Gambar 5.5 Grafik jumlah rata-rata koloni bakteri *Pseudomonas aeruginosa* terhadap konsentrasi ekstrak daun sukun

5.2 Analisis Data

. Dalam analisis data, data jumlah koloni harus terlebih dahulu diuji normalitas dan homogenitasnya sebagai uji pra-syarat untuk dilakukannya uji beda parametric *one way anova*. Uji beda parametric *one way anova* dapat dilakukan jika didapatkan distribusi data yang normal ($p > 0,05$) dan data dinyatakan homogen ($p > 0,05$). Setelah dilakukan uji normalitas *Shapiro-Wilk* sebagian besar data didapatkan nilai $p \geq 0,05$ dan uji homogenitas, didapatkan data jumlah koloni bakteri tersebar tidak homogen ($p = 0,004$). Sehingga data jumlah koloni bakteri tidak dapat dianalisa dengan uji beda *one way anova*, perlu dilakukan transformasi data untuk kemudian diuji homogenitasnya kembali

Setelah dilakukan transformasi data logaritma dan dilakukan uji homogenitas, data transformasi jumlah koloni dinyatakan bahwa data tidak homogen ($p = 0,042$). Karena data penelitian tidak homogen, maka uji *one way anova* tidak dapat digunakan, sehingga menggunakan metode *Kruskal Wallis* untuk mengetahui perbedaan jumlah koloni bakteri *P. aeruginosa* pada setiap perlakuan.

Uji beda non parametric *Kruskal Wallis* bertujuan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan jumlah koloni bakteri setelah terpapar oleh ekstrak daun sukun dengan beberapa konsentrasi. Data dikatakan mempunyai perbedaan jumlah koloni yang bermakna jika $p < 0,05$. Dari uji beda *Kruskal Wallis*, didapatkan perbedaan yang bermakna pada jumlah koloni bakteri setelah terpapar oleh ekstrak daun sukun pada berbagai konsentrasi ($p = 0,000$). Berdasarkan data ini juga dapat disimpulkan bahwa perbedaan konsentrasi ekstrak daun sukun memberikan hasil jumlah koloni bakteri *P. aeruginosa* yang berbeda pula.

Langkah selanjutnya yaitu dilakukan uji multi komparasi *Mann Whitney* yang bertujuan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan jumlah koloni bakteri antara dua macam dosis yang berbeda. Ringkasan dari uji multi komparasi *Mann Whitney* ini tercantum dalam table dibawah ini:

Tabel 5.2 Ringkasan Nilai Signifikansi (p) Uji Mann Whitney

Konsentrasi	0%	7,5%	8,5%	9,5%	10,5%	11,5%
0%		0,021	0,021	0,021	0,020	0,018
7,5%	0,021		0,021	0,021	0,020	0,018
8,5%	0,021	0,021		0,021	0,020	0,018
9,5%	0,021	0,021	0,021		0,020	0,018
10,5%	0,020	0,020	0,020	0,020		0,017
11,5%	0,018	0,018	0,018	0,018	0,013	

Terdapat perbedaan jumlah koloni yang bermakna pada semua kelompok perlakuan jika dibandingkan antar kelompok perlakuan ($p < 0,05$). Dengan kata lain terdapat penurunan jumlah koloni bakteri yang signifikan seiring dengan peningkatan dosis ekstrak.

Uji korelasi non parametrik *Spearman* menunjukkan nilai signifikansi (*P-value*) = 0,000 ($p < 0,05$) dan koefisien korelasi -0,988 yang berarti terdapat korelasi bermakna antara

dua variabel (konsentrasi ekstrak terhadap jumlah koloni bakteri). Koefisien korelasi *Spearman* (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 ($r > 0,799$).

