

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Penelitian

Penelitian ini menggunakan ekstrak daun belimbing wuluh dan bakteri *P.aeruginosa* pembentuk biofilm isolat sputum yang didapat dari laboratorium mikrobiologi FKUB. Setelah melakukan ekstraksi dilanjutkan dengan melakukan uji reidentifikasi bakteri, pertama-tama isolat bakteri diinokulasi pada medium *McConkey* selama 24 jam, kemudian dilanjutkan dengan uji identifikasi bakteri dan uji deteksi pembentukan biofilm dengan menggunakan *microtiter plate*. Selanjutnya bakteri *P. aeruginosa* pembentuk biofilm dimasukkan ke dalam *microtiter plate* dan diberi ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) sebanyak tujuh kali pengulangan dan kemudian dibaca ODnya (*Optical Density*) pada 570 nm dengan menggunakan *Elisa reader*.

5.1.1 Ekstraksi Daun Belimbing Wuluh

Dari 300 gram daun belimbing wuluh yang dipetik, kemudian di buat simplisia dan menghasilkan 100 gram simplisia. Selanjutnya dari 100 gram simplisia ini kemudian diekstrak dengan menggunakan metode maserasi yang menggunakan pelarut etanol 96%. Hasil ekstraksi yang didapat sebanyak 30 ml ekstrak yang berbentuk cair dengan warna hijau tua pekat dan keruh. Hasil ekstraksi kemudian dimasukkan pada botol ukuran 70 ml dan disimpan pada *freezer*.

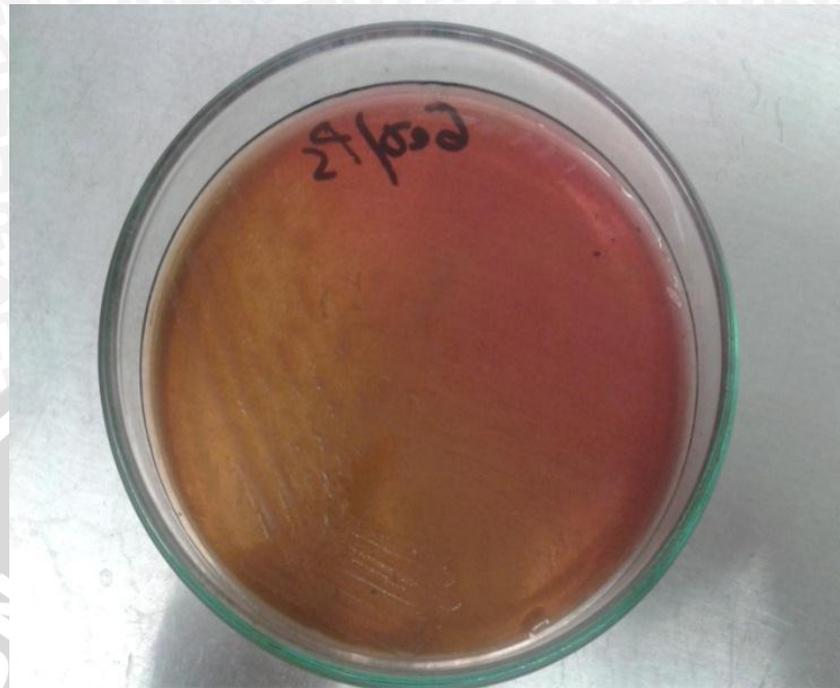


Gambar 5.1 Ekstrak Daun Belimbing Wuluh

5.1.2 Hasil Identifikasi Bakteri

Medium yang digunakan adalah medium *Mc Conkey* dan *Nutrient Agar Plate* (NAP). Medium *Mc Conkey* digunakan karena medium ini dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif. Pada medium *Mc Conkey*, pertumbuhan *P. aeruginosa* menunjukkan koloni sedikit transparan dengan permukaan halus dan mukoid serta tidak memfermentasikan laktosa (Gambar 5.2). Medium NAP di gunakan karena pada medium ini pigmen biru hijau *P. aeruginosa* yaitu pigmen piosianin dapat di amati (Gambar 5.3).

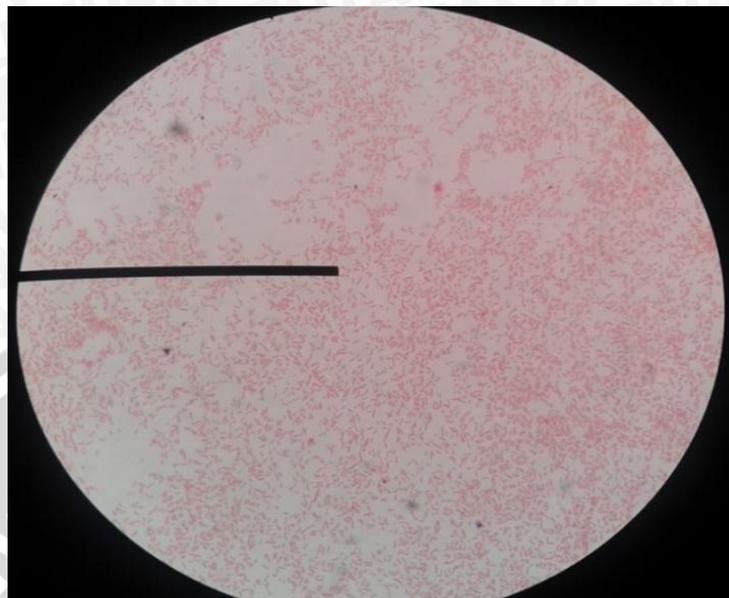
Kemudian dilakukan pengecatan Gram, dan dilakukan pengamatan di bawah mikroskop dengan pembesaran lensa okular 10 kali dan lensa obyektif 100 kali dengan pemberian minyak emersi, didapatkan bakteri berbentuk batang berwarna merah (Gambar 5.4).



**Gambar 5.2 *P. aeruginosa* pada medium Mc Conkey
(Nampak kolon halus, tidak berwarna dan tidak memfermentasi laktosa)**



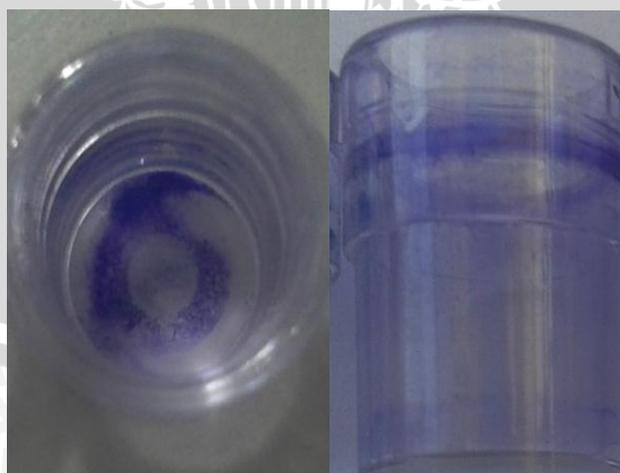
Gambar 5.3 *P. aeruginosa* pada medium NAP : Nampak agar di sekitar koloni berwarna hijau karena pigmen piosianin yang didifusika ke dalam medium.



Gambar 5.4 Pengecatan Gram *P. aeruginosa* : tampak bakteri berbentuk batang berwarna merah (batang Gram negatif)

5.1.3 Hasil Uji Pembentukan Biofilm

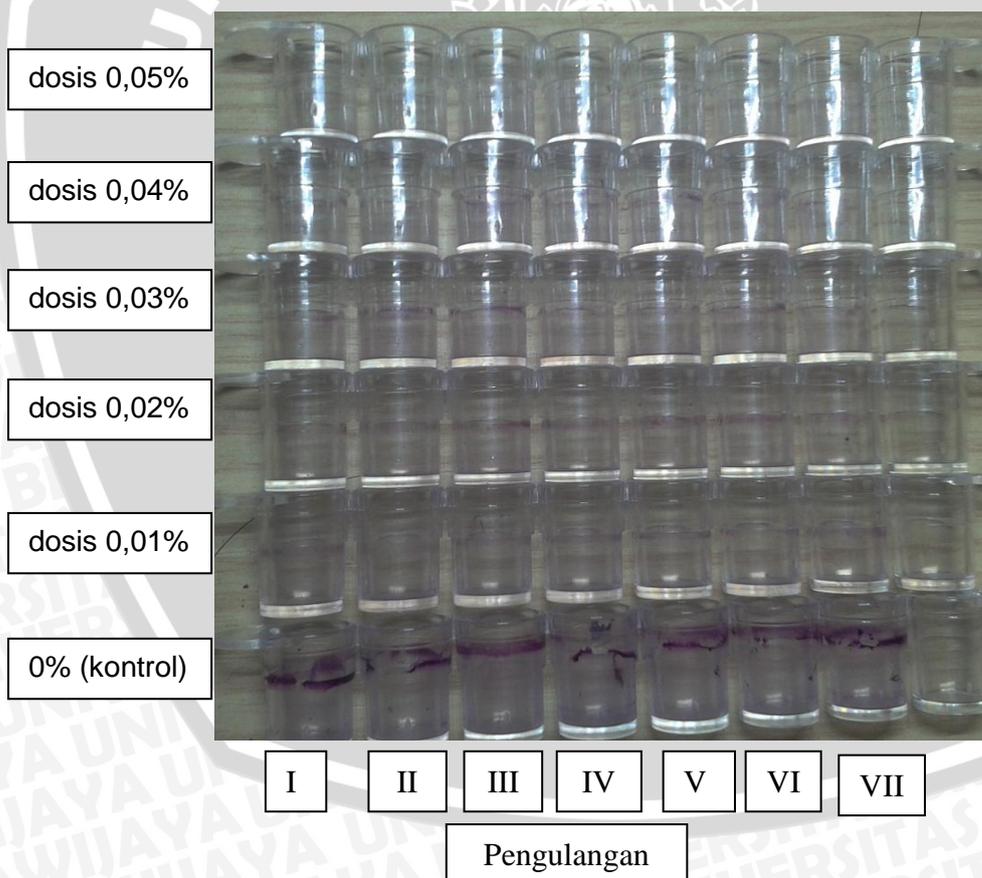
Untuk mengetahui apakah bakteri ini membentuk biofilm, maka dilakukan uji pembentukan biofilm dengan menginokulasi bakteri pada *Microtiter Plate*. Hasilnya menunjukkan bakteri yang menghasilkan biofilm pada dinding dan dasar *Microtiter Plate* (Gambar 5.5).



Gambar 5.5 Biofilm *P. aeruginosa* : tampak cincin keunguan pada dasar dinding sebelah dalam pada *microtiter plate*.

5.1.4 Hasil Uji Potensi ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap Penghambatan Pembentukan Biofilm

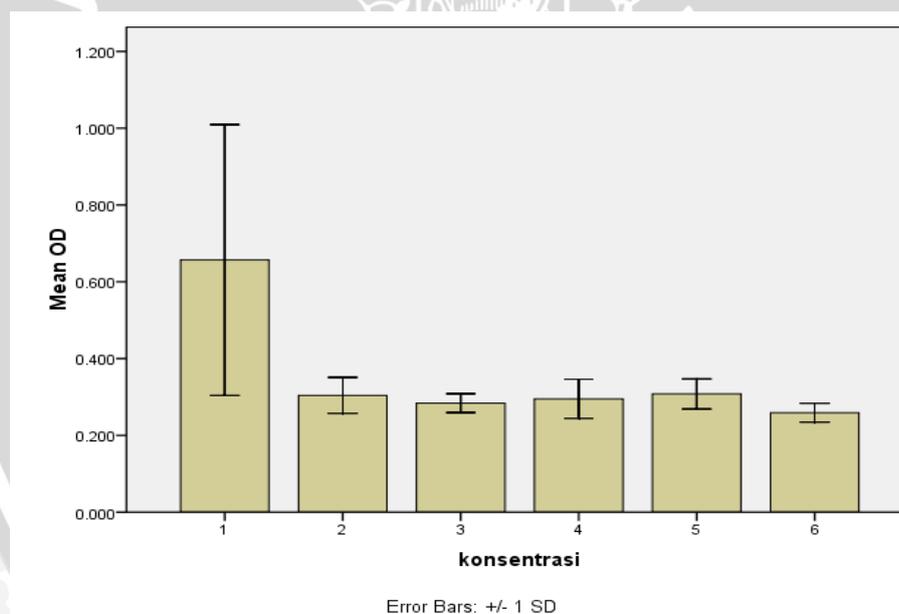
Pada penelitian ini digunakan enam macam konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) yaitu 0,01% (dosis I), 0,02% (dosis II), 0,03% (dosis III), 0,04% (dosis IV), dan 0,05% (dosis V) serta konsentrasi 0 % sebagai kontrol positif yang diberi perlakuan pada *microtiter plate*. Pengamatan penghambatan pembentukan biofilm diuji dengan menggunakan *Elisa reader* yang dibaca melalui panjang gelombang 570 nm untuk menilai seberapa besar kemampuan ekstrak menghambat biofilm, (Tabel 5.1).



Gambar 5.6 Hasil Pewarnaan dengan Kristal Violet pada bakteri *P. aeruginosa* pembentuk Biofilm (tampak ada cincin berwarna ungu pada dinding sebelah dalam mikrotiter).

Tabel 5.1 Hasil pengukuran OD Biofilm pada *Elisa reader*

Konsentrasi	Pengulangan							Rerata	± SD
	I	II	III	IV	V	VI	VII		
0,05 %	0,24	0,254	0,275	0,275	0,318	0,26	0,291	0,273	0,025
0,04%	0,282	0,368	0,395	0,275	0,387	0,361	0,288	0,337	0,052
0,03%	0,206	0,294	0,292	0,334	0,355	0,328	0,257	0,295	0,056
0,02%	0,255	0,267	0,262	0,307	0,348	0,296	0,412	0,307	0,05
0,01%	0,266	0,256	0,255	0,373	0,305	0,338	0,236	0,29	0,05
0 %	0,595	0,554	0,449	1,493	0,568	0,423	0,566	0,664	0,353



Konsentrasi :

- 1 = 0 % (kontrol)
- 2 = 0,01 %
- 3 = 0,02 %
- 4 = 0,03 %
- 5 = 0,04 %
- 6 = 0,05 %

Gambar 5.7 Grafik batang Hasil Pengukuran OD Biofilm

Dari table dan Gambar 5.6 diatas dapat dilihat ada perbedaan gambaran biofilm antara konsentrasi 0% dengan konsentrasi 0,01% (dosis 1), 0,02% (dosis II), 0,03% (dosis III), 0,04% (dosis IV), dan 0,05% (dosis V). Namun tidak terdapat perbedaan bermakna antara konsentrasi 0,01% (dosis 1), 0,02% (dosis II), 0,03% (dosis III), 0,04% (dosis IV), dan 0,05% (dosis V).

5.2 Analisa Data

. Data hasil pengukuran OD biofilm yang didapat dengan menggunakan *Elisa reader* dianalisis dengan menggunakan Uji *One-way ANOVA*, kemudian dilanjutkan dengan *Post-hoc Tuckey HSD Test*. Uji *One-way ANOVA* digunakan untuk mengetahui adanya perbedaan antara kelompok data, kemudian dilanjutkan dengan *Post-Hoc Test* untuk menentukan kelompok data mana yang memiliki perbedaan yang bermakna. Setelah itu dilakukan uji korelasi *Pearson* mengetahui hubungan antara konsentrasi ekstrak daun belimbing wuluh terhadap OD bakteri.

5.2.1 Uji *One-Way ANOVA*

Sebelum menguji data dengan Uji *One-way ANOVA*, dilakukan pengujian syarat *ANOVA* untuk > 2 kelompok data tidak berpasangan, yaitu pengujian terhadap sebaran data (harus normal) dan varians data (harus sama). Setelah dilakukan uji normalitas, didapatkan bahwa data mempunyai sebaran yang normal yaitu $p = 0.357$ (uji Kolmogorov-Smirnov, $p > 0.05$) sehingga syarat Uji *ANOVA* terpenuhi. Syarat *ANOVA* lainnya adalah varian data harus sama, maka dilakukan uji homogenitas varian untuk menguji apakah varian data homogen atau tidak. Dari hasil uji homogenitas varian didapatkan $p = 0.361$ ($p > 0.05$) yang berarti bahwa varian antar perlakuan sudah homogen sehingga syarat Uji *ANOVA* terpenuhi.

Sebelum melakukan uji normalitas dan Uji homogenitas, dilakukan transformasi data terlebih dahulu dengan rumus Log (n) karena sebelum dilakukan transformasi, data memiliki homogenitas dan varians yang tidak normal.

Setelah syarat-syarat ANOVA terpenuhi dilanjutkan dengan menggunakan analisis *One-way ANOVA* dan didapatkan nilai $p = 0.000$ sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat sedikitnya dua kelompok data yang memiliki perbedaan OD biofilm secara bermakna.

5.2.2 *Post-Hoc Comparison Test*

Dari analisis menggunakan *One-way ANOVA* didapatkan kesimpulan bahwa sedikitnya dua kelompok data yang memiliki perbedaan OD biofilm secara bermakna. Untuk mengetahui kelompok data mana yang memiliki perbedaan OD biofilm yang bermakna, maka dilakukan *Post-Hoc Tukey HSD Test*. Indikator yang digunakan untuk menentukan apakah perbedaan tersebut bermakna atau tidak adalah nilai signifikansi pada tabel. Suatu nilai dianggap ada perbedaan secara bermakna jika nilai signifikansinya kurang dari 0.05.

Tabel 5.2 Hasil Uji *Post-Hoc Multiple Comparison* Nilai OD

Konsentrasi	1	2	3	4	5	0
1	-	.997	1.000	.794	.998	.000
2	.997	-	.999	.964	.965	.000
3	1.000	.999	-	.861	.993	.000
4	.794	.964	.861	-	.531	.000
5	.998	.965	.993	.531	-	.000
0	.000	.000	.000	.000	.000	-

0= 0 % (kontrol)
 1= 0,01 %
 2= 0,02 %
 3= 0,03 %
 4= 0,04 %
 5= 0,05 %

Keterangan:

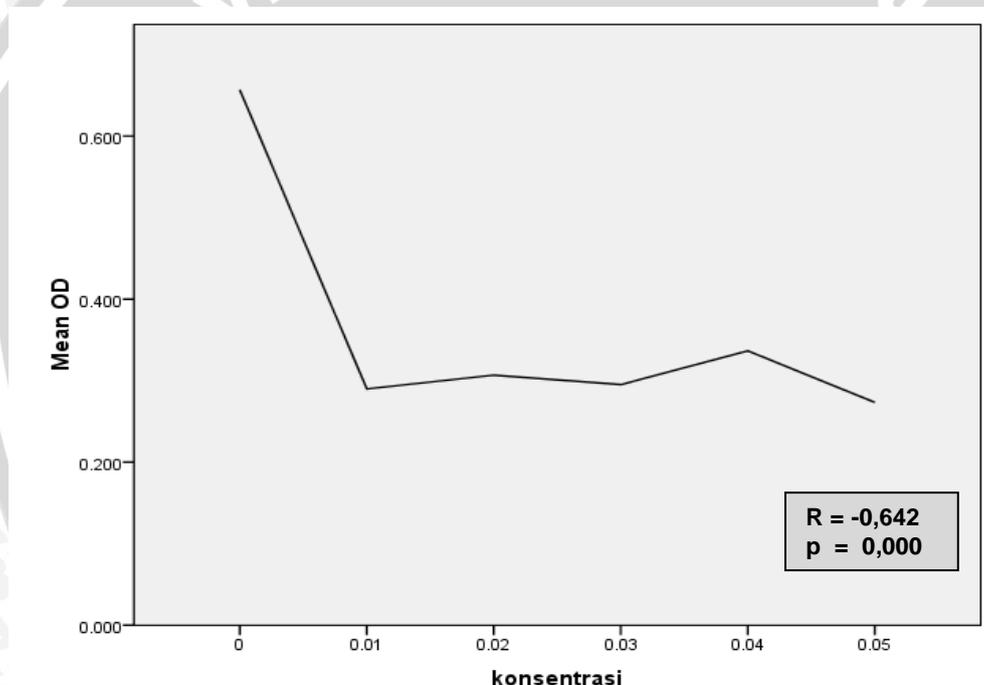
-  = nilai $p < 0,05$ = terdapat perbedaan bermakna (signifikan)
 = nilai $p > 0,05$ = tidak terdapat perbedaan bermakna (tidak signifikan)

Dari hasil yang didapatkan terlihat bahwa kelompok konsentrasi ekstrak 0% memiliki perbedaan OD biofilm secara bermakna dengan kelompok konsentrasi ekstrak 0,01%, 0,02%, 0,03%, 0,04%, dan 0,05%. Sedangkan

perbedaan OD biofilm antar kelompok ekstrak yang lain tidak memiliki nilai yang bermakna. Artinya bahwa dengan penambahan konsentrasi ekstrak, hanya sedikit memberikan perubahan pada OD biofilm. Perhitungan lengkap dapat dilihat di Lampiran 3.

5.2.3 Uji Korelasi *Pearson*

Selanjutnya, untuk mengetahui kekuatan hubungan antara peningkatan dosis pemberian ekstrak belimbing wuluh dan OD bakteri, dilakukan Uji Korelasi *Pearson*. Dari hasil analisis didapatkan hasil sebagai berikut:



Gambar 5.8 Kurva Uji Korelasi *Pearson*

Agar penafsiran dapat dilakukan sesuai dengan ketentuan, kita perlu mempunyai kriteria yang menunjukkan kuat atau lemahnya korelasi. Kriterianya sebagai berikut:

- | | | |
|-----------------------------|---|----------------------------------------|
| Nilai Korelasi 0 | = | tidak ada korelasi antara dua variabel |
| Nilai Korelasi > 0 – 0,25 | = | sangat lemah |
| Nilai Korelasi > 0,25 – 0,5 | = | cukup |

Nilai Korelasi $> 0,5 - 0,75$ = kuat

Nilai Korelasi $> 0,75 - 0,99$ = sangat kuat

Nilai Korelasi 1 = sempurna

Korelasi dapat positif dan negatif. Korelasi positif menunjukkan arah yang sama hubungan antar variabel. Sebaliknya korelasi negatif menunjukkan arah yang berlawanan.

Signifikansi hubungan dua variabel dapat dianalisis dengan ketentuan, jika probabilitas atau signifikansi $< 0,05$, hubungan kedua variabel signifikan. Jika probabilitas atau signifikansi $> 0,05$, hubungan kedua variabel tidak signifikan.

Dari hasil perhitungan, didapatkan hasil sebagai berikut:

- Kekuatan korelasi (R) = $-0,642$, yang berarti terdapat korelasi yang kuat antara dosis ekstrak daun belimbing wuluh dengan OD bakteri.
- Arah korelasi adalah negatif, sehingga semakin besar dosis ekstrak daun belimbing wuluh, maka semakin kecil nilai dari OD bakteri.
- Nilai $p = 0,000$, yang berarti terdapat korelasi yang signifikan ($p < 0,05$) antara dosis ekstrak daun belimbing wuluh dengan OD bakteri.

Nilai R^2 (R square) menunjukkan nilai $0,413$ artinya ($0,413 \times 100\%$) dari variabel nilai OD dipengaruhi oleh variabel independen yakni paparan ekstrak blimbing wuluh. Dengan kata lain sebanyak $41,3\%$ penurunan nilai OD dikarenakan oleh paparan ekstrak blimbing wuluh. Perhitungan lengkap dapat dilihat di Lampiran 4.