

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Penelitian

5.1.1 Hasil Ekstraksi Kelopak Bunga Rosela (*Hibiscus sabdariffa* L.)

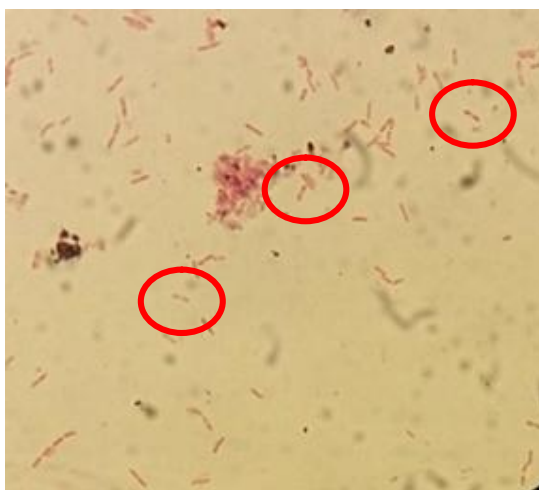
Kelopak bunga rosela yang telah dipotong dan dihaluskan menjadi bentuk serbuk ditimbang sebanyak 200 gram dan direndam dengan pelarut etanol 96% sebanyak 1800 mL. Campuran lalu dikocok selama 30 menit dan direndam selama satu malam sampai mengendap. Lapisan atas yang merupakan campuran pelarut dan zat aktif dimasukkan pada labu evaporasi. Suhu *water bath* yang diisi air diatur hingga 90°C (titik didih pelarut). Seluruh rangkaian lalu dipasang pada *rotary evaporator* dan disambungkan dengan aliran listrik. Pelarut yang menguap akan terpisah dari zat aktif dan ditampung pada labu penampung selama kurang lebih dua jam. Sisa pelarut tersebut diekstrakkan kembali sebanyak tiga kali. Didapatkan hasil ekstraksi kira-kira seperlima dari bahan alam kering (36 gram).

5.1.2 Hasil Identifikasi Bakteri

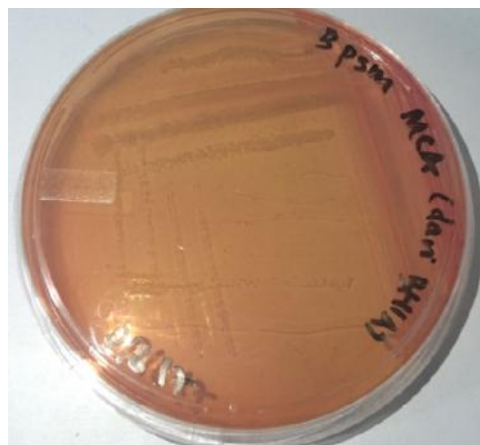
Bakteri *Burkholderia pseudomallei* diidentifikasi menggunakan pewarnaan Gram, kultur pada *MacConkey* dan *Ashdown*, uji oksidasi, serta *Latex Agglutination Test* (LAT). Pengamatan hasil pewarnaan Gram dengan pebesaran 1000 kali di bawah mikroskop menunjukkan bakteri berbentuk batang dan berwarna merah (Gram negatif), dengan susunan sebagian tunggal dan sebagian yang lain berantai. Bakteri juga memperlihatkan gambaran bipolar

seperti peniti (“*safety pin*” *appearance*). Hasil pewarnaan Gram dapat diamati pada Gambar 5.1.

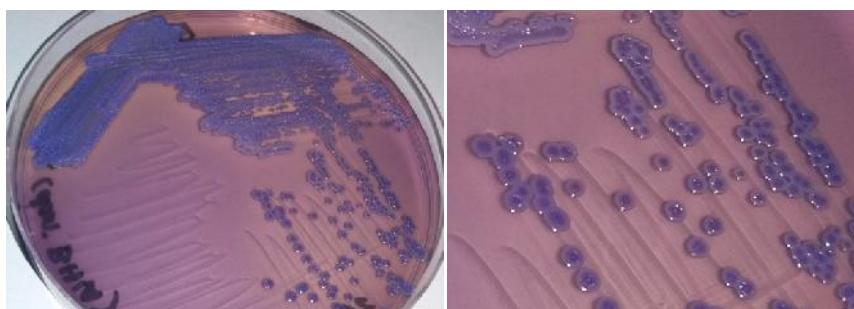
Pembiakan pada agar *MacConkey* selama 24 jam menghasilkan koloni tidak berwarna, yang menunjukkan tidak adanya fermentasi laktosa (Gambar 5.2). Hasil biakan pada medium *Ashdown* selama 48 jam menunjukkan koloni berwarna ungu dan berkerut dengan gambaran khas “*cornflower head*” *appearance* (Gambar 5.3). Tes oksidase menghasilkan perubahan warna strip dari putih menjadi ungu dalam waktu kurang dari 10 detik (Gambar 5.4). Uji LAT spesifik *B. pseudomallei* menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan terjadinya aglutinasi terhadap reagen lateks dibandingkan dengan bakteri lain (*Escherichia coli*) dan kontrol negatif (Gambar 5.5). Rangkaian identifikasi diatas membuktikan bahwa bakteri tersebut merupakan *Burkholderia pseudomallei*.



Gambar 5.1 Pewarnaan Gram bakteri *Burkholderia pseudomallei*. Bagian dengan lingkaran merah menunjukkan *safety pin appearance*.



Gambar 5.2 Koloni *Burkholderia pseudomallei* pada agar MacConkey



Gambar 5.3 Koloni *Burkholderia pseudomallei* pada medium Ashdown dengan *cornflower head appearance*



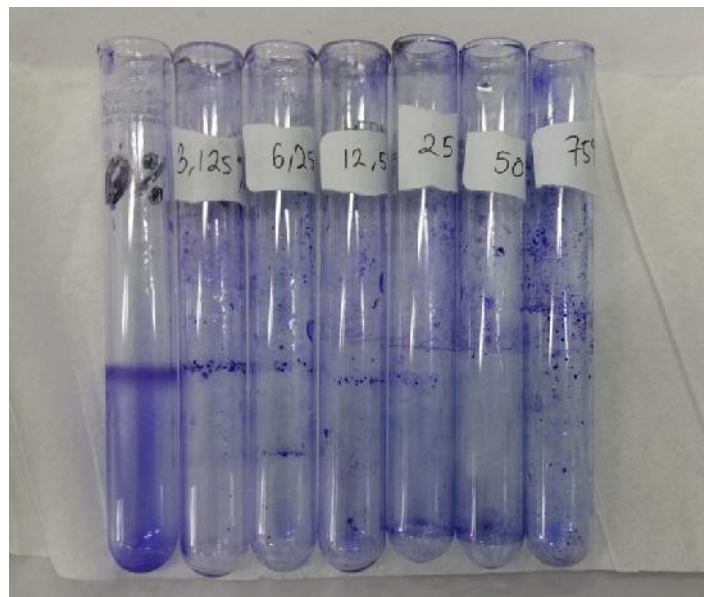
Gambar 5.4 Hasil tes oksidase *Burkholderia pseudomallei*



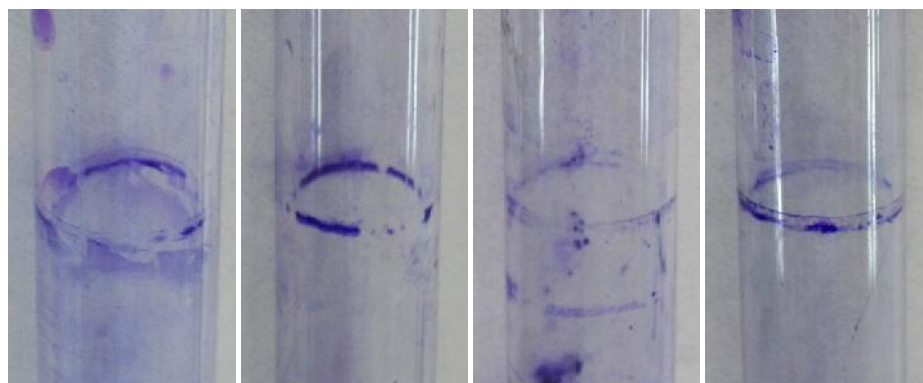
Gambar 5.5 Identifikasi *Burkholderia pseudomallei* (panah kuning) dibandingkan dengan bakteri *Escherichia coli* dan kontrol negatif.

5.1.3 Hasil Uji Hambat Pembentukan Biofilm

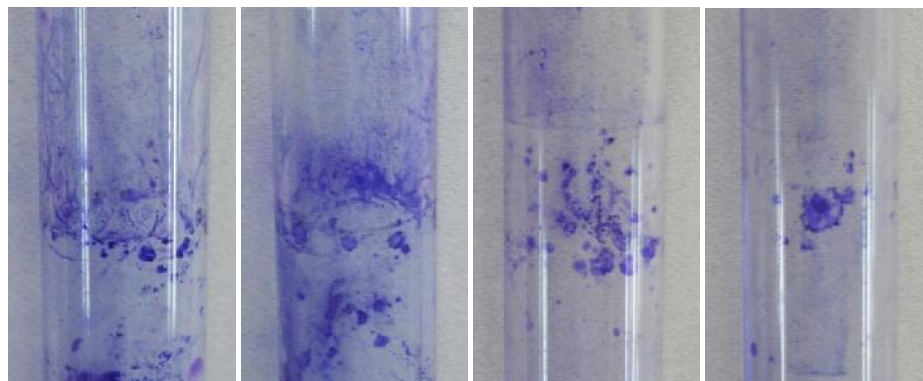
Untuk menentukan konsentrasi yang akan digunakan, sebelumnya dilakukan penelitian pendahuluan menggunakan ekstrak dengan konsentrasi 0%, 3,125%, 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, dan 75% yang kemudian dicampur dengan suspensi bakteri. Dari hasil penelitian pendahuluan tersebut ditentukan konsentrasi yang memiliki daya hambat paling efektif sebagai konsentrasi ekstrak yang akan dipakai pada penelitian inti.



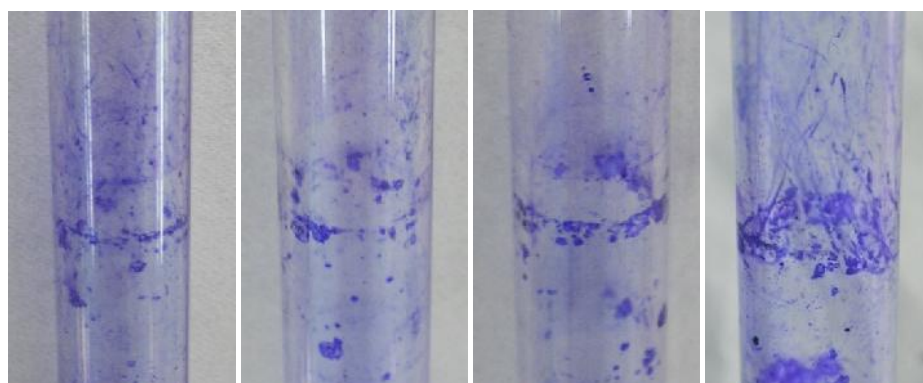
Gambar 5.6 Hasil penelitian pendahuluan uji hambat pembentukan biofilm ekstrak kelopak bunga rosela terhadap pembentukan biofilm oleh *Burkholderia pseudomallei*



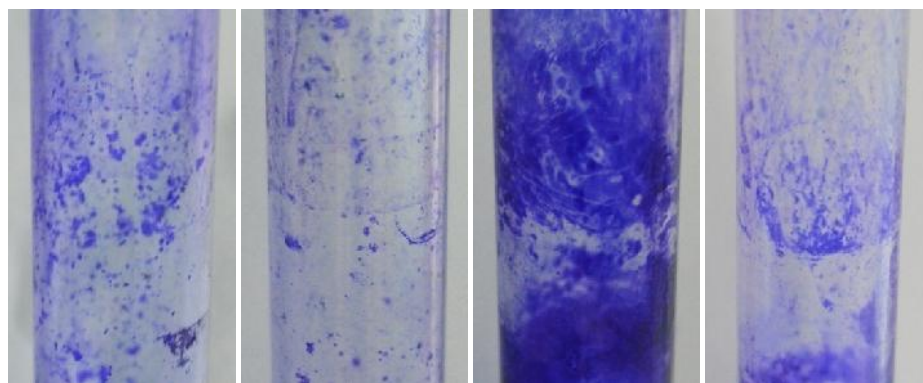
Gambar 5.7 Hasil penelitian inti uji hambat pembentukan biofilm pada konsentrasi 0%



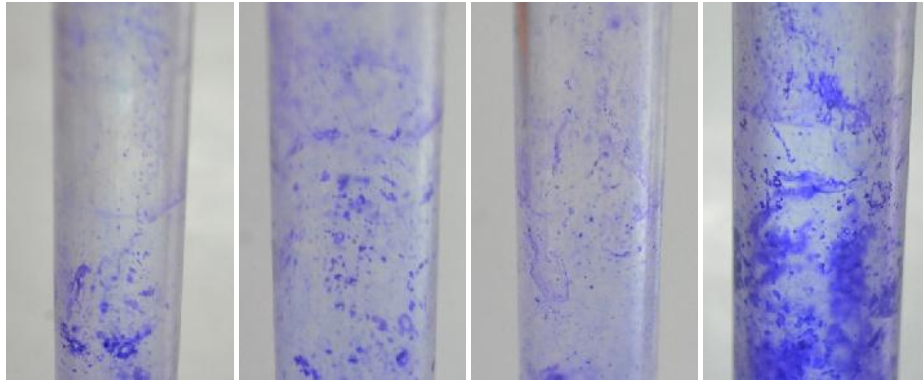
Gambar 5.8 Hasil penelitian inti uji hambat pembentukan biofilm pada konsentrasi 10%



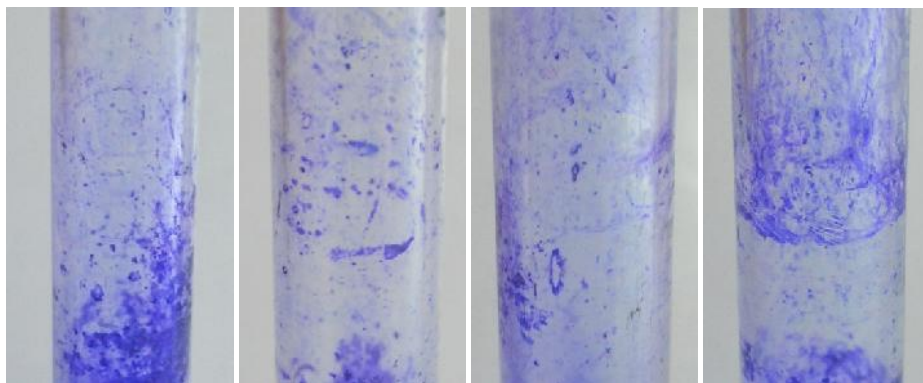
Gambar 5.9 Hasil penelitian inti uji hambat pembentukan biofilm pada konsentrasi 20%



Gambar 5.10 Hasil penelitian inti uji hambat pembentukan biofilm pada konsentrasi 30%



Gambar 5.11 Hasil penelitian inti uji hambat pembentukan biofilm pada konsentrasi 40%



Gambar 5.12 Hasil penelitian inti uji hambat pembentukan biofilm pada konsentrasi 50%

**Tabel 5.1 Hasil Pengamatan Visual Uji Hambat Pembentukan Biofilm
Penelitian Inti**

Pengulangan	Konsentrasi					
	0%	10%	20%	30%	40%	50%
1	+++	++	++	++	-	-
2	+++	++	++	+	-	+
3	++	++	++	+++	-	-
4	+++	++	++	++	+	+

Keterangan:

- = tidak terlihat

+ = intensitas warna rendah

++ = intensitas warna sedang

+++ = intensitas warna tinggi

Pengamatan visual dilanjutkan dengan pengamatan secara kuantitatif untuk menilai intensitas warna pada masing-masing tabung yang terbentuk biofilm. Pengukuran dilakukan dengan menggunakan program aplikasi *Adobe Photoshop CS6* dengan mencari *Mean Gray Value* yang dinyatakan dalam skala 0 – 255. Hasil pengukuran dapat dilihat pada Tabel 5.2 dan Gambar 5.13.

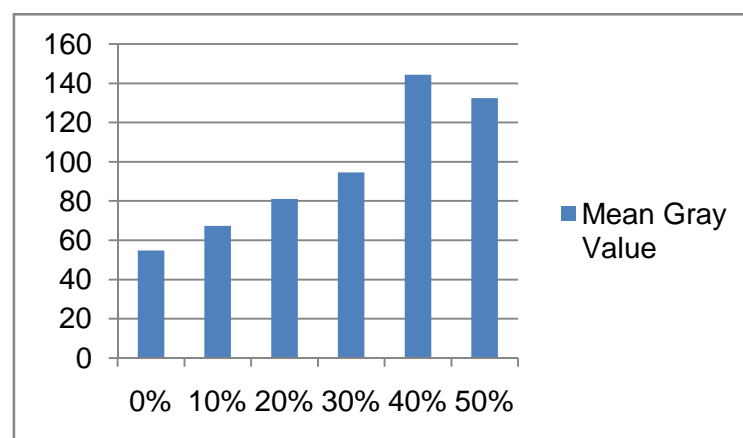
Tabel 5.2 Hasil Pengukuran Intensitas Warna Biofilm (*Mean Gray Value*) Penelitian Pendahuluan

Konsentrasi	0%	3,125%	6,25%	12,5%	25%	50%	75%	Kontrol tabung
MGV	66,57	82,76	101,29	95,77	97,63	112,17	106,00	141,71

Tabel 5.3 Hasil Pengukuran Intensitas Warna Biofilm (*Mean Gray Value*) Penelitian Inti

Konsentrasi	Penelitian				Mean \pm SD
	I	II	III	IV	
0%	57,61	46,48	71,13	44,03	54,81 \pm 12,38
10%	64,29	67,79	69,99	67,61	67,42 \pm 2,35
20%	75,16	82,36	81,15	85,84	81,13 \pm 4,45
30%	94,56	115,68	61,79	106,1	94,53 \pm 23,47
40%	160,83	131,79	138,27	146,65	144,39 \pm 12,58*
50%	143,08	115,32	151,58	119,57	132,39 \pm 17,68
Kontrol Tabung					152,63 \pm 8,09

Ket *) Kadar Hambat Biofilm Minimal



Gambar 5.13 Grafik hasil pengukuran *Mean Gray Value* penelitian inti

5.2 Analisis Data

5.2.1 Uji Normalitas dan Homogenitas

Uji normalitas dan homogenitas diperlukan sebagai syarat untuk melakukan Uji *One Way* ANOVA. Dari hasil *Test of Normality* menunjukkan nilai signifikansi untuk *Mean Gray Value* adalah 0.162 (uji Kolmogorov-Smirnov, $p > 0.05$), yang artinya data terdistribusi normal. Hasil *Test of Homogeneity of Variance* menggunakan *Levene Test* menunjukkan nilai signifikansi 0.115 (syarat terpenuhi bila $p > 0.05$), yang artinya data tersebut memiliki varian sama (homogen).

5.2.2 Uji *One Way* ANOVA

Uji *One Way* ANOVA diperlukan untuk mengevaluasi apakah terdapat perbedaan *Mean Gray Value* yang signifikan antarkelompok. Dari hasil uji tersebut didapatkan nilai signifikansi 0.001 ($p < 0.05$), menunjukkan adanya perbedaan *Mean Gray Value* yang signifikan antarkelompok. Rincian hasil dapat dilihat dalam Lampiran 2.

5.2.3 Uji *Post Hoc*

Analisis mengenai perbedaan dari masing-masing kelompok data dapat diketahui dalam *Post Hoc Multiple Comparison Test* dengan metode Uji *Tukey HSD* (Lampiran 2). Pada uji tersebut, suatu data dikatakan berbeda secara signifikan apabila nilai signifikansi $< 0,05$ pada interval kepercayaan 95%. Adapun penjelasan hasil dari *Post Hoc Multiple Comparison Test* dapat diamati pada Tabel 5.4.

Kelompok data yang pertama adalah perlakuan dengan konsentrasi 0% (kontrol bakteri). Didapatkan hasil *Mean Gray Value* yang signifikan terhadap konsentrasi 30%, 40%, dan 50% ($p < 0.05$), namun tidak ditemukan perbedaan

yang signifikan terhadap konsentrasi 10% dan 20%. Kelompok data kedua merupakan perlakuan dengan konsentrasi 10%. Hasil menunjukkan terdapatnya perbedaan yang signifikan terhadap konsentrasi 40% dan 50%, tetapi tidak ada perbedaan yang signifikan terhadap konsentrasi 0%, 20%, dan 30%.

Kelompok data ketiga adalah perlakuan dengan konsentrasi 20%. Terdapat perbedaan yang signifikan terhadap konsentrasi 40% dan 50%, namun tidak pada konsentrasi 0%, 10%, dan 30%. Pada kelompok data keempat, yaitu perlakuan dengan konsentrasi 30%, didapat hasil yang signifikan terhadap konsentrasi 0%, 40%, dan 50%, tetapi tidak ada perbedaan bermakna terhadap konsentrasi 10% dan 20%. Kelompok data kelima yang merupakan perlakuan dengan konsentrasi 40% menunjukkan perbedaan bermakna terhadap semua kelompok data kecuali konsentrasi 50%. Terakhir, pada kelompok data keenam, yaitu perlakuan dengan konsentrasi 50%, terdapat perbedaan bermakna terhadap semua kelompok data kecuali konsentrasi 40%.

Tabel 5.4 Hasil *Post Hoc Multiple Comparison Test*

	0%	10%	20%	30%	40%	50%
0%		-	-	+	+	+
10%	-		-	-	+	+
20%	-	-		-	+	+
30%	+	-	-		+	+
40%	+	+	+	+		-
50%	+	+	+	+	-	

Keterangan:

+ : signifikan ($p < 0.05$)

- : tidak signifikan ($p > 0.05$)

5.2.4 Uji Korelasi *Pearson*

Derajat hubungan antara peningkatan konsentrasi ekstrak kelopak bunga rosela dan *Mean Gray Value* dapat dihitung dengan Uji Korelasi *Pearson*. Hasil analisis Uji Korelasi *Pearson* dapat dilihat dalam Lampiran 2. Untuk menginterpretasi nilai korelasi maka digunakan klasifikasi sebagai berikut. Batasan nilai korelasi adalah -1 hingga +1. Tanda negatif (-) menunjukkan arah hubungan antara dua variabel adalah berbanding terbalik, yang artinya semakin naiknya nilai variabel independen, maka nilai variabel dependen semakin turun. Sementara tanda positif (+) menyatakan arah hubungan antara dua variabel berbanding lurus, yakni kenaikan nilai variabel independen juga diikuti dengan kenaikan nilai variabel dependen.

Tabel 5.5 Koefisien Korelasi

Nilai Korelasi	Tingkat Hubungan
0.00 – 0.199	Sangat rendah
0.20 – 0.399	Rendah
0.40 – 0.599	Sedang
0.60 – 0.799	Kuat
0.80 – 1.00	Sangat kuat

(Sugiyono, 2008)

Dari Uji Korelasi *Pearson* didapatkan hasil sebagai berikut:

1. Angka korelasi (r) = 0.885, yang artinya terdapat korelasi sangat kuat antara konsentrasi ekstrak kelopak bunga rosela dengan *Mean Gray Value*.
2. Tanda angka korelasi positif (+) atau arah korelasi berbanding lurus. Artinya semakin tinggi konsentrasi ekstrak kelopak bunga rosela, maka

semakin tinggi pula *Mean Gray Value* yang diperoleh, atau dengan kata lain cincin biofilm yang terbentuk semakin tipis.

3. Diperoleh nilai signifikansi 0.001, sehingga terdapat korelasi yang signifikan ($p < 0.05$) antara konsentrasi ekstrak kelopak bunga rosela dengan *Mean Gray Value*.

5.2.5 Uji Regresi

Uji regresi dilakukan untuk mengetahui seberapa besar pengaruh dari variabel bebas (independen) terhadap variabel terikat (dependen). Untuk mengetahui hal tersebut, diperlukan nilai koefisien determinasi (R^2 atau *R square*). Syarat dalam penggunaan nilai *R square* adalah hasil uji F bernilai signifikan ($p < 0.05$). Dari hasil analisis yang terdapat pada Lampiran 2, maka persamaan regresinya adalah:

$$Y = 50.62 + 1.81X$$

Keterangan:

Y : *Mean Gray Value*

X : Konsentrasi Ekstrak Kelopak Rosela

Uji Regresi menunjukkan $p < 0.001$ dan nilai *R square* 0.782 yang artinya terdapat kemungkinan sebanyak 78,2% penghambatan pembentukan biofilm disebabkan oleh pemberian perlakuan, yaitu ekstrak kelopak bunga rosela, sedangkan sisanya sebanyak 21,8% dipengaruhi oleh *confounding factor*. Perhitungan lengkap dapat dilihat di Lampiran 2.

Tabel 5.6 Hasil Uji Regresi**Model Summary**

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.884 ^a	.782	.772	17.01271

a. Predictors: (Constant), Konsentrasi