

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Identifikasi *Candida albicans*

Dari hasil kultur, diperoleh mikroba dengan koloni lunak berwarna krem berbau ragi yang merupakan morfologi koloni *Candida albicans* (lihat Gambar 5.1). Setelah dilakukan pewarnaan Gram pada koloni ini, terlihat sel yang berwarna violet tua pada perbesaran 1000x. Warna biru tua mengindikasikan sel yang terwarnai adalah fungi atau bakteri Gram positif (lihat Gambar 5.2). Hasil tes *germ tube* pada perbesaran 1000x dengan bantuan minyak emersi menunjukkan adanya pseudohifa yang merupakan ciri khas *Candida albicans* (lihat Gambar 5.3).



Gambar 5.1 Morfologi Koloni *Candida albicans*

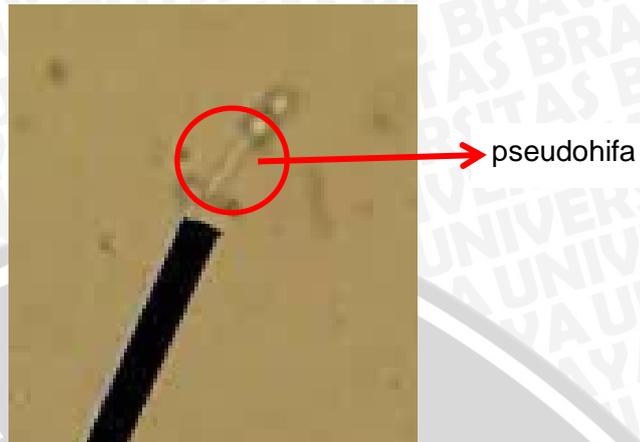
Keterangan: Koloni *Candida albicans* yang ditumbuhkan di *Sabouraud Dextrose Agar* berwarna krem, lunak, dan berbau ragi.



→ Budding cell

Gambar 5.2 Pewarnaan Gram *Candida albicans*

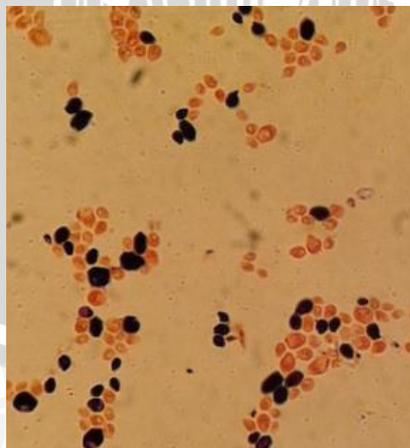
Keterangan: *Budding cell* yang berwarna ungu tua adalah fungi.



Gambar 5.3 Pseudohifa *Candida albicans* dengan tes *Germ-tube*
Keterangan: Sel *Candida albicans* memiliki pseudohifa sebagai ciri khasnya.

5.2 Hasil Isolasi Dinding Sel *Candida albicans*

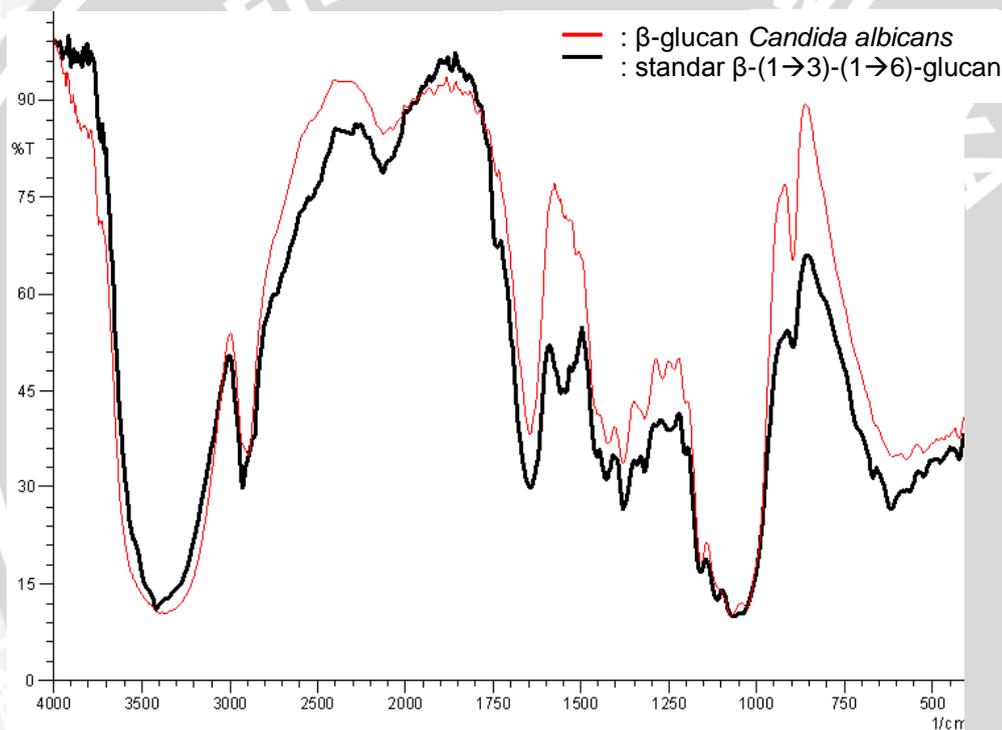
Candida albicans dilisiskan dinding selnya dengan menggunakan *homogenizer*. Untuk mengonfirmasi dinding sel *Candida albicans* telah lisis, sel diamati di bawah mikroskop perbesaran 1000x menggunakan minyak emersi setelah dilakukan pewarnaan Gram (lihat Gambar 5.4) untuk mengkonfirmasi. Dinding sel *Candida albicans* yang diperoleh kemudian diekstraksi dengan metode *alkaline-acidic* sehingga diperoleh β -glukan *Candida albicans* kering.



Gambar 5.4 Sel *Candida albicans* setelah dilisiskan
Keterangan: Sel yang telah lisis akan berwarna merah karena dinding selnya tidak lagi utuh.

5.3 Hasil Identifikasi β -glucan *Candida albicans* Menggunakan FTIR

Identifikasi kandungan β -glucan *Candida albicans* dilakukan dengan FTIR. Hasil identifikasi ini adalah spektra standar β -(1 \rightarrow 3)-(1 \rightarrow 6)-glucan dan spektra β -glucan *Candida albicans*. Kedua spektra tersebut memiliki gambaran yang serupa dengan vibrasi β -(1 \rightarrow 3)-(1 \rightarrow 6)-glucan {891 cm^{-1} (Kripan *et al.*, 2010)} yaitu pada panjang gelombang 884,91 cm^{-1} sebagai penanda bahwa kedua spektra tersebut dihasilkan dari molekul β -glucan (lihat Gambar 5.5).



Gambar 5.5 Identifikasi Kualitatif FTIR β -glucan *Candida albicans*

Keterangan: Garis merah menunjukkan spektra sampel β -glucan *Candida albicans*, garis hitam menunjukkan spektra standar β -(1 \rightarrow 3)-(1 \rightarrow 6)-glucan. Spektra standar β -glucan dan dinding sel *Candida albicans* serupa. Hal ini menunjukkan bahwa dinding sel *Candida albicans* mengandung β -glucan.

5.4 Hasil Identifikasi *Salmonella* Typhimurium

Sebelum *Salmonella* Typhimurium yang diperoleh dari Laboratorium Agroteknologi Universitas Gadjah Mada dipakai untuk induksi demam tifoid pada

mencit, dilakukan identifikasi ulang menggunakan sistem *Microbact* di Laboratorium Mikrobiologi FKUB. Dari identifikasi tersebut, diketahui bahwa bakteri yang akan dipakai untuk induksi demam tifoid pada mencit adalah spesies *Salmonella* (lihat Gambar 5.6). Sertifikat indentifikasi *Salmonella* Typhimurium dari Universitas Gadjah Mada dapat dilihat di Lampiran 1.

The image shows a Microbact GNB 12A/B/E, 24E identification kit result card. The card is divided into sections for GNB 12A/12E and GNB 12B. The results are as follows:

Result / Resultado / Ergebnis / Risultat / Risultato / Risultat / Risultat / Risultado / Amortézajua	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	
	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-														
	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	4
Sum / Suma / Summe / Somme / Somma / Sum / Summa / Soma / Σπορζα				7			7			0			2															

Handwritten notes on the card include "Strain 7097e" in the top right and "Salmonella sp. 87.457" in the bottom right.

Gambar 5.6 Identifikasi Bakteri dengan Sistem *Microbact*

Keterangan: Hasil identifikasi dengan sistem *Microbact* menunjukkan bakteri merupakan spesies *Salmonella*.

5.5 Hasil Uji Sensitivitas Siprofloksasin

Pada penelitian ini, antibiotik yang digunakan sebagai pembanding efek anti demam tifoid β -glucan adalah siprofloksasin. Untuk mengetahui bahwa siprofloksasin tidak resisten terhadap *Salmonella* Typhimurium, maka dilakukan uji sensitivitas antibiotik. Uji sensitivitas ini dilakukan secara *in vitro* yaitu dengan *disk diffusion test*. Sesudah tes selesai dilakukan, diperoleh data berupa zona inhibisi siprofloksasin adalah 31 mm (lihat Gambar 5.7) Menurut kriteria *Clinical laboratory standard institute* (CLSI), bakteri gram negatif dikatakan sensitif terhadap siprofloksasin apabila diameter zona inhibisinya lebih dari 21 mm, intermediet bila zona inhibisinya 16-20 mm, dan resisten bila zona inhibisinya



kurang dari 15 mm sehingga disimpulkan bahwa siprofloksasin pada penelitian ini sensitif terhadap *Salmonella Typhimurium* (Acharya *et al.*, 2012).



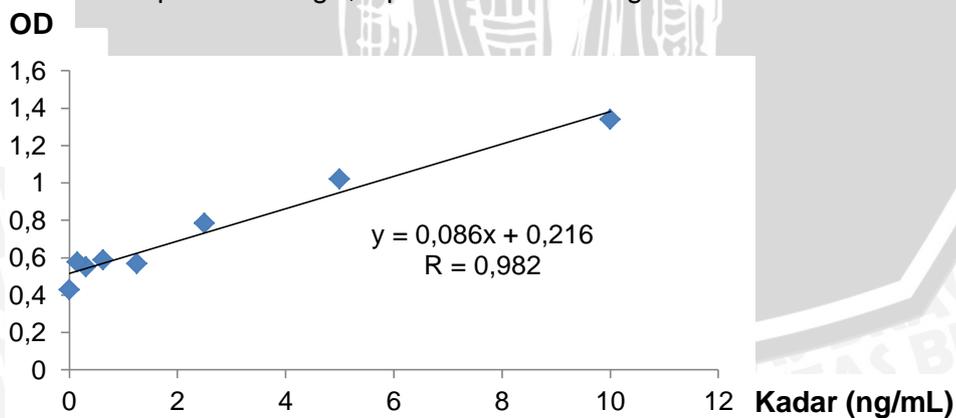
Gambar 5.7 Disk Diffusion Test Siprofloksasin

Keterangan: zona inhibisi bakteri sebesar 31 mm oleh siprofloksasin.

5.6 Hasil Pengukuran Kadar slgA dengan ELISA

5.6.1 Pembuatan Kurva Standar slgA

Pengukuran kadar slgA diawali dengan membuat kurva standar slgA untuk mengetahui hubungan antara OD (*optical densitometry*) hasil pengukuran terhadap kadar slgA saat dilakukan ELISA. Dari pengukuran terhadap standar slgA, diperoleh hasil sebagai berikut



Gambar 5.8 Kurva Standar slgA

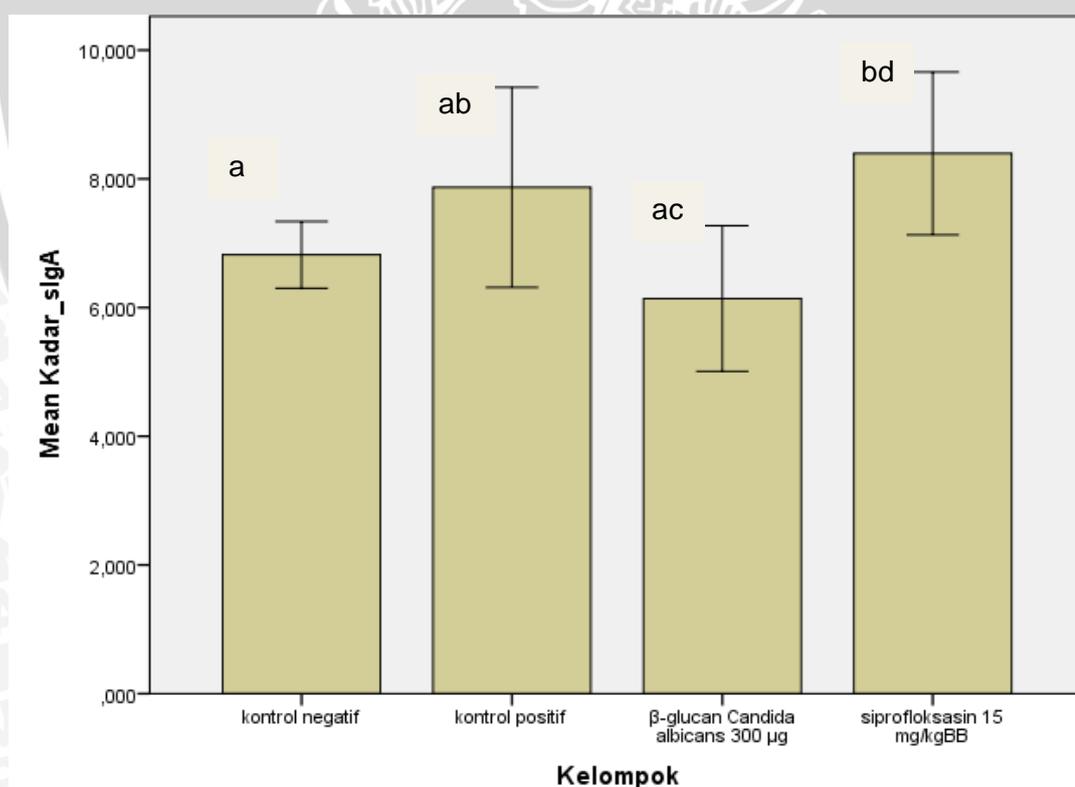
Keterangan: Gambar di atas menunjukkan kurva persamaan regresi linear hubungan OD terhadap kadar slgA standar yang linear (R mendekati 1).

5.6.2 Pengukuran Kadar sIgA pada Usus Halus Mencit

Dari kurva standar, diperoleh persamaan regresi linear hubungan OD terhadap kadar sIgA ialah $y = 0,086x + 0,216$. Persamaan tersebut akan digunakan untuk menerjemahkan OD pengukuran sIgA usus halus mencit menjadi kadar (lihat lampiran 2). Data kadar sIgA pada tiap kelompok dihitung reratanya. Rerata kadar sIgA pada mencit kelompok kontrol dan perlakuan adalah sebagai berikut.

Tabel 5.1 Rerata Kadar sIgA Usus Halus Mencit

Kelompok	Kadar sIgA ± SD (ng/mL)
Kontrol negatif	6,819 ± 0,519 ^a
Kontrol positif	7,869 ± 1,555 ^{ab}
β-glucan <i>Candida albicans</i> 300 µg/hari	6,139 ± 1,131 ^{ac}
Siprofloksasin 15 mg/kg BB 2dd1	8,394 ± 1,264 ^{bd}



Gambar 5.9 Kadar sIgA Usus Halus Mencit

Keterangan: Notasi huruf yang berbeda menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna.

Tabel 5.2 Data Median, Nilai Maksimum, dan Nilai Minimum slgA Usus Halus Mencit

Kelompok	Median slgA \pm SD (Min-Max)
Kontrol negatif	6,739 (6,093-7,767)
Kontrol positif	7,256 (6,233-10,116)
β -glucan <i>Candida albicans</i> 300 μ g/hari	6,006 (4,569-7,953)
Siprofloksasin 15 mg/kg BB 2dd1	8,739 (6,267-10,000)

Data hasil pengukuran yang disajikan pada Tabel 5.3 dan Gambar 5.6 menunjukkan kadar slgA dari tertinggi ke terendah ialah kelompok siprofloksasin 15 mg/kgBB, kontrol positif, kontrol negatif, dan β -glucan *Candida albicans* 300 μ g.

Analisis data dilakukan dengan terlebih dahulu menghitung normalitas data. Setelah dilakukan uji normalitas data metode Shapiro-Wilk, diketahui bahwa data tersebar normal ($p > 0,050$). Selanjutnya, data diuji homogenitasnya dengan metode statistik *Lavene*. Dari uji homogenitas tersebut, data tidak homogen ($p = 0,038$). Karenanya, dilakukan uji non-parametrik dengan metode Kruskal-Wallis. Berdasarkan uji Kruskal-Wallis diperoleh hasil bahwa pada kelompok data yang diuji terdapat perbedaan signifikan ($p = 0,017$). Untuk mengetahui kelompok data yang memberi perbedaan signifikan dan tidak, dilakukan uji *post-hoc* Mann-Whitney. Setelah dilakukan uji *post-hoc* Mann-Whitney diketahui bahwa perbedaan kelompok data secara signifikan diperoleh dari kelompok kontrol negatif terhadap kelompok pemberian siprofloksasin 15 mg/kgBB ($p = 0,036$), kelompok kontrol positif terhadap kelompok β -glucan *Candida albicans* 300 μ g ($p = 0,036$), dan kelompok β -glucan *Candida albicans* 300 μ g terhadap kelompok siprofloksasin 15 mg/kg BB/hari ($p = 0,006$). Kelompok data yang tidak memberi perbedaan

signifikan adalah kelompok kontrol negatif terhadap kelompok β -glucan *Candida albicans* 300 μg ($p = 0,172$), kontrol positif terhadap kelompok kontrol negatif ($p = 0,189$), dan kelompok kontrol positif terhadap kelompok siprofloksasin 15 mg/kgBB (yaitu $p = 0,600$).

Nilai median data kontrol negatif adalah 6,738 pg/mL; kontrol positif 7,256 pg/mL; β -glucan *Candida albicans* 300 μg 6,006 pg/mL; dan siprofloksasin 15 mg/kgBB 8,379 pg/mL. Nilai minimum data kontrol negatif adalah 6,093 pg/mL, kontrol positif 6,233 pg/mL; β -glucan *Candida albicans* 300 μg 4,569 pg/mL; dan siprofloksasin 15 mg/kgBB 6,267 pg/mL. Nilai maksimum data kontrol negatif adalah 7,767 pg/mL; kontrol positif 10,116 pg/mL; β -glucan *Candida albicans* 300 μg 7,953 pg/mL; dan siprofloksasin 15 mg/kgBB 10,000 pg/mL.

5.7 Hasil Perhitungan Koloni *Salmonella* Typhimurium pada Usus Mencit

Pada pengamatan parameter kolonisasi *Salmonella* Typhimurium, hanya diukur data kelompok kontrol positif, kelompok *Candida albicans* 300 μg , dan kelompok siprofloksasin 15 mg/kgBB. Tidak dilakukan pengukuran koloni *Salmonella* Typhimurium kelompok kontrol negatif karena diasumsikan pada kelompok kontrol negatif tidak terdapat bakteri *Salmonella* Typhimurium yang bukan flora normal usus halus mencit. Untuk alasan efisiensi bahan, tidak dilakukan kultur dari jaringan usus halus mencit kelompok kontrol negatif.

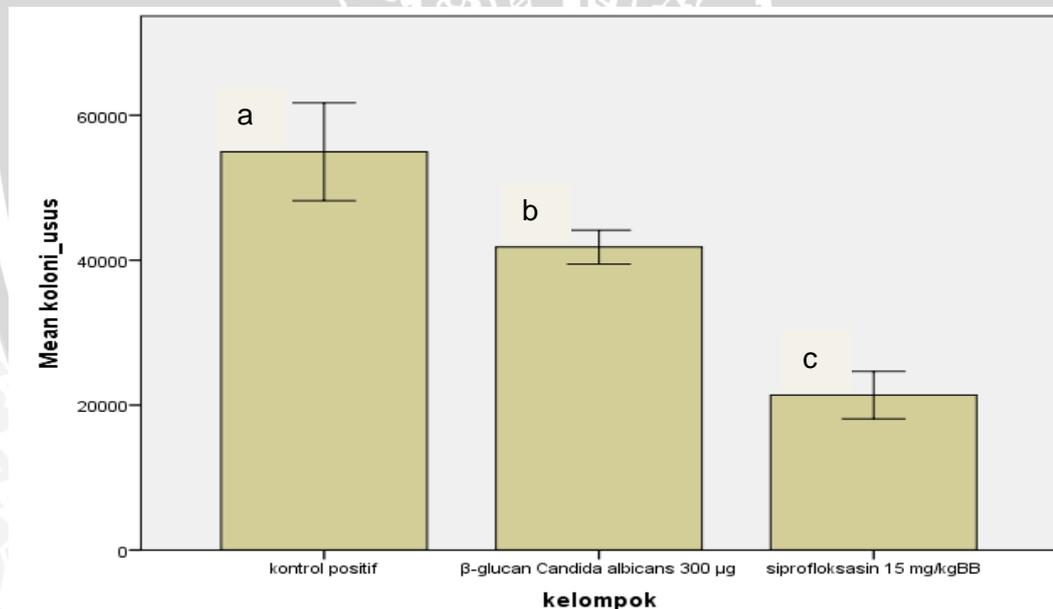
Awalnya, Jaringan usus halus mencit dibuat homogenat yang ditanam pada medium BSA. *Salmonella* Typhimurium yang tumbuh sebagai koloni *black jet* yang pada medium dihitung menggunakan *colony counter*. Setelah dilakukan

perhitungan koloni bakteri tersebut, diperoleh data jumlah koloni bakteri (lihat Lampiran 3) dengan rerata sebagai berikut.

Tabel 5.3 Rerata Jumlah Koloni *Salmonella* Typhimurium Usus Halus Mencit

Kelompok	Jumlah koloni \pm SD (CFU/g usus)
Kontrol positif	54.957 \pm 6.761 ^a
β -glucan <i>Candida albicans</i> 300 μ g/hari	41.813 \pm 2.340 ^b
Siprofloksasin 15 mg/kg BB 2dd1	21.384 \pm 3.279 ^c

Data yang disajikan pada Tabel 5.4 dan Gambar 5.9 menunjukkan bahwa koloni *Salmonella* Typhimurium pada usus halus mencit dari kelompok yang terbanyak adalah kelompok kontrol positif, kelompok β -glucan *Candida albicans* 300 μ g, dan kelompok siprofloksasin 15 mg/kgBB.



Gambar 5.10 Jumlah Koloni *Salmonella* Typhimurium pada Usus Halus Mencit

Keterangan: Notasi huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan bermakna.

Analisis data dilakukan dengan terlebih dahulu menghitung normalitas data. Setelah dilakukan uji normalitas data menggunakan metode Shapiro-Wilk, diketahui bahwa data tersebar normal ($p > 0,050$). Selanjutnya, data diuji homogenitasnya dengan metode Lavene *statistic*. Dari uji homogenitas tersebut,

data homogen ($p = 0,051$). Karenanya, dilakukan uji parametrik dengan metode *Oneway* ANOVA. Berdasarkan uji *Oneway* ANOVA diperoleh hasil bahwa pada kelompok data yang diuji terdapat perbedaan signifikan ($p = 0,000$). Untuk mengetahui kelompok data yang memberi perbedaan signifikan dan tidak, dilakukan uji *post-hoc* Tukey HSD. Setelah dilakukan uji *post-hoc* Tukey HSD diketahui bahwa semua kelompok data memberikan perbedaan signifikan. Kelompok kontrol positif memberi perbedaan signifikan terhadap kelompok β -glucan *Candida albicans* 300 μg ($p = 0,000$) dan kelompok siprofloksasin 15 mg/kgBB ($p = 0,000$). Kelompok β -glucan *Candida albicans* 300 μg memberi perbedaan signifikan terhadap kelompok siprofloksasin 15 mg/kgBB ($p = 0,000$).

