

## BAB 5

## HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

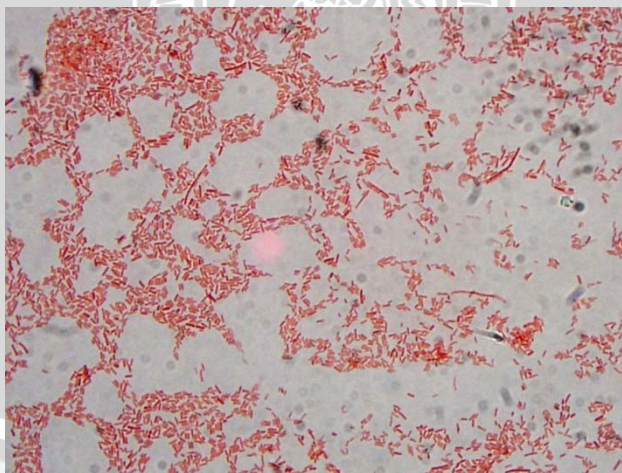
## 5.1 Data Hasil Penelitian

## 5.1.1 Ekstrak Daun Kenanga

Ekstrak Daun Kenanga (*Cananga odorata*) berwarna hijau pekat. Konsistensi ekstrak encer. Saat dicampur dengan aquades, ekstrak segera larut dan mewarnai larutan.

5.1.2 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 ulang yang meliputi pewarnaan Gram dan *microbact test*. Dari pewarnaan Gram didapatkan sel bakteri berbentuk batang, gram negatif berwarna merah.



**Gambar 5.1** *P. aeruginosa* dengan pengecatan Gram (dengan pembesaran 1000x). Tampak pada gambar bakteri gram negatif berbentuk batang berwarna merah.

Identifikasi dilanjutkan dengan uji biokimia, dalam penelitian ini digunakan *Microbact System test*. Sebelum dilakukan uji *microbact* ini, bakteri diuji oksidase dengan menggoreskan koloni bakteri pada *stick* oksidase dan dibiarkan 5 menit. Hasilnya menunjukkan oksidase positif, yaitu 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* :

85 B

		GNB 24E																										
		GNB 12A / 12E						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 / Risultat / Resultat / Resultado / Amortkacopa		+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
		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 / Soma / Algotapas		5			7			6			0			3			0			0			0			1		

Identification / Identificación / Identifikation / Identification / Identificaziõe / Identificacão / Identificacão / Tauronoinon

*P. aeruginosa* 87.29%

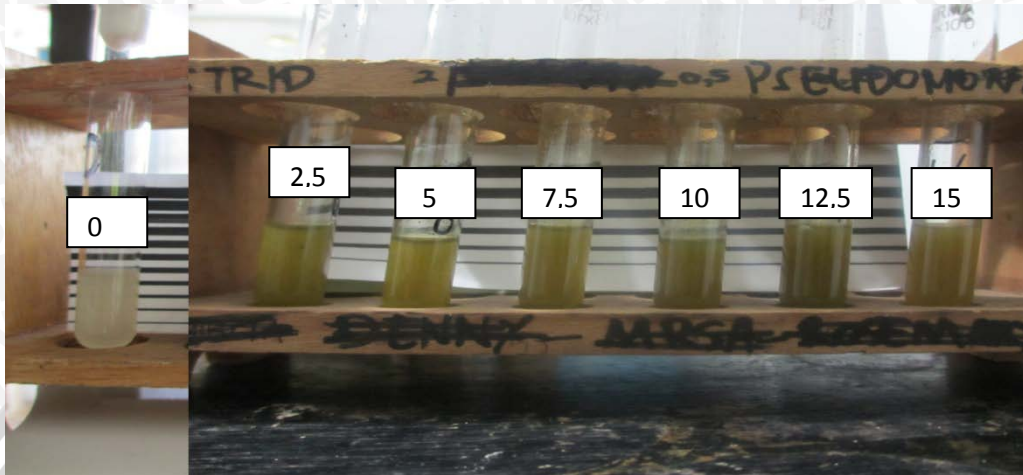
**Gambar 5.2** Hasil Uji *Microbact Test*. Berdasarkan angka-angka oktal pada gambar di atas, bakteri yang digunakan diyakini 87,29% sebagai *Pseudomonas aeruginosa*.

### 5.1.3 Hasil Penentuan KHM

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan beberapa konsentrasi ekstrak daun kenanga, dengan variasi konsentrasi 2,5%, 5%, 7,5%, 10, 12,5% dan 15%, serta konsentrasi 0% (bakteri tanpa ekstrak daun kenanga) sebagai Kontrol Positif dan 100% (bahan ekstrak daun kenanga tanpa kuman) sebagai Kontrol Negatif. Penggunaan konsentrasi dimulai 2,5% dikarenakan pada penelitian pendahuluan, pemberian konsentrasi kurang dari 2,5% masih menunjukkan pertumbuhan kuman pada media NAP hampir tidak berbeda dengan



kontrol positif. Dimulai dari konsentrasi 2,5% tampak ada penurunan pertumbuhan koloni *Pseudomonas aeruginosa*.



**Gambar 5.3** Dilusi tabung dengan beberapa konsentrasi ekstrak daun kenanga terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* untuk uji KHM. Dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak, pertumbuhan bakteri semakin berkurang.

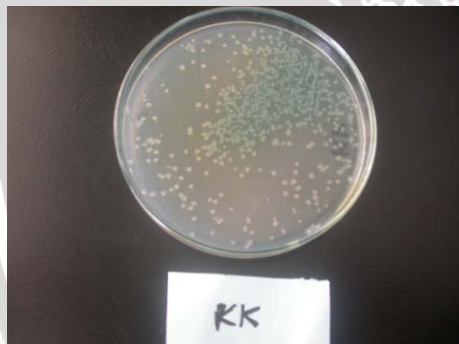
Gambar 5.3 menunjukkan percobaan untuk mengetahui KHM dengan metode dilusi tabung yang berisi campuran ekstrak daun kenanga dan bakteri dengan konsentrasi 0% (Kontrol Kuman / KK), 2,5%, 5%, 7,5%, 10%, 12,5%, dan 15%. Tabung akan diinkubasikan selama 24 jam kemudian dilihat tingkat kekeruhannya menggunakan 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 tabung berisi perlakuan konsentrasi ekstrak daun kenanga, semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun kenanga, tampak semakin keruh dan gelap. Hal ini disebabkan oleh kekeruhan dari ekstrak daun kenanga itu sendiri (tabung berisi kontrol negatif tampak keruh dan gelap). Jadi bukan dari banyak bakteri yang tumbuh dalam tabung. Hal ini dibuktikan pada hasil penghitungan koloni pada NAP untuk penentuan KBM nantinya.

Konsentrasi terendah yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri disebut sebagai kadar hambat minimal (KHM) ekstrak daun kenanga sebagai antimikroba. Berdasarkan Gambar 5.3, penulis menetapkan konsentrasi 2,5% sebagai kadar hambat minimal (KHM) karena konsentrasi ini merupakan konsentrasi minimal yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

#### 5.1.4 Hasil Penentuan KBM

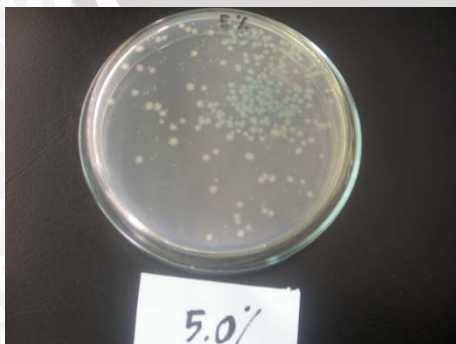
Dari hasil uji dilusi dilakukan penanaman dengan metode *streaking* pada media NAP (*Natrium Agar Plate*) untuk mengetahui Kadar Bunuh Minimal (KBM). Setelah itu dilakukan perhitungan jumlah koloni pada masing-masing konsentrasi dan perulangan dengan alat *colony counter*. Berikut tabel dan gambar hasil penanaman pada masing-masing konsentrasi :



(a) 0% (bakteri tanpa ekstrak daun kenanga) atau Kontrol Positif



(b) 2,5% Ekstrak Daun Kenanga

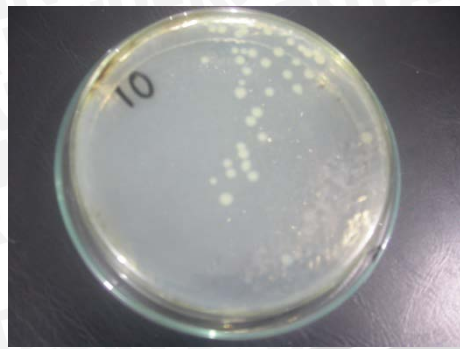


(c) 5% Ekstrak Daun Kenanga

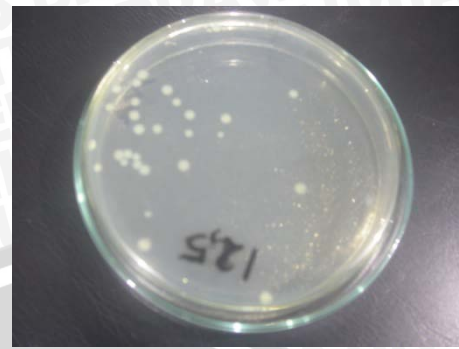


(d) 7,5% Ekstrak Daun Kenanga

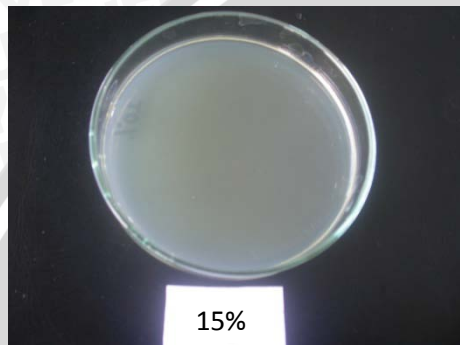




(e) 10% Ekstrak Daun Kenanga



(f) 12,5% Ekstrak Daun Kenanga



(g) 15% Ekstrak Daun Kenanga



(h) Original Inoculum

**Gambar 5.4** Pertumbuhan Koloni *Pseudomonas aeruginosa* pada Media NAP. Gambar (a) 0% (bakteri tanpa ekstrak daun kenanga) atau Kontrol Positif (b) 2,5% Ekstrak Daun Kenanga (c) 5% Ekstrak Daun Kenanga (d) 7,5% Ekstrak Daun Kenanga (e) 10% Ekstrak Daun Kenanga (f) 12,5% Ekstrak Daun Kenanga (g) 15% Ekstrak Daun Kenanga (h) Original Inoculum

Hasil *Streaking P. aeruginosa* pada Medium NAP untuk uji KBM. *P. aeruginosa* digoreskan pada *plate* dengan konsentrasi ekstrak 0%; 2,5%; 5%; 7,5; 10%; 12,5%; 15%. Tampak adanya pertumbuhan koloni (berupa bintik-bintik putih), dimana pada konsentrasi 0%; 2,5%; dan 5% pertumbuhan koloni hampir sama banyak. Sedangkan pada konsentrasi 7,5% mulai terjadi penurunan pertumbuhan koloni. *P. aeruginosa* dengan konsentrasi 10% dan 12,5% Koloni bakteri tumbuh sedikit dan sama sekali tidak tumbuh koloni bakteri pada plate 15%.

**Tabel 5.1 Jumlah Koloni *P. aeruginosa* pada Berbagai Konsentrasi Ekstrak Daun Kenanga**

Konsentrasi Ekstrak Daun Kenanga	Pengulangan				Rata-rata	Standar Deviasi
	1	2	3	4		
0%	261	277	256	249	260,75	2,6.10 <sup>6</sup>
2,5%	183	177	164	159	170,75	1,7.10 <sup>4</sup>
5%	117	103	126	122	117	1,2.10 <sup>5</sup>
7,5%	94	82	78	86	85	8,5.10 <sup>2</sup>
10%	39	45	47	52	45,75	4,6.10 <sup>1</sup>
12,5%	22	14	19	21	19	1,9.10 <sup>1</sup>
15%	0	0	0	0	0	0
100%	0	0	0	0	0	0

Pada tabel Kontrol Positif didapatkan koloni rata-rata sejumlah 260,75 CFU/ml, pada konsentrasi ekstrak daun kenanga 2,5% didapatkan koloni rata-rata sejumlah 170,75 CFU/ml, pada konsentrasi ekstrak daun kenanga 5% didapatkan koloni rata-rata sejumlah 117 CFU/ml, pada konsentrasi ekstrak daun kenanga 7,5% didapatkan koloni rata-rata sejumlah 85 CFU/ml, pada konsentrasi ekstrak daun kenanga 10% didapatkan koloni rata-rata sejumlah 45,75 CFU/ml, pada konsentrasi ekstrak daun kenanga 12,5% didapatkan koloni rata-rata sejumlah 19 CFU/ml dan pada konsentrasi ekstrak daun kenanga 15% didapatkan koloni rata-rata sejumlah 0 CFU/ml (Tabel 5.1). Berdasarkan Gambar 5.3 dan Tabel 5.1 diperoleh konsentrasi 2,5%, 5%, 7,5%, 10% dan 12,5% bukan merupakan KBM karena rata-rata pertumbuhan koloninya lebih besar dari 0,1% rata-rata. Dari penelitian ini didapatkan



nilai KBM pada konsentrasi 15% dimana konsentrasi ini memenuhi syarat KBM yaitu  $< 0,1\%$  dari OI (*Original Inoculum* :  $277 \times 10^4$  CFU/mL). Dapat terlihat pola dimana semakin tinggi konsentrasi ekstrak, jumlah koloni bakteri semakin berkurang.

## 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 parametrik *one way anova*. Uji beda parametrik *one way anova* dapat dilakukan jika didapatkan distribusi data yang normal ( $p > 0,05$ ) dan data dinyatakan homogen ( $p > 0,05$ ).

Setelah dilakukan uji homogenitas dan normalitas Kolmogorov-Smirnov, didapatkan data jumlah koloni bakteri tersebar tidak homogen ( $p = 0,014$ ), namun berdasarkan hasil uji normalitas Kolmogorov-Smirnov, distribusi data jumlah koloni bakteri normal ( $p = 0,035$ ), sehingga data jumlah koloni bakteri tidak dapat dianalisis dengan uji beda *one way anova* dan dilakukan uji beda non parametrik Kruskal Wallis sebagai pengganti uji *one way anova*.

Uji beda non parametrik Kruskal Wallis bertujuan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan jumlah koloni bakteri setelah terpapar oleh ekstrak daun kenanga 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 kenanga pada berbagai konsentrasi ( $p = 0,000$ ). Berdasarkan data ini juga dapat disimpulkan bahwa perbedaan konsentrasi ekstrak daun kenanga memberikan hasil jumlah koloni bakteri *Pseudomonas 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 tabel dibawah ini:

Tabel 5.2 Ringkasan Nilai Signifikansi (p) Uji Mann Whitney

Konsentrasi	0%	2,5%	5%	7,5%	10%	12,5%	15 %
0%		0.021	0.021	0.021	0.021	0.021	0.014
2,5%	0,021		0,021	0,021	0,021	0,021	0,014
5%	0,021	0,021		0,021	0,021	0,021	0,014
7,5%	0,021	0,021	0,021		0,021	0,021	0,014
10%	0,021	0,021	0,021	0,021		0,021	0,014
12,5%	0,021	0,021	0,021	0,021	0,021		0.014
15%	0,014	0,014	0,014	0,014	0,014	0,014	

Terdapat perbedaan jumlah koloni yang bermakna pada semua kelompok perlakuan jika dibandingkan antar kelompok perlakuan (lihat tabel di atas,  $p < 0,05$ ). 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 *correlation coefficient* -0,988 yang berarti terdapat korelasi bermakna antara dua variabel (konsentrasi ekstrak terhadap jumlah koloni bakteri). *Spearman correlation coefficient* ( $r$ ) 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.