

BAB 5

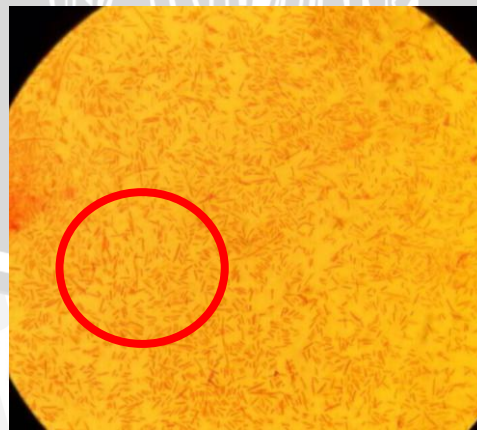
HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Identifikasi Bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

Bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* yang akan digunakan dalam penelitian ini terlebih dahulu dilakukan uji identifikasi bakteri. Bakteri diidentifikasi dengan pewarnaan Gram, uji katalase, oksidase dan uji biokimia dengan menggunakan *microbac kit*.

5.1.1 Hasil Pewarnaan Gram

Uji pewarnaan gram bertujuan untuk mengetahui jenis bakteri apakah merupakan bakteri Gram positif atau bakteri Gram negatif. Uji pewarnaan Gram dilakukan dengan mewarnai bakteri menggunakan kristal violet, lugol, dan safranin, setelah itu bakteri diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 1.000x. Hasil pengamatan tersebut menunjukkan gambaran berbentuk kokobasil berwarna merah yang berarti merupakan bakteri Gram negatif (Gambar 5.1).



Gambar 5.1 Hasil pewarnaan Gram bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* terdapat gambaran berbentuk kokobasil dan berwarna merah

5.1.2 Hasil Uji Katalase

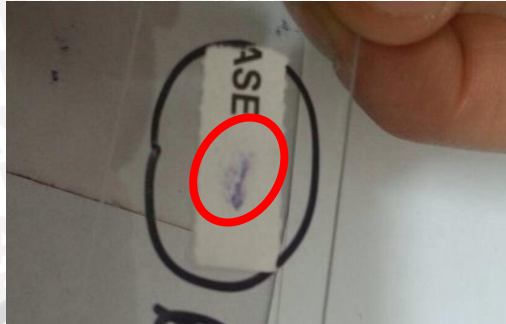
Uji katalase dilakukan dengan menyediakan pembedihan cair bakteri yang diletakkan pada kaca slide kemudian ditetesi dengan larutan H_2O_2 3%. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* memiliki enzim katalase yang dapat memecah H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 , sehingga menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan adanya gelembung udara pada kaca (Gambar 5.2).



Gambar 5.2 Hasil uji katalase terhadap *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* menunjukkan hasil positif ditandai dengan adanya gelembung udara

5.1.3 Hasil Uji Oksidase

Uji oksidase dilakukan dengan mengambil koloni bakteri dari media padat, kemudian digoreskan pada kertas saring yang telah ditetesi dengan reagen oksidase *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* merupakan bakteri anaerob fakultatif yang memiliki sitokrom oksidase, sehingga menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan perubahan warna menjadi ungu tua seperti tampak pada Gambar 5.3.



Gambar 5.3 Hasil uji oksidase terhadap *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* menunjukkan hasil positif berupa perubahan warna kertas menjadi ungu tua

5.1.4 Hasil Uji Hemolisis

Uji hemolisis digunakan untuk mengklasifikasikan bakteri dengan cara mengamati kemampuannya untuk menginduksi hemolisis bila ditanam pada agar darah. Sebuah zat yang dapat menyebabkan hemolisis adalah hemolisin. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* tidak memiliki hemolisin sehingga tidak ada reaksi pada media agar dan menunjukkan γ hemolisis (Gambar 5.4)



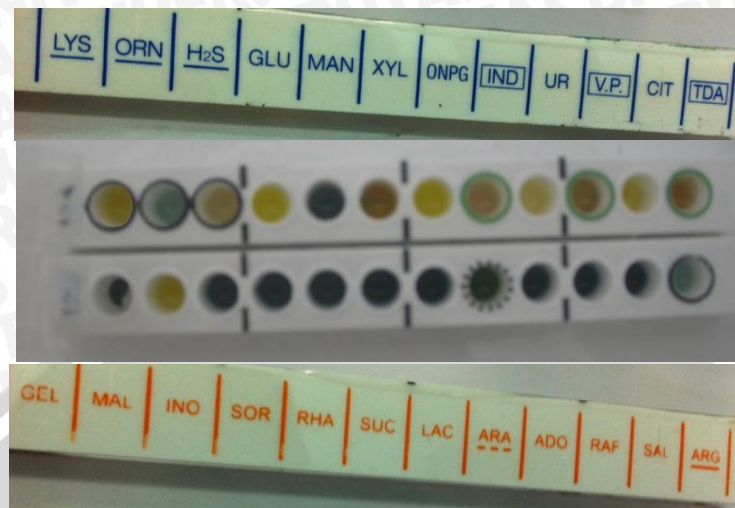
Gambar 5.4 Hasil uji hemolisis terhadap *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* menunjukkan hasil negatif dengan tidak berubahnya warna media.

5.1.5 Hasil Uji Biokimia dengan *Microbact Kit*

Uji biokimia dilakukan untuk mengetahui proses metabolisme bakteri. Evaluasi hasil uji *microbact* diperoleh dengan cara membandingkan hasil yang diperoleh pada *microbact* dengan tabel warna. Hasil uji dengan *microbact kit* dapat dilihat pada Tabel 5.1 dan Gambar 5.5. Hasil tersebut menunjukkan uji biokimia positif bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

Tabel 5.1 Hasil Uji Biokimia dengan *Microbact Kit*

Microbact 12 A		Microbact 12 B	
Jenis Uji	Hasil	Jenis Uji	Hasil
Lysine	Kuning-negatif	Gelatin	Tidak berubah warna - Negatif
Ornithine	Hijau-negatif	Malonate	Kuning-negatif
H ₂ S	Kekuningan-negatif	Inositol	Biru-negatif
Glucose	Kuning-positif	Sorbitol	Biru-negatif
Mannitol	Biru-negatif	Rhamnose	Biru-negatif
Xylose	Kuning-positif	Sucrose	Biru-negatif
ONPG	Tidak berubah warna - negatif	Lactose	Biru-negatif
Indole	Tidak berubah warna - negatif	Arabinose	Biru-negatif
Urease	Kekuningan-negatif	Adonitol	Biru-negatif
V.P	Cincin pink-positif	Raffinose	Biru-negatif
Citrate	Hijau-negatif	Salicine	Biru-negatif
TDA	Kekuningan-negatif	Arginine	Hijau-negatif

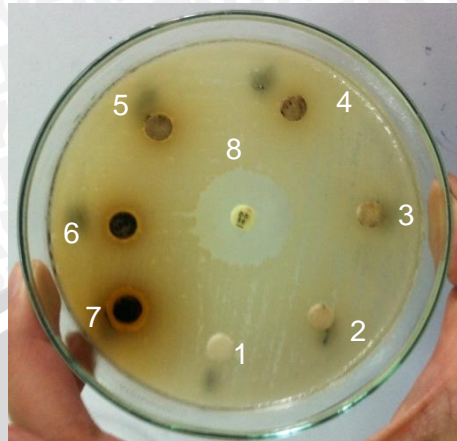


Gambar 5.5 Hasil uji biokimia dengan *microbact kit* menunjukkan bakteri positif *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

5.2 Hasil Uji Pendahuluan

Uji pendahuluan dilakukan untuk mengetahui serial konsentrasi ekstrak etanol propolis lebah *Apis mellifera* yang akan digunakan pada penelitian difusi cakram yaitu dimulai dari konsentrasi 0%, 3,125%, 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, 100% dan doksisisiklin.

Dari uji pendahuluan tersebut, diketahui bahwa mulai dari konsentrasi ekstrak 25% udah terlihat adanya zona hambat pertumbuhan bakteri pada agar, seperti yang terlihat pada Gambar 5.6. Sehingga dilakukan perapatan konsentrasi dan didapatkan konsentrasi ekstrak etanol propolis lebah *Apis mellifera* 0%, 37,5%, 50%, 62,5%, 75%, 87,5%, 100% dan doksisisiklin yang kemudian akan diamati daya hambat konsentrasi ekstrak etanol propolis lebah *Apis mellifera* terhadap pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.



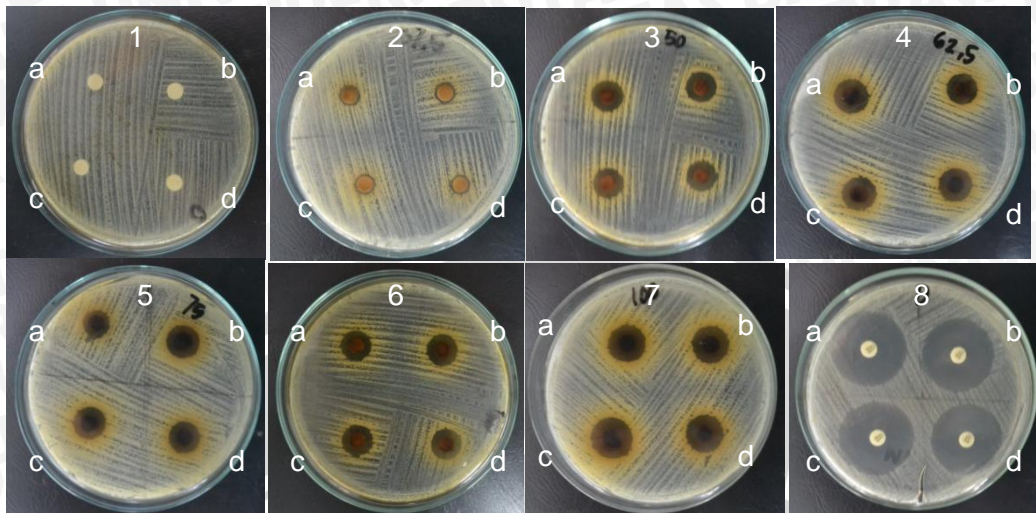
Gambar 5.6 Hasil Uji Pendahuluan

Keterangan gambar:

- 1 : Cakram ekstrak konsentrasi 0% tidak tampak adanya zona hambat
- 2 : Cakram ekstrak konsentrasi 3,125% tidak tampak adanya zona hambat
- 3 : Cakram ekstrak konsentrasi 6,25% tidak tampak adanya zona hambat
- 4 : Cakram ekstrak konsentrasi 12,5% tidak tampak adanya zona hambat
- 5 : Cakram ekstrak konsentrasi 25% dengan zona hambat 7,5 mm
- 6 : Cakram ekstrak konsentrasi 50% dengan zona hambat 10,1 mm
- 7 : Cakram ekstrak konsentrasi 100% dengan zona hambat 11,8 mm
- 8 : Cakram doksisisiklin dengan zona hambat 22,4 mm

5.3 Hasil Difusi Cakram

Efektivitas antibakteri dengan metode difusi cakram pada penelitian ini diamati dari terbentuknya zona hambat pertumbuhan bakteri yang terbentuk di sekeliling cakram. Pengamatan dilakukan dengan cara mengukur zona bening yang terdapat pada sekeliling cakram menggunakan jangka sorong, sehingga dapat disebut sebagai zona hambat. Konsentrasi ekstrak etanol propolis lebah *Apis mellifera* yang digunakan adalah 0%, 37,5%, 50%, 62,5%, 75%, 87,5%, 100% dan doksisisiklin. Pada gambar 5.8 terlihat perbedaan zona hambat masing-masing konsentrasi. Pada konsentrasi 37,5%, 50%, 62,5%, 75%, 87,5%, 100% dan doksisisiklin terlihat pembentukan zona hambat.



Gambar 5.7 Hasil Difusi Cakram

Keterangan gambar:

- 1 : Cakram ekstrak konsentrasi 0% tidak tampak adanya zona hambat
 - 2 : Cakram ekstrak konsentrasi 37,5% dengan rata-rata zona hambat 7,700 mm
 - 3 : Cakram ekstrak konsentrasi 50% dengan rata-rata zona hambat 11,700 mm
 - 4 : Cakram ekstrak konsentrasi 62,5% dengan rata-rata zona hambat 12,450 mm
 - 5 : Cakram ekstrak konsentrasi 75% dengan rata-rata zona hambat 12,575 mm
 - 6 : Cakram ekstrak konsentrasi 87,5% dengan rata-rata zona hambat 13,525 mm
 - 7 : Cakram ekstrak konsentrasi 100% dengan rata-rata zona hambat 15,400 mm
 - 8 : Cakram doksisisiklin dengan rata-rata zona hambat 28,025 mm
- a : Diameter zona hambat pengulangan I
 b : Diameter zona hambat pengulangan II
 c : Diameter zona hambat pengulangan III
 d : Diameter zona hambat pengulangan IV

5.4 Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Pertumbuhan Bakteri

Penentuan efektivitas pemberian ekstrak etanol propolis lebah *Apis mellifera* dilakukan dengan metode difusi cakram. Perbedaan efektivitas antibakteri ditentukan dari besar diameter zona hambat pertumbuhan bakteri yang terbentuk pada medium MHA (*Mueller Hinton Agar*) yang telah diswab dengan isolat bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* kemudian diberi cakram yang mengandung ekstrak etanol propolis lebah *Apis mellifera* dan doksisisiklin kemudian diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C.

Zona hambat merupakan daerah bening atau jernih yang tampak di sekitar cakram. Semakin besar diameter zona hambat yang terbentuk, maka semakin besar daya antibakterinya. Menurut David dan Stout, dikutip dari Jannata *dkk.* (2014), kriteria kekuatan daya hambat antibakteri adalah sebagai berikut, diameter zona hambat 5 mm atau kurang dikategorikan lemah, diameter zona hambat 6-10 mm dikategorikan sedang, diameter 11-20 mm dikategorikan kuat dan diameter lebih dari 20 mm dikategorikan sangat kuat.

Tabel 5.2 Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Ekstrak Ekstrak Etanol Propolis Lebah *Apis mellifera* terhadap *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

Konsentrasi	Zona Hambat Ekstrak Etanol Propolis Lebah <i>Apis mellifera</i> (mm)				Rata-rata (mm)	±SD
	Pengulangan					
	I	II	III	IV		
0% (KN)	0	0	0	0	0	0
37,5%	7,500	7,900	7,800	7,600	7,700	0,1826
50%	11,900	11,700	11,800	11,400	11,700	0,2160
62,5%	12,400	12,300	12,600	12,500	12,450	0,1291
75%	11,200	13,100	13,000	13,000	12,575	0,9179
87,5%	13,600	14,000	13,500	13,000	13,525	0,4113
100%	15,100	15,000	15,000	16,500	15,400	0,7348
Doksisiklin (KP)	28,000	27,900	28,000	28,200	28,025	0,1258

Keterangan Tabel:

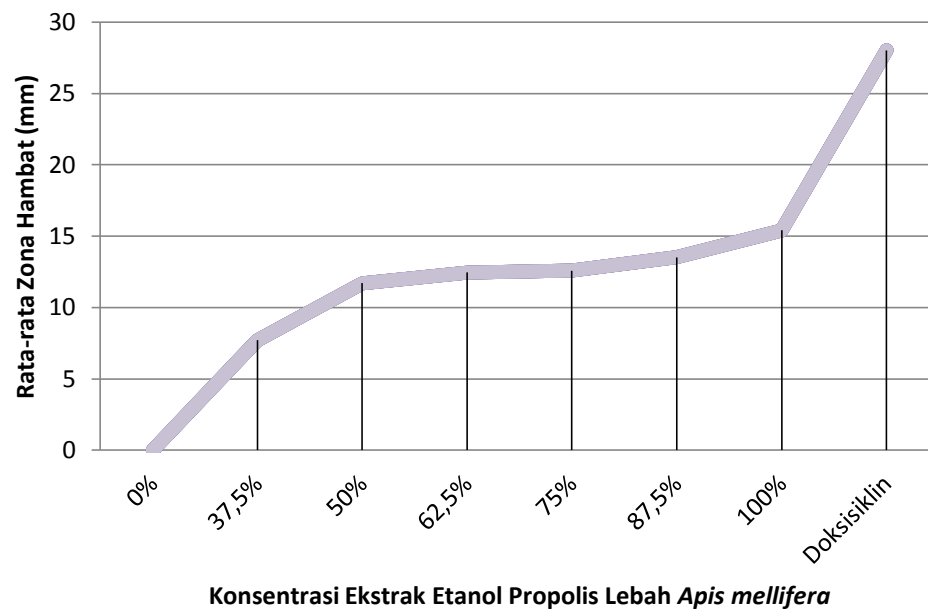
KN: Kontrol Negatif

KP: Kontrol Positif

SD: Standar Deviasi

Berdasarkan hasil uji difusi cakram dapat diukur dan ditentukan zona hambat pertumbuhan bakteri bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* pada masing-masing konsentrasi ekstrak etanol propolis lebah *Apis mellifera*. Hasil perhitungan diameter zona hambat disajikan pada Tabel 5.2.

Tabel 5.2 dan Gambar 5.8 menunjukkan adanya perbedaan rata-rata diameter zona hambat pada masing-masing konsentrasi yang berarti ada perbedaan daya antibakteri. Pada kelompok perlakuan kontrol negatif tidak terbentuk zona hambatan (0 mm), hal ini menunjukkan bahwa aquades tidak memiliki daya antibakteri. Setelah bakteri diberi perlakuan ekstrak dengan konsentrasi 37,5%, terlihat adanya perubahan yang signifikan yaitu terbentuknya zona hambat sebesar 7,700 mm yang tergolong memiliki daya antibakteri sedang. Pada konsentrasi 50% terbentuk zona hambat sebesar 11,700 mm yang termasuk dalam kategori daya antibakteri kuat. Peningkatan konsentrasi menjadi 62,5%, 75%, 87,5% dan 100% juga menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan terbentuknya zona hambat dengan kategori daya antibakteri kuat. Kontrol positif berupa antibiotik doksisisiklin menunjukkan daya antibakteri sangat kuat dengan terbentuknya zona hambat sebesar 28,025 mm.



Gambar 5.8 Grafik Rata-rata Zona hambat

5.5 Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan menggunakan uji statistik yang diperoleh berdasarkan hasil perhitungan zona hambat pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* pada media MHA. Uji statistik yang digunakan yaitu uji *One-way ANOVA* dan uji korelasi *Pearson*. Sebagai prasyarat analisis statistik parametrik dibutuhkan beberapa pengujian pendahuluan. Syarat pengujian uji parametrik *One-way ANOVA* adalah data yang terdiri dari 2 kelompok atau lebih, data memiliki distribusi yang normal dan homogen (Dahlan, 2006).

5.5.1 Hasil Pengujian Normalitas Data dan Homogenitas Varians

Untuk menguji apakah sampel yang digunakan berdistribusi normal maka digunakan uji *Kolmogorov-smirnov*.

Tabel 5.3 Hasil Uji Normalitas *Kolmogorov-smirnov*

Konsentrasi	Rata-rata Diameter Zona Hambat (mm)	Uji <i>Kolmogorov-smirnov</i> Angka Signifikansi Zona Hambat
0% (KN)	0	
37,5%	7,700	
50%	11,700	
62,5%	12,450	
75%	12,575	0,200
87,5%	13,525	
100%	15,400	
Doksisiklin (KP)	28,025	

Keterangan Tabel:

KN : Kontrol Negatif
 KP : Kontrol Positif
 p=0,200 : Distribusi normal ($p>0,05$)

Tabel 5.3 menunjukkan bahwa nilai zona hambat signifikansi adalah 0,200 ($p>0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa data rata-rata diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* berdistribusi normal. Hasil uji normalitas dapat dilihat pada Lampiran 4A.

Setelah dilakukan uji normalitas *Kolmogorov-smirnov*, kemudian dilakukan uji homogenitas variansi data *Levene* untuk mendeteksi sampel yang digunakan dalam penelitian merupakan sampel yang homogen. Hasil uji homogenitas dapat dilihat pada Lampiran 4D.

Tabel 5.4 Hasil Uji Homogenitas *Levene*

Konsentrasi	Rata-rata Diameter Zona Hambat (mm)	Uji <i>Levene</i>
		Angka Signifikansi Zona Hambat
0% (KN)	0	
37,5%	7,700	
50%	11,700	
62,5%	12,450	
75%	12,575	0,317
87,5%	13,525	
100%	15,400	
Doksisiklin (KP)	28,025	

Keterangan Tabel:

KN : Kontrol Negatif
 KP : Kontrol Positif
 p=0,167 : Homogen ($p > 0,05$)

Tabel 5.4 menunjukkan angka signifikansi 0,317 ($p > 0,05$), sehingga dapat disimpulkan bahwa data rata-rata diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* memiliki varians yang sama (homogen).

5.5.2 Hasil Uji *One-way ANOVA*

Dari hasil penelitian berupa diameter zona hambat kemudian dianalisis menggunakan uji *One-way ANOVA* untuk mengetahui adanya perbedaan pemberian berbagai konsentrasi ekstrak etanol propolis lebah *Apis mellifera* terhadap pertumbuhan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Hasil uji *One-way ANOVA* dapat dilihat pada Lampiran 4D.

Tabel 5.5 Hasil Uji *One-way ANOVA*

Konsentrasi	Rata-rata Diameter Zona Hambat (mm)	Uji <i>One-way ANOVA</i>
		Angka Signifikansi Zona Hambat
0% (KN)	0	
37,5%	7,700	
50%	11,700	
62,5%	12,450	
75%	12,575	0,000
87,5%	13,525	
100%	15,400	
Doksisiklin (KP)	28,025	

Keterangan Tabel:

KN : Kontrol Negatif
 KP : Kontrol Positif
 p=0,000 : Signifikan ($p < 0,05$)

Tabel 5.5 menunjukkan bahwa nilai signifikansi adalah 0,000 ($p < 0,05$) sehingga dapat disimpulkan dari penelitian yang telah dilakukan terdapat perbedaan yang signifikan antara delapan kelompok perlakuan yaitu konsentrasi 0% sebagai kontrol negatif, 37,5%, 50%, 62,5%, 75%, 87,5%, 100% dan doksisiklin sebagai kontrol positif terhadap rata-rata zona hambat pertumbuhan bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

5.5.3 Hasil Uji *Post Hoc Tukey*

Untuk mengetahui perbandingan berganda (multiple comparisons) antara tiap perlakuan konsentrasi ekstrak etanol propolis lebah *Apis mellifera*

terhadap rata-rata diameter zona hambat pertumbuhan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dilakukan uji *Post-Hoc Tukey*.

Tabel 5.6 Hasil Uji *Post Hoc Tukey*

Konsentrasi	Kelompok Perbandingan					
	1	2	3	4	5	6
0% (KN)	0,000					
37,5%		7,700				
50%			11,700			
62,5%			12,450			
75%			12,575	12,575		
87,5%				13,525		
100%					15,400	
Doksisiklin (KP)						28,025
Signifikansi	1,000	1,000	0,167	0,107	1,000	1,000

Keterangan Tabel:

KN : Kontrol Negatif

KP : Kontrol Positif

Angka signifikansi 1,000 menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan

Ringkasan pada Tabel 5.6 (Hasil dapat dilihat pada Lampiran 4F) menunjukkan bahwa efek ekstrak etanol propolis lebah *Apis mellifera* dengan konsentrasi 0% terhadap pertumbuhan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* memiliki perbedaan yang signifikan dibandingkan dengan konsentrasi 37,5%, 50%, 62,5%, 75%, 87,5%, 100% dan doksisiklin. Sedangkan efek yang dihasilkan ekstrak etanol propolis lebah *Apis mellifera* konsentrasi 50% tidak memiliki perbedaan yang signifikan dibandingkan dengan konsentrasi 62,5% dan

75% sehingga dalam uji *Post Hoc Tukey* termasuk dalam satu kelompok yang memiliki efektivitas sama. Demikian juga ekstrak etanol propolis lebah *Apis mellifera* dengan konsentrasi 75% dibandingkan dengan konsentrasi 87,5% tidak memiliki perbedaan efektivitas yang signifikan sehingga dalam uji *Post Hoc Tukey* termasuk dalam satu kelompok yang memiliki efektivitas sama. Ekstrak etanol propolis lebah *Apis mellifera* dengan konsentrasi 37,5% dan 100% memiliki perbedaan efektivitas yang signifikan dibandingkan dengan konsentrasi lain. Efektivitas doksisisiklin memiliki perbedaan yang signifikan bila dibandingkan dengan berbagai macam konsentrasi ekstrak etanol propolis lebah *Apis mellifera*.

5.5.4 Hasil Uji Korelasi *Pearson*

Untuk mengetahui besarnya hubungan dari pemberian ekstrak etanol propolis lebah *Apis mellifera* terhadap diameter zona hambat pertumbuhan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, maka digunakan uji korelasi *Pearson* yang disajikan dalam Tabel 5.7 (Hasil dapat dilihat pada Lampiran 4B).

Tabel 5.7 Hasil Uji Korelasi *Pearson*

Konsentrasi	Rata-rata Diameter Zona Hambat (mm)	Uji Korelasi <i>Pearson</i>	
		Angka Signifikansi	Hubungan Korelasi
0% (KN)	0		
37,5%	7,700		
50%	11,700		
62,5%	12,450	0,000	0,950
75%	12,575		

87,5%	13,525
100%	15,400
Doksisiklin (KP)	28,025

Keterangan Tabel:

- KN : Kontrol Negatif
- KP : Kontrol Positif
- p=0,000 : Signifikan ($p < 0,01$)
- r=0,950 : Korelasi positif

Berdasarkan hasil pada Tabel 5.7 dapat diketahui bahwa terdapat hubungan (korelasi) yang signifikan antara pemberian ekstrak etanol propolis lebah *Apis mellifera* terhadap diameter zona hambat pertumbuhan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* yang dihasilkan pada media MHA ($p < 0,01$) dan memiliki arah korelasi positif (karena korelasi bernilai positif). Hal tersebut menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak etanol propolis lebah *Apis mellifera* akan cenderung memberbesar diameter zona hambat pertumbuhan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* pada MHA.

5.5.5 Hasil Uji Regresi

Tabel 5.8 Hasil Uji Regresi

Model	R	R Square	R Square Adjusted	Std. Error
1	0,950 ^a	0,902	0,899	1,5607

Keterangan Tabel:

a prediktor: (konstan), konsentrasi

Uji regresi berfungsi untuk mengetahui seberapa besar hubungan konsentrasi ekstrak propolis lebah *Apis mellifera* terhadap rata-rata zona hambat pertumbuhan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Berdasarkan ringkasan



pada Tabel 5.8 (Hasil dapat dilihat pada lampiran 4C) diketahui bahwa $R^2 = 0,902$ atau sebesar 90,2%. Angka tersebut menunjukkan bahwa pengaruh ekstrak propolis lebah *Apis mellifera* terhadap rata-rata zona hambat pertumbuhan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* adalah sebesar 90,2% sedangkan sisanya sebesar 9,8% dapat disebabkan karena faktor-faktor yang tidak diteliti. Faktor-faktor yang tidak diteliti bisa merupakan akibat dari lama penyimpanan ekstrak atau akibat resistensi bakteri itu sendiri. Hubungan antara perubahan konsentrasi ekstrak dengan besarnya zona hambat dapat dinyatakan dengan rumus $Y = 1,829 + 0,147X$. Y adalah interval zona hambat dan X adalah konsentrasi ekstrak etanol propolis lebah *Apis mellifera*. Hal ini menunjukkan hubungan konsentrasi terhadap pembentukan zona hambat positif, yaitu semakin besar konsentrasi maka semakin besar pula zona hambat yang terbentuk.

