

BAB IV

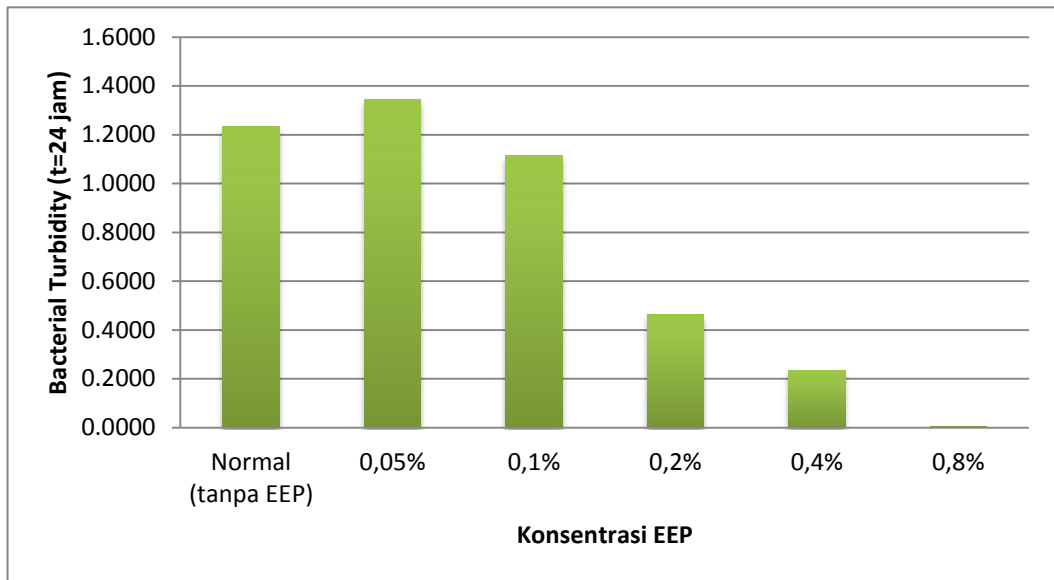
HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

Seluruh sampel yang digunakan dalam penelitian ini dilakukan pengujian turbiditas bakteri menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm.

No.	Konsentrasi Sampel	<i>Optical Density</i>		
		Media + EEP (<i>Blank</i> Sampel)	Media + EEP + Bakteri (Sampel)	<i>Bacterial</i> <i>Turbidity</i>
	Kontrol Negatif			
1	(Aquades tanpa EEP)	0.0750	1.9198	1.8448
	Kontrol Positif			
2	(<i>Doxycycline</i>)	0.7420	1.3665	0.6245
3	Normal (tanpa EEP)	0.7070	1.9390	1.2320
4	0,05%	0.8342	2.1781	1.3439
5	0,1%	1.1506	2.2642	1.1136
6	0,2%	2.0315	2.4929	0.4614
7	0,4%	2.6191	2.8540	0.2349
8	0,8%	3.6287	3.6321	0.0034

Tabel 1. Hasil Uji Spektrofotometer



Gambar 1. Turbiditas Bakteri

Data turbiditas bakteri pada tabel 2 dilakukan uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk* karena sampel <50 .

Tabel 2. Hasil Uji Normalitas

	Shapiro-Wilk		
	Statistik	df	Sig.
Turbiditas	.887	6	.304

Hasil uji normalitas pada tabel 3 menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0.304, maka data terdistribusi normal. Selanjutnya dilakukan uji korelasi *Pearson* karena data berjenis parametrik.

Tabel 3. Hasil Uji Korelasi *Pearson*

	Konsentrasi	
	Turbiditas	Korelasi <i>Pearson</i>
	Sig. (2-tailed)	.004

Hasil uji korelasi *Pearson* pada tabel 4 menunjukkan nilai signifikansi (Sig.) sebesar 0.004, maka terdapat hubungan yang signifikan antara konsentrasi ekstrak etanol propolis dengan turbiditas bakteri dengan koefisien korelasi (r) sebesar -0.950. Selanjutnya dilakukan uji Regresi Linear.

Tabel 4. Hasil Uji Regresi (*R Square*)

Model	R Square
1	.903

Tabel 5 menunjukkan bahwa hasil uji regresi didapatkan nilai koefisien determinasi atau R Square sebesar 0.903. Hal tersebut menunjukkan konsentrasi ekstrak etanol propolis dengan turbiditas bakteri berpengaruh sebesar 90.3%.

Tabel 5. Hasil Uji Regresi (*F-value*)

Model	F	Sig.
Regression	37.166	.004

Nilai F hitung yang didapatkan dari uji Regresi adalah 37.166, sedangkan nilai F tabel adalah 5.19. Hal tersebut menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak etanol propolis berpengaruh terhadap turbiditas bakteri. Nilai signifikansi pada tabel 6 adalah 0.004, yang artinya konsentrasi ekstrak etanol propolis memiliki pengaruh yang signifikan terhadap turbiditas bakteri.

Tabel 6. Hasil Uji Regresi (*Constant*)

Model	Koefisien Tidak Standar		Sig.
	B	Std. Error	
(Konstan)	1.744	.185	.001
Konsentrasi	-.289	.047	.004

Nilai konstan (a) pada tabel 7 adalah 1.744, sedangkan nilai konsentrasi ekstrak etanol propolis (b) adalah -0.289. Sehingga didapatkan persamaan garis linear $Y=1.744-0.289X$.

Data pada tabel 2 kemudian diolah menggunakan rumus pada gambar 2 untuk menentukan volume sampel dengan turbiditas bakteri yang sama.

Tabel 7. Volume Sampel dengan Turbiditas Bakteri Sama

No.	Konsentrasi Sampel	Volume <i>Centrifuge</i> (μ l)
1	Kontrol Negatif (Aquades tanpa EEP)	50
2	Kontrol Positif (<i>Doxycycline</i>)	148
3	Normal (tanpa EEP)	75
4	0,05%	69
5	0,1%	83
6	0,2%	200
7	0,4%	393
8	0,8%	27129

Volume pada tabel 8 digunakan sebagai acuan banyaknya suspensi yang akan diinokulasi pada media gelatin selama 24 jam. Selanjutnya dilakukan uji hidrolisis gelatin.

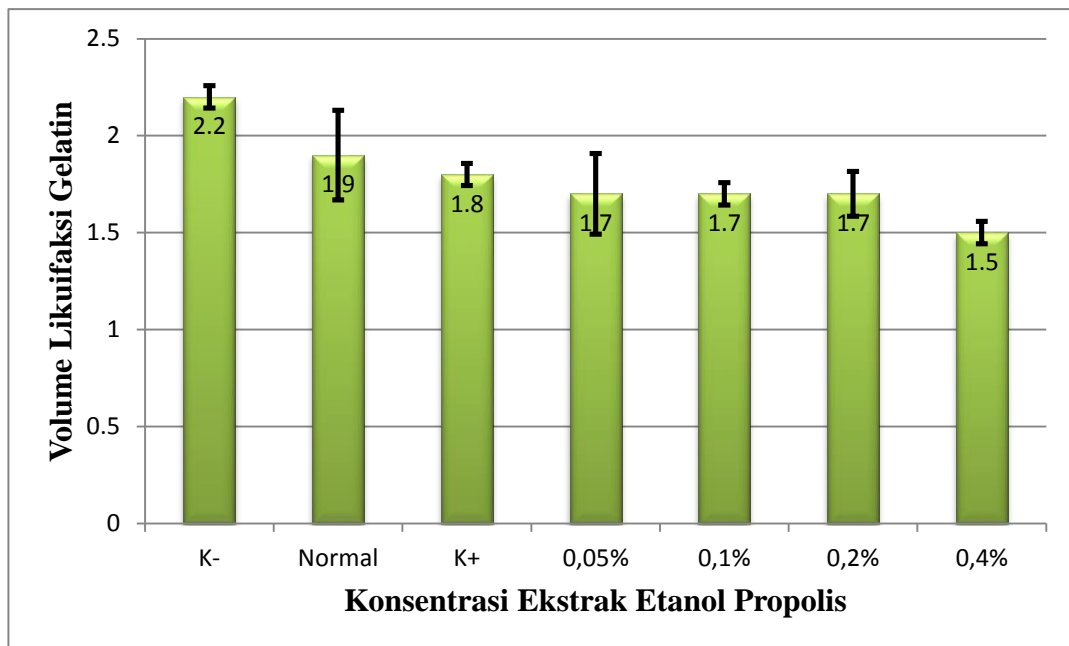
Tabel 8. Tinggi Likuifaksi Gelatin

No.	Konsentrasi Sampel	Tinggi Likuifaksi Gelatin (mm)			
		Sampel 1	Sampel 2	Sampel 3	Rata-rata
1	Kontrol Negatif (Aquadess tanpa EEP)	3.30	3.10	3.3	3.2
2	Kontrol Positif (<i>Doxycycline</i>)	2.60	2.60	2.8	2.7
3	Normal (tanpa EEP)	2.40	2.90	2.9	2.7
4	0,05%	2.80	2.20	2.6	2.5
5	0,1%	2.40	2.40	2.5	2.4
6	0,2%	2.40	2.60	2.3	2.4
7	0,4%	2.30	2.20	2.2	2.2
8	0,8%	-	-	-	-

Volume likuifaksi gelatin didapatkan dari hasil perhitungan menggunakan rumus volume tabung dengan nilai tinggi berdasarkan data pada tabel 9.

Tabel 9. Volume Likuifaksi Gelatin

No.	Konsentrasi Sampel	Volume Likuifaksi Gelatin (μ l)			
		Sampel 1	Sampel 2	Sampel 3	Rata-rata
1	Kontrol Negatif (Aquadess tanpa EEP)	2.2	2.1	2.2	2.2
2	Kontrol Positif (<i>Doxycycline</i>)	1.8	1.8	1.9	1.8
3	Normal (tanpa EEP)	1.6	2.0	2.0	1.9
4	0,05%	1.9	1.5	1.8	1.7
5	0,1%	1.6	1.6	1.7	1.7
6	0,2%	1.6	1.8	1.6	1.7
7	0,4%	1.6	1.5	1.5	1.5
8	0,8%	-	-	-	-



Gambar 2. Volume Likuifaksi Gelatin

Data pada tabel 10 dilakukan uji normalitas terlebih dahulu menggunakan *Shapiro-Wilk*.

Tabel 10. Hasil Uji Normalitas

	Shapiro-Wilk		
	Statistik	df	Sig.
Volume	.851	15	.018

Hasil uji normalitas *Shapiro-Wilk* pada tabel 11 didapatkan nilai signifikansi sebesar 0.018, maka data dapat dikatakan tidak terdistribusi normal. Kemudian karena data berjenis non parametrik maka uji korelasi yang digunakan adalah Uji *Spearman*.

Tabel 11. Hasil Uji Korelasi Spearman

		Konsentrasi EEP
Volume Likuiifaksi Gelatin	Koefisien korelasi	-.589
	Sig. (2-tailed)	.021

Hasil uji korelasi *Spearman* pada tabel 12 menunjukkan nilai signifikansi (Sig.) sebesar 0.021, maka terdapat hubungan yang signifikan antara konsentrasi EEP dengan volume likuifaksi gelatin dengan koefisien korelasi (r) sebesar -0.589. Selanjutnya data di uji menggunakan Uji *Kruskal-Wallis* untuk mengetahui perbedaan yang signifikan antar konsentrasi EEP.

Tabel 12. Hasil Uji Kruskal-Wallis

Kelompok	Rata-rata
Normal (Tanpa EEP)	11.83
0.05%	8.83
0.1%	7.67
0.2%	8.17
0.4%	3.50
Asymp. Sig.	0.215

Hasil uji *Kruskal-Wallis* pada tabel 13 menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0.215, yang berarti tidak ada perbedaan bermakna antar nilai rata-rata konsentrasi EEP.

B. Pembahasan

Sastroasmoro (2014) mengategorikan koefisien korelasi (r) kuat ($r > 0.8$), sedang (0.6-0.79), lemah (0.4-0.59) dan sangat lemah (< 0.4). Hasil analisis data pada tabel 12 menunjukkan r sebesar -0.589 yang berarti terdapat hubungan yang lemah antara konsentrasi EEP dengan volume likuifaksi gelatin. Tanda negatif (-) menunjukkan hubungan yang berlawanan arah, yang berarti semakin besar konsentrasi EEP maka semakin kecil volume likuifaksi gelatin. Semakin kecil volume likuifaksi gelatin menunjukkan adanya penurunan aktivitas proteolitik biakan bakteri anaerob sulkus gingiva oleh EEP.

Adanya tendensi penghambatan aktivitas proteolitik berdasarkan hasil diatas dapat disebabkan karena terjadi penghambatan interaksi substrat-enzim oleh senyawa fenolik. Martinez-Gonzales, dkk. (2017) memaparkan jika terdapat peningkatan gugus hidroksil pada struktur flavonoid dapat mengurangi aktivitas enzimatis senyawa tersebut. Hal tersebut dipengaruhi oleh kompleksitas molekul flavonoid yang berkaitan dengan afinitas. Efek antagonis serupa juga dijumpai pada kondisi senyawa flavonoid yang mengalami glikosilasi sehingga lebih interaktif terhadap substrat.

Mekanisme penghambatan enzim proteolitik oleh adanya glikosilasi dan hidroksilasi flavonoid juga didukung dengan hasil penelitian Guerrero, dkk., (2012) mengenai penghambatan ACE (*Angiotensin-converting Enzyme*) oleh flavonoid (*flavanone, flavone, isoflavone, flavonol dan flavanol*) sebesar 57% pada konsentrasi 100 μM dan 95% pada konsentrasi 500 μM dengan

menggunakan derivat luteolin (*flavone*). Adanya korelasi yang lemah pada hasil penelitian dimungkinkan berasal dari penggunaan substansi flavonoid yang berbeda antara penelitian ini dengan Guerrero, dimana Guerrero menggunakan hasil fraksinasi flavonoid, sedangkan pada penelitian ini menggunakan substansi etanol propolis.

Lemahnya penghambatan aktivitas proteolitik bakteri juga dapat disebabkan karena kondisi enzim proteolitik yang tidak aktif pada saat awal sekresi optimal oleh bakteri pada fase *exponential*. Pada penelitian ini uji hidrolisis tersebut dilakukan pada jam ke 20 pasca pemaparan EEP. Berbeda dengan Grenier, dkk. (2003) yang melakukan uji hidrolisis gelatin pada hari ke lima sampai hari ke sepuluh. Holt, dkk., (2000) menyatakan bahwa sekresi tertinggi enzim proteolitik berada pada fase *exponential growth*. Akan tetapi menurut Rzychon, dkk. (2004) sejumlah besar enzim proteolitik disintesis sebagai prekursor tidak aktif (*zymogen*). Aktivasi mereka membutuhkan reduksi proteolitik pada domain N-terminal.

Grenier, dkk., (2003) menguji enam antimikroba dengan dosis suboptimal terhadap aktivitas proteolitik empat strain bakteri *Porphyromonas gingivalis* yang bertujuan agar meminimalisir laju pertumbuhan bakteri. Setelah dilakukan pemaparan menggunakan antimikroba, terlihat adanya reduksi zona proteolitik pada tiga strain bakteri.

Hasil Uji *Kruskal-Wallis* yang tidak signifikan dapat disebabkan oleh beberapa faktor seperti perbedaan reagen dan adanya efek penghambatan laju pertumbuhan bakteri oleh flavonoid seperti halnya data pada tabel 2 pada

asumsi penggunaan dosis sub-optimal antimikroba. Maka dari itu, peneliti melakukan uji turbiditas bakteri untuk mengkonfirmasi efek EEP terhadap laju pertumbuhan bakteri.

Hasil analisis data menunjukkan adanya hubungan yang kuat (-0.950) pada penurunan turbiditas bakteri pasca pemaparan EEP dengan total pengaruh sebesar 90.3%. Hasil ini menunjukkan semakin meningkatnya konsentrasi EEP maka akan berpengaruh terhadap penurunan turbiditas bakteri. Pengaruh tersebut menandakan bahwa dosis EEP yang digunakan pada penelitian ini bukanlah dosis suboptimal seperti yang telah digunakan Grenier dkk. (2003) pada penelitian sebelumnya. Secara tidak langsung efek dari penggunaan dosis yang mempengaruhi kuantitas bakteri dapat mengurangi jumlah produksi enzim proteolitik yang disekresikan oleh bakteri.

Dumitrescu dan Ohara (2010), menjelaskan bahwa pada kondisi gingivitis dan periodontitis sebagian besar bakteri anaerob sulkus gingiva memiliki aktivitas virulensi yang dapat meningkatkan patogenitas bakteri. Menurut Ramachandran (2014), ekspresi faktor virulensi bakteri mempengaruhi tingkat keparahan infeksi. Pada penelitian ini bakteri yang diujikan berasal dari sulkus gingiva normal, dimana bakteri tersebut tidak berada dalam kondisi patologis melainkan dalam kondisi fisiologis. Maka dapat diasumsikan bahwa selain jumlah produksi enzim yang berkurang karena efek penghambatan pertumbuhan populasi bakteri, aktivitas proteolitik yang lemah juga dapat disebabkan karena kondisi sebagian besar bakteri yang diujikan tidak memiliki aktivitas virulensi sehingga tidak bersifat patogenik.

Kesesuaian hasil penelitian ini terhadap hipotesa dapat dilihat dari hasil analisis data pada tabel 4, 5, 6, 7, 12 dan 13. Berdasarkan analisis data tersebut maka dapat disimpulkan bahwa semua konsentrasi EEP yang diujikan pada penelitian ini memiliki hubungan terhadap pertumbuhan populasi dan aktivitas proteolitik biakan bakteri anaerob sulkus gingiva.