

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

1. Gambaran Umum Penelitian

Penelitian yang berjudul “Uji Banding Metode Difusi Teknik Sumuran dan Cakram pada Pemeriksaan Sensitivitas Bakteri *Klebsiella pneumoniae* terhadap Antibiotik Kloramfenikol” yang telah dilakukan pada bulan April 2025 di Laboratorium Bakteriologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Yogyakarta. Penelitian ini menggunakan bakteri *Klebsiella pneumoniae* ATCC 33495 dan antibiotik kloramfenikol. Bakteri *Klebsiella pneumoniae* ATCC 33495 didapatkan dari Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada. Antibiotik kloramfenikol diperoleh dari Laboratorium Bakteriologi Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Yogyakarta.

Data yang diperoleh dari hasil pemeriksaan daya hambat merupakan data primer yang didapatkan secara langsung dengan cara mengukur diameter zona hambat dari uji sensitivitas bakteri *Klebsiella pneumoniae* terhadap antibiotik kloramfenikol pada media *Mueller Hinton Agar* dengan metode difusi sumuran dan cakram, dengan jumlah data yaitu sebanyak 32 data. Sampel dibagi menjadi 3 kelompok uji,

kelompok pertama digunakan sebagai kelompok kontrol yaitu kontrol negatif dan kontrol positif, kelompok kedua dan ketiga merupakan kelompok eksperimen dengan perlakuan metode pemeriksaan difusi dengan teknik sumuran dan cakram. Kontrol negatif yang digunakan yaitu media *Mueller Hinton Agar* jernih tanpa diberikan perlakuan dan kontrol positif yang digunakan yaitu media *Mueller Hinton Agar* yang diinokulasi bakteri *Klebsiella pneumoniae*. Pengulangan pemeriksaan daya hambat pada setiap teknik pemeriksaan yaitu sebanyak 16 kali pengulangan. Pengamatan zona hambat dilakukan setelah 1 x 24 jam. Zona hambat yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong.

2. Hasil Analisis Deskriptif

Hasil pengukuran diameter zona hambat dengan metode difusi sumuran dan metode difusi cakram antibiotik kloramfenikol pada uji pendahuluan menunjukkan rerata zona hambat pada metode difusi sumuran sebesar 28,05 mm dan rerata zona hambat pada metode difusi cakram sebesar 30,25 mm. Dilakukan langkah penelitian lanjutan berdasarkan uji pendahuluan, yang menghasilkan data diameter zona hambat sebagai berikut.

Tabel 2. Hasil Analisis Deskriptif

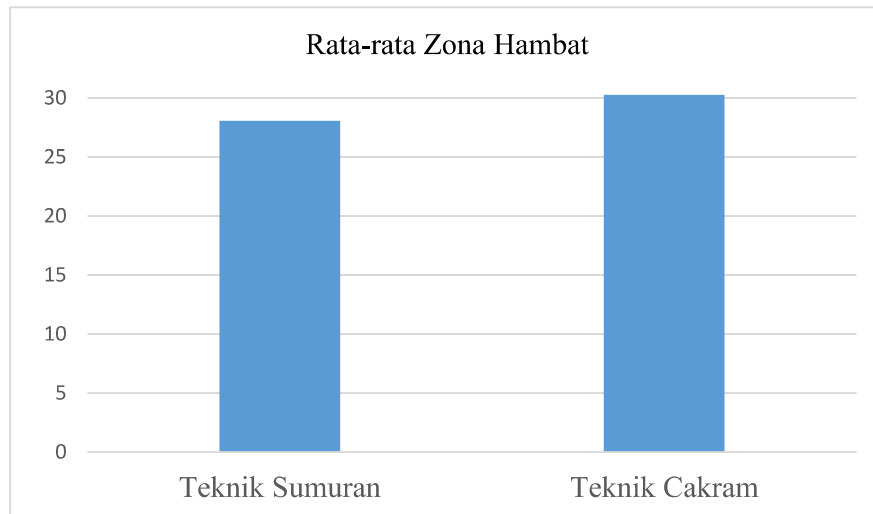
Uraian Analisis	Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat (mm)	
	Metode Difusi Sumuran	Metode Difusi Cakram

Jumlah ulangan	32	32
Nilai terendah	25,7	26,4
Nilai tertinggi	31,6	32,6
Nilai rerata	28,05	30,25

Data pada Tabel 4 menunjukkan hasil pengukuran diameter zona hambat dari dua metode, yaitu metode difusi sumuran dan metode difusi cakram. Jumlah ulangan pada masing-masing metode adalah sebanyak 32 kali. Pengulangan sebanyak 32 kali dipilih karena melebihi batas minimal yang telah ditentukan sebelumnya, yaitu 16 kali. Dengan jumlah pengulangan yang lebih besar, diharapkan data yang diperoleh lebih konsisten dan dapat diandalkan.

Nilai terendah pada metode difusi sumuran adalah 25,7 mm. Nilai terendah pada metode difusi cakram adalah 26,4 mm. Nilai tertinggi pada masing-masing metode yaitu 31,6 mm pada metode difusi sumuran dan 32,6 mm pada metode difusi cakram. Nilai rerata pada metode difusi sumuran adalah 28,05 mm. Nilai rerata pada metode difusi cakram adalah 30,25 mm. Uraian analisis hasil pengukuran diameter zona hambat pada metode difusi sumuran, baik nilai terendah, tertinggi, maupun rata-rata, lebih kecil dibandingkan dengan metode difusi cakram.

Data yang diperoleh dapat divisualisasikan dalam bentuk diagram dan dibandingkan. Perbandingan rerata diameter zona hambat metode difusi teknik sumuran dan cakram disajikan pada gambar 9.



Gambar 8. Diagram Batang Rata-rata Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri *Klebsiella pneumoniae* terhadap Antibiotik Kloramfenikol dengan Metode Difusi Teknik Sumuran dan Cakram.

Gambar diagram batang di atas menunjukkan bahwa terdapat perbedaan rata-rata hasil zona hambat pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumoniae* pada masing-masing perlakuan. Perbedaan metode pemeriksaan zona hambat mempengaruhi hasil rerata kekuatan zona hambat, sehingga perlu dilakukan analisis kekuatan zona hambat untuk mengetahui seberapa besar perbedaan kekuatan zona hambat pada kedua teknik tersebut.

3. Analisis Analitik

Analisis analitik dilakukan dengan menentukan selisih rerata diameter zona hambat pada kedua metode dan persentasi perbedaan pada metode difusi. Diketahui nilai rerata pada metode difusi sumuran adalah 28,05 mm dan nilai rerata pada metode difusi cakram adalah 30,25 mm. Dari rerata diameter zona hambat kedua metode difusi, dapat diketahui selisih rerata sebesar -2,2 mm. Didapatkan persentase perbedaan dari kedua metode difusi sebesar 7,2%. Hasil persentase perbedaan menunjukkan terdapat perbedaan yang dapat diterima secara klinis.

4. Analisis Statistik

Data hasil pengukuran zona hambat kemudian dianalisis secara statistik menggunakan program *SPSS 16.0 for Windows*. Dilakukan terlebih dahulu uji normalitas untuk menentukan distribusi data dan uji homogenitas untuk menentukan kesamaan varian data. Berdasarkan hasil uji normalitas yang menunjukkan bahwa data berdistribusi normal, maka dilanjutkan dengan uji *Independent T-test*. Sedangkan, pada uji homogenitas memberikan hasil data homogen, maka dilanjutkan dengan. Hasil analisis statistik dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 3. Hasil Analisis Statistik.

No.	Uji Statistik	Sig.	Kesimpulan
1	Uji Normalitas Data (<i>Shapiro Wilk</i>) Metode Difusi Teknik Sumuran Metode Difusi Teknik Cakram	0,165 0,400	Data berdistribusi normal Data berdistribusi normal
2	Uji Homogenitas Data	0,404	Data homogen
3	Uji <i>Independent Sample t-Test</i>	0,002	Terdapat perbedaan signifikan ukuran zona hambat pada metode difusi teknik sumuran dan cakram.

B. Pembahasan

Penelitian ini dilakukan bertujuan untuk mengetahui perbandingan metode difusi teknik sumuran dan cakram untuk uji sensitivitas bakteri *Klebsiella pneumoniae* terhadap antibiotik kloramfenikol. Kloramfenikol bekerja dengan melibatkan pengikatan secara spesifik dan reversibel pada subunit 50S ribosom, yang selanjutnya menghambat kerja enzim peptidil transferase yang merupakan enzim penting dalam pembentukan ikatan peptida antar asam amino saat perpanjangan rantai protein. Dengan terganggunya proses ini, pembentukan rantai polipeptida terhenti, sehingga

bakteri tidak mampu melanjutkan sintesis protein yang esensial untuk pertumbuhannya. Karena bersifat bakteristatik, kloramfenikol tidak langsung membunuh bakteri, melainkan menghentikan perkembangannya, meskipun pada dosis tinggi efek bakterisidal dapat terjadi. Namun, perlu kehati-hatian dalam penggunaannya karena mekanismenya juga dapat memengaruhi sintesis protein mitokondria sel eukariotik, yang berpotensi menimbulkan efek samping (Dwi, dkk. 2022).

Kontrol positif dengan cakram kloramfenikol dan kontrol negatif media *Mueller Hinton Agar* jernih tanpa diberikan perlakuan dilakukan dengan metode cakram. Cakram kloramfenikol sebagai kontrol positif menghasilkan zona hambat sebesar 30,70 mm. Pada kontrol negatif tidak menghasilkan zona hambat sama sekali, artinya penelitian yang dilakukan telah benar dan tidak terkontaminasi oleh variabel pengganggu.

Pengukuran zona hambat menggunakan teknik manual yaitu jangka sorong dengan satuan mm yang terdapat dua angka dibelakang koma. Penelitian ini dilakukan untuk membandingkan metode difusi sumuran dan cakram dengan konsentrasi kloramfenikol sama. Pada metode difusi sumuran menggunakan volume 30 µl dan metode difusi cakram menggunakan disk dengan daya serap 30 µl. Pada metode sumuran, media *Mueller Hinton Agar* (MHA) di buat lubang sumuran dengan sedotan *stainless* diameter 5,8 mm karena sedotan *stainless* memiliki diameter yang mirip dengan *disk* (cakram) dan dapat disterilkan dengan cara dipanaskan. Penelitian dengan metode difusi cakram menggunakan cakram komersil yaitu cakram yang telah

berisikan kloramfenikol 30 µl, kemudian cakram diletakkan di atas permukaan media *Mueller Hinton Agar* yang telah diinokulasikan dengan bakteri *Klebsiella pneumoniae*.

Hasil pengujian menunjukkan bahwa rerata zona hambat pada metode cakram adalah 30,25 mm, sedangkan metode sumuran menghasilkan rerata sebesar 28,05 mm. Meskipun keduanya menunjukkan adanya aktivitas antimikroba, metode difusi cakram memberikan zona hambat yang lebih besar dibandingkan dengan metode difusi sumuran. Hal tersebut dapat terjadi karena pada metode difusi sumuran, larutan kloramfenikol langsung ditetaskan ke setiap lubang, sehingga terjadi proses perembesan konsentrasi kloramfenikol yang masuk di dasar media dan meresap. Perembesan terjadi pada dasar media, sedangkan inokulasi bakteri berada di permukaan media, sehingga antibiotik kloramfenikol yang diberikan tidak berfungsi secara optimal. Hal tersebut menyebabkan diameter daya hambat metode difusi sumuran yang didapatkan lebih kecil. Sedangkan pada metode difusi cakram, cakram diletakkan pada permukaan media *Mueller Hinton Agar* tempat inokulasi bakteri *Klebsiella pneumoniae* dilakukan, sehingga antibiotik dapat berfungsi maksimal untuk menghambat pertumbuhan bakteri di sekitarnya dan menghasilkan zona hambat yang lebih besar.

Kemungkinan yang lain adalah ukuran lubang sumuran yang tidak sesuai standar. Pembuatan sumuran dengan menggunakan sedotan *stainless steel* menghasilkan lubang sumuran dengan ukuran 5,8 mm, sedangkan ukuran standar lubang sumuran adalah 6 mm. Akibatnya, volume larutan

antibiotik yang digunakan lebih sedikit dari yang seharusnya sehingga dapat menyebabkan terbatasnya difusi antibiotik ke medium agar, dan mengurangi luas zona hambat.

Selain itu, efektivitas antibiotik pada metode sumuran juga sangat bergantung pada kestabilan larutan kloramfenikol yang digunakan. Apabila larutan telah mengalami penurunan potensi, misalnya akibat penyimpanan yang tidak sesuai atau telah melewati masa simpan, maka daya hambatnya terhadap bakteri juga akan menurun. Di sisi lain, metode cakram menggunakan cakram antibiotik yang telah ditetapkan dosis dan kualitasnya secara konsisten oleh pabrik, sehingga hasilnya lebih stabil dan dapat diandalkan.

Faktor lain yang mungkin berkontribusi terhadap perbedaan hasil antara kedua metode adalah teknik pelaksanaan uji, seperti kecepatan penanaman, kedalaman medium, waktu inkubasi, dan suhu. Ketidaksesuaian pada salah satu variabel tersebut dapat memengaruhi difusi antibiotik dan interpretasi zona hambat.

Analisis statistik dilakukan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan yang signifikan antara zona hambat antibiotik kloramfenikol terhadap *Klebsiella pneumoniae* yang diukur menggunakan metode difusi sumuran dan cakram. Langkah pertama dalam analisis ini adalah uji normalitas data, yang bertujuan untuk mengetahui apakah data dari masing-masing metode berdistribusi normal. Berdasarkan hasil uji *Shapiro-Wilk*, nilai signifikansi untuk metode sumuran adalah 0,165 dan untuk metode

cakram adalah 0,400. Karena kedua nilai tersebut lebih besar dari 0,05, maka dapat disimpulkan bahwa data dari kedua metode berdistribusi normal.

Selanjutnya dilakukan uji homogenitas varians dengan menggunakan *Levene's Test* untuk mengetahui apakah varians kedua kelompok data bersifat homogen. Hasil uji menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,404, yang mengindikasikan bahwa varians data dari kedua metode bersifat homogen dan memenuhi asumsi untuk dilakukan uji parametrik.

Berdasarkan terpenuhinya asumsi normalitas dan homogenitas, maka analisis dilanjutkan dengan uji *independent sample t-test* untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan rerata zona hambat yang signifikan antara metode cakram dan metode sumuran. Hasil uji menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,002 ($p < 0,05$), yang berarti terdapat perbedaan yang signifikan secara statistik antara kedua metode tersebut.

Hasil penelitian Novanda Sulistio Puasa, Fatmawati dan Weny I Wiyono (2019) yang berjudul “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata* K. Schum) terhadap Bakteri *Klebsiella pneumoniae* Isolat Urin pada Penderita Infeksi Saluran Kemih”. Hasil yang didapatkan pada penelitian sebelumnya yaitu metode difusi sumuran (*well diffusion*) lebih besar daripada metode cakram (*disk diffusion*). Berbeda dengan uji pendahuluan dan penelitian yang telah dilakukan, hasil penelitian menunjukkan bahwa metode cakram lebih efektif. Hal tersebut dikarenakan adanya perbedaan pengerjaan pada metode difusi sumuran, yaitu pada penelitian sebelumnya menggunakan dua lapisan media sehingga suspensi

bakteri diinokulasikan di antara lapisan media. Hasil penelitian relevan dengan penelitian oleh Ni Kadek Yunita Sari dan Ni Nyoman Ari Mardianti (2021) yang berjudul “Uji Aktivitas Antibakteri Infusa Zingiberaceae terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli*”. Penelitian tersebut didapatkan hasil bahwa metode cakram lebih besar daripada metode sumuran, hasil tersebut relevan dengan penelitian ini. Maka disimpulkan bahwa teknik pengerjaan media dapat mempengaruhi besar daya hambat.

Secara keseluruhan, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa metode cakram memiliki keunggulan dalam hal konsistensi dan efektivitas dalam menunjukkan sensitivitas *Klebsiella pneumoniae* terhadap kloramfenikol. Namun, metode sumuran tetap dapat digunakan sebagai alternatif, terutama dalam kondisi tertentu seperti pengujian antibiotik dalam bentuk larutan atau senyawa baru yang belum tersedia dalam bentuk cakram.

Metode sumuran memiliki kelebihan dan kekurangan dibandingkan dengan metode cakram. Kelebihannya harganya lebih terjangkau. Kekurangannya metode ini lebih susah dilakukan karena membuat lubang sumurannya harus sesuai dan sedikit sulit. Pada metode cakram, kelebihan lebih mudah dilakukan karna ukuran cakram seragam dan zona jernih yang dihasilkan lebih besar dibanding metode sumuran. Kekurangannya harga cakram sedikit lebih mahal.