

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

1. Kondisi Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan pada fasilitas laboratorium Fakultas Pertanian Sains, Teknologi Universitas Warmadewa yang meliputi proses maserasi, evaporasi, pembuatan media, pengujian aktivitas antibakteri.

Pada laboratorium terdapat juga *rotary evaporator* yang berfungsi untuk memisahkan etanol dari zat aktif dalam maserat dengan menguapkan pelarutnya, sehingga dapat menghasilkan ekstrak pekat dari tanaman pegagan. Selain itu di laboratorium mikrobiologi tersedia *Biosafety Cabinet*, *inkubator*, *Mc farland Densitometer*, serta peralatan gelas lainnya. Selain itu, tersedia juga bahan-bahan media pertumbuhan bakteri seperti *Muller Hinton Agar*, *Nutrient Agar*, cakram kosong, cakram antibiotik untuk kultur bakteri dan pengujian aktivitas antibakteri.

2. Karakteristik Obyek Penelitian

Sampel tanaman pegagan diperoleh dari persawahan di Br. Tanggayuda, Desa Kedewatan, Kecamatan Ubud, Kabupaten Gianyar. Tanaman pegagan tumbuh berkelompok sebagai tanaman liar di sekitar kawasan persawahan tersebut. Setelah melalui proses sortasi basah, berat sampel yang diperoleh sebanyak 1 kg. Sampel kemudian dikeringkan selama kurang lebih tiga hari tanpa paparan sinar matahari langsung, dilanjutkan dengan pengeringan menggunakan oven hingga diperoleh simplisia berbentuk serbuk halus. Berat simplisia kering yang dihasilkan sebesar

350 g. Simplisia selanjutnya diekstraksi dengan teknik maserasi menggunakan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:5. Maserat yang diperoleh kemudian dievaporasi untuk menghasilkan ekstrak etanol pekat sebanyak 31 g.

3. Diameter Zona Hambat

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol pegagan terhadap *Propionibacterium acnes* dilakukan menggunakan variasi konsentrasi 10%, 20%, 30%, dan 50%. Hasil pengukuran diameter zona hambat disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5
Hasil Diameter Zona Hambat Ekstrak Etanol Pegagan Terhadap
Propionibacterium acnes

Pengulangan	Kontrol	10%	20%	30%	50%
	positif (mm)				
I	30,91	6,82	6,35	6,98	8,65
II	31,78	5,17	5,49	6,62	7,34
III	30,44	5,14	5,54	6,29	6,94
IV	30,91	4,22	6,00	5,81	6,06
Rerata	31,0 ± 0,566	5,33 ± 1,08	5,84 ± 0,41	6,43 ± 0,50	7,25 ± 1,08

Berdasarkan Tabel 5, seluruh konsentrasi ekstrak etanol pegagan mampu menghasilkan zona hambat terhadap *Propionibacterium acnes* yang ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar cakram. Rerata diameter zona hambat pada

konsentrasi 10%, 20%, 30%, dan 50% berturut-turut adalah $5,33 \pm 1,08$ mm; $5,84 \pm 0,41$ mm; $6,43 \pm 0,50$ mm; dan $7,25 \pm 1,08$ mm. Kontrol positif kloramfenikol 40 µg menghasilkan zona hambat terbesar dengan rerata 31,0 mm. Hasil tersebut menunjukkan adanya peningkatan diameter zona hambat seiring bertambahnya konsentrasi ekstrak, sedangkan konsentrasi 10% menunjukkan daya hambat paling kecil di antara seluruh kelompok perlakuan.

Berdasarkan kategori daya hambat menurut Alifah (2018), seluruh konsentrasi ekstrak etanol pegagan termasuk dalam kategori sedang karena menghasilkan diameter zona hambat pada rentang $5 - < 10$ mm. Meskipun belum termasuk kategori kuat, hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak pegagan tetap memiliki potensi sebagai antibakteri alami terhadap *Propionibacterium acnes*.

Konsentrasi 50% menghasilkan rerata zona hambat terbesar dibandingkan konsentrasi lainnya karena semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin banyak senyawa aktif yang terkandung, seperti flavonoid, tanin, saponin, dan terpenoid, sehingga aktivitas antibakterinya meningkat. Hasil ini sejalan dengan penelitian Riferty dkk. (2020) yang menyatakan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak dapat meningkatkan daya hambat terhadap bakteri. Hal ini diduga karena jumlah senyawa aktif yang berdifusi ke dalam media lebih tinggi sehingga aktivitas antibakterinya menjadi lebih optimal karena *Propionibacterium acnes* merupakan bakteri gram positif yang memiliki struktur dinding sel lebih sederhana dibandingkan bakteri gram negatif. Dinding sel bakteri gram positif tersusun atas lapisan peptidoglikan tebal tanpa lapisan lipopolisakarida, sehingga senyawa aktif pada ekstrak pegagan lebih mudah menembus sel bakteri dan menghambat

pertumbuhannya. Sebaliknya, konsentrasi 10% menghasilkan daya hambat paling kecil karena kandungan zat aktif dalam ekstrak masih lebih sedikit.

Meskipun seluruh konsentrasi ekstrak mampu menghambat pertumbuhan *Propionibacterium acnes*, diameter zona hambat yang dihasilkan masih lebih kecil dibandingkan kontrol positif kloramfenikol 40 µg. Hal ini disebabkan karena antibiotik memiliki senyawa aktif murni dan spesifik dalam menghambat pertumbuhan bakteri, sedangkan ekstrak tanaman masih berupa campuran berbagai senyawa metabolit sekunder sehingga aktivitas antibakterinya belum sekuat antibiotik standar diameter zona hambat yang relatif kecil juga dapat dipengaruhi oleh proses ekstraksi dan kemampuan difusi senyawa aktif pada media agar. Senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak tanaman umumnya memiliki ukuran molekul yang lebih besar dibandingkan antibiotik murni sehingga penyebarannya dalam media menjadi lebih lambat.

Selain itu, kemampuan daya hambat ekstrak juga dapat dipengaruhi oleh proses difusi senyawa aktif pada media agar. Senyawa pada ekstrak tanaman umumnya memiliki ukuran molekul lebih besar sehingga proses penyebarannya dalam media lebih lambat dibandingkan antibiotik. Berdasarkan standar NCCLS, terbentuknya zona hambat pada seluruh konsentrasi menunjukkan bahwa ekstrak etanol pegagan memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Propionibacterium acnes*. Aktivitas antibakteri tersebut diduga berasal dari kandungan flavonoid, saponin, tanin, dan terpenoid yang bekerja dengan mekanisme berbeda-beda dalam menghambat pertumbuhan bakteri flavonoid bekerja dengan merusak membran sel bakteri dan menghambat metabolisme sel tanin dapat mengendapkan protein dan menghambat kerja enzim penting pada bakteri saponin meningkatkan permeabilitas membran sel

sehingga menyebabkan kebocoran isi sel, sedangkan terpenoid dapat merusak porin pada dinding sel bakteri dan menghambat masuknya nutrisi ke dalam sel.

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Riferty dkk. (2020) yang menyatakan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak dapat meningkatkan aktivitas antibakteri terhadap *Propionibacterium acnes*. Penelitian Fernenda (2022) juga menjelaskan bahwa flavonoid dan tanin memiliki kemampuan sebagai antibakteri melalui mekanisme perusakan membran sel dan penghambatan metabolisme bakteri.

4. Hasil Analisis Data

Analisis data dilakukan secara bertahap dimulai dari uji prasyarat hingga uji lanjutan dengan bantuan perangkat lunak SPSS.

a. Uji normalitas *Shapiro-Wilk*

Uji normalitas dilakukan dengan metode *Shapiro-Wilk*, yang dimana hasil semua data mempunyai nilai ($p > 0,05$). Dapat disimpulkan jika data diameter zona hambat berdistribusi normal (Tabel 6).

Tabel 6
Hasil Uji Normalitas *Shapiro Wilk*

Variabel	<i>Shapiro-Wilk</i>		
	Statistic	df	Sig.(p)
Kontrol (+)	0.904	4	0,453
10%	0.914	4	0,503
20%	0.895	4	0,405
30%	0.994	4	0,976
50%	0.980	4	0,900

b. Uji homogenitas (*Levene*)

Uji homogenitas dilakukan untuk mengetahui beberapa varian populasi adalah sama atau tidak (Sianturi, 2022).

Berdasarkan hasil uji homogenitas *Levene Statistic* diperoleh nilai $(p) > \alpha$ (0,160 > 0,05), maka data dinyatakan varian antar kelompok homogen.

c. Uji *One Way ANOVA*

Dilakukan uji *One Way ANOVA* untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan zona hambat pertumbuhan *Propionibacterium acnes*. (Nainggolan dkk, 2025).

Tabel 7
Hasil Uji *One Way ANOVA*

Variabel	Rata-rata $\pm$ SD (mm)	Sig
Kontrol positif	31,01 $\pm$ 0,56	
10%	5,34 $\pm$ 1,08	
20%	5,85 $\pm$ 0,41	0.001
30%	6,43 $\pm$ 0,50	
50%	7,25 $\pm$ 1,08	

Berdasarkan hasil uji *One Way ANOVA* diperoleh nilai signifikansi sebesar 0,001 ($p < 0,05$), sehingga menunjukkan adanya perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan. Hasil ini menunjukkan bahwa variasi konsentrasi ekstrak etanol pegagan memberikan pengaruh terhadap diameter zona hambat *Propionibacterium acnes*. Uji lanjut Tukey HSD menunjukkan bahwa perbedaan signifikan terjadi antara konsentrasi 10% dan 50%, sedangkan antar konsentrasi yang berdekatan tidak menunjukkan perbedaan bermakna. Hal ini diduga karena

peningkatan jumlah senyawa aktif pada konsentrasi yang lebih tinggi baru memberikan efek nyata apabila selisih konsentrasinya cukup besar.

d. Uji *Post Hoc* Tukey

Uji lanjutan Tukey HSD dilakukan untuk mengetahui pasangan kelompok mana yang berbeda secara signifikan. Hasil uji Tukey disajikan pada (Tabel 8).

Tabel 8
Hasil Uji Tukey HSD

(I)Konsentrasi ekstrak	(J)Konsentrasi Ekstrak	<i>p</i>	Keterangan
Kontrol (+)	10%	0.001	$p < \alpha$ (0,05)
	20%	0.001	$p < \alpha$ (0,05)
	30%	0.001	$p < \alpha$ (0,05)
	50%	0.001	$p < \alpha$ (0,05)
10%	20%	0,910	$p > \alpha$ (0,05)
	30%	0,305	$p > \alpha$ (0,05)
	50%	0,015	$p = \alpha$ (0,05)
20%	30%	0,854	$p > \alpha$ (0,05)
	50%	0,107	$p > \alpha$ (0,05)
30%	50%	0,591	$p > \alpha$ (0,05)

Berdasarkan hasil uji Tukey HSD, terdapat perbedaan signifikan antara kontrol positif dengan seluruh kelompok perlakuan ($p < 0,05$), serta antara kontrol negatif (0 mm) dengan seluruh kelompok perlakuan ($p < 0,05$). Pada perbandingan antar konsentrasi ekstrak, perbedaan bermakna hanya ditemukan antara konsentrasi 10%

dan 50% ($p = 0,015$), sedangkan perbandingan antar konsentrasi lainnya tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$).

B. Pembahasan

1. Tanaman Pegagan dan Ekstrak Etanol Pegagan

Pegagan (*Centalla asitica*) yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari wilayah perswahan di Br. Tanggayuda, Desa Kedewatan, Kecamatan Ubud, Kabupaten Gianya. Bagian tanaman yang dimanfaatkan yaitu daun dan batang yang masih segar dan berwarna hijau. Tahapan pembuatan simplisia meliputi sortasi basah, pencucian, pengeringan, sortasi kering, serta penghalusan hingga menjadi serbuk. Proses pengeringan dilakukan tanpa paparan sinar matahari langsung dengan tujuan untuk menjaga kestabilan senyawa aktif serta mengurangi aktivitas enzim yang dapat merusak kandungan fitokimia.

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% dengan perbandingan bahan terhadap pelarut sebesar 1:5 selama 2x 24 jam. Metode ini dipilih karena tidak melibatkan pemanasan sehingga lebih aman untuk senyawa yang sensitif terhadap suhu tinggi. Selain itu, metode maserasi juga relatif sederhana dan ekonomis, walaupun membutuhkan waktu yang lebih lama. Filtarat yang diperoleh ekstrak kental sebanyak 31g dari 350gram simplisia. Ekstra tersebut selanjutnya dibuat dalam beberapa variasi konsentrasi, yaitu 10%, 20%, 30% dan 50% (b/v) untuk digunakan dalam pengujian aktivitas antibakteri.

Tujuan khusus pertama dalam penelitian ini untuk mengetahui diameter zona hambat ekstrak etanol pegagan terhadap *Propionibacterium acnes* pada variasi konsentrasi 10%, 20%, 30%, dan 50%. Berdasarkan hasil pengujian menggunakan metode difusi cakram *Kirby-Bauer*, seluruh konsentrasi ekstrak menunjukkan

kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri, yang ditandai dengan terbentuknya zona bening disekitar cakram. Rata-rata diameter zona hamabat yang diperoleh yaitu $5,33 \pm 1,08$ mm pada konsentrasi 10%; 5,65mm pada 20%; 6,42mm pada 30%; dan 7,24mm pada konsentrasi 50%. Sementara itu, kontrol negatif berupa etanol 96% tidak menunjukkan adanya zona hambat (0 mm), sedangkan kontrol positif menggunakan kloramfenikol 40 μ g menghasilkan diameter zona hambat rata-rata sebesar 31,0 mm (Ronald, 2015).

Hasil tersebut menunjukkan bahwa efek penghambatan yang terjadi benar-benar berasal dari senyawa aktif dalam ekstrak pegagan, bukan dari pelarut yang digunakan. Etanol sebagai pelarut tidak memberikan efek antibakteri karena sifatnya yang mudah menguap dari permukaan media agar sebelum sempat bekerja menghambat bakteri. Besarnya zona hambat pada kontrol positif juga menunjukkan bahwa bakteri uji berada dalam kons=disi baik dan responsif, sehingga hasil penelitian dapat dinyatakan valid. Mengacu pada standar CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*), diameter zona hambat kloramfenikol sebesar 31,0 mm termasuk dalam kategori sensitif (> 18 mm) (Riferty dkk., 2020).

Kemampuan antibakteri ekstrak pegagan diduga berkaitan dengan kandungan senyawa bioaktif yang bekerja secara bersama-sama. Flavnoid diketahui dapat menghambat sintesis asam nukleat, mengganggu stabilitas membran sel melalui interaksi hidrofobik, serta menghambat aktivitas enzim yang berperan dalam proses transport membran, tanin bekerja dengan membentuk kompleks dengan protein, menembus membran sel, serta enghambat enzim penting seperti reverse transkriptase dan DNA sopoisomerase, saponin berperan dalam menurunkan tegangan permukaan membran sel bakteri sehingga meningkatkan permeabilitas

dan menyebabkan kebocoran komponen intraseluler. Sementara itu, terpenoid dapat merusak protein porin pada dinding sel bakteri sehingga menghambat masuknya nutrisi dan akhirnya mengganggu pertumbuhan bakteri (Sutardi, 2016).

Sebagai bakteri Gram positif, *Propionibacterium acnes* memiliki dinding sel yang didominasi oleh lapisan peptidoglikan tebal dan tidak memiliki lapisan lipopolisakarida seperti pada bakteri Gram negatif. Struktur ini memungkinkan senyawa aktif yang bersifat lipofilik dari ekstrak pegagan lebih mudah menembus sel bakteri dan mencapai targetnya, sehingga mendukung aktivitas antibakteri yang dihasilkan (Harefa dkk., 2022).

Tujuan khusus kedua penelitian ini adalah menganalisis perbedaan aktivitas antibakteri ekstrak etanol pegagan pada konsentrasi 10%, 20%, 30%, dan 50% terhadap *Propionibacterium acnes*. Sebelum dilakukan analisis statistik, data terlebih dahulu diuji menggunakan uji normalitas *Shapiro-Wilk*. Hasil menunjukkan bahwa seluruh kelompok data berdistribusi normal dengan nilai signifikan $> 0,05$ pada semua kelompok. Uji homogenitas *Levene* juga menunjukkan varians antar kelompok bersifat homogen ($p = 0,160 > 0,05$). Dengan terpenuhinya kedua asumsi tersebut, analisis dilanjutkan ke uji parametrik *One Way ANOVA*.

Pada uji *One Way ANOVA* menghasilkan nilai signifikan sebesar 0,001 ($p < 0,05$), yang berarti terdapat perbedaan yang bermakna antara dua kelompok perlakuan. Yang dimana variasi konsentrasi ekstrak etanol pegagan secara keseluruhan memberikan pengaruh yang signifikan terhadap diameter zona hambat pertumbuhan *Propionibacterium acnes*.

Selanjutnya hasil uji Tukey HSD, perbedaan signifikan ditemukan antara kontrol positif dengan seluruh kelompok konsentrasi ekstrak ($p = 0,001$ pada semua perbandingan). Mengingat kloramfenikol merupakan antibiotik standar yang memiliki mekanisme kerja spesifik dan efisien terhadap *Propionibacterium acnes*, sehingga zona hambatnya jauh lebih besar dibandingkan ekstrak herbal. Pada perbandingan antar konsentrasi ekstrak, perbedaan bermakna hanya ditemukan antara konsentrasi 10% dan 50% ($p = 0,015$). Sementara perbandingan antar konsentrasi yang berdekatan yaitu 10% vs 20% ($p = 0,910$), 10% vs 30% ($p = 0,305$), 20% vs 30% ($p = 0,854$), 20% vs 50% ($p = 0,107$), dan 30 vs 50% ($p = 0,591$) tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$) (Wahid, 2021).

Tidak signifikannya perbedaan antara konsentrasi yang berdekatan kemungkinan disebabkan oleh keterbatasan difusi senyawa aktif dalam media agar. Senyawa dengan massa molekul besar atau kelarutan terbatas cenderung lebih lambat berdifusi, sehingga perbedaan zona hambat antara konsentrasi yang tidak terlalu jauh tidak terdeteksi secara statistik meskipun terjadinya peningkatan secara deskriptif. Hal ini sejalan dengan temuan Riferty dkk. (2020) yang menunjukkan bahwa perbedaan bermakna pada ekstrak herbal umumnya baru terdeteksi pada selisih konsentrasi yang cukup besar.

Tujuan khusus ketiga yaitu menentukan konsentrasi ekstrak etanol pegagan yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan *Propionibacterium acnes*. Berdasarkan data rerata diameter zonahambat, konsentrasi 50% menghasilkan nilai tertinggi yaitu 7,24 mm dibandingkan konsentrasi 10% ($5,33 \pm 1,08$ mm), 20% (5,65mm), dan 30% (6,42mm). Meskipun seluruh konsentrasi masuk dalam kategori daya hambat sedang ($5 < 10$ mm) berdasarkan kriteria Ifora dkk. (2022), konsentrasi

50% secara konsisten menghasilkan zona hambat terbesar pada setiap ulangan dan menunjukkan perbedaan bermakna dibandingkan konsentrasi 10% berdasarkan uji Tukey HSD ($p=0,015$).

Pola peningkatan zona hambat seiring kenaikan konsentrasi ini konsisten dengan prinsip farmakologi, dimana semakin tinggi kadar senyawa aktif, semakin besar kemampuan penghambatan yang dihasilkan (Florentinus, 2025). Hal ini dapat dipahami karena pada konsentrasi yang lebih tinggi, jumlah molekul aktif seperti flavonoid, tanin, saponin, dan terpenoid yang tersedia untuk berinteraksi dengan target pada sel bakteri juga semakin banyak, sehingga efek hambat yang dihasilkan semakin besar (Mareta, 2020).

Hasil penelitian ini sejalan dengan beberapa penelitian sebelumnya. Habibah (2024) menyatakan bahwa ekstrak kombinasi daun pegagan dan suruha mampu menghambat *Propionibacterium acnes* dengan daya hambat yang meningkat seiring konsentrasi.

Azzahra (2018) juga menemukan bahwa ekstrak pegagan mampu menghambat bakteri gram positif *Streptococcus mutans* pada kategori sedang hingga kuat.

Kategori sedang yang diperoleh pada penelitian ini kemungkinan dipengaruhi oleh beberapa faktor teknis seperti ukuran molekul senyawa aktif yang mempengaruhi kecepatan difusi dalam media agar, perbedaan polaritas senyawa, serta kemungkinan adanya interaksi antar senyawa yang mempengaruhi bioavailabilitasnya dalam sistem pengujian *in vitro* (Alifah, 2018).

Berdasarkan hasil uji *One Way ANOVA* yang menunjukkan nilai signifikan 0,001 ($p < 0,05$), maka H_0 ditolak dan H_a diterima. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada diameter zona hambat *Propionibacterium*

acnes antar kelompok perlakuan. Namun hasil ANOVA hanya menunjukkan adanya perbedaan secara umum, yaitu minimal terdapat dua kelompok yang berbeda, sehingga tidak dapat langsung menyimpulkan bahwa semua kelompok memiliki perbedaan satu sama lain.

Hasil uji lanjut menggunakan metode Tukey HSD menunjukkan bahwa perbedaan signifikan terjadi antara kelompok kontrol positif dengan seluruh kelompok ekstrak ($p = 0,001$), serta antara konsentrasi ekstrak 10% dan 50% ($p = 0,0015$). Sementara itu, perbandingan antar konsentrasi yang berdekatan, seperti 10% dengan 20%, 10% dengan 30%, 20% dengan 30%, 20% dengan 50%, dan 30% dengan 50%, tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$).

Temuan ini menunjukkan bahwa meskipun secara keseluruhan terdapat perbedaan yang signifikan, peningkatan konsentrasi ekstrak belum memberikan perubahan yang nyata pada setiap tingkat konsentrasi. Perbedaan yang jelas baru terlihat pada rentang konsentrasi yang cukup jauh, yaitu antara 10% dan 50%. Hal ini menggambarkan adanya hubungan dosis-respons, dimana peningkatan konsentrasi berpengaruh terhadap daya hambat, meskipun efeknya tidak selalu linier pada setiap kenaikan konsentrasi. Temuan ini dapat menjadi dasar dalam menentukan konsentrasi yang paling optimal untuk pengembangan formulasi selanjutnya.