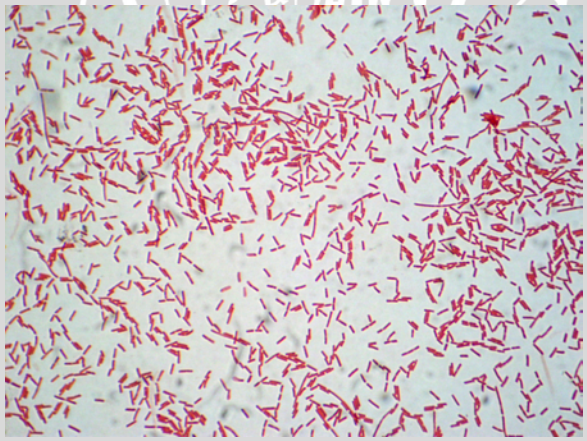
BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Penelitian

5.1.1 Hasil Identifikasi *Pseudomonas aeruginosa*

Penelitian ini menggunakan isolat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dari *stock culture* yang disimpan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Tiap isolat bakteri digores ulang di *Nutrient Agar Plate* (NAP) kemudian diidentifikasi dengan pewarnaan Gram. Pada pewarnaan Gram dan pengamatan di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000x, didapatkan gambaran sel bakteri yang berbentuk basil (batang) dan berwarna merah (Gram negatif) seperti terlihat pada Gambar 5.1.

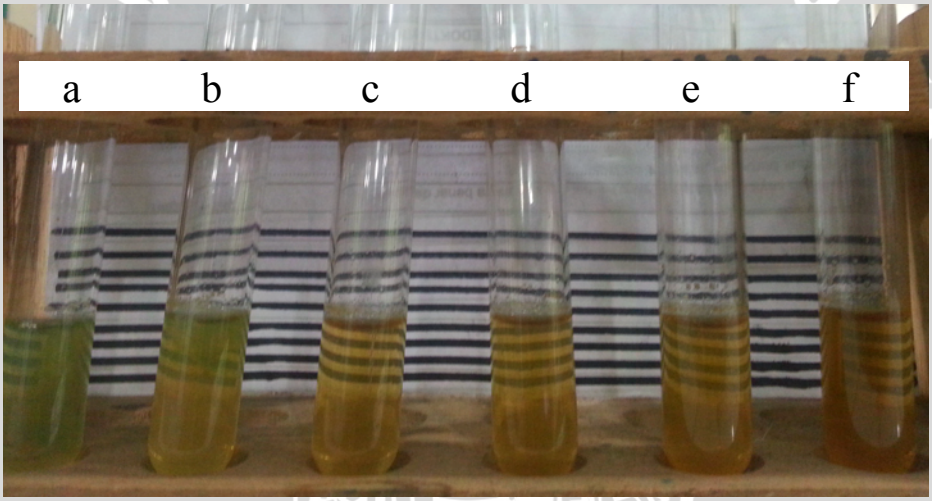


Gambar 5.1 Gambaran Mikroskopik Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan Pewarnaan Gram

Selain itu dilanjutkan uji reaksi biokimia isolat *Pseudomonas aeruginosa.* Berdasarkan angka oktal dari hasil uji *microbact test* yang digunakan dalam eksperimen diyakini merupakan bakteri *Pseudomonas aeruginosa.*(Terlampir).

5.1.2 Hasil Pengamatan Kadar Hambat Minimum (KHM) Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Bali (*Citrus grandis*) terhadap *Pseudomonas aeruginosa*

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan konsentrasi akhir ekstrak etanol kulit jeruk bali (*Citrus grandis*), dengan variasi 0% (Kontrol kuman); 1%; 1,5%; 2%; 2,5%; dan 3%. KHM (Kadar Hambat Minimal) atau MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) adalah kadar terendah antibakteri yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri (ditandai dengan tidak adanya kekeruhan pada tabung), setelah diinkubasikan selama 18-24 jam (Dzen dkk, 2003).



Gambar 5.2 Uji Dilusi Tabung sesudah diinkubasi

Keterangan gambar :

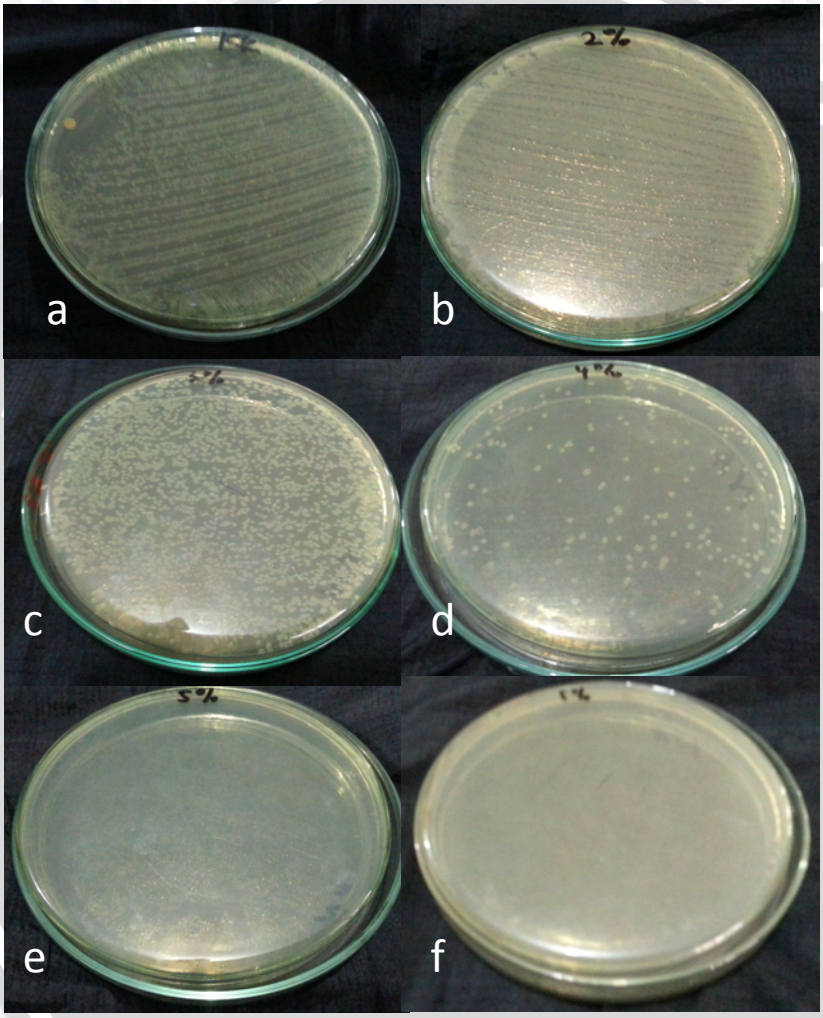
a. K. Positif : kontrol bakteri dengan konsentrasi ekstrak *kulit jeruk bali* 0%
b. Suspensi bakteri dan ekstrak *kulit jeruk bali* dengan konsentrasi 1%
c. Suspensi bakteri dan ekstrak *kulit jeruk bali* dengan konsentrasi 1,5%
d. Suspensi bakteri dan ekstrak *kulit jeruk bali* dengan konsentrasi 2%
e. Suspensi bakteri dan ekstrak *kulit jeruk bali* dengan konsentrasi 2,5%
f. Suspensi bakteri dan ekstrak *kulit jeruk bali* dengan konsentrasi 3%

Nilai KHM didapatkan dengan cara membandingkan kekeruhan dan kejernihan masing-masing konsentrasi yang telah diinkubasikan selama 18-24 jam. Tabung yang tampak jernih menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri. Setalah dilakukan pengamatan pada hasil uji dilusi tabung yang telah diinkubasi selama 24 jam, tampak bahwa warna cairan dalam tabung dengan konsentrasi 0%, dan 1% masih tampak keruh (ditandai dengan garis hitam di belakang tabung nampak tidak jelas). Namun pada tabung 1,5%, 2%, 2,5%, dan 3%, warna cairan tabung sudah tampak jernih (ditandai dengan garis hitam di belakang tabung Nampak jelas/tidak buram). Sehingga, dari hasil pengamatan tersebut dapat dikatakan bahwa Kadar Hambat Minimum (KHM) pada penelitian ini berkisar pada konsentrasi 1,5%.

5.1.3 Hasil Pengukuran Kadar Bunuh Minimum (KBM) Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Bali (*Citrus grandis*) terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada Media NAP

Setelah tabung diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37^0 C dan diamati tingkat kekeruhannya untuk melihat KHM, tiap konsentrasi ekstrak tersebut digoreskan pada *Nutrient Agar Plate* (NAP) dan diinkubasi pada suhu 37^0 C selama 18-24 jam. Selanjutnya dilakukan penghitungan jumlah koloni yang tumbuh pada masing-masing konsentrasi NAP dengan menggunakan *colony counter* untuk melihat kadar bunuh minimum (KBM) dari ekstrak etanol kulit jeruk bali (*Citrus grandis*). KBM (Kadar Bunuh Minimal) atau MBC (*Minimum Bactericidal Contentration*) merupakan kadar terendah dari antibakteri yang dapat membunuh bakteri (ditandai dengan tidak tumbuhnya bakteri pada NAP) (Dzen dkk, 2003).

Hasil pertumbuhan *P. aeruginosa* dari perbenihan media NAP dapat diamati pada Gambar 5.3 dan hasil penghitungannya dapat dilihat pada Tabel 5.1



Gambar 5.3 Pertumbuhan Koloni *P. aeruginosa* pada media NAP sesudah diinkubasi

Keterangan gambar :

a. K. Positif : kontrol bakteri dengan konsentrasi ekstrak *kulit jeruk bali* 0%

b. Suspensi bakteri dan ekstrak *kulit jeruk bali* dengan konsentrasi 1%

c. Suspensi bakteri dan ekstrak *kulit jeruk bali* dengan konsentrasi 1,5%

d. Suspensi bakteri dan ekstrak *kulit jeruk bali* dengan konsentrasi 2%

e. Suspensi bakteri dan ekstrak *kulit jeruk bali* dengan konsentrasi 2,5%

f. Suspensi bakteri dan ekstrak *kulit jeruk bali* dengan konsentrasi 3%

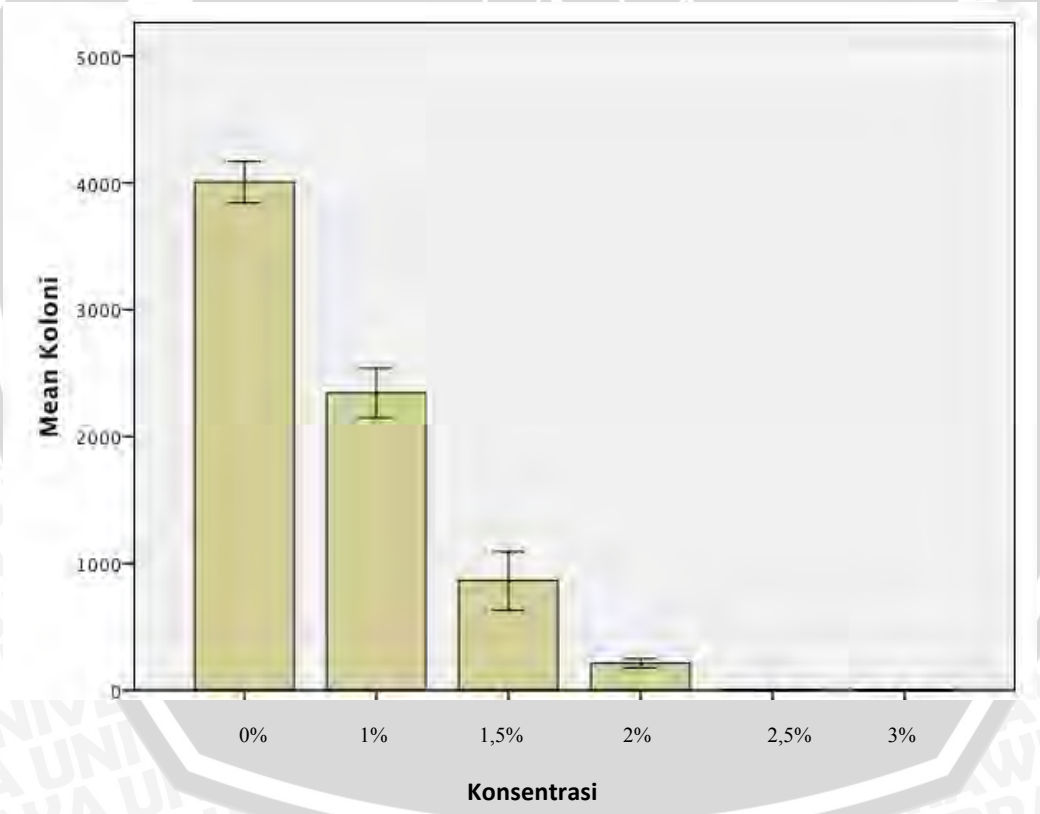
Tabel 5.1 Jumlah Koloni *P. Aeruginosa* pada Berbagai Konsentrasi Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Bali

Konsentrasi	Jumlah Koloni ($x10^3$ CFU/mL)				RERATA ± SD
	1	2	3	4	
0% (KK)	4185	3816	3932	4088	4005,25 ± 163,645
1%	2291	2576	2398	2108	2343,25 ± 195,996
1,5%	565	974	1097	815	862,75 ± 229,626
2%	171	204	221	257	213,25 ± 35,779
2,5%	3	1	0	2	1,5 ± 1,291
3%	0	0	0	0	0
100%(KB)	0	0	0	0	0

Keterangan: KK = Kontrol Kuman; KB = Kontrol Bahan

Pada cawan petri kontrol bahan tidak didapatkan pertumbuhan koloni bakteri, menunjukkan bahwa bahan yang digunakan tidak terkontaminasi. Pada cawan petri kontrol bakteri didapatkan rata-rata sejumlah 4005,25 koloni, pada konsentrasi ekstrak 1% didapatkan koloni rata-rata sejumlah 2343,25 koloni, pada konsentrasi ekstrak 1,5% didapatkan koloni rata-rata sejumlah 862,75 koloni, pada konsentrasi ekstrak 2% didapatkan koloni rata-rata sejumlah 213,25 koloni, pada konsentrasi ekstrak 2,5% didapatkan koloni rata-rata sejumlah 1,5 koloni, dan pada konsentrasi ekstrak 3% didapatkan koloni rata-rata sejumlah 0 koloni, Dari hasil penghitungan dapat diketahui bahwa terjadi penurunan rata-rata jumlah koloni *P. aeruginosa* seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak etanol kulit jeruk bali (*Citrus grandis*).

Berdasarkan Gambar 5.3 Dan Tabel 5.1 diperoleh nilai kadar bunuh pada konsentrasi 3% dimana tidak didapatkannya pertumbuhan bakteri atau koloni bakteri. Dapat terlihat pola dimana semakin tinggi konsentrasi ekstrak, jumlah koloni bakteri semakin berkurang (Gambar 5.4). Pada gambar menunjukkan jumlah koloni untuk masing-masing konsentrasi ekstrak etanol kulit jeruk bali dimulai dari konsentrasi rendah ke konsentrasi tinggi, dimana sumbu y menunjukkan jumlah koloni bakteri dan x perlakuan dengan ekstrak etanol kulit jeruk bali.



Gambar 5.4 Grafik Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Bali terhadap Pertumbuhan *P. aeruginosa*.

5.2 Analisis Data

Sebelum melakukan analisa data, data jumlah koloni bakteri terlebih dahulu diuji normalitas dan homogenitasnya sebagai uji prasyarat agar bisa dilakukan uji beda parametrik *one way ANOVA*. Jika dari hasil uji normalitas Kolmogorov-Smirnov menunjukkan distribusi data yang normal ($p > 0.05$) dan uji homogenitas menyatakan bahwa data penelitian homogen ($p > 0.05$), maka dapat dilakukan uji beda parametrik *one way ANOVA*. Berdasarkan hasil uji normalitas Kolmogorov-Smirnov, distribusi data jumlah koloni bakteri normal ($p = 0.123$) dan berdasarkan hasil uji homogenitas, didapatkan data tidak homogen ($p = 0.018$) (Terlampir). Dengan demikian data tidak bisa diolah dengan menggunakan uji beda parametrik *one way ANOVA*, sehingga dilakukan uji beda non-parametrik Kruskal Wallis sebagai pengganti uji *one way ANOVA*.

Uji non-parametrik Kruskal Wallis dilakukan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan jumlah koloni bakteri pasca terpapar oleh ekstrak dengan berbagai konsentrasi. Dikatakan terdapat perbedaan jumlah koloni yang bermakna jika $p < 0.05$. Dari uji beda non-parametrik Kruskal Wallis, didapatkan perbedaan yang signifikan pada jumlah koloni bakteri pasca terpapar oleh ekstrak pada berbagai konsentrasi ($p = 0.000$) (Terlampir).

Selanjutnya dilakukan uji multi komparasi Mann Whitney untuk melihat apakah terdapat perbedaan jumlah koloni bakteri antara dua macam dosis yang berbeda. Adapun ringkasan dari uji multi komparasi ini tercantum dalam Tabel 5.2.

Tabel 5.2 Ringkasan Nilai Signifikansi (p) Uji Mann Whitney

P	0%	1%	1,5%	2%	2,5%	3%
0%		0,021	0,021	0,021	0,021	0,014
1%	0,021		0,021	0,021	0,021	0,014
1,5%	0,021	0,021		0,021	0,021	0,014
2%	0,021	0,021	0,021		0,021	0,014
2,5%	0,021	0,021	0,021	0,047		0,047
3%	0,014	0,014	0,014	0,014	0,047	

Dari tabel 5.2 diatas dapat dilihat perbedaan jumlah koloni bakteri yang signifikan pada hampir semua kelompok jika dibandingkan satu per satu terhadap setiap dosis, hal tersebut ditunjukkan dengan *p-values* masing-masing perbandingan hampir semua dosis bernilai < 0,050 (Terlampir).

Uji korelasi non-parametrik Spearman dilakukan untuk melihat korelasi antara konsentrasi ekstrak dengan jumlah koloni bakteri. Hasil uji menunjukkan nilai signifikansi (p-*value*) 0,000, sehingga konsentrasi ekstrak memiliki korelasi dengan jumlah koloni bakteri (0,000 < 0,050). Selain menghasilkan nilai signifikansi korelasi antara kedua variabel, uji korelasi non-parametrik Spearman juga menunjukkan *Spearman correlation coefficient (r)* yang menunjukkan kekuatan korelasi antara dua variabel. Pada penelitian ini didapatkan hasil uji r = -0.984, hal tersebut menunjukkan terdapat korelasi yang sangat kuat antara kedua variabel (0.984>0.799) (Terlampir). Tanda negatif (-) pada *Spearman correlation coefficient* penelitian ini menunjukkan korelasi di antara kedua variabel adalah berbanding terbalik, dimana semakin tinggi konsentrasi ekstrak, maka semakin rendah jumlah koloni bakteri.