

## BAB IV

### HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

#### A. Hasil Penelitian

##### 1. Ekstraksi dan Fraksinasi Propolis

Sampel sebanyak 114,01-gram diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut methanol. Dalam proses maserasi, penggunaan metanol berfungsi untuk melarutkan senyawa polar dan non-polar, menjadikannya pilihan yang sangat baik untuk mengekstraksi kandungan metabolit sekunder. Proses ekstraksi berlangsung selama tiga hari, filtrat disaring memakai kertas saring yang selanjutnya dipekatkan dengan menggunakan water bath, maka diperoleh ekstrak kental berwarna coklat tua.

Setelah didapatkan ekstrak pekat propolis lebah *Trigona apicalis* dilakukan partisi cair menggunakan pelarut dengan perbandingan 1:1 (n-heksan;methanol). Propolis lebah kelulut (*Trigona apicalis*) yang telah di maserasi dan dilakukan partisi cair kemudian diperoleh fraksi n-heksan propolis lebah kelulut (*Trigona apicalis*) dengan jumlah rendemen pada Tabel 4.1 dibawah ini :

**Tabel 4.1 Hasil % rendemen**






Sampel	Total Ekstrak MeOH propolis yang digunakan (g)	Total Fraksi	% Rendemen
Propolis lebah <i>Trigona apicalis</i>	101,74 gram	10,38 gram	10,20%

##### 2. Uji Fitokimia

Uji fitokimia diselenggarakan guna mengetahui senyawa aktif yang terkandung dalam fraksi n-heksan propolis *Trigona apicali*.

Hasil uji fitokimia fraksi n-heksan propolis lebah apicalis bisa diamati dalam tabel:

**Tabel 4.2 Hasil Uji Fitokimia Fraksi N-Heksan**

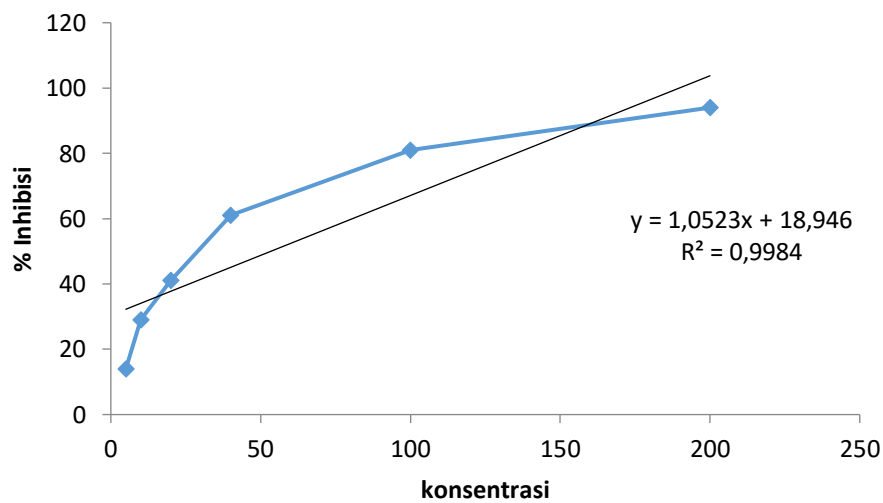
Nama Senyawa	Hasil pengamatan	Gambar
Alkaloid	+ karena mengalami perubahan warna menjadi merah/jingga	
Flavonoid	+ karena mengalami perubahan warna menjadi warna kuning, merah atau coklat	
Tanin	- Karena tidak menunjukkan adanya endapan	
Saponin	+ ditandai dengan adanya busa yang bertahan selama <+ 10 menit,	
Triterpenoid / steroid	- Hasil negatif karena tidak mengalami perubahan warna kuning kehijauan	

### 3. Uji aktivitas Antioksidan

Hasil aktivitas antioksidan diperoleh dari laju penghambatan yang dihitung dengan perhitungan regresi linier dan bisa diamati dalam Tabel II.

**Tabel 4.3 Hasil Absorbansi Uji Antioksidan Propolis Trigona apicalis**

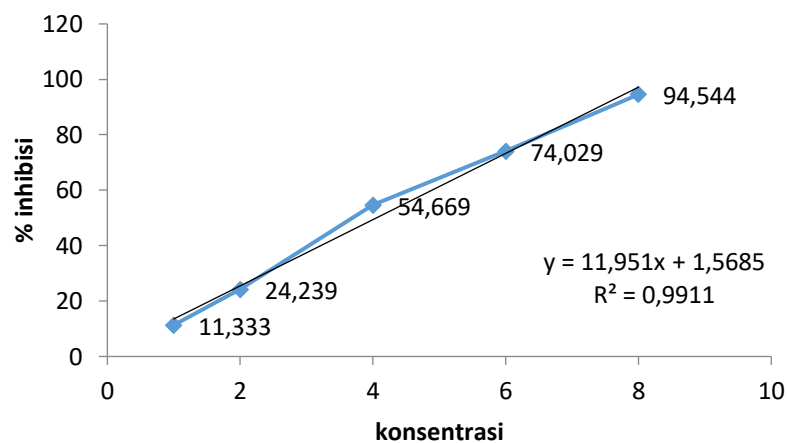
Konsentrasi (ppm)	Absorbansi		Rata-rata	Inhibisi (%)	Persamaan	IC <sub>50</sub>
	1	2				
DPPH	0,987	0,987	0,987		$y = 1,0523x + 18,946$ $R^2 = 0,9984$	29,51 ppm
5	0,845	0,846	0,845	14		
10	0,701	0,701	0,701	29		
20	0,585	0,585	0,585	41		
40	0,387	0,387	0,387	61		
100	0,186	0,186	0,186	81		
200	0,055	0,055	0,055	94		



**Gambar 4.1 Kurva hasil uji antioksidan fraksi n-heksan propolis T. apicalis**

Tabel 4.4 Hasil Absorbansi Uji Antioksidan Asam Askorbat

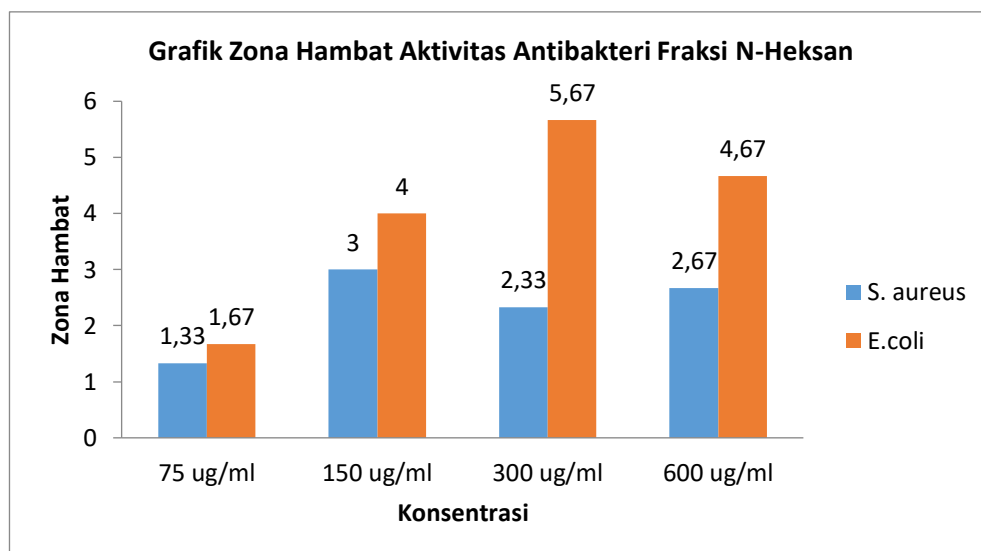
No	Konsentrasi	Absorbansi 1	Absorbansi 2	Rata-rata	% inhibisi
1	DPPH	0,953	0,953	0,953	-
2	1	0,845	0,845	0,845	11,33263
3	2	0,722	0,722	0,722	24,23924
4	4	0,432	0,432	0,432	54,66946
5	6	0,248	0,247	0,2475	74,02938
6	8	0,052	0,052	0,052	94,54355



Gambar 4.2 Kurva hasil uji antioksidan asam askorbat (kontrol positif)

#### 4. Antibakteri

Adanya zona hambat di sekitar sumur menjadi bukti bahwa hasil penelitian tentang aktivitas antibakteri propolis lebah *Trigona* apikal terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* pada media agar dengan metode difusi sumur.



**Gambar 4.3 Grafik Hasil zona Hambat Aktivitas Antibakteri**

Grafik diatas menunjukkan bahwa daya hambat pada bakteri *Escherichia coli* lebi besar dari bakteri *Staphylococcus aureus*. Fraksi n-heksan propolis trigona apicalis dengan konsentrasi 75, 150,300, dan 600 memiliki diameter zona hambat yang lebih kecil dibandingkan dengan kontrol positifnya yaitu thiamphenicol. Hal ini menunjukkan bahwa propolis *Trigona apicalis* memiliki aktivitas antibakteri akan tetapi tidak sekuat aktivitas antibakteri pada kontrol positifnya (lampiran 8).

Selanjutnya dilakukan uji *One Way Anova* guna menguji apakah ada perbedaan zona hambat yang signifikan antara 75 ug/ml, 150 ug/ml, 300 ug/ml, 600 ug/ml serta K+. berikut ini hasil uji *One Way Anova*:

**Tabel 4.5 Hasil One Way Anova**

	Hasil Anova	keterangan
<i>Staphylococcus aureus</i>	.000 < 0.05	Hasil signifikan
<i>Escherichia coli</i>	.000 < 0.05	Hasil signifikan

Bersumberkan hasil uji *One Way Anova* didapati nilai sig =  $0,000 < 0,05$ , maka dbisa disimpulkan terdapat perbedaan diameter zona hambat yang signifikan antara konsentrasi 75 ug/ml, 150 ug/ml, 300 ug/ml, 600 ug/ml dan K+. Kemudian dilakukan uji lanjutan dengan menggunakan uji *post hoc LSD* guna mengetahui daya hambat tiap konsentrasi yang signifikan dalam menghambat kedua bakteri melalui metode membandingkan kelompok konsentrasi.

**Tabel 4.6 Hasil uji *post hoc LSD* bakteri *Staphylococcus aureus***

Konsentrasi	75 ug/ml	150 ug/ml	300 ug/ml	600 ug/ml	K+
75 ug/ml	-	0,003*	0,000*	0,000*	0,000*
150 ug/ml	0,003*	-	0,000*	0,000*	0,017*
300 ug/ml	0,000*	0,000*	-	0,001*	0,053
600 ug/ml	0,000*	0,000*	0,001*	-	0,000*
K+	0,000*	0,017*	0,053	0,000*	-

**Tabel 4.7 Hasil uji *post hoc LSD* bakteri *Escherichia coli***

Konsentrasi	75 ug/ml	150 ug/ml	300 ug/ml	600 ug/ml	K+
75 ug/ml	-	0,015*	0,000*	0,000*	0,001*
150 ug/ml	0,015*	-	0,010*	0,000*	0,116
300 ug/ml	0,000*	0,010*	-	0,002*	0,174
600 ug/ml	0,000*	0,000*	0,002*	-	0,000*
K+	0,001*	0,116	0,174	0,000*	-

- a. Tanda (\*) menunjukkan adanya perbedaan signifikan terhadap tiap konsentrasinya.
- b. Pengaruh pemberian fraksi n-heksan propolis *Trigona apicalis* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* menunjukkan adanya perbedaan bermakna pada konsentrasi:  
75 ug/ml vs 150 ug/ml ( $p=0,003$ ), 75 ug/ml vs 300 ug/ml ( $p=0,000$ ), 75 vs 600 ug/ml ( $p=0,000$ ), 75 ug/ml vs K+ ( $p=0,000$ ), 150 ug/ml vs 300 ug/ml ( $p=0,003$ ), 150 ug/ml vs 600 ug/ml ( $p=0,000$ ), 150 ug/ml vs K+ ( $p=0,000$ ), 300 ug/ml vs 600 ug/ml ( $p=0,001$ ), dan 600 vs K+ ( $p=0,000$ ).
- c. Pengaruh pemberian fraksi n-heksan propolis *Trigona apicalis* terhadap bakteri *Escherichia coli* menunjukkan adanya perbedaan bermakna pada konsentrasi:  
75 ug/ml vs 150 ug/ml ( $p=0,015$ ), 75 ug/ml vs 300 ug/ml ( $p=0,000$ ), 75 ug/ml vs 600 ug/ml ( $p=0,000$ ), 75 ug/ml vs K+ ( $p=0,001$ ), 150 ug/ml vs 300 ug/ml ( $p=0,010$ ), 150 ug/ml vs 600 ug/ml ( $p=0,000$ ), 300 ug/ml vs 600 ug/ml ( $p=0,002$ ), dan 600 ug/ml vs K+ ( $p=0,000$ ).

## B. Pembahasan

### 1. Ekstraksi dan Fraksinasi

Lebah bertanggung jawab untuk memproduksi zat resin coklat yang dikenal sebagai propolis. Propolis mentah dalam sarang lebah *Trigona apicalis* masih bercampur dengan sejumlah kotoran yang ada di sarang lebah, seperti ranting, debu, dan roti lebah. Oleh sebab itu, sebelum dipergunakan maka propolis perlu dibersihkan dan diekstraksi terlebih dahulu (Nugraheni, 2015).

Metode yang digunakan adalah maserasi. Proses perendaman dilakukan guna mengekstrak senyawa yang terdapat dalam propolis *Trigona apicalis* menggunakan pelarut metanol. Pemilihan pelarut dengan kadar polar yang berbeda dengan tujuan guna mengetahui pelarut yang efektif untuk ekstraksi senyawa polifenol serta flavonoid dalam propolis. Komposisi kimia propolis

sangat beragam. Hal ini disebabkan oleh kondisi geografis yang berbeda dari sumber tanaman yang dipakai koloni lebah guna membuat propolis. Komposisi kimia propolis spesifik meliputi asam fenolik, asam amino, flavonoid, chalcones, lignan, triterpen, steroid, dan polisakarida (Selvan A, 2010).

Setelah dilakukannya maserasi, hasil ekstraksi dipekatan dengan menggunakan waterbath. Ekstrak cair yang dihasilkan pada saat maserasi mempunyai konsistensi cair serta kandungan pelarutnya yang masih tinggi sehingga dilakukan pemekatan yang memakai waterbath dengan suhu 64,7°C untuk mendapatkan ekstrak kental propolis *Trigona apicalis*.

Hasil ekstrak methanol yang didapatkan selanjutnya dilakukan partisi cair-cair menggunakan pelarut dengan perbandingan 1;1 (n-heksan;methanol). Kemudian dikocok dan didiamkan hingga membentuk dua fase. Hasil filtrat n-heksan dari partisi tersebut dikumpulkan dan di uapkan untuk mendapatkan fraksi dari n-heksan propolis. Propolis lebah kelulut (*Trigona apicalis*) yang telah di maserasi dan dilakukan partisi cair cair kemudian diperoleh fraksi n-heksan propolis lebah kelulut (*Trigona apicalis*) dengan jumlah rendemen pada Tabel 4.1

Hasil rendemen yang diperoleh dibutuhkan agar dapat mengetahui berapa banyak ekstrak/fraksi yang diperoleh. Data rendemen yang didapatkan berhubungan dengan senyawa aktif yang terdapat pada sampel. Jika berat rendemen yang didapatkan semakin besar maka semakin banyak juga senyawa aktif yang diperoleh pada sampel. Rendemen bisa dinyatakan baik apabila mempunyai nilai lebih dari 10%. Hasil rendemen yang didapatkan pada penelitian ini bisa dinyatakan baik sebab mempunyai nilai rendemen sebesar 10,20%, jika dibandingkan dengan hasil rendemen menggunakan fraksi etil asetat hasil rendemen fraksi n-heksan jauh lebih baik karena fraksi etil asetat mendapatkan hasil rendemen sebesar 6,38%.



Jenis pelarut yang digunakan guna mengekstrak komponen dari sampel mungkin juga mempengaruhi jumlah rendemen yang diperoleh dari sampel yang diekstraksi (Erpi Bangol, 2014). Pemilihan pelarut dengan kadar polar yang berbeda bertujuan untuk menentukan pelarut yang efisien untuk mengekstrak senyawa polifenol dan flavonoid dari propolis.

## 2. Skrining Fitokimia

Uji fitokimia bertujuan untuk mengidentifikasi secara kualitatif sekelompok zat aktif berupa senyawa flavonoid, alkaloid, saponin dan tanin dalam ekstrak konsentrat trigona apikal propolis. Dalam penelitian ini, fraksi n-heksana dari propolis lebah madu *Trigona apicalis* diuji fitokimia berupa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan triterpenoid/steroid.

Pada penelitian ini uji fitokimia ini memiliki dugaan awal untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam fraksi n-heksan propolis *Trigona apicalis* yang memberikan aktivitas antioksidan dan antibakteri. Prinsip uji fitokimia ialah terdapatnya perubahan warna oleh suatu pereaksi (reagen) warna, yang mana perubahan tersebut di cocokkan dengan standar warna. Terdapatnya perubahan warna yang sesuai standar menunjukkan hasil yang positif terhadap golongan senyawa tersebut. Bersumberkan hasil yang diperoleh dari penelitian ini hasil uji fitokimia fraksi n-heksan propolis trigona apicalis bisa diamati dalam tabel 4.2

Hasil uji fitokimia yang didapatkan dari fraksi n-heksan propolis lebah *Trigona apicalis* positif mengandung alkaloid yang ditandai dengan warna yang berubah menjadi merah/jingga setelah ditetesi oleh pereaksi. Pada pengujian flavonoid menunjukkan bahwa fraksi n-heksan propolis lebah *Trigona apicalis* memberikan hasil yang positif sebab ada perubahan warna menjadi tidak berwarna. Pada percobaan identifikasi saponin pada fraksi n-

heksan propolis lebah *Trigona apicalis* menunjukkan hasil positif dalam percobaan pengujian saponin. Hal ini ditunjukkan dengan adanya buih atau buih selama lebih dari sepuluh menit. Pada saponin, senyawa ini ialah senyawa bentuk glukosida serta bersifat polar .

Dari uji tannin dan terpenoid/steroid diperoleh hasil negatif. Adanya tannin ditandai dengan berubahnya larutan berwarna kuning menjadi warna hijau kehitaman sedangkan fraksi mengandung triterpenoid jika warna menjadi coklat kemerahan diantara permukaan, fraksi mengandung steroid apabila lapisan atas berwarna merah serta lapisan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> berwarna kuning.

Dibandingkan hasil uji fitokimia pada ekstrak methanol propolis *Trigona apicalis* didapatkan hasil yang berbeda dengan uji fitokimia dengan fraksi n-heksan, pada ekstrak methanol positif berisi senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, tanin dan memberikan hasil negative pada senyawa terpenoid/steroid.

Alkaloid, flavonoid, dan saponin memiliki kemampuan menangkap radikal bebas dan memiliki aktivitas antibakteri. Alkaloid sebagai antioksidan memiliki mekanisme dengan cara mendonorkan atom H pada radikal bebas. Mekanisme ini menunjukkan bahwa alkaloid bekerja sebagai antioksidan primer. Antioksidan primer merupakan Antioksidan primer akan bereaksi dengan radikal bebas seperti lipid dan radikal peroksil untuk vsebagai antibakteri memiliki mekanisme dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, akhirnya lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh serta mengakibatkan kematian sel.

Flavonoid bisa bersifat antioksidan melalui metode menangkap radikal bebas. Aktivitas antioksidan dimiliki flavonoid sebab terdapatnya gugus hidroksil fenolik pada struktur molekulnya pula melalui daya tangkap dengan radikal bebas. Flavonoid sebagai antibakteri bekerja dengan beberapa aksi, yaitu

menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membrane sitoplasma, dan menghambat metabolisme energy pada bakteri.

Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri yakni mendanaturasi protein. Sebab zat aktif permukaan saponin serupa dengan deterjen maka saponin bisa dipakai menjadi antibakteri yang mana tegangan permukaan dinding sel bakteri akan diturunkan serta permeabilitas membran bakteri dirusak (Sani, 2013).

### 3. Uji Aktivitas Antioksidan

Antioksidan ialah zat yang memiliki kemampuan untuk melindungi sel dari bahaya yang mungkin diakibatkan oleh radikal bebas, yang merupakan molekul tidak stabil. *2,2-difenil-1-pikrilhidrazil* ialah senyawa kimia radikal yang dipakai dalam pengujian aktivitas antioksidan (DPPH). absorbansi molekul DPPH terbesar terjadi pada panjang gelombang yang berkisar antara 515 hingga 520 nm (Martysiak-Żurowska, D., Wenta, 2012). Pada penelitian ini menggunakan panjang gelombang 517 nm.

Nilai  $IC_{50}$  adalah parameter yang dipakai guna menentukan aktivitas antioksidan saat menggunakan teknik DPPH. Konsentrasi zat uji yang diperlukan untuk mencapai pengurangan radikal bebas tepat lima puluh persen disebut sebagai nilai  $IC_{50}$ . Semakin rendah nilai  $IC_{50}$ , semakin efektif zat tersebut dalam menangkap radikal bebas. (Molyneux, P., 2004).

Hasil aktivitas antioksidan diperoleh dari persentase inhibisi yang dihitung dengan perhitungan regresi linier dan bisa diamati dalam Tabel 4.3 perihal ini memperlihatkan bahwasanya fraksi n-heksana propolis lebah kelulut (*Trigona apicalis*) dengan metode DPPH memiliki aktivitas antioksidan. Diagram hasil aktivitas penghambatan radikal bebas fraksi n-heksan propolis lebah *Trigona apicalis* bisa diamati dalam gambar 4.1 Bersumberkan hasil yang didapati disimpulkan bahwasanya fraksi propolis *Trigona*

*apicalis* n-heksan mencapai nilai  $IC_{50}$  sebesar 29,51 ppm yang berarti fraksi propolis lebah *Trigona apicalis* n-hexane dapat menjadi antioksidan yang sangat kuat dengan nilai  $IC_{50}$  kira-kira antara 50 hingga 100 ppm. Nilai  $IC_{50}$  ialah konsentrasi senyawa uji yang dapat mereduksi radikal bebas hingga 50%.

Metode yang selalu dipakai yakni metode uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH. Kelebihan metode ini adalah sederhana, mudah, cepat, sensitif serta memerlukan sampel yang sedikit (Khopkar, 2003). Dalam percobaan ini, asam askorbat berfungsi sebagai kontrol positif dan digunakan sebagai pembanding. Hal ini disebabkan karena ia memiliki gugus hidroksil bebas, yang dapat menetralkan efek radikal bebas, serta gugus polihidroksil, yang dapat meningkatkan tingkat aktivitas antioksidan.. (Isnindar, Wahyuono S, 2011). Hasil uji antioksidan asam askorbat menunjukkan nilai  $IC_{50}$  sebesar 4,025 ppm. bisa diamati dalam tabel 5. dengan persamaan regresi linier rumus  $y = 11,951x + 1,5685$ ,  $R^2 = 0,9911$ .

Aktivitas antioksidan fraksi n-heksana propolis lebah *Trigona apicalis* jika dibandingkan dengan larutan pembanding yaitu asam askorbat menunjukkan bahwa fraksi n-heksana propolis *Trigona apicalis* mempunyai aktivitas antioksidan yang lebih rendah dibandingkan dengan pembanding (asam askorbat). Jika nilai  $IC_{50}$  suatu senyawa kurang dari 50, maka senyawa tersebut dianggap memiliki sifat antioksidan yang sangat kuat, kuat (50-100), sedang (100- 150), dan lemah (151-200). Semakin kecil nilai  $IC_{50}$  semakin tinggi aktivitas antioksidan (Tristantini et al, 2016).

Hilangnya warna ungu pada larutan uji menandakan bahwa larutan tersebut memiliki aktivitas antioksidan Hal ini dikarenakan antioksidan menyebabkan penurunan DPPH. Perubahan warna diukur dengan spektrofotometri UV-tampak pada panjang gelombang maksimum (Lukitaningsih, 2009). Perubahan warna yang terjadi menyebabkan penurunan nilai absorbansi larutan.

Penyebab penurunan daya serap adalah tingginya konsentrasi senyawa aktif yang mampu menetralkan radikal bebas DPPH (Agustina, 2020). Kemudian, perbedaan nilai absorbansi memberikan nilai persen penghambatan. Peningkatan persentase inhibisi berarti peningkatan inhibisi radikal bebas dalam sampel. (Prasanto, 2017).

#### 4. Antibakteri

Aktivitas antibakteri fraksi n-heksana propolis *Trigona apicalis* dilakukan dengan metode difusi sumur. Dua jenis bakteri, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yang digunakan dalam penelitian ini. Aseton digunakan sebagai kontrol negatif dan berbagai agen antibakteri (thiamphenicol) digunakan sebagai kontrol positif. Hasil diameter zona hambat pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dapat dilihat pada tabel 4.4

Berdasarkan hasil yang didapat mengenai pengaruh fraksi n-heksan propolis lebah *Trigona apicalis* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* memperlihatkan adanya daya hambat yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening pada sekeliling lubang pada percobaan dengan konsentrasi 75, 150, 300 dan 600 ug/ml. Pengujian aktivitas antibakteri ini diselenggarakan pengulangan sejumlah 4 kali.

Pada hasil penelitian yang didapatkan menunjukkan adanya kenaikan daya hambat pada setiap kenaikan konsentrasi fraksi n-heksan propolis lebah *Trigona apicalis*. Hal tersebut disebabkan oleh konsentrasi fraksi yang dapat mempengaruhi penyerapan senyawa antibakteri.

Konsentrasi 150 ug/ml pada bakteri *Staphylococcus aureus* menghasilkan rata-rata zona hambat yang paling besar dibanding dengan konsentrasi lainnya. Ketika di uji dengan menggunakan konsentrasi 300, dan 600 ug/ml nilai rata-rata zona hambat yang

dihasilkan menurun. Dari hasil didapat, diketahui bahwa konsentrasi fraksi n-heksan propolis *Trigona apicalis* yang paling efektif menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* adalah konsentrasi 150 ug/ml. pada konsentrasi 150 ug/ml kandungan zat aktif yang tinggi dapat terserap kedalam media agar secara optimal dan efektif, sehingga hasil diameter zona hambat besar. Sedangkan pada konsentrasi 300, dan 600 ug/ml menghasilkan zona hambat yang lebih kecil pada konsentrasi ini merupakan konsentrasi paling maksimal, sehingga fraksi memiliki sifat konsistensi yang sangat pekat, dan hamper padat. Hal itu yang membuat proses difusi ekstrak pada media agar menjadi kurang efektif.

Pada bakteri *Escherichia coli* rata-rata zona hambat yang paling besar berada pada konsentrasi 300 ug/ml yakni sebanyak 5,67 mm selanjutnya pada konsentrasi terbesar yaitu 600 ug/ml zona hambat yang di hasilkan menurun menjadi 4,67 mm, yang berarti konsentrasi 300 ug/ml merupakan konsentrasi yang mampu menyerap zat aktif yang tinggi pada media agar dibandingkan konsentrasi 600 ug/ml.

Apabila diameter zona hambat yang dihasilkan adalah 5 mm ataupun kurang, aktivitas penghambatan dianggap lemah. Jika diameter zona hambat antara 6 dan 10 mm, aktivitasnya dianggap sedang. Jika diameter zona hambat antara 11 dan 20 mm, aktivitasnya dianggap kuat. Jika diameter zona hambat 21 mm atau lebih, aktivitasnya dianggap sangat kuat. Penelitian ini menunjukkan bahwa fraksi n-heksan Propolis lebah *Trigona apicalis* memiliki aktivitas antibakteri dalam kategori lemah. Adanya aktivitas antibakteri pada propolis *Trigona apicalis* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* karena propolis *Trigona apicalis* memiliki beberapa senyawa fitokimia yang berperan sebagai antibakteri.

Kualitas ekstrak atau fraksi dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor yang berbeda, termasuk parameter kimia seperti jenis senyawa kimia, jumlah senyawa tersebut, proses ekstraksi, dan pelarut yang digunakan. Selain itu, terdapat varians pada tingkat biologis, seperti negara asal propolis lebah *Trigona apialis* yang digunakan.

Dari hasil rata-rata zona hambat bakteri *Escherichia coli* memiliki daya hambat lebih besar daripada bakteri *Staphylococcus aureus* karena fraksi n-heksan propolis *Trigona apialis* yang aktif lebih bersifat non polar, akhirnya senyawa aktif yang keluar lebih banyak dengan sifat non polar serta membuat lebih mudah terikat pada dinding sel bakteri gram negatif yang lebih banyak berisi lipid, sementara bakteri gram positif ialah bakteri yang mempunyai dinding sel memuat atas 90% peptidoglikan yang bisa mengikat senyawa polar akhirnya lebih memberi efek penghambatan terhadap senyawa yang lebih polar.

Setelah itu, data yang diperoleh dilakukan uji *One Way Anova*, dan analisis dilanjutkan dengan uji Post-Hoc LSD. Pengolahan data pada pengujian ini menggunakan SPSS 21 (*Statistical roduct and Servoce Solution*) for windows. Hasil analisis data menggunakan SPSS bisa diamati dalam lampiran 8.

Untuk melanjutkan uji Anova, asumsi pertama yang harus dibuat adalah bahwa data perlu berdistribusi normal. Pengujian normalitas penelitian ini memakai uji *Kolmogorov Smirnov*. Dalam uji statistic didapatkan hasil bahwa data zona hambat terhadap *Staphylococcus aureus* serta *Escherichia coli* menghasilkan data yang berdistribusi normal karena mamiliki significancy  $>0,05$ . Data hasil uji normalitas bisa diamati dalam lampiran.

Asumsi kedua yaitu data harus homogen atau mempunyai varians yang sama agar dapat dianggap sebanding. Uji lavene test digunakan untuk uji homogenitas pada penelitian ini, serta hasil yang didapati yakni 0,07 pada analisis data *Staphylococcus aureus*

dan 0,056 pada bakteri *Escherichia coli* ( $>0,05$ ). Oleh sebab itu, hasil pengujian ini memperlihatkan bahwasanya semua data memiliki varians yang sama (homogen). Hasil uji homogenitas bisa diamati dalam lampiran.

Diketahui bahwa asumsi pertama dan kedua telah terpenuhi maka pengolahan data bisa dilanjutkan dengan uji *One Way Anova*. Karena nilai  $p$  untuk uji *One Way Anova* terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yakni 0,000 (kurang dari 0,05), maka bisa disimpulkan bahwasanya terdapat variasi laju pertumbuhan bakteri pada setiap konsentrasi, kemudian dilanjutkan dengan melakukan uji analisis yang memakai uji Post Hoc LSD.

Uji Post Hoc LSD (*Least Significant Different*) memiliki tujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan dengan makna dari hasil perlakuan kelompok konsentrasi fraksi n-heksan propolis lebah *Trigona apicalis*. Nilai signifikansi yang didapat dari uji LSD zona hambat bakteri *Escherichia coli* pada konsentrasi 75 ug/ml dan 600 ug/ml berbeda secara signifikan karena diperoleh hasil signifikansi masing-masing  $p < 0,05$  pada setiap konsentrasi perbandingan. Perihal ini memperlihatkan bahwasanya fraksi n-heksana propolis apikal *Trigona* memiliki aktivitas antibakteri yang signifikan secara statistik pada konsentrasi 75 ug/ml dan 600 ug/ml.

Hasil uji LSD pada konsentrasi 150 ug/ml dengan konsentrasi 75, 300, dan 600 ug/ml diperoleh hasil signifikansi  $p < 0,05$  yang bermakna ada perbedaan zona hambat yang signifikan secara statistik. Diketahui bahwasanya tidak terdapat perbedaan yang bermakna pada zona hambat pada konsentrasi 150 ug/ml dengan kontrol positif thiamphenicol pada 30 ug/ml dan diperoleh hasil  $p > 0,05$ . yang berarti tidak ada perbedaan zona hambat yang bermakna. Dari hasil itu bisa bermakna antara konsentrasi 150 ug/ml dengan konsentrasi 75, 300, dan 600 ug/ml memiliki efek yang berbeda sedangkan pada konsentrasi 150 ug/ml dengan kontrol positif thiamphenicol 30 ug/ml memiliki efek yang sama.



Hasil uji LSD pada kontrol positif thiamphenicol 30 ug/ml dengan konsentrasi 75 dan 600 ug/ml menunjukkan hasil signifikansi  $p < 0.05$  yang menunjukkan adanya perbedaan zona hambat yang signifikan. Kontrol positif thiamphenicol 30 ug/ml dengan konsentrasi 30 ug/ml diuji bersama konsentrasi 150 dan 300 ug/ml, dan menerima nilai  $p > 0,05$  yang berarti tidak terdapat perbedaan bermakna pada zona hambat. Oleh karena itu, aktivitas bakteri pada konsentrasi 150 dan 300 ug/ml sebanding dengan kontrol positif thiamphenicol 30ug/ml sedangkan pada konsentrasi 75 dan 600 ug/ml memiliki aktivitas antibakteri yang tidak setara dengan thiamphenicol 30 ug/ml.

Hasil Uji Post Hoc LSD bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 75, 150, dan 600 ug/ml memiliki perbedaan zona hambat yang bermakna pada seluruh konsentrasi pembandingan karena memiliki nilai signifikansi  $p < 0,05$ . Namun pada konsentrasi 300 ug/ml dengan kontrol positif thiamphenicol mendapatkan hasil  $p > 0,05$  serta pada kontrol positif thiamphenicol 30 ug/ml dengan konsentrasi 300 ug/ml menghasilkan signifikansi  $p > 0,05$  yang bermakna pada kelompok konsentrasi tersebut tidak memiliki perbedaan bermakna pada zona hambat bakteri *Staphylococcus aureus*.

### **C. Keterbatasan Penelitian**

Penelitian yang diselenggarakan memiliki keterbatasan dan kekurangan yang bisa memberi pengaruh hasil penelitian, yaitu :

Sampel yang dipakai yakni sampel yang memiliki sifat lengket dan sulit larut dalam pelarut yang digunakan sehingga membutuhkan waktu yang lama untuk melarutkan sampel pada saat melakukan uji fraksinasi.