



**UJI KEMAMPUAN VIRULENSI *Klebsiella pneumoniae* PADA
SAMPEL SPUTUM TERHADAP ULAT BAMBU
(*Omphisa fuscidentalis*)**

KARYA TULIS ILMIAH

**VEGA AULIA ROMADHANA
202003016**

**PROGRAM STUDI DIII TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN MITRA KELUARGA
BEKASI
2023**



**UJI KEMAMPUAN VIRULENSI *Klebsiella pneumoniae* PADA
SAMPEL SPUTUM TERHADAP ULAT BAMBU
(*Omphisa fuscidentalis*)**

KARYA TULIS ILMIAH

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Ahli Madya Kesehatan (A.Md.Kes)**

**VEGA AULIA ROMADHANA
202003016**

**PROGRAM STUDI DIII TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN MITRA KELUARGA
BEKASI
2023**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini, saya yang bernama:

Nama : Vega Aulia Romadhana
NIM : 202003016
Program Studi : DIII Teknologi Laboratorium Medis

Menyatakan bahwa Karya Tulis Ilmiah dengan judul “Uji Kemampuan Virulensi *Klebsiella pneumoniae* Pada Sampel Sputum Terhadap Ulat Bambu (*Omphisa fuscidentalis*)” adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar dan bebas dari plagiat.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya.

Bekasi, 10 Juli 2023



(Vega Aulia Romadhana)

HALAMAN PENGESAHAN

Karya Tulis Ilmiah yang disusun oleh:

Nama : Vega Aulia Romadhana

NIM : 202003016

Program Studi : DIII Teknologi Laboratorium Medis

Judul : Uji Kemampuan Virulensi *Klebsiella pneumoniae* Pada Sampel Sputum Terhadap Ulat Bambu (*Omphisa fuscidentalis*)

Telah diujikan dan dinyatakan lulus dalam sidang KTI di hadapan Tim Penguji pada tanggal 23 Juni 2023

Ketua Penguji



(Noor Andryan Ilsan, Ph.D)
NIDN. 0308059101

Anggota Penguji I



(Maulin Inggiraini, M.Si)
NIDN. 0303108901

Mengetahui,

Koordinator Program Studi DIII Teknologi Laboratorium Medis

STIKes Mitra Keluarga



(Siti Nurfajriah, S.Pd., M.Si)
NIDN. 0324128503

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan yang Maha Esa karena atas berkat dan rahmatnya penulisan Karya Tulis Ilmiah dengan judul “UJI KEMAMPUAN VIRULENSI *Klebsiella pneumoniae* PADA SAMPEL SPUTUM TERHADAP ULAT BAMBU (*Omphisa fuscidentalis*)” dapat terselesaikan dengan baik. Dengan terselesaikan KTI ini penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Ibu Dr. Susi Hartati, S.Kep., M.Kep., Sp.Kep.Anak, selaku Ketua Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Mitra Keluarga.
2. Ibu Siti Nurfajriah, S.Pd., M.Si., selaku Ketua Program Studi Diploma III Teknologi Laboratorium Medis sekaligus dosen pembimbing akademik yang telah membantu dalam proses perkuliahan di Prodi DIII TLM Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Mitra Keluarga.
3. Ibu Maulin Inggaini, M.Si., selaku Dosen Pembimbing KTI yang telah memberikan saran dan masukan yang baik sehingga Karya Tulis Ilmiah ini bisa terselesaikan dengan lancar.
4. Bapak Noor Andryan Ilsan, Ph.D., selaku Dosen penguji yang telah menguji dan memberikan saran serta masukan dalam penyusunan KTI ini
5. Ibu Sarnilawati, Rizqy Akbar Gusti Pramdhany selaku keluarga yang senantiasa memberikan bimbingan, doa dan dukungan dalam menyelesaikan KTI ini.
6. Fahmi Rizqi Arahman selaku penyemangat penulis yang memberikan semangat, mengingatkan agar penulis untuk selalu fokus pada pengerjaan Karya Tulis Ilmiah, serta membantu dalam menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah.
7. Teman-teman angkatan 2020 Program Studi DIII Teknologi Laboratorium Medis, serta teman seperjuangan Nurul Amanda Fitri, Rizka Mawarni, Yuniar Rohma Maulida dan Ifel Avriyanti yang telah membersamai penulis serta memberikan semangat, saran dan masukan kepada penulis dalam menyusun Karya Tulis Ilmiah.
8. Pihak-pihak yang terkait dalam penelitian, yang bersedia dan telah mengizinkan saya melakukan penelitian untuk KTI ini

Penulis menyadari bahwa penulisan Tugas Akhir ini jauh dari kata sempurna, oleh karena itu penulis membuka diri untuk saran dan kritik yang bersifat membangun. Semoga Tugas Akhir ini bisa bermanfaat bagi semua.

Bekasi, 10 Juli 2023

Vega Aulia Romadhana

UJI KEMAMPUAN VIRULENSI *Klebsiella pneumoniae* PADA SAMPEL SPUTUM TERHADAP ULAT BAMBU (*Omphisa fuscidentalis*)

Vega Aulia Romadhana
NIM. 202003016

Abstrak

Pendahuluan: Pneumonia adalah peradangan akut pada saluran pernapasan bagian bawah yang menyerang jaringan paru-paru, terutama alveoli. Alveoli dipenuhi oleh nanah dan cairan sehingga kemampuan paru-paru menyerap oksigen berkurang. Angka kejadian pneumonia lebih sering terjadi di negara berkembang dan menyerang sekitar 450 juta orang setiap tahunnya, dapat menyebabkan kematian di Indonesia sebanyak 34,8%. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh virulensi *Klebsiella pneumoniae* pada konsentrasi 10^4 , 10^5 , 10^6 CFU/larva terhadap ulat bambu di sampel sputum.

Metode: Jenis penelitian yang digunakan pada penelitian ini yaitu kuantitatif dengan desain penelitian eksperimental. Sampel yang digunakan pada penelitian ini yaitu, sampel isolat bakteri yang terkonfirmasi *Klebsiella pneumoniae* dari sputum yang berasal dari salah satu Rumah Sakit Swasta di Bekasi Timur. Teknik pemeriksaan sampel yaitu isolat bakteri yang terkonfirmasi *K. pneumoniae* menghasilkan warna merah pada media Endo Agar. Isolat bakteri *K. pneumoniae* dikulturkan ke dalam media BHIB steril. Kemudian dilakukan pengenceran bertingkat dengan konsentrasi 10^4 , 10^5 , 10^6 CFU/larva dan disuntikkan ke dalam ulat. Kemudian diamati jumlah kematian ulat tersebut dalam waktu 12, 24, 36, 48, 60, 72 jam. Analisis data yang digunakan pada penelitian ini adalah menggunakan uji statistik *Log-rank (Mantel-Cox)* menggunakan aplikasi *GraphPad Prism V 5.01* ($p < 0.05$).

Hasil: Hasil uji penelitian ini konsentrasi 10^6 CFU/larva yang lebih cepat mengalami kematian hanya membutuhkan waktu 24 jam ulat yang mati berjumlah 8 ulat.

Kesimpulan: Kesimpulan dari penelitian ini adalah menunjukkan terdapat pengaruh tetapi secara nyata antara konsentrasi suspensi bakteri *K. pneumoniae* dengan bertambahnya jumlah kematian ulat. Konsentrasi suspensi *K. pneumoniae* 10^4 , 10^5 , 10^6 CFU/larva mampu membunuh ulat dengan waktu berbeda yang dinilai dengan uji statistik dimana didapatkan *p value* 0.0001.

Kata Kunci : *Klebsiella pneumoniae*, *Omphisa fuscidentalis*, Virulensi

VIRULANCE TEST OF *Klebsiella pneumoniae* IN SPUTUM SAMPLES AGAINST BAMBOO CATERPILLAR (*Omphisa fuscidentalis*)

Vega Aulia Romadhana
NIM. 202003016

Abstract

Introduction : Pneumonia is an acute inflammation of the lower respiratory tract that affects the lung tissue, especially the alveoli. The alveoli are filled with pus and fluid and the lungs' ability to absorb oxygen is reduced. The incidence of pneumonia is more common in developing countries and affects around 450 million people each year, causing 34.8% of deaths in Indonesia. This study aims to determine the effect of *Klebsiella pneumoniae* virulence at concentrations of 10^4 , 10^5 , 10^6 CFU/larva on bamboo caterpillars in sputum samples.

Method : The type of research used in this study is quantitative with an experimental research design. The samples used in this study were samples of confirmed *Klebsiella pneumoniae* bacterial isolates from sputum from a private hospital in East Bekasi. The sample examination technique is that the confirmed bacterial isolate *K. pneumoniae* produces a red color on Endo Agar media. *K. pneumoniae* bacterial isolates were cultured into sterile BHIB media. Then, stratified dilutions with concentrations of 10^4 , 10^5 , 10^6 CFU/larva were made and injected into the caterpillars. Then the number of caterpillar deaths was observed within 12, 24, 36, 48, 60, 72 hours. Data analysis used in this study was using the *Log-rank (Mantel-Cox)* statistical test using the *GraphPad Prism V 5.01* application ($p < 0.05$).

Results: The test results of this study showed that the concentration of 10^6 CFU/larva which was faster in dying only took 24 hours and the dead caterpillars amounted to 8 caterpillars.

Conclusion: The conclusion of this study is that there is an effect between the concentration of *K. pneumoniae* bacterial suspension and the increase in the number of caterpillar deaths. Concentrations of *K. pneumoniae* suspension of 10^4 , 10^5 , 10^6 CFU/larva were able to kill caterpillars with different times assessed by statistical tests where the *p value* was 0.0001.

Keywords : *Klebsiella pneumoniae*, *Omphisa fuscidentalis*, *Virulance*

DAFTAR ISI

| | |
|---|-------------|
| HALAMAN SAMPUL DEPAN | i |
| HALAMAN JUDUL | ii |
| HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS | iii |
| HALAMAN PENGESAHAN | iv |
| KATA PENGANTAR | v |
| ABSTRAK | vi |
| ABSTRACT | vii |
| DAFTAR ISI | viii |
| DAFTAR GAMBAR | ix |
| DAFTAR LAMPIRAN | x |
| ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN | xi |
| BAB I PENDAHULUAN | 1 |
| A. Latar Belakang | 1 |
| B. Rumusan Masalah | 3 |
| C. Tujuan Penelitian | 3 |
| D. Manfaat Penelitian | 3 |
| BAB II TELAAH PUSTAKA | 5 |
| A. <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 5 |
| B. <i>Omphisa fuscidentalis</i> | 6 |
| C. Kerangka Teori | 8 |
| BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN | 9 |
| A. Kerangka Konsep | 9 |
| B. Hipotesis | 9 |
| BAB IV METODE PENELITIAN | 10 |
| A. Jenis Penelitian | 10 |
| B. Lokasi dan Waktu Penelitian | 10 |
| C. Sampel Penelitian | 10 |
| D. Variabel Penelitian | 10 |
| E. Definisi Operasional | 11 |
| F. Alat dan Bahan | 11 |
| G. Prosedur Kerja | 12 |
| H. Alur Penelitian | 15 |
| I. Pengolahan dan Analisis Data | 16 |
| BAB V HASIL PENELITIAN | 17 |
| BAB VI PEMBAHASAN | 21 |
| BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN | 25 |
| DAFTAR PUSTAKA | 26 |
| LAMPIRAN | 29 |

DAFTAR GAMBAR

| | |
|--|----|
| Gambar 2.1 Mikroskopis <i>K. pneumoniae</i> Pada Pewarnaan Gram..... | 5 |
| Gambar 2.2 <i>Omphisa fuscidentalis</i> Dewasa..... | 6 |
| Gambar 5.1 Karakteristik Koloni Pada Media Endo Agar | 17 |
| Gambar 5.2 Kategori Ulat Bambu | 18 |
| Gambar 5.3 Kurva Kelangsungan Hidup Ulat Bambu..... | 20 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | |
|--|----|
| Lampiran 1. Data Ulat..... | 29 |
| Lampiran 2. Uji Statistik..... | 30 |
| Lampiran 3. Dokumentasi Kematian Ulat Bambu..... | 31 |
| Lampiran 4. Dokumentasi Kegiatan | 34 |
| Lampiran 5. Log Bimbingan..... | 35 |
| Lampiran 6. Jadwal Penelitian..... | 36 |

ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN

| | |
|-------------------------|-------------------------------------|
| < | : Kurang dari |
| > | : Lebih dari |
| µl | : Mikro liter |
| % | : Persen |
| / | : Per |
| CFU | : <i>Colony Forming Unit</i> |
| ml | : Mili liter |
| °C | : Derajat <i>Celcius</i> |
| gr | : Gram |
| nm | : Nano Meter |
| Sp | : Spesies |
| <i>K. pneumoniae</i> | : <i>Klebsiella pneumoniae</i> |
| <i>O. fuscidentalis</i> | : <i>Omphisa fuscidentalis</i> |
| BHIB | : <i>Brain Heart Infusion Broth</i> |
| NaCl | : Natrium Klorida |
| Abs. | : Absorbansi |
| Rpm | : <i>Revolution Per Minute</i> |
| UV | : <i>Ultra Violet</i> |
| QS | : <i>Quorum Sensing</i> |
| HP | : Hidup Putih |
| MP | : Mati Putih |
| MC | : Mati Coklat |
| MH | : Mati Hitam |

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Pneumonia adalah peradangan akut pada saluran pernapasan bagian bawah yang menyerang jaringan paru-paru, terutama alveoli. Alveoli dipenuhi oleh nanah dan cairan sehingga kemampuan paru-paru menyerap oksigen berkurang. Pneumonia disertai dengan gejala batuk dan sesak napas (WHO, 2019). Umumnya pneumonia dapat menular melalui droplet yang mengandung bakteri kemudian menyebar melalui udara saat seseorang bersin atau batuk (Zayinur R., dkk. 2013).

Menurut WHO (2021) kasus pneumonia pada tahun 2019 terhitung 14% dari semua kematian anak dibawah 5 tahun. Menurut WHO (2020) pneumonia dapat menyebabkan kematian sebanyak 740.180 anak dibawah usia 5 tahun. Menurut Kemenkes RI (2019) Angka kejadian pneumonia lebih sering terjadi di negara berkembang dan menyerang sekitar 450 juta orang setiap tahunnya, dapat menyebabkan kematian di Indonesia sebanyak 34,8%. Tercatat dalam data Profil Kesehatan Indonesia 2019 kasus pneumonia di Jawa Barat mencapai 104.866 balita dengan presentase sebesar 4,62% (Sari, M., dkk. 2021). Menurut Machmud (2009) kasus pneumonia dapat menyebabkan status sosio-ekonomi yang menurun, semua penyebab kematian dan seluruh angka kesakitan kasus pneumonia akan meningkat.

Pneumonia disebabkan oleh virus, jamur dan bakteri. Bakteri penyebab pneumonia yaitu *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus*, *Legionella sp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter sp.*, dan *Klebsiella pneumoniae* (Dahlan. 2015). *K. pneumoniae* memiliki faktor virulensi yang akan mempengaruhi keparahan penyakit yang disebabkan oleh bakteri (Li *et al.*, 2014). Penentuan virulensi bakteri dapat dilakukan secara *in vivo* pada hewan uji seperti mencit, ikan

zebra, nematoda *Caenorhabditis elegans*, larva *Galleria melonella* dan ulat *Omphisa fuscidentalis* (Ilsan *et al.*, 2023).

Berdasarkan penelitian Insua *et al.* (2013), bakteri mutasi yang kekurangan kapsul polisakarida, lipid dekoratif A, atau protein membran luar OmpA dan OmpK36 ditemukan dapat melemahkan bakteri terhadap larva *G. mellonella*. Semua mutasi dapat mengaktifkan respons pertahanan *G. mellonella*. Berdasarkan penelitian Marcoleta *et al.* (2018) menyatakan ikan zebra dan *Dictyostelium discoideum* merupakan model inang yang memiliki keuntungan untuk mempelajari berbagai karakteristik terkait virulensi *K. pneumoniae*. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Ilsan *et al.* (2021) menyatakan bahwa sampel T1070213 tingkat virulensi lebih tinggi kemungkinan disebabkan oleh resistensi yang lebih tinggi terhadap sistem komplemen pada imunitas bawaan pada wax moth.

Omphisa fuscidentalis merupakan ulat pengerek bambu yang termasuk ke dalam ordo Lepidoptera. *O. fuscidentalis* memiliki sistem imun seluler dan humoral yang mirip seperti *G. mellonella* sehingga dapat mengevaluasi virulensi patogen didalam tubuhnya (Ilsan *et al.*, 2023). *O. fuscidentalis* pada penelitian ini memiliki keuntungan yang sama seperti *G. mellonella* yaitu, harganya yang murah dan terjangkau, mudah untuk menentukan kelangsungan hidup ulat, dapat diinkubasi dan bertahan hidup pada suhu 37°C seperti suhu optimum tubuh manusia (Tsai *et al.*, 2016).

Keuntungan *Omphisa fuscidentalis* dibandingkan dengan tikus yaitu, hanya membutuhkan alat cawan petri untuk tempat tinggalnya tanpa membutuhkan kandang yang besar, dapat disuntikkan melalui kaki tanpa harus melakukan teknik bedah dan penggunaan anestesi yang memiliki banyak efek samping (Mizzgerd dan Skerrett. 2008). Keuntungan *O. fuscidentalis* dibandingkan dengan ikan zebra yaitu, lebih rentan terhadap infeksi bakteri, dikarenakan ikan zebra kurang rentan terhadap infeksi bakteri, jumlah bakteri hidup yang lebih tinggi untuk membangun infeksi virulen diperlukan dikarenakan

banyak patogen bakteri yang dibunuh oleh makrofag dan neutrofil (Ruyra *et al.*, 2014). Mengacu pada masalah dan dampak yang ditimbulkan *K. pneumoniae* dapat membuat peningkatan virulensi maka perlu dilakukan pemeriksaan uji virulensi.

Berdasarkan penelitian sebelumnya belum pernah ada data penelitian mengenai uji virulensi bakteri *K. pneumoniae* pada *O. fuscidentalis*. *O. fuscidentalis* memiliki respon imun seluler dan humoral yang mirip dengan *G. mellonella* sehingga dapat digunakan sebagai hewan alternatif untuk menguji virulensi patogen didalam tubuhnya. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumber informasi bagi masyarakat.

B. Rumusan Masalah

Bagaimanakah pengaruh virulensi *Klebsiella pneumoniae* pada konsentrasi 10^4 , 10^5 , 10^6 CFU/larva terhadap ulat bambu?

C. Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh virulensi *Klebsiella pneumoniae* pada konsentrasi 10^4 , 10^5 , 10^6 CFU/larva terhadap ulat bambu di sampel sputum.

2. Tujuan Khusus

Mengetahui perubahan warna pada ulat bambu setelah diinjeksikan *Klebsiella pneumoniae* pada konsentrasi 10^4 , 10^5 , 10^6 CFU/larva.

D. Manfaat Penelitian

1. Bagi Masyarakat

Hasil ini memberikan informasi kepada masyarakat mengenai tingkat keparahan bakteri *Klebsiella pneumoniae* dapat meningkatkan virulensi.

2. Bagi Instansi

Hasil penelitian ini dapat dijadikan sumber informasi bagi peneliti selanjutnya

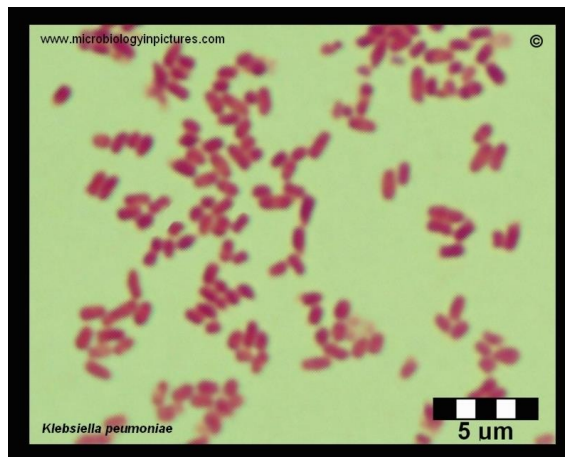
3. Bagi Peneliti

Hasil penelitian ini dapat memberikan pengalaman peneliti dan keterampilan dalam menguji virulensi bakteri *Klebsiella pneumoniae* pada ulat bambu.

BAB II TELAAH PUSTAKA

A. *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae memiliki bentuk batang lurus, pendek, ukuran 0,3-1,5 x 0,6-6,0 μm (Arham, 2018). *K. pneumoniae* termasuk bakteri Gram negatif, memiliki kapsul, tetapi tidak membentuk spora. Bakteri ini tidak memiliki flagel sehingga tidak mampu bergerak, memfermentasikan karbohidrat dengan membentuk asam dan gas. *K. pneumoniae* termasuk ke dalam bakteri fakultatif anaerob, yaitu dapat hidup dalam suasana kurang oksigen atau tidak ada oksigen (Tarina dan Kusuma, 2017).



Gambar 2.1 Mikroskopis *K. pneumoniae* Pada Pewarnaan Gram (www.microbiologyinpictures.com)

Klasifikasi bakteri *Klebsiella pneumoniae*, yaitu :

Kingdom : Bacteria

Filum : Proteobacteria

Kelas : Gamma Proteobacteria

Ordo : Enterobacteriales

Famili : Enterobacteriaceae

Genus : *Klebsiella*

Spesies : *Klebsiella pneumoniae* (Ramsey, 2011).

Virulensi bakteri adalah faktor utama yang akan mempengaruhi tingkat keparahan penyakit yang disebabkan oleh bakteri (Sarwoska *et al.*, 2019). Faktor virulensi adalah molekul yang membantu bakteri menyerang inang pada tingkat sel (Sharma *et al.*, 2017). Menurut Agustina. D., dkk. (2019) Faktor virulensi *K. pneumoniae* terdiri dari kapsul, pili, lipopolisakarida (LPS), eksopolisakarida dan *Outer Membrane Protein* (OMP) yang termasuk afimbrial adhesin, dan penyerapan zat besi. *K. pneumoniae* mempunyai faktor virulensi, yaitu pili (Li *et al.*, 2014). Pili berfungsi pada tahap awal perlekatan *K. pneumoniae* di permukaan sel inang. Hal ini dikarenakan pili memiliki protein yang dapat berikatan dengan molekul penyusun gula pada membran sel inang, yaitu protein hemagglutinin dan protein yang berikatan dengan reseptor permukaan inang (Dita, dkk. 2019). Menurut Agustina. D., dkk. (2019) *Outer Membrane Protein* (OMP) adalah komponen penting dalam proses adhesi, selain itu protein permukaan OMP mempunyai kemampuan untuk menggumpalkan sel darah merah (hemagglutinasasi).

B. *Omphisa fuscidentalis*

Omphisa fuscidentalis merupakan ulat pengerek bambu yang termasuk ke dalam ordo Lepidoptera. *O. fuscidentalis* ditemukan di utara Thailand, Laos, Myanmar dan China. Ulat pengerek bambu dewasa muncul pada bulan Agustus, dipertengahan musim hujan, dan bertelur di rebung yang baru tumbuh (Singtripop *et al.*, 2000; Nunilahwati. H., dkk., 2019).

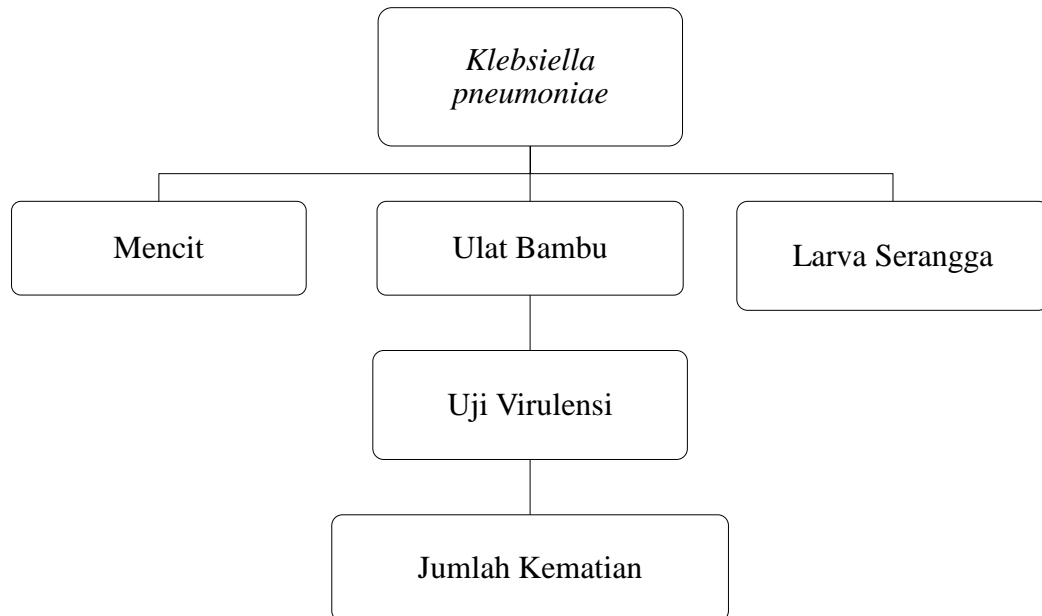


Gambar 2.2 *Omphisa fuscidentalis* dewasa (Dokumentasi Pribadi)

Ulat bambu pada penelitian ini memiliki keuntungan yang sama seperti *G. mellonella* yaitu, harganya yang murah dan terjangkau, mudah untuk menentukan kelangsungan hidup ulat, dapat diinkubasi dan bertahan hidup pada suhu 37°C seperti suhu optimum tubuh manusia. *O. fuscidentalis* memiliki sistem imun yang sama seperti larva *G. mellonella* adalah sistem imun bawaan yang terdiri dari dua jenis yaitu, sistem imun komponen seluler (hemosit) dan sistem komponen humoral (peptida antimikroba, enzim litik, peptida dan melanin) yang bekerjasama untuk melawan sel asing masuk ke dalam tubuh (Tsai *et al.*, 2016).

Sistem imun komponen seluler memiliki enam jenis hemosit yaitu, prohemosit, plasmatisit, sel granular, koagulosit, sferulosit dan oenositoid (Brownie *et al.*, 2013). Menurut Tsai *et al.* (2016) plasmatisit dan sel granular merupakan peran utama dalam fagositosis, pembentukan nodul dan enkapsulasi. Plasmatisit adalah hemosit yang paling umum, memiliki bentuk seperti daun dan terdapat enzim lisozim di dalam sitoplasmanya. Sel granulosit adalah sel dengan ukuran lebih kecil dan terdapat banyak butiran di sitoplasma. Fagositosis dimulai suatu protein berikatan dengan homologi tinggi terhadap calreticulin manusia yang ditemukan pada neutrofil, yang terlibat dalam pengenalan non diri dalam reaksi pertahanan seluler. Enkapsulasi yaitu perlekatan sel granular ke target asing yang menyebabkan pelepasan peptida menyebarkan plasmatisit yang memperkenalkan perlekatan lapisan plasmatisit disekitar target asing kemudian menghasilkan kapsul halus. Sistem imun komponen humoral diatur oleh molekul efektor terlarut yang melumpuhkan atau membunuh patogen dan termasuk protein pelengkap, melanin dan peptida antimikroba.

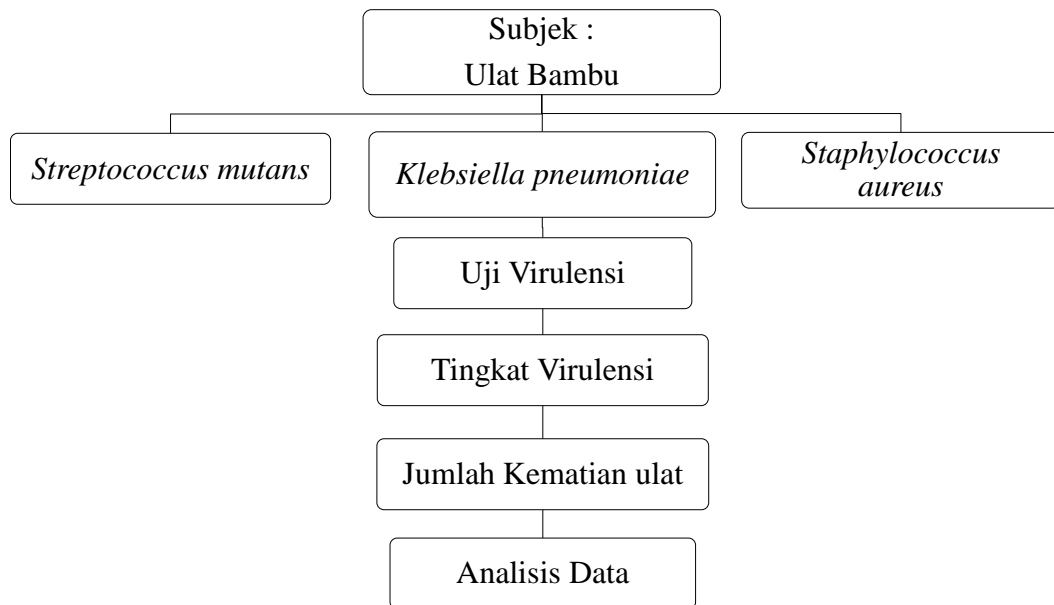
C. Kerangka Teori



BAB III

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

A. Kerangka Konsep



B. Hipotesis

- H₀ : Tidak terdapat pengaruh antara konsentrasi isolat bakteri *K. pneumoniae* dengan bertambahnya jumlah kematian ulat.
- H_a : Terdapat pengaruh antara konsentrasi isolat bakteri *K. pneumoniae* dengan bertambahnya jumlah kematian ulat.

BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan pada penelitian ini yaitu kuantitatif dengan desain penelitian eksperimental. Penelitian eksperimental merupakan penelitian ilmiah yang dilakukan untuk menguji variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas pada penelitian ini adalah isolat *Klebsiella pneumoniae* konsentrasi 10^4 , 10^5 , 10^6 CFU/larva. Variabel terikat adalah jumlah kematian ulat bambu.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

Lokasi penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bakteriologi ruang 305 Program Studi DIII Teknologi Laboratorium Medis STIKes Mitra Keluarga pada bulan Februari-Maret 2023.

C. Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan pada penelitian ini yaitu, sampel isolat bakteri yang terkonfirmasi *K. pneumoniae* dari sputum yang berasal dari salah satu Rumah Sakit Swasta di Bekasi Timur. Teknik pengambilan sampel dalam penelitian ini menggunakan teknik *purposive sampling*.

D. Variabel Penelitian

Variabel penelitian merupakan suatu objek yang akan diteliti oleh peneliti. Variabel penelitian dapat dibedakan menjadi 2 jenis yaitu variabel bebas (independent) dan variabel terikat (dependent). Variabel bebas merupakan variabel yang mempengaruhi variabel terikat, sedangkan variabel terikat merupakan variabel yang dipengaruhi akibat adanya variabel bebas. Variabel bebas *K. pneumoniae* konsentrasi 10^4 , 10^5 , 10^6 CFU/larva. Variabel terikat adalah jumlah kematian ulat bambu.

E. Definisi Operasional

| Variabel | Definisi Operasional | Alat Ukur | Cara Ukur | Hasil Ukur | Skala |
|---|--|-------------------------------|-------------------------------------|------------------------|-------|
| Konsentrasi Isolat <i>K. pneumoniae</i> | Jumlah isolat <i>K. pneumoniae</i> dengan konsentrasi 10^4 , 10^5 , 10^6 CFU/larva | Spektrofotometer abs. 600 nm. | Dengan mengukur OD 1 di abs. 600 nm | Dalam satuan CFU/larva | Rasio |
| Jumlah Kematian Ulat Bambu | Jumlah ulat bambu yang mengalami kematian setelah disuntikan konsentrasi isolat <i>K. pneumoniae</i> | Panca Indera | Dihitung jumlah kematian ulat | Jumlah kematian | Rasio |

F. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *handscoon*, masker, cawan petri, tabung reaksi (*pyrex*), pipet ukur, pipet tetes, rak tabung, batang pengaduk, spatula, jarum ose, bunsen, gelas kimia (*pyrex*), erlenmeyer (*pyrex*), neraca analitik (*Adam PW 254*), *hotplate and stirer (fka HS 110)*, gelas ukur (*pyrex*), autoklaf (*Hiramaya HG-50*), BSC (*Biological Safety Cabinet (JSR)*), inkubator (*DNP*), inkubator shaker (*Shaker Rotator H-SR-200*), spektrofotometer (*Genesys 10S UV-VIS*), *showcase*, spuit.

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel isolat bakteri, alkohol, aquadest, ulat bambu, media pertumbuhan Endo Agar, Natrium Klorida (NaCl) 0,9%, ulat bambu, media *Brain Heart Infusion Broth (BHIB)*.

G. Prosedur Kerja

1. Pra Analitik

a. Persiapan Media Endo Agar

Pembuatan media Endo agar mengacu pada Indrayati S., dkk. (2018) Media Endo agar serbuk ditimbang 10,375 gram menggunakan neraca analitik. Dipindahkan media yang sudah ditimbang ke dalam erlenmeyer dan dilarutkan dengan aquadest sebanyak 250 ml. Kemudian, dipanaskan dengan *hotplate and stirer* hingga menguap. Erlenmeyer yang berisikan media Endo agar disterilkan pada autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm. Setelah itu, ditunggu hingga media hingga hangat. Kemudian, *Biological Safety Cabinet* (BSC) disemprotkan menggunakan alkohol dan nyalakan lampu UV selama 15 menit hingga alarm berbunyi. Dituangkan media endo agar pada cawan petri dan tutup cawan petri.

b. Persiapan Media *Brain Heart Infusion Broth* (BHIB)

Pembuatan Media BHIB mengacu pada Indrayati S., dkk. (2018) Media BHIB serbuk ditimbang 3,7 gram menggunakan neraca analitik. Dipindahkan media yang sudah ditimbang ke dalam erlenmeyer dan dilarutkan dengan aquadest sebanyak 100 ml. Kemudian, dipanaskan dengan *hotplate and stirer* hingga menguap. Erlenmeyer yang berisikan media BHIB disterilkan pada autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm. Kemudian, ditunggu hingga media hingga hangat. Kemudian, BSC disemprotkan menggunakan alkohol dan nyalakan lampu UV selama 15 menit hingga alarm berbunyi. Dituangkan media BHIB pada tabung reaksi.

c. Persiapan Natrium Klorida (NaCl) 0,9%

Serbuk NaCl ditimbang 4,5 gram menggunakan neraca analitik dan masukkan ke dalam gelas kimia, serbuk NaCl dilarutkan dengan aquadest sebanyak 500 ml, homogenkan reagen NaCl hingga larut dengan sempurna kemudian dimasukkan ke dalam botol.

d. Peremajaan Isolat Bakteri

Bunsen dinyalakan, kemudian pijarkan ose hingga membara, diputar sisi cawan petri diatas api bunsen agar tidak terkena kontaminasi. Diambil 1 ose isolat bakteri kemudian goreskan pada media Endo agar. Kemudian, tutup cawan petri dan putarkan kembali cawan petri diatas api bunsen. Amati hasil (perubahan warna media menjadi merah muda menandakan hasil positif *K. pneumoniae*).

2. Analitik

a. Pembuatan Kultur *K. pneumoniae*

Pembuatan kultur mengacu pada Ilsan *et al.* (2021). Isolat bakteri *K. pneumoniae* dikulturkan ke dalam 3 ml media BHIB steril, kemudian diinkubasi menggunakan inkubator shaker dengan kecepatan 100 rpm selama 1 x 24 jam. Kultur bakteri pada media BHIB diambil 1 ml kemudian dimasukan ke dalam tabung sentrifugasi. Tabung disentrifugasi selama 2 menit dengan kecepatan 10.000 rpm pada suhu 20°C. Supernatan dibuang dan endapan diencerkan dengan ditambahkan 500 µl NaCl 0,9%. Suspensi diukur absorbansinya pada OD 1 di 600 nm menggunakan spektrofotometer, dengan kepadatan bakteri kira-kira 10⁹ CFU/ml. Dosis yang injeksi suspensi bakteri yang digunakan adalah 10⁴, 10⁵, 10⁶ CFU/larva.

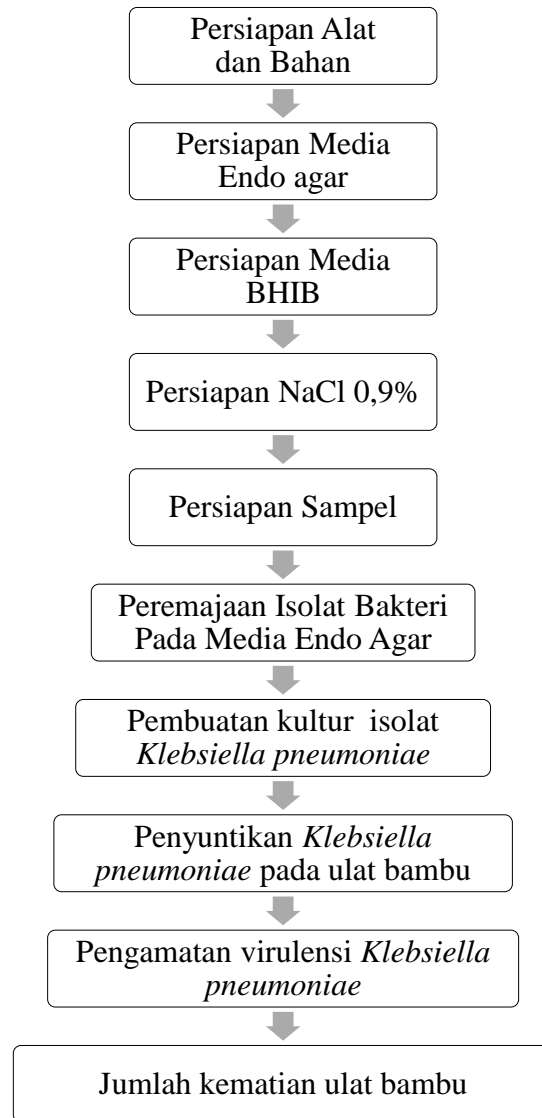
b. Penyuntikkan *K. pneumoniae* pada Ulat Bambu (*O. fuscidentalis*)

Metode penyuntikkan bakteri mengacu pada Ilsan *et al.* (2021). Ditimbang ulat bambu dengan ukuran 250–350 g, Sepuluh ulangan larva disuntikkan untuk setiap kelompok termasuk kontrol yang disuntikkan NaCl 0,9%. Sebelum disuntikkan, ulat tersebut diletakkan diatas tisu yang dibasahi oleh alkohol lalu disuntikkan 10 μ L suspensi bakteri menggunakan spuit pada kaki terakhir bagian kiri. Setelah penyuntikan, ulat tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 12, 24, 36, 48, 60, 72 jam. Kelangsungan hidup ulat bambu dianalisis statistik menggunakan *GraphPad Prism V 5.01*.

3. Pasca Analitik

Amati kelangsungan hidup ulat bambu selama 12, 24, 36, 48, 60, 72 jam dengan adanya perubahan ulat menjadi hitam.

H. Alur Penelitian



I. Pengolahan dan Analisis Data

Pengolahan data pada penelitian ini akan disajikan dalam bentuk tabel dari kategori jumlah kematian ulat bambu. Analisis data yang digunakan pada penelitian ini adalah menggunakan analisis statistik *Log-rank (Mantel-Cox)* menggunakan aplikasi *GraphPad Prism V 5.01*. Analisis sampel dilakukan pengamatan secara melihat jumlah kematian ulat bambu.

BAB V

HASIL PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bakteriologi ruang 305 Program Studi DIII Teknologi Laboratorium Medis STIKes Mitra Keluarga pada bulan Februari-Maret 2023. Sampel yang digunakan pada penelitian ini yaitu, sampel isolat bakteri yang terkonfirmasi *Klebsiella pneumoniae* dari sputum yang berasal dari salah satu Rumah Sakit Swasta di Bekasi Timur.

Isolat bakteri yang terkonfirmasi *K. pneumoniae* menghasilkan warna merah pada media Endo Agar. Isolat bakteri *K. pneumoniae* dikulturkan ke dalam media BHIB steril, kemudian diinkubasi menggunakan inkubator shaker dengan kecepatan 100 rpm selama 1 x 24 jam. Kemudian dilakukan pengenceran bertingkat dengan konsentrasi 10^4 , 10^5 , 10^6 CFU/larva dan disuntikkan ke dalam ulat. Kemudian diamati jumlah kematian ulat tersebut dalam waktu 12, 24, 36, 48, 60, 72 jam.

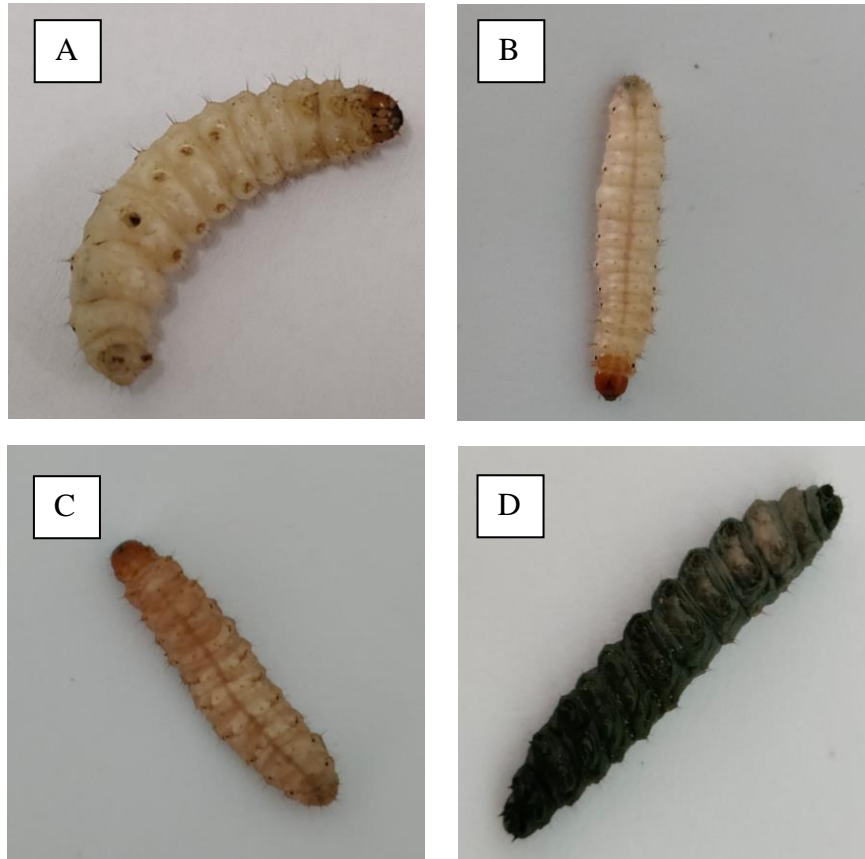
Karakteristik koloni pada media Endo Agar seperti gambar dibawah ini.



Gambar 5.1 Karakteristik Koloni Pada Media Endo Agar (Dokumentasi Pribadi)

Hasil pada Gambar 5.1 menunjukkan terdapat karakteristik koloni pada media Endo Agar terlihat pertumbuhan bakteri berwarna merah muda.

Kategori ulat bambu dibagi menjadi 4 seperti gambar dibawah ini.



Gambar 5.2 a) Ulat Bambu Hidup Putih (HP), b) Ulat Bambu Mati Putih (MP), c) Ulat Bambu Mati Coklat (MC), d) Ulat Bambu Mati Hitam (MH) (Dokumentasi Pribadi)

Hasil pada Gambar 5.2 menunjukkan kategori ulat bambu terbagi menjadi 4 yaitu; ulat bambu hidup putih dengan kode (HP), ulat bambu mati putih dengan kode (MP), ulat bambu mati coklat dengan kode (MC) dan ulat bambu mati hitam dengan kode (MH).

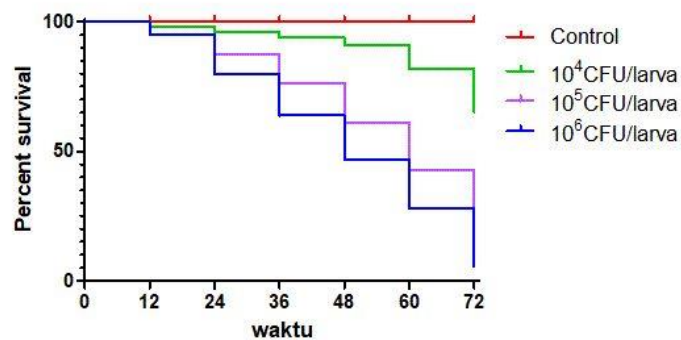
Tabel 5.1 Kategori Jumlah Kematian Ulat Bambu

| Konsentrasi <i>K. pneumoniae</i> | Waktu | Kode Ulat | | | |
|----------------------------------|-------|-----------|----|----|----|
| | | HP | MP | MC | MH |
| Control | 12 | 10 | | | |
| | 24 | 10 | | | |
| | 36 | 10 | | | |
| | 48 | 10 | | | |
| | 60 | 10 | | | |
| | 72 | 10 | | | |
| 10 ⁴ (CFU/larva) | 12 | 9 | 1 | | |
| | 24 | 9 | 1 | | |
| | 36 | 9 | 1 | | |
| | 48 | 9 | 1 | | |
| | 60 | 8 | 1 | 1 | |
| | 72 | 8 | 1 | 1 | |
| 10 ⁵ (CFU/larva) | 12 | 7 | 3 | | |
| | 24 | 6 | 4 | | |
| | 36 | 5 | 5 | | |
| | 48 | 4 | 3 | 3 | |
| | 60 | 4 | 1 | 2 | 3 |
| | 72 | 4 | 1 | 2 | 3 |
| 10 ⁶ (CFU/larva) | 12 | 7 | 2 | | 1 |
| | 24 | 2 | 2 | 5 | 1 |
| | 36 | 2 | 2 | 3 | 3 |
| | 48 | 2 | 2 | 3 | 3 |
| | 60 | 2 | 2 | 3 | 3 |
| | 72 | 2 | 1 | 3 | 4 |

Tabel 5.1 menunjukkan hasil kategori jumlah kematian ulat bambu yaitu pada control dalam waktu 12-72 jam yang tidak mengalami kematian, pada konsentrasi 10⁴ CFU/larva dalam waktu 12 - 48 jam hanya 1 ulat saja yang mati putih (MP), dalam waktu 60 dan 72 jam terdapat 1 ulat yang mati putih (MP) dan 1 ulat yang mati coklat (MC). Konsentrasi 10⁵ CFU/larva dalam waktu 12 jam terdapat 3 ulat mati putih (MP), dalam waktu waktu 24 jam terdapat 4 ulat mati putih (MP), 36 jam terdapat 5 ulat mati putih (MP), pada waktu 48 jam terdapat 3 ulat mati putih

(MP), 3 ulat mati coklat (MC), dalam waktu 60 dan 72 jam terdapat 1 ulat mati putih (MP), 2 ulat mati coklat (MC), 3 ulat mati hitam (MH). Konsentrasi 10^6 CFU/larva dalam waktu 12 jam terdapat 2 ulat mati putih (MP), 1 ulat mati hitam (MH), waktu 24 jam 2 ulat mati putih (MP), 5 ulat mati coklat (MC), 1 ulat mati hitam (MH), dalam waktu 36-60 jam terdapat 2 ulat mati putih (MP), 3 ulat mati coklat (MC), 3 ulat mati hitam (MH), dalam waktu 72 jam terdapat 1 ulat mati putih (MP), 3 ulat mati coklat (MC), 4 ulat mati hitam (MH).

Kurva kelangsungan hidup ulat bambu seperti gambar dibawah ini.



Gambar 5.3 Kurva kelangsungan hidup *Kaplan-Meier* dari ulat bambu yang disuntikkan oleh *Klebsiella pneumoniae* dalam waktu 12, 24, 36, 48, 60, 72 jam.

Hasil pada Gambar 5.3 menunjukkan kurva kelangsungan hidup *Kaplan-Meier* dari ulat bambu yang disuntikkan oleh *Klebsiella pneumoniae* dalam waktu 12, 24, 36, 48, 60, 72 jam. Kelangsungan hidup ulat bambu dengan konsentrasi 10^4 CFU/larva pada waktu 12, 24, 36, 48 jam yaitu 90%, pada waktu 60 dan 72 jam yaitu 80%. Kelangsungan hidup ulat bambu konsentrasi 10^5 CFU/larva pada waktu 12 jam yaitu 70%, pada waktu 24 jam yaitu 60%, pada waktu 36 jam yaitu 50%, pada waktu 48, 60, 72 jam yaitu 40%. Kelangsungan hidup ulat bambu konsentrasi 10^6 CFU/larva pada waktu 12 jam yaitu 70%, pada waktu 24, 36, 48, 60, 72 jam yaitu 20%.

BAB VI

PEMBAHASAN

Sampel yang digunakan pada penelitian ini yaitu, sampel isolat bakteri yang terkonfirmasi *Klebsiella pneumoniae* dari sputum yang berasal dari salah satu Rumah Sakit Swasta di Bekasi Timur. Suspensi bakteri yang terkonfirmasi *K. pneumoniae* menghasilkan warna merah pada media Endo Agar. Suspensi bakteri *K. pneumoniae* dikulturkan ke dalam media BHIB steril, kemudian diinkubasi menggunakan inkubator shaker dengan kecepatan 100 rpm selama 1 x 24 jam. Kemudian dilakukan pengenceran bertingkat dengan konsentrasi 10^4 , 10^5 , 10^6 CFU/larva dan disuntikkan ke dalam ulat. Kemudian diamati jumlah kematian ulat tersebut dalam waktu 12, 24, 36, 48, 60, 72 jam.

Bakteri *K. pneumoniae* yang ditanam pada media Endo Agar berdasarkan Gambar 5.1 koloni yang terbentuk yaitu, koloni berwarna merah muda. Hal ini sesuai dengan pendapat Putri, D.A (2019) bahwa pertumbuhan bakteri *K. pneumoniae* pada media Endo Agar yaitu ditandai dengan koloni pada media berwarna merah muda, karena dapat memfermentasi laktosa. Media Endo Agar merupakan media selektif untuk isolasi bakteri gram negatif dari spesimen klinis dan non klinis. Media Endo Agar memiliki komposisi yaitu, pepton, laktosa, dipotassium phospat, agar, basic fuchsin dan sodium sulfit. Fungsi basic fuchsin dan sodium sulfit untuk menghambat pertumbuhan bakteri gram positif. Media Endo Agar digunakan sebagai media kultur untuk memfermentasi laktosa dan non laktosa.

Hasil pada Tabel 5.1 adalah hasil kategori jumlah kematian ulat bambu setelah dilakukan penyuntikan pertama kali pada control selama 12, 24, 36, 48, 60, 72 jam tidak mengalami kematian, ulat mati pada konsentrasi 10^4 CFU/larva pada waktu 12 jam berjumlah 1 ulat, dalam waktu 60 jam kematian ulat bertambah 2 ulat. Konsentrasi 10^5 CFU/larva pertama kali ulat mati pada waktu 12 jam berjumlah 3 ulat, dalam waktu 48 jam kematian ulat berjumlah 6 ulat. Konsentrasi

10^6 CFU/larva pertama kali ulat mati pada waktu 12 jam berjumlah 3 ulat, dalam waktu 24 jam kematian ulat berjumlah 8 ulat. Jumlah kematian ulat diantara konsentrasi 10^4 , 10^5 , 10^6 CFU/larva, konsentrasi 10^6 CFU/larva yang lebih cepat mengalami kematian hanya membutuhkan waktu 24 jam ulat yang mati berjumlah 8 ulat dan mengalami perubahan warna menjadi hitam. Hal tersebut dikarenakan banyaknya konsentrasi bakteri yang disuntikkan ke dalam tubuh ulat. Penelitian ini sesuai dengan penelitian Ilsan *et al.* (2023) konsentrasi suspensi bakteri yang lebih tinggi menyebabkan kematian larva yang lebih tinggi, perubahan warna menjadi hitam pada ulat kemungkinan menghasilkan melanisasi dengan menyimpan dan membungkus bakteri bersama dengan koagulasi *hemolymph*.

Patogenesis *K. pneumoniae* merupakan kemampuan bakteri tersebut menyebabkan infeksi. Bakteri dikatakan bersifat patogen bila mempunyai kemampuan melakukan penyebaran dengan cara melekat pada sel-sel inang dan memperbanyak di dalam tubuh menggunakan nutrisi dari sel inang, proses bakteri masuk ke dalam sel inang dan menyebar ke seluruh tubuh sehingga menimbulkan kerusakan pada sel-sel dan jaringan (Pratiwi, HR. 2017). Bakteri patogen dapat menimbulkan virulensi.

Virulensi dapat disebabkan oleh *Quorum Sensing* (QS). *Quorum Sensing* (QS) merupakan sistem ekspresi gen tersinkronisasi yang bergantung pada kepadatan jumlah beberapa bakteri melalui molekul sinyal yang disekresikan sendiri yang disebut autoinducers. *Quorum Sensing* yang dihasilkan oleh bakteri patogen dapat mengubah keseimbangan mekanisme pertahanan inang. Setelah masuk ke dalam inang, bakteri patogen mengeluarkan beberapa enzim dan toksin virulensi ekstraseluler, yang menyebabkan kerusakan jaringan yang luas dan menyebar sehingga menyebabkan kematian (Li *et al.*, 2014).

Uji virulensi merupakan langkah utama untuk menentukan tingkat keparahan gejala yang dialami oleh inang. *Omphisa fuscidentalis* merupakan hewan uji coba yang digunakan karena *O. fuscidentalis* merupakan ordo lepidoptera (Singtripop *et al.*, 2000; Nunilahwati. H., dkk. 2019). *O. fuscidentalis* memiliki kesamaan

sistem imun dengan *Galleria melonella*. Sistem imun komponen seluler memiliki enam jenis hemosit yaitu, prohemosit, plasmatosit, sel granular, koagulosit, sferulosit dan oenositoid (Brownie *et al.*, 2013). Sistem komponen humoral (peptida antimikroba, enzim litik, peptida dan melanin) yang bekerjasama untuk melawan sel asing masuk ke dalam tubuh (Tsai *et al.*, 2016).

Bakteri patogen menghasilkan enzim proteinase untuk menempati protein lepidoptera pada *hemolymph* sebagai sumber nutrisi dan mengalami metabolisme. Proteinase yang dihasilkan oleh bakteri patogen berfungsi untuk mendegradasi peptida antimikroba yang merupakan bagian dari imunitas lepidoptera. Kulit atau sel epitel *O. fuscidentalis* adalah bagian terluar tubuh antara *hemolymph* dan lingkungan. Luka terbuka pada epitel menyebabkan bekuan pada *hemolymph*. Peptida hemokin dan kemotaktik yang dilepaskan oleh sel epitel yang rusak dapat membuat adhesi sehingga memicu agregasi hemosit. Plasmatosit, bagian dari sel hemosit yang pecah dan dilepaskan menjadi *hemolymph* selama proses berlangsung, sehingga menyebabkan matriks ekstraseluler membentuk bekuan lunak untuk menutup luka. Produksi gumpalan merupakan bagian penting dari pertahanan sistem kekebalan ulat. Gumpalan membatasi bakteri di lokasi luka, mencegah bakteri untuk melakukan perjalanan ke rongga tubuh dan menginfeksi jaringan di sekitarnya. Aktivasi sistem fenoloksidase (PO) memperkuat pembunuhan dan penghilangan bakteri yang terperangkap. Selain itu, sebagai respons terhadap invasi bakteri hemosit secara aktif berpartisipasi dalam sintesis berbagai peptida antimikroba (AMP) dan protein yang dilepaskan ke dalam *hemolymph* (Ilsan *et al.*, 2023).

Hasil uji virulensi pada Gambar 5.3 menunjukkan kurva kelangsungan hidup dan melanisasi dari ulat bambu yang disuntikkan oleh *K. pneumoniae* dalam waktu 12, 24, 36, 48,60, 72 jam. Kelangsungan hidup ulat bambu dengan konsentrasi 10^4 CFU/larva pada waktu 24 jam yaitu 90%. Kelangsungan hidup ulat bambu dengan konsentrasi 10^5 CFU/larva pada waktu 24 jam yaitu 60%, sedangkan kelangsungan hidup ulat bambu dengan konsentrasi 10^6 CFU/larva pada waktu 24 jam yaitu 20%. Kelangsungan hidup ulat bambu dengan konsentrasi 10^6

CFU/larva lebih cepat mengalami perubahan warna menjadi hitam. Hal tersebut dikarenakan banyaknya konsentrasi bakteri yang disuntikkan ke dalam tubuh ulat. Penelitian ini sesuai dengan penelitian Ilsan *et al.* (2023) konsentrasi suspensi bakteri yang lebih tinggi menyebabkan kematian larva yang lebih tinggi.

BAB VII

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Penelitian ini dapat disimpulkan uji virulensi *Klebsiella pneumoniae* pada konsentrasi 10^6 CFU/larva yang lebih cepat mengalami kematian hanya membutuhkan waktu 24 jam ulat yang mati berjumlah 8 ulat. Hasil menunjukkan terdapat pengaruh antara konsentrasi suspensi bakteri *K. pneumoniae* dengan bertambahnya jumlah kematian ulat. Konsentrasi suspensi *K. pneumoniae* 10^4 , 10^5 , 10^6 CFU/larva mampu membunuh ulat dengan waktu berbeda yang dinilai dengan uji statistik dimana didapatkan *p value* 0,0001. Banyaknya konsentrasi bakteri yang disuntikkan ke dalam tubuh ulat sehingga menyebabkan kematian larva yang lebih tinggi.

B. Saran

Saran untuk penelitian lebih lanjut yaitu dapat menggunakan perbedaan sampel ataupun perbedaan jenis bakteri.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, D., Nadyatara, K., Mufida, D. C., Elfiah, U., Shodikin, M. A., & Suswati, E. (2019). Faktor Virulensi *Outer Membrane Protein 20 kDa Klebsiella pneumoniae* sebagai Protein Hemagglutinin dan Adhesin Virulence factor of 20 kDa *Outer Membrane Protein (OMP) Klebsiella pneumoniae* as Haemagglutinin and Adhesin Protein. *eJKI*. 7 (3) : 200–204. <https://doi.org/10.23886/ejki.7.10425.1>.
- Arham Chaerul. (2018). *Waktu Paparan Gas Ozon Terhadap Pertumbuhan Bakteri Klebsiella pneumoniae*. Sarjana / Sarjana Terapan (S1/D4) thesis. Program Studi D IV Analis Kesehatan. Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan. Universitas Muhammadiyah Semarang.
- Browne, N., Heelan, M., & Kavanagh, K. (2013.) An analysis of the structural and functional similarities of insect hemocytes and mammalian phagocytes. *Virulence*. 4 (7) : 597-603. doi:10.4161/viru.25906
- Dahlan, Z., Setiati, S., Alwi, I., Sudoyo, A. W., K, M. S., Setiyohadi, B., & Syam, A. F. (2014). *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. Edisi Keenam Jilid I (VI). Jakarta Pusat: InternaPublishing.
- Dita, R. F., Agustina, D., Rachmawati, D. A., Suswati, E., & Mufida, D. C. (2019). Peran Protein Pili 38,6 kDa *Klebsiella pneumoniae* sebagai Protein Hemagglutinin dan Adhesin yang Berfungsi sebagai Faktor Virulensi. *Journal of Agromedicine and Medical Sciences*. 5 (2) : 69–76.
- Ilsan, N. A., Lee, Y. J., Kuo, S. C., Lee, I. H., & Huang, T. W. (2021). Antimicrobial Resistance Mechanisms and Virulence of Colistin-and Carbapenem - Resistant *Acinetobacter baumannii* Isolated from a Teaching Hospital in Taiwan. *Microorganisms*. 9 (6) : 1295. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9061295>
- Ilsan, N. A., Nurfajriah, S., & Inggraini, M. (2021). Hewan Sebagai Model Penyakit Infeksi Pernafasan Yang Disebabkan Oleh Bakteri, *Jurnal Mitra Kesehatan*. 04 (01) : 48-56. doi: 10.47522/jmk.v4i1.104
- Ilsan, N. A., Yunita, M., Dewi, N. K., Irham, L. M., Nurfajriah, S., & Inggraini, M. (2023). Potentially Virulent Multi-Drug Resistant *Escherichia fergusonii* Isolated from Inanimate Surface in a Medical University: *Omphisa fuscidentalis* as an Alternative for Bacterial Virulence Determination. *Diagnostics*. 13 (2) : 279. <https://doi.org/10.3390/diagnostics13020279>.
- Indrayati, S dan Akma, F.S. (2018). Peranan Monosodium Glutamat Sebagai Media Penyubur Alternatif Pengganti Brain-Heart Infosion Broth (BHIB) Untuk Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *Prosiding Seminar Kesehatan Perintis*. 1(1) : 2622-2256.
- Insua, J.L., Llobet, E., Moranta, D., Perez-Gutierrez, C., Tomas, A., Garmendia, J., & Bengoechea, J.A. (2013). Modeling *Klebsiella pneumoniae* pathogenesis by infection of the wax moth *Galleria mellonella*. *Infect Immun*. 81(10) : 3552-3565. <https://doi.org/10.1128/IAI.00391-13>.

- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2019). *Profil Kesehatan Indonesia*. In B. Hardhana, F. Sibuea, & W. Widiyanti (Eds.), Kementerian Kesehatan Republik Indonesia (I). Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. https://doi.org/10.5005/jp/books/11257_5.
- Li B, Zhao Y, Liu C, Chen Z, Zhou D. (2014). Molecular pathogenesis of *Klebsiella pneumoniae*. *Future Microbiology*. 9 (9) : 1071–1081. <https://doi.org/10.2217/fmb.14.48>
- Machmud. Rizanda. (2009). Pengaruh Kemiskinan Keluarga pada Kejadian Pneumonia Balita di Indonesia. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. 4(1) : 36-41. <http://dx.doi.org/10.21109/kesmas.v4i1.199>.
- Marcoleta, A. E., Varas, M. A., Ortiz-Severin, J., & Vasquez. (2018). Evaluating Different Virulence Traits of *Klebsiella pneumoniae* Using *Dictyostelium discoideum* and Zebrafish Larvae as Host Models. *Front Cell Infect Microbiology*. 8 (30) : 1-20. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2018.00030>.
- Mizgerd, J. P., & Skerrett, S. J. (2008). Animal models of human pneumonia. *American journal of physiology. Lung cellular and molecular physiology*. 294(3) : L387–L398. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00330.2007>
- Nunilahwati, H., Purwanti, Y., Nisfuriah, L., & Sinatra, F. (2019). Pengaruh Jamur Entomopatogen Rhizosfer Pertanian terhadap Mortalitas Serangga Umpan *Omphisa fuscidentalis* (Lepidoptera : Pyralidae) di Laboratorium. *Prosiding Seminar Nasional Lahan Suboptimal 2019* : 246–253.
- Putri, D. A. (2019). *Perbandingan Jumlah Koloni Bakteri Klebsiella Pneumoniae Pada Media Eosin Methylene Blue (EMB) Dan Media Endo Agar Plate (EAP)*. Skripsi. Program Studi DIV Analisis Kesehatan. Universitas Katolik Musi Charitas. Palembang.
- Pratiwi, R. H. (2017). Mekanisme Pertahanan Bakteri Patogen Terhadap Antibiotik. *Jurnal Pro-Life*. 4 (3) : 418-428.
- Ramsey, K. (2011). *Klebsiella pneumoniae*. http://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Klebsiella_pneumoniae. Diakses 6 Juni 2022.
- Ruyra, A., Cano-Sarabia, M., García-Valtanan, P., Yero, D., Gibert, I., Mackenzie, S. A., Estepa, A., Maspocho, D., & Roher, N. (2014). Targeting and stimulation of the zebrafish (*Danio rerio*) innate immune system with LPS/dsRNA - loaded nanoliposomes. *Vaccine*. 32 (31) : 3955–3962. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2014.05.010>.
- Sari, M., & Nur Ridza, F. W. . (2021). Studi Ekologi Faktor Pejamu, Kondisi Fisik Hunian dan Pneumonia pada Balita Provinsi Jawa Barat Tahun 2014-2017. *Jurnal Kesmas Untika Luwuk : Public Health Journal*. 12(1) : 29-40. <https://doi.org/10.51888/phj.v12i1.54>
- Sarowska, J., Futoma-Koloch, B., Jama-Kmiecik, A., Frej-Madrzak, M., Ksiaczek, M., Bugla-Ploskonska, G., & Choroszy-Krol, I. (2019). Virulence factors, prevalence and potential transmission of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* isolated from different sources: recent reports. *Gut pathogens*. 11 (10) : 2-6. <https://doi.org/10.1186/s13099-019-0290-0>.

- Sharma, A. K., Dhasmana, N., Dubey, N., Kumar, N., Gangwal, A., Gupta, M., & Singh, Y. (2017). Bacterial Virulence Factors: Secreted for Survival. *Indian journal of microbiology*. 57(1) : 1–10. <https://doi.org/10.1007/s12088-016-0625-1>
- Singtripop, T., Wanichacheewa, Sakurai, S. (2000). Juvenile hormone-mediated termination of larval diapauses in the bamboo borer, *Omphisa fuscide*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*. 30 (8-9) : 847-854. [https://doi.org/10.1016/s0965-1748\(00\)00057-6](https://doi.org/10.1016/s0965-1748(00)00057-6)
- Tarina, N. T. I., & Kusuma, S. A. F. (2017). Deteksi Bakteri *Klebsiella pneumoniae*. *Farmaka*. 15 (2) : 119-126.
- Tsai, C. J., Mei, J., Loh, S., & Proft, T. (2016). *Galleria mellonella* infection models for the study of bacterial diseases and for antimicrobial drug testing. *Virulence*. 7(3) : 214–229. <https://doi.org/10.1080/21505594.2015.1135289>.
- WHO. (2019). Pneumonia. World Health Organization. <https://doi.org/http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/pneumonia->
- WHO. (2020). Pneumonia. <https://www.who.int/newsroom/fact-sheets/detail/pneumonia>.
- Zayinur R., M. Reza and Harahap, Moh. Sofyan. (2013). *Lama Hari Rawat Pasien Ventilator Associated Pneumonia Pada Pasien Dengan Ventilator Mekanik Di Icu Rsup Dr Kariadi*. Undergraduate thesis. Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro Semarang. Semarang.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Ulat

| Konsentrasi <i>K. pneumoniae</i> | Waktu | Kode Ulat | | | |
|----------------------------------|-------|-----------|----|----|----|
| | | HP | MP | MC | MH |
| Control | 12 | 10 | | | |
| | 24 | 10 | | | |
| | 36 | 10 | | | |
| | 48 | 10 | | | |
| | 60 | 10 | | | |
| | 72 | 10 | | | |
| 10 ⁴ (CFU/larva) | 12 | 9 | 1 | | |
| | 24 | 9 | 1 | | |
| | 36 | 9 | 1 | | |
| | 48 | 9 | 1 | | |
| | 60 | 8 | 1 | 1 | |
| | 72 | 8 | 1 | 1 | |
| 10 ⁵ (CFU/larva) | 12 | 7 | 3 | | |
| | 24 | 6 | 4 | | |
| | 36 | 5 | 5 | | |
| | 48 | 4 | 3 | 3 | |
| | 60 | 4 | 1 | 2 | 3 |
| | 72 | 4 | 1 | 2 | 3 |
| 10 ⁶ (CFU/larva) | 12 | 7 | 2 | | 1 |
| | 24 | 2 | 2 | 5 | 1 |
| | 36 | 2 | 2 | 3 | 3 |
| | 48 | 2 | 2 | 3 | 3 |
| | 60 | 2 | 2 | 3 | 3 |
| | 72 | 2 | 1 | 3 | 4 |

Lampiran 2. Uji Statistik

GraphPad Prism - (Project: Survival of Data 1)

File Edit View Insert Change Arrange Window Help

Prism File Sheet Undo Clipboard Analysis Interpret Change Draw Write Text Export Print Send Help

Open Prism Help
Enter search terms

Family
Data Tables
Data 1
Info
Project info 1
Results
Survival of Data 1
Survival proportions
of subjects at risk
Curve comparison
Data summary
Graphs
Data 1
Layouts

| Survival Curve comparison | |
|------------------------------|--|
| 1 | Comparison of Survival Curves |
| 2 | |
| 3 | Log-rank (Mantel-Cox) Test |
| 4 | Chi square 57.91 |
| 5 | df 3 |
| 6 | P value < 0.0001 |
| 7 | P value summary *** |
| 8 | Are the survival curves sig different? Yes |
| 9 | |
| 10 | Logrank test for trend |
| 11 | Chi square 56.30 |
| 12 | df 1 |
| 13 | P value < 0.0001 |
| 14 | P value summary *** |
| 15 | Sig. trend? Yes |
| 16 | |
| 17 | |
| 18 | |
| 19 | |
| 20 | |
| 21 | |
| 22 | |
| 23 | |
| 24 | |
| 25 | |
| 26 | |

Survival of Data 1 Curve comparison

Lampiran 3. Dokumentasi Kematian Ulat Bambu

Ulat Bambu Control Tidak Mengalami Kematian



12 Jam
Hidup Putih



24 Jam
Hidup Putih



36 Jam
Hidup Putih



48 Jam
Hidup Putih



60 Jam
Hidup Putih



72 Jam
Hidup Putih

Ulat Bambu Konsentrasi 10^4 CFU/larva



12 Jam
Mati Putih



24 Jam
Mati Putih



36 Jam
Mati Putih



48 Jam
Mati Putih



60 Jam
1 Mati Putih, 1 Mati
Coklat



72 Jam
1 Mati Putih, 1 Mati
Coklat

Ulat Bambu Konsentrasi 10^5 CFU/larva



12 Jam
4 Mati Putih



24 Jam
4 Mati Putih



36 Jam
5 Mati Putih



48 Jam
3 Mati Putih, 3 Mati
Coklat



60 Jam
3 Mati Putih, 3 Mati
Coklat



72 Jam
3 Mati Putih, 3 Mati
Coklat

Ulat Bambu Konsentrasi 10^6 CFU/larva



12 Jam
2 Mati Putih, 1 Mati Hitam



24 Jam
2 Mati Putih, 5 Mati Coklat, 1 Mati Hitam



36 Jam
2 Mati Putih, 3 Mati Coklat, 3 Mati Hitam



48 Jam
2 Mati Putih, 3 Mati Coklat, 3 Mati Hitam



60Jam
2 Mati Putih, 3 Mati Coklat, 3 Mati Hitam



72 Jam
1 Mati Putih, 3 Mati Coklat, 4 Mati Hitam

Lampiran 4. Dokumentasi Kegiatan



Penanaman Isolat *Klebsiella pneumoniae* pada media Endo



Pemilihan Ulat Bambu



Penyuntikan Ulat Bambu



Lampiran 5. Log Bimbingan



MP-AKDK-24/F1
No. Revisi 0.0

**LEMBAR KONSULTASI TUGAS AKHIR
PRODI DIII TLM**

Nama Mahasiswa : Vega Aulia Romadhana
Judul : Uji kemampuan virulensi *Klebsiella pneumonia*
pada sampel sputum terhadap ulat bamboo
(*Omphisa fuscidentalis*)

Dosen Pembimbing: Maulin Ingraini, M.Si

| No | Hari/ Tanggal | Topik | Masukan | Paraf | |
|-----|---------------------|------------------------------|--------------------------------------|-----------|------------|
| | | | | Mahasiswa | Pembimbing |
| 1. | Jumat 16 Sept 22 | Diskusi Judul Penelitian | judul penelitian lebih baik | Aulia | Maulin |
| 2. | Jumat 23 Sept 22 | Pembahasan kel bakteri | pembahasan kel mjd 2 kel | Aulia | Maulin |
| 3. | Selasa 1 nov 22 | Konsultasi Judul | Perubahan Judul proposal | Aulia | Maulin |
| 4. | Rabu 3 nov 22 | Bimbingan Bab 1 | menambahkan masalah, dampak | Aulia | Maulin |
| 5. | Jumat 18 nov 22 | Bimbingan Bab 1 | Bagian latar belakang kubah sitasi | Aulia | Maulin |
| 6. | Rabu 25 nov 22 | Bimbingan BAB 2 | Tambahkan sitasi | Aulia | Maulin |
| 7. | Jumat 16 des 22 | Bimbingan BAB 4 metode kerja | Tambahkan standar paola metode kerja | Aulia | Maulin |
| 8. | Jumat 30 des 22 | Revisi proposal KTI | Sistematika penulisan | Aulia | Maulin |
| 9. | Jumat 24 des 22 | Revisi proposal KTI | sistematika penulisan | Aulia | Maulin |
| 10. | Senin 10 Apr 23 | Bimbingan BAB 4 | sistematika penulisan | Aulia | Maulin |
| 11. | Senin 5 Apr 23 | revisi KTI dan hari | membuat tabel kematian ulat | Aulia | Maulin |
| 12. | Selasa 6 JUNI 23 | Revisi KTI hari pembatasan | menambahkan definisi BA | Aulia | Maulin |

