



**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN  
KAMBOJA PUTIH (*Plumeria acuminata*) TERHADAP  
PERTUMBUHAN *Streptococcus mutans***

**SKRIPSI**

Oleh

**Affian Hudatama Putra  
121610101081**

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : drg. Yani Corvianindya R M.kes  
Dosen Pembimbing Pendamping : drg. Melok Aris W M.kes, Sp.Perio

Penguji

Dosen Penguji Ketua : Dr.drg Purwanto M.Kes  
Dosen Penguji Anggota : drg. Pujiana Endah Lestari M.Kes

**BAGIAN MIKROBIOLOGI  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2016**



**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN  
KAMBOJA PUTIH (*Plumeria acuminata*) TERHADAP  
PERTUMBUHAN *Streptococcus mutans***

**SKRIPSI**

Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat  
untuk menyelesaikan Program Studi Kedokteran Gigi (S1)  
dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran Gigi

Oleh

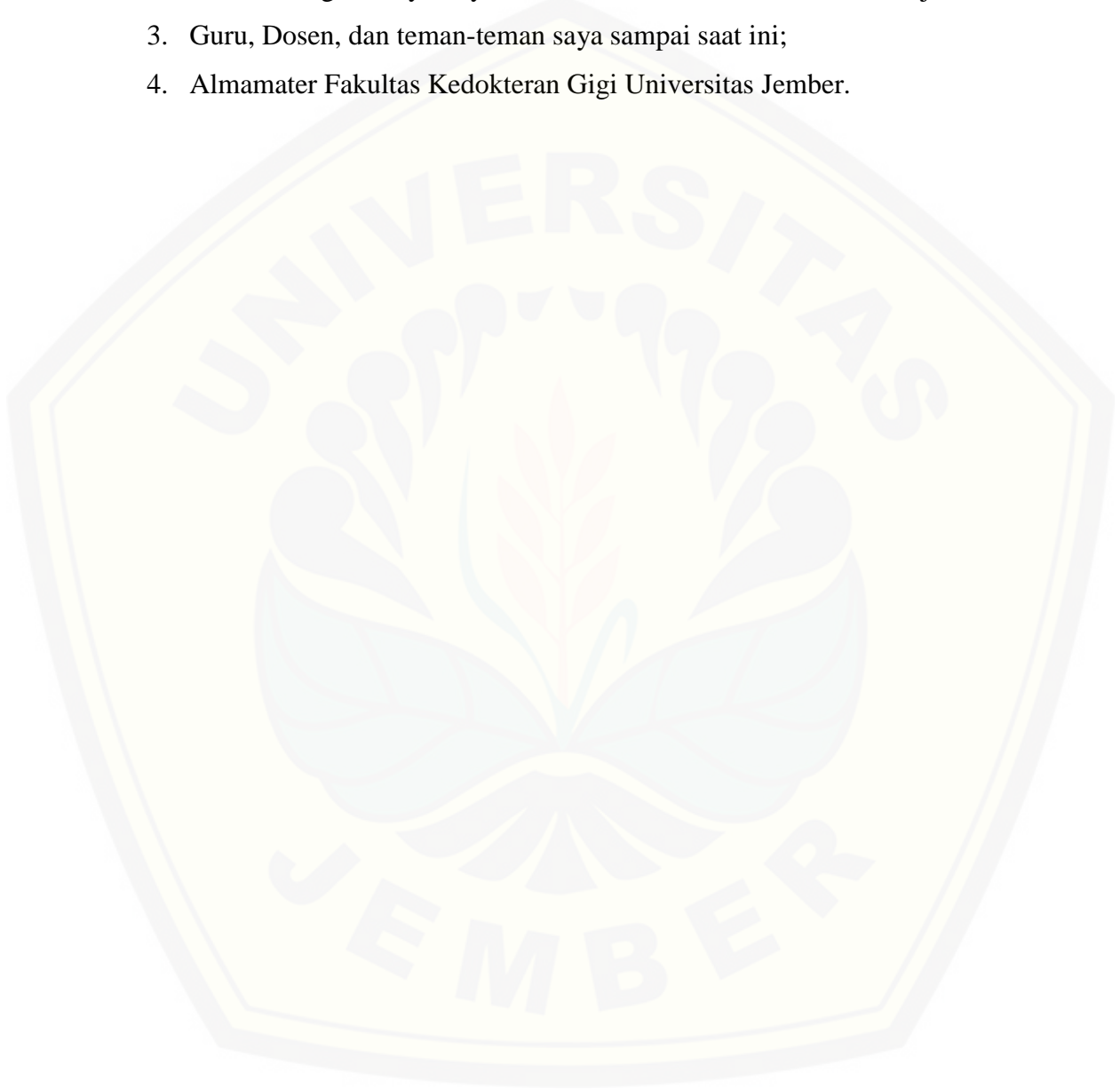
**Affian Hudatama Putra**  
**NIM 121610101081**

**BAGIAN MIKROBIOLOGI  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2016**

**PERSEMBAHAN**

Karya tulis ini saya persembahkan untuk :

1. Bangsaku, **Indonesia**;
2. Kedua orang tua saya; Ayahanda Sunarko dan Ibunda Sri Handajani;
3. Guru, Dosen, dan teman-teman saya sampai saat ini;
4. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.



**MOTTO**

“Jikalau engkau bukan anak raja dan engkau bukan anak ulama besar, maka jadilah penulis”

(Imam Al-Ghazali)



---

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini;

Nama : Affian Hudatama Putra

NIM : 121610101081

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya tulis ilmiah yang berjudul “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kamboja Putih (*Plumeria acuminata*) terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*” adalah benar-benar hasil karya saya sendiri, kecuali yang telah disebutkan sumbernya dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus saya junjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 01-Maret-2016

Yang menyatakan,

Affian Hudatama Putra

NIM 121610101081

**SKRIPSI**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN KAMBOJA  
PUTIH (*Plumeria acuminata*) TERHADAP PERTUMBUHAN  
*Streptococcus mutans***

Oleh

Affian Hudatama Putra

NIM 121610101081

Dosen Pembimbing :

Dosen Pembimbing Utama : drg. Yani Corvianindya R., M.KG

Dosen Pembimbing Anggota : drg. Melok Aris W., M.Kes, Sp.Perio

**PENGESAHAN**

Skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kamboja Putih (*Plumeria acuminata*) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*” telah diuji pada;

Hari, Tanggal : 01 Maret 2016

Tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Dosen Penguji Ketua

Dosen Penguji Anggota

Dr. drg. Purwanto., M.Kes

NIP 195710241986031000

Dosen Pembimbing Utama

drg. Pujiana Endah Lestari., M.Kes

NIP 197608092005012002

Dosen Pembimbing Anggota

drg. Yani Corvianindya R., M.KG

NIP 197308251998022001

drg. Melok Aris W., M.Kes., Sp.Perio

NIP 197104092005012002

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas jember

drg. R. Rahardyan Parnaadji., M.Kes., Sp.Prost

NIP 196901121996011001

**RINGKASAN**

**Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kamboja Putih (*Plumeria acuminata*) terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*;** Affian Hudatama Putra, 121610101081; 2016; 43 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Karies gigi merupakan masalah kesehatan gigi yang sering dijumpai di Indonesia. Penyebab utama terjadinya karies gigi ialah bakteri *Streptococcus mutans*. Bakteri ini mampu memetabolisme karbohidrat sehingga terbentuk asam yang dapat merusak jaringan keras gigi. Pertumbuhan bakteri ini dapat dihambat dengan cara pemberian bahan antibakteri dari bahan sintetis maupun bahan alami. Bahan sintetis yang sering digunakan ialah *povidone iodine*, namun antibakteri jenis ini dapat mengakibatkan alergi pada beberapa individu yang alergi pada unsur *iodine*. Saat ini masyarakat lebih mengutamakan bahan alami. Disamping harganya yang lebih ekonomis, resiko efek samping yang dihasilkan dari penggunaan bahan alami lebih minimal.

Salah satu bahan antibiotik alami yaitu daun kamboja putih. Tanaman ini mengandung senyawa-senyawa antibakteri seperti flavonoid, polifenol, tanin, saponin, dan alkaloid. Ekstrak daun kamboja putih juga telah terbukti dapat menghambat pertumbuhan bakteri saliva. Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui aktivitas antibakteri dari ekstrak daun kamboja terhadap pertumbuhan *S. mutans*.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan *the post-test only control group design*. Penelitian ini menggunakan 6 kelompok sampel, yakni ekstrak daun kamboja putih dengan konsentrasi 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, aquades steril (kontrol negatif), dan *povidone iodine* (kontrol positif). Media BHI-A steril dituangkan ke dalam petridish sebanyak 25 ml dan diinokulasi dengan *S. mutans*. Kemudian dibuat 6 lubang sumuran pada masing-masing petridish dan diberi label untuk kelompok perlakuan di bagian bawah petridish. Kemudian bahan perlakuan dimasukkan pada masing-masing lubang sumuran sesuai dengan label yang tertera sebanyak 20µl. Selanjutnya media



dimasukkan dalam desikator dan diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Setelah 24 jam dilakukan pengukuran zona hambat pada masing-masing sumuran dengan menggunakan jangka sorong digital.

Data dari hasil penghitungan zona hambat selanjutnya dilakukan analisis secara statistik. Hasil uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada kelompok perlakuan. Hasil uji *Mann-Whitney* menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna pada masing-masing kelompok, kecuali antara kelompok konsentrasi 6,25% dengan 12,5%, 6,25% dengan kontrol negatif, dan 12,5% dengan kontrol negatif. Hal itu disebabkan karena pada konsentrasi tersebut tidak memiliki daya hambat yang diduga karena kandungan zat aktif didalamnya tidak mampu menghambat pertumbuhan *S. mutans*.

Berdasarkan analisis data dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun kamboja putih memiliki daya antibakteri terhadap pertumbuhan *S. mutans*. Konsentrasi terkecil yang masih mempunyai kemampuan menghambat *S. mutans* adalah konsentrasi 25%. Ekstrak daun kamboja putih konsentrasi 25% dan 50% memiliki daya antibakteri lebih rendah dan tidak setara dengan *providone iodine*.

## PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala limpahan berkah, rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Antibakteri Etanol Daun Kamboja Putih (*Plumeria acuminata*) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat guna menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan dan bimbingan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis berkeinginan untuk menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. drg. Yani Corvianindya R., M.KG., selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah banyak meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan, saran, nasihat dan motivasi sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
2. drg. Melok Aris W., M.Kes., Sp.Perio., selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah banyak meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan, saran, nasihat dan motivasi sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
3. Dr. drg. Purwanto., M.Kes., selaku Dosen Penguji Utama yang telah memberikan kritik, saran dan nasihat sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
4. drg. Pujiana Endah Lestari., M.Kes., selaku Dosen Penguji Anggota yang telah memberikan kritik, saran dan nasihat sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
5. Dr. drg. IDA Susilawati., M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah banyak meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan, saran, nasihat dan motivasi sampai saat ini;
6. Kedua orang tuaku tercinta; Ayahanda Sunarko dan Ibunda Sri Handajani, yang telah memberikan do'a, nasihat, semangat, dukungan serta perhatian yang penuh dengan kasih sayang kepada penulis sampai saat ini;

7. Saudaraku tercinta, Fitra Karima Putri, Qomariyah, dan Nur Cholis, yang terus memberikan doa, semangat dan dukungan kepada penulis sampai saat ini;
8. Ustadz Wakhid dan seluruh Dewan Asatidz MTQ Al-Fanani Jember yang telah memberikan do'a, nasihat, semangat, serta dukungan kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini;
9. Teman-teman Mahasantri Ma'had Tahfizhul Quran Al-Fanani Jember yang telah membantu dan menyemangati penulis dalam menyelesaikan skripsi ini;
10. Teman-teman 'Laki Fearless 2012' ; Ndaru, Galuh, Ahmad, Rio, Malun, Syamsul, Arfi, Haris, Yusron, Hanif, Yusuf, Faisal, Prima, Kiki, Joary, Bima, Agya atas motivasi, semangat, candaan dan dukungannya kepada penulis selama ini;
11. Rekan-rekan penelitian; Arfi Rifadah, Galistyanissa, Chairyah Kartika;
12. Pak Pin, Mbak Anggra, dan Bu Ulfa yang telah membantu menyelesaikan penelitian ini;
13. Teman-teman KKN 75 yang telah memberikan do'a, semangat dan dukungannya kepada penulis selama ini;
14. Teman-teman seperjuangan FKG UJ 2012 yang telah memberikan dukungan dan semangat kepada penulis selama ini;
15. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember,

Penulis

**DAFTAR ISI**

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	ii
<b>HALAMAN MOTTO</b> .....	iii
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	iv
<b>HALAMAN PEMBIMBING</b> .....	v
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vi
<b>RINGKASAN</b> .....	vii
<b>PRAKATA</b> .....	ix
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xi
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xiii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xiv
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xv
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
1.4 Manfaat Penelitian .....	3
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	4
2.1 Karies Gigi .....	4
2.2 Streptococcus mutans .....	7
2.3 Antimikroba .....	9
2.4 Kamboja .....	11
2.5 Metode Ekstraksi .....	13
2.6 Uji Efektivitas Antibakteri .....	15
2.7 Hipotesis .....	15

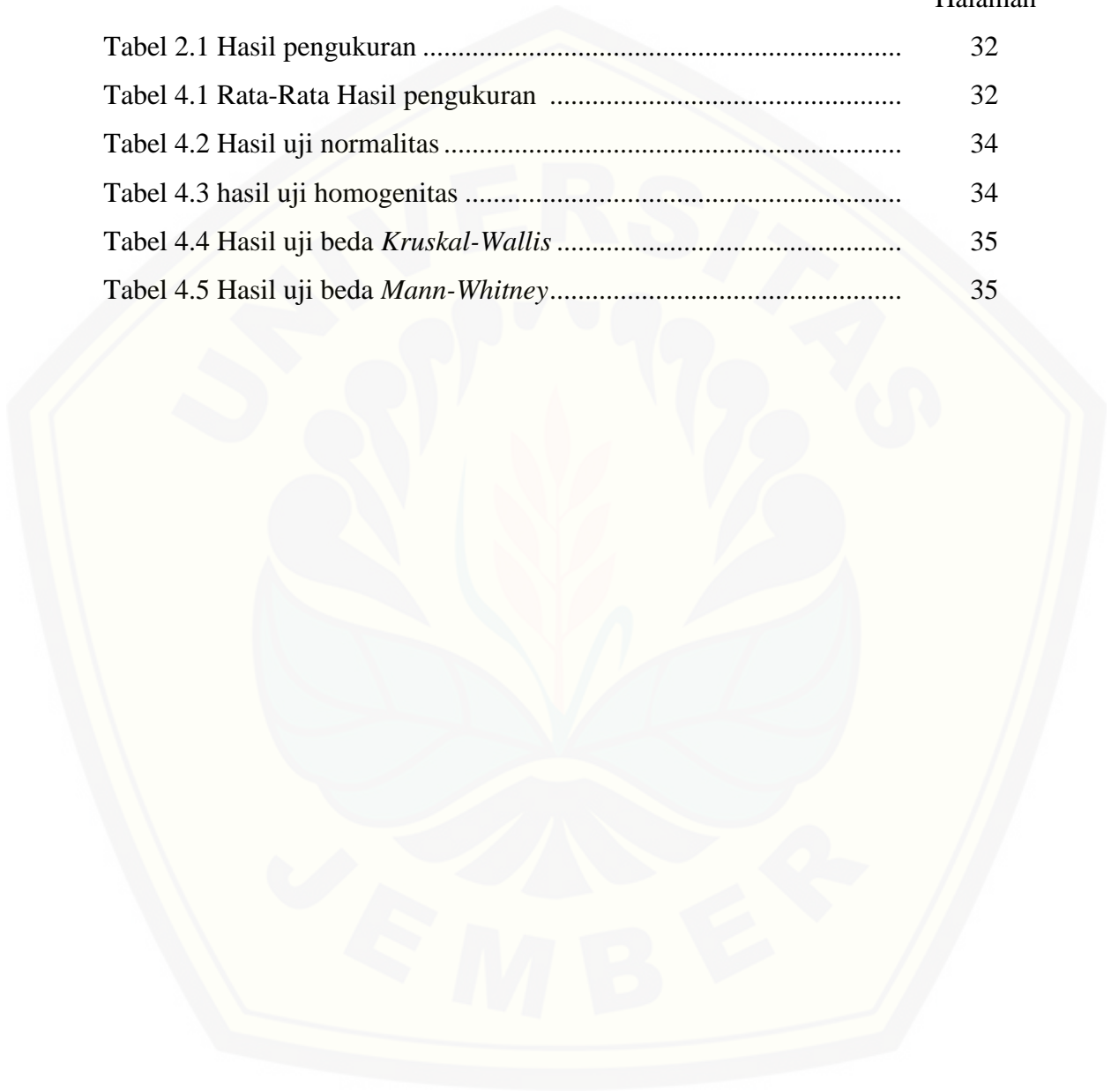
2.8 Kerangka Konsep .....	16
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN .....</b>	<b>18</b>
3.1 Jenis Penelitian .....	18
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian .....	18
3.3 Identifikasi Penelitian .....	18
3.4 Definisi operasional .....	19
3.5 Sampel Penelitian .....	20
3.6 Alat dan Bahan .....	22
3.7 Prosedur Penelitian .....	24
3.8 Analisa Data .....	30
<b>BAB 4. Hasil dan Pembahasan .....</b>	<b>31</b>
4.1 Hasil .....	31
4.2 Pembahasan .....	36
<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>40</b>
5.1 Kesimpulan .....	40
5.2 Saran .....	40
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>41</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>44</b>

**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
2.0 Diagram Faktor Penyebab karies Gigi .....	6
2.1 Struktur Dinding Sel Bakteri .....	7
2.2 Pola Pertumbuhan Bakteri .....	9
2.3 Tanaman Kamboja .....	12
2.4 Daun Kamboja .....	12
2.5 Bunga Kamboja .....	13
3.1 Penandaan Pada Bagian Bawah Petridish .....	26
3.2 Pengukuran Zona Hambat .....	28
4.1 Pengukuran Zona Hambat (Setelah perlakuan).....	31
4.2 Rata-rata Diameter Zona Hambat .....	33

**DAFTAR TABEL**

	Halaman
Tabel 2.1 Hasil pengukuran .....	32
Tabel 4.1 Rata-Rata Hasil pengukuran .....	32
Tabel 4.2 Hasil uji normalitas .....	34
Tabel 4.3 hasil uji homogenitas .....	34
Tabel 4.4 Hasil uji beda <i>Kruskal-Wallis</i> .....	35
Tabel 4.5 Hasil uji beda <i>Mann-Whitney</i> .....	35



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Analisis Data.....	44
A.1 Hasil Uji Normalitas <i>Kolmogorov-Smirnov</i> .....	44
A.2 Hasil Uji omogenitas <i>Levene</i> .....	45
A.3 Hasil Uji <i>Kruskal-Wallis</i> .....	45
A.4 Hasil Uji <i>Mann-Whitney</i> .....	46
B. Alat dan Bahan.....	57
B.1 Alat .....	57
B.2 Bahan .....	60
C. Pengukuran Zona Hambat.....	61
D. Identifikasi <i>Streptococcus mutans</i> .....	62
E. Surat Keterangan Identifikasi Bakteri.....	63
F. Surat Keterangan Identifikasi Botani.....	64
G. Rumus Pengenceran.....	65
H. Penghitungan Nilai Rendemen Ekstrak .....	65



## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Kesehatan gigi dan mulut masih menjadi masalah besar di Indonesia, terutama pada karies gigi. Sebanyak 46,5% penduduk Indonesia mengalami karies aktif dan sebanyak 72,1% pernah mengalami karies gigi (Riskesdas, 2007). Pada tahun 2013 tercatat indeks *DMF-T* (*Decay Missing Filling*) di Indonesia sebesar 4,6 dengan masing-masing  $D-T=1,6$ ,  $M-T=2,9$ ,  $F-T=0,8$ , artinya terdapat kerusakan gigi sejumlah 460 buah setiap 100 orang. Hal tersebut menunjukkan kebutuhan kesehatan gigi dan mulut di Indonesia yang masih tinggi (Riskesdas, 2013).

Karies gigi merupakan kerusakan jaringan keras gigi berupa demineralisasi. Proses demineralisasi dipengaruhi oleh empat faktor, salah satunya ialah mikroorganisme. Beberapa mikroorganisme di dalam rongga mulut dapat menghasilkan asam yang dapat mengakibatkan demineralisasi pada permukaan gigi. Bakteri utama penyebab kerusakan ini adalah *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) (kidd, 2005). Bakteri ini mudah melekat pada pelikel saliva di permukaan enamel dan mampu menghasilkan asam kuat dengan memfermentasikan karbohidrat. Produk asam tersebut merupakan penyebab terbentuknya kavitas pada permukaan enamel. Bakteri ini mampu mensintesis polisakarida ekstraseluler di dalam kavitas yang lengket dan kaya akan substrat sehingga memungkinkan bakteri lain untuk berkembang dan mempercepat pembentukan plak (Forssten, 2010).

Pertumbuhan bakteri dapat dikendalikan dengan bahan tertentu yang disebut dengan antibakteri. Bahan antibakteri bisa didapat dari bahan sintetis maupun bahan yang berasal dari alam. Salah satu bahan antibakteri sintetis ialah *povidone iodine*. *Povidone iodine* merupakan antibakteri yang cukup luas aktivitasnya. Kandungan *iodine* yang terdapat di dalamnya mampu membunuh berbagai bakteri patogen.

Namun *povidone iodine* dapat menimbulkan respon hipersensitivitas pada individu yang alergi pada kandungan *iodine* serta dapat menimbulkan rasa panas dan iritasi (Yavascan, 2005). Saat ini sudah banyak dikembangkan antibakteri dari bahan alami. Antibakteri dari bahan alami saat ini mendapat perhatian lebih dibandingkan dengan antibakteri sintetis. Beberapa tumbuhan di sekitar kita dapat dijadikan sebagai antibakteri, salah satunya adalah tanaman kamboja putih.

Kamboja putih (*Plumeria acuminata*) berasal dari Amerika tengah, Meksiko, Karibia, dan Amerika Selatan. Tumbuhan kamboja saat ini telah tersebar di berbagai daerah tropis. Orang-orang terdahulu sering menggunakan kulit batang kamboja untuk mengobati kaki pecah-pecah dan menggunakan getah batang maupun daun tumbuhan ini untuk dioleskan pada gusi yang bengkak karena gigi berlubang dan meletakkan getah kamboja pada gigi yang berlubang (Trubus, 2013).

Pada penelitian daya antibakteri ekstrak bunga kamboja putih dengan konsentrasi 100%, 75%, 50% dan 25% terhadap pertumbuhan bakteri saliva didapatkan hasil dari keempat konsentrasi tersebut memiliki kemampuan antibakteri terhadap bakteri saliva dan semakin tinggi konsentrasinya aktivitas antibakterinya juga semakin tinggi (Jannah, 2014). Penelitian sebelumnya dengan pengujian ekstrak etanol daun kamboja putih ini dalam sediaan krim didapatkan data signifikan bahwa ekstrak etanol daun kamboja putih mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* (Widodo dkk, 2010).

Daun kamboja putih mengandung beberapa senyawa yang bersifat antibakteri, diantaranya senyawa saponin, polifenol, tanin, flavonoid, dan alkaloid (Hariana, 2013; Widodo dkk, 2010). Namun sampai saat ini masih belum ada penelitian tentang pengaruh ekstrak daun kamboja putih terhadap pertumbuhan *S. mutans* beserta konsentrasi terkecil yang mampu menghambat pertumbuhan *S. mutans*. Berdasarkan uraian tersebut, dengan menelaah kandungan yang terdapat dalam daun kamboja putih (*P. acuminata*) penulis ingin mengetahui daya hambat ekstrak daun kamboja putih (*P. acuminata*) terhadap pertumbuhan *S. mutans* dan konsentrasi terkecil yang mampu menghambat pertumbuhan *S. mutans*.

## 1.2 Rumusan Masalah

Masalah yang dapat dirumuskan dari uraian latar belakang adalah:

1. Apakah ekstrak daun kamboja putih (*Plumeria acuminata*) dengan konsentrasi 6,25%, 12,5%, 25%, dan 50% memiliki daya antibakteri terhadap pertumbuhan *S. mutans* ?
2. Berapa konsentrasi terkecil ekstrak daun kamboja putih yang masih mampu menghambat pertumbuhan *S. mutans* ?

## 1.3 Tujuan

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan:

1. Untuk membuktikan adanya daya antibakteri dalam ekstrak daun kamboja putih dengan konsentrasi 6,25%, 12,5%, 25%, dan 50% terhadap pertumbuhan *S. mutans*.
2. Untuk mengetahui konsentrasi terkecil ekstrak daun kamboja putih yang masih mampu menghambat pertumbuhan *S. mutans*.

## 1.3 Manfaat

Hasil penelitian ini diharapkan:

1. Dapat memberi informasi mengenai kemampuan ekstrak daun kamboja putih dalam menghambat pertumbuhan *S. Mutans*.
2. Dapat memberi informasi konsentrasi terkecil ekstrak daun kamboja putih untuk menghambat pertumbuhan *S. Mutans*.
3. Dapat digunakan sebagai acuan untuk melakukan penelitian lebih lanjut.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Karies Gigi

#### 2.1.1 Definisi Karies Gigi

Karies merupakan suatu penyakit jaringan keras gigi, yaitu email, dentin dan sementum, yang disebabkan oleh aktivitas suatu jasad renik yang mampu meragikan karbohidrat yang ditandai dengan adanya demineralisasi jaringan keras gigi yang kemudian diikuti dengan kerusakan bahan organiknya. Hal tersebut mengakibatkan terjadinya invasi bakteri dan kematian pulpa serta penyebaran infeksinya ke jaringan periapiks yang dapat menyebabkan nyeri (Kidd, 1992).

#### 2.1.2 Penyebab Karies

Penyebab utama terjadinya karies adalah mikroorganisme beserta produk-produknya (Tarigan, 2006). Bakteri penyebab karies dapat meragikan beberapa jenis karbohidrat semisal sukrosa dan glukosa di permukaan gigi dan menghasilkan asam sehingga pH plak menurun hingga dibawah 5 dalam waktu 1-3 menit. Demineralisasi gigi dapat terjadi seiring penurunan pH yang terjadi dalam waktu tertentu sehingga dimulailah proses terjadinya karies gigi (Kidd, 2005). Karies gigi dapat terjadi karena perpaduan dari keempat komponen di atas, yaitu mikroorganisme, substrat, host & gigi, dan waktu (Gambar 2.0). Karies gigi dapat terjadi hanya karena keempat faktor tersebut bekerja secara simultan (Kidd, 1992).

##### a. Substrat

Beberapa jenis karbohidrat yang menempel pada gigi merupakan bahan yang dapat diragikan oleh bakteri plak sehingga menghasilkan asam yang dapat merusak

permukaan gigi dengan mendemineralisasi gigi. Beberapa jenis karbohidrat memiliki waktu minimum untuk diubah menjadi asam oleh bakteri plak, berkisar antara 20 menit hingga beberapa jam. Karbohidrat dengan berat molekul rendah lebih cepat diragikan. Makanan yang mengandung gula dapat menurunkan pH dengan lebih cepat. Karbohidrat jenis sukrosa memiliki waktu minimum lebih singkat dibandingkan dengan glukosa, fruktosa, maupun laktosa. Untuk kembali ke pH normal dibutuhkan waktu 30-60 menit. Konsumsi gula yang tinggi akan mengakibatkan pH rongga mulut dibawah pH normal sehingga terjadi demineralisasi gigi (Kidd, 1992 ; Kidd, 2005).

#### b. Host dan Gigi

Plak merupakan awal dari terbentuknya karies. Beberapa bentukan anatomi gigi dapat memudahkan bakteri untuk melekat pada permukaan gigi. Beberapa daerah yang memudahkan perlekatan bakteri adalah :

- a. Pit dan fisur pada permukaan oklusal molar dan premolar
- b. Permukaan halus di daerah aproksimal sedikit di bawah titik kontak.
- c. Email pada tepian di daerah leher gigi sedikit di atas tepi gingiva.
- d. Permukaan akar yang terbuka, yang merupakan daerah tempat melekatnya plak pada pasien dengan resesi gingiva karena penyakit periodontium.
- e. Tepi tumpatan terutama yang *underfilling* atau *overfilling*.
- f. Permukaan gigi yang berdekatan dengan gigi tiruan dan jembatan.

(Kidd, 2005).

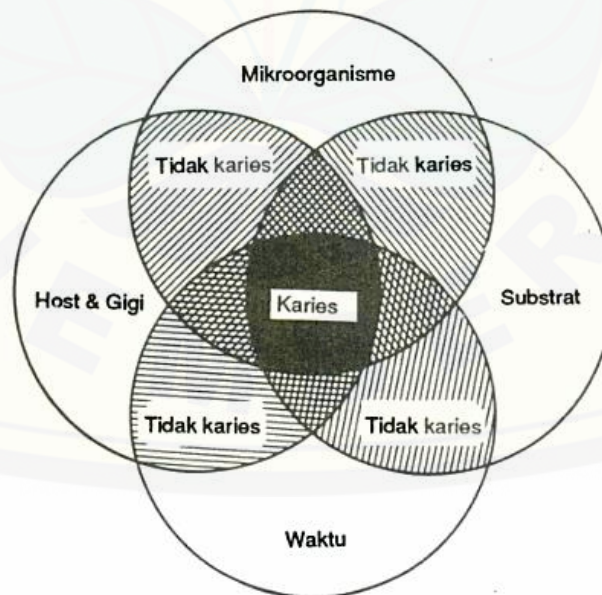
Selain anatomi permukaan gigi saliva juga berperan dalam proses terbentuknya karies gigi. Saliva memiliki kemampuan untuk remineralisasi karies yang masih dini, dimana banyak sekali terkandung kalsium dan fosfat. Ditambah dengan jumlah fluor yang optimum akan mempercepat proses remineralisasi dan efektif dalam melawan bakteri rongga mulut. Selain itu, saliva juga berfungsi sebagai *buffer*, dengan jumlah aliran saliva yang rendah akan lebih cepat terjadi penurunan pH dalam rongga mulut (Kidd, 2005 ; Kidd, 1992).

### c. Waktu

Waktu dalam faktor penyebab karies berhubungan dengan kemampuan saliva untuk mendepositkan kembali mineral-mineral selama berlangsungnya proses karies. Proses karies tidak hanya terjadi perusakan struktur gigi, namun juga terjadi perbaikan yang berjalan silih berganti sehingga proses karies tidak berlangsung secara singkat tetapi dibutuhkan waktu yang panjang sehingga terdapat kesempatan yang baik untuk menghentikan proses karies (Kidd, 1992).

### d. Mikroorganisme

*Lactobacilus* dan *S. mutans* merupakan kuman yang bersifat kariogenik karena memiliki kemampuan untuk menghasilkan asam dengan segera sebagai hasil dari metabolisme karbohidrat. Beberapa jenis polisakarida yang terutama terdiri dari polimer glukosa, menyebabkan matriks plak gigi mempunyai konsistensi seperti gelatin sehingga memudahkan bakteri melekat pada gigi. Plak yang tebal akan sulit dinetralkan oleh saliva, sehingga perusakan gigi oleh bakteri menjadi lebih mudah (Kidd, 1992).



Gambar 2.0 Diagram faktor penyebab karies (Kidd, 1992).

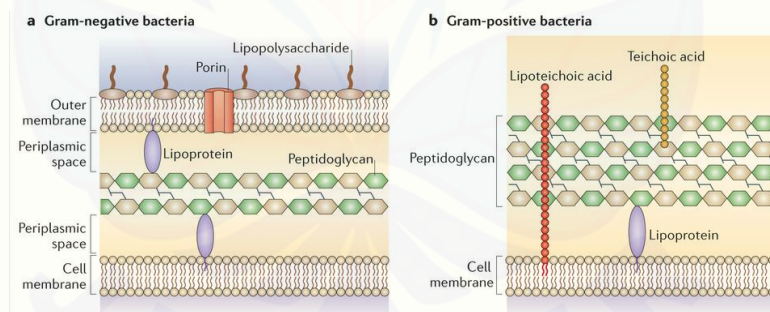
## 2.2 *Streptococcus mutans*

### 2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi

Kingdom : *Bacteria*  
 Filum : *Firmicutes*  
 Ordo : *Lactobacillales*  
 Famili : *Streptococceae*  
 Genus : *Streptococcus*  
 Species : *Streptococcus mutans*

(Bidarisugma, 2012)

Secara mikroskopis *S. mutans* berbentuk kokus (bulat) atau bulat lonjong dan tersusun seperti rantai, berukuran 1-2 $\mu$ m. *S. mutans* merupakan bakteri gram positif. Dinding sel terdiri dari 6,8% protein, 8,9% glycerol theichoic acid, 33,6% non-peptidoglycan polysaccharide, dan 49,9% peptidoglycan (Gambar 2.1) (Richard *et al.*, 2006; Kidd, 1992; Nolte, 1982).



Gambar 2.1 Struktur dinding sel bakteri gram positif (Brown *et al.*, 2015)

Dinding sel *S. mutans* memiliki beberapa karakter, antara lain :

1. *Surface* protein antigen I/II yang berfungsi sebagai mediator pelekatan bakteri.
2. *Serotipe* yang terdiri dari 6 *serotipe* yang berfungsi pelekatan spesifik. Dalam hal ini berupa *serotipe C*.
3. Glukan *Binding* Protein (PGB) yang berfungsi sebagai akumulasi.

(Bidarisugma, 2012)

### 2.2.2 Patogenitas

Beberapa sifat *S. mutans* yaitu asidurik dan asidogenik dengan kata lain *S. mutans* dapat berkembang dengan baik pada lingkungan dengan pH rendah, dan merupakan bakteri yang dapat memproduksi asam dengan memetabolisme karbohidrat (Richard *et al*, 2006; Kidd, 1992). Bakteri ini adalah kontributor utama kerusakan gigi, dan sebagian besar ditemukan pada permukaan gigi. Bakteri yang berada di lubang dan celah yang merupakan bagian normal dari gigi dan struktur di sekitarnya. Orang dewasa cenderung memiliki konsentrasi *S. mutans* lebih tinggi. Sebaliknya, bayi dan anak-anak memiliki konsentrasi yang lebih kecil, tetapi bayi dan anak-anak cenderung lebih rentan terhadap serangan bakteri. Bakteri ini dapat ditularkan dari orang tua atau pengasuh untuk bayi atau anak melalui air liur, misalnya dengan bayi atau anak-anak yang menempatkan jari-jari mereka di mulut orang tua dan kemudian ke mulut mereka sendiri, pengujian suhu dari botol dengan mulut, berbagi garpu dan sendok, dan membersihkan dot atau puting botol yang telah jatuh dengan mengisapnya sebelum memberikan kembali ke bayi atau anak (Yoshida and Kuramitsu, 2002).

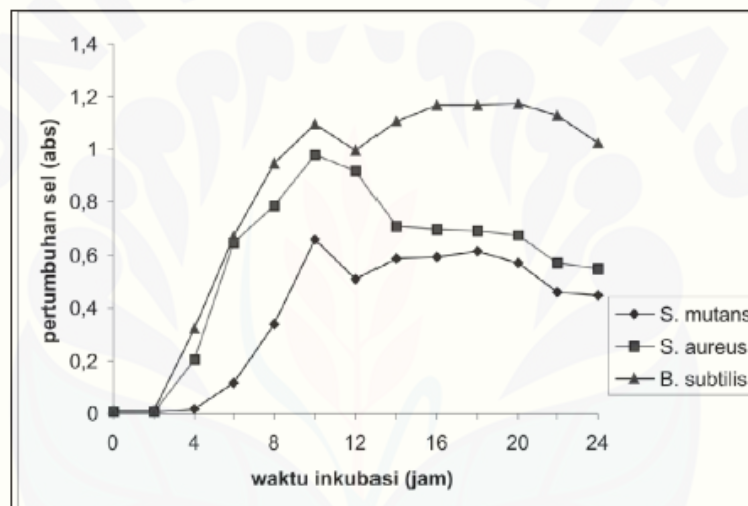
Salah satu sifat virulensi penting dari *S. mutans* adalah kemampuan mereka untuk membentuk biofilm yang dikenal sebagai plak gigi pada permukaan gigi. Pembentukan plak gigi pada permukaan gigi melibatkan tiga langkah yang berbeda. Pertama, pembentukan *conditioning film* atau diperoleh pelikel pada email gigi. Kedua, adanya interaksi sel ke-pelikel dari koloni primer. Ketiga, interaksi sel ke sel dari koloni baru dengan dengan koloni primer (Yoshida and Kuramitsu, 2002).

Ketika makanan yang mengandung karbohidrat yang dikonsumsi, *S. mutans* berinteraksi dengan makanan dan menghasilkan asam yang menyebabkan hilangnya mineral pada gigi. Kavitas pada gigi adalah hasil dari kehilangan mineral dan akhirnya dapat menghancurkan seluruh gigi. Kerusakan gigi dapat menyebar di mulut, dan dapat menyebabkan rasa sakit yang hebat dan kesulitan mengunyah. Beberapa infeksi yang disebabkan oleh *S. mutans* dapat mengakibatkan kematian pada kasus yang parah (Yoshida and Kuramitsu, 2002).



### 2.2.3 Pertumbuhan *S. mutans*.

Pertumbuhan normal *S. mutans* yang diamati selama 24 jam diketahui bakteri dapat beradaptasi pada media yang baru setelah 2 jam. Fase logaritmik atau fase eksponensial dicapai setelah waktu pertumbuhan 10-12 jam. Selanjutnya fase stasioner pada saat pertumbuhan mencapai 12-20 jam. Pada jam ke 20 setelah pertumbuhan sudah terdapat kematian *S. mutans* (Gambar 2.2) (Pambayun dkk, 2008).



Gambar 2.2 Pola pertumbuhan *S. mutans*, *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* pada media nutrisi broth selama 24 jam dengan suhu 37°C (Pambayun dkk, 2008).

## 2.3 Antimikroba

Antimikroba ialah obat pembasmi mikroba, khususnya mikroba yang merugikan manusia. Mikroba yang dimaksud terbatas jasad renik yang tidak termasuk kelompok parasit. Berdasarkan sifat toksisitas selektif, ada antimikroba yang bersifat menghambat pertumbuhan mikroba, dikenal sebagai aktivitas

bakteriostatik. Antimikroba yang bersifat membunuh mikroba dikenal sebagai bakterisid (Tanu, 2007).

Pada umumnya masyarakat mengenal antimikroba berupa povidone iodine. Povidone iodine biasa digunakan dalam bentuk cair. Masyarakat menggunakan povidone iodine sebagai pembersih luka maupun sebagai obat kumur. Povidone iodine mudah didapatkan di daerah kota, namun pada daerah-daerah yang kurang maju masih sulit ditemukan, utamanya povidone iodine untuk obat kumur. Selain itu, unsur iodine yang terkandung di dalamnya dapat menimbulkan respon alergi pada individu tertentu.

### 2.3.1 Mekanisme Kerja Antimikroba

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antimikroba dapat digolongkan menjadi lima kelompok, yaitu:

#### a. Menghambat metabolisme sel mikroba

Antimikroba yang termasuk dalam golongan ini ialah sulfonamid, trimetoprim, asam p-aminosalisilat (PAS), dan sulfon. Mekanisme kerja golongan ini adalah bakteriostatik dengan menghambat pembentukan asam folat yang dibutuhkan oleh bakteri. Akibatnya, kehidupan dari mikroba akan terganggu (Tanu, 2007).

#### b. Menghambat sintesis dinding sel mikroba

Bakteri memiliki dinding sel yang terdiri dari peptidoglikan. Mekanisme ini bekerja dengan menghambat proses sintesis dinding sel. Oleh karena tekanan osmotik dalam sel kuman lebih tinggi daripada di luar sel dan sintesis dinding sel yang terganggu, akibatnya terjadi kerusakan dinding sel dan menyebabkan terjadinya lisis. Hal tersebut merupakan dasar efek bakterisidal (Tanu, 2007).

#### c. Mengganggu keutuhan membran sel mikroba

Obat yang termasuk dalam golongan ini adalah polimiksin, golongan polien serta berbagai antimikroba kemoterapeutik, semisal antiseptik *surface active agents*. Antimikroba jenis ini bekerja mempengaruhi permeabilitas dengan

merusak membran sel. Kerusakan membran mengakibatkan keluarnya berbagai komponen penting dari dalam sel mikroba termasuk protein, asam nukleat, dan lain-lain (Tanu, 2007).

d. Menghambat sintesis protein sel mikroba

Obat yang termasuk dalam golongan ini ialah golongan aminoglikosid, makrolid, linkomisin, trasiklin, dan kloramfenikol. Pada proses sintesis protein obat golongan ini akan berikatan dengan komponen ribosom sehingga menyebabkan kode pada mRNA salah dibaca oleh tRNA. Akibatnya akan terbentuk protein yang abnormal dan nonfungsional bagi sel (Tanu, 2007).

e. Menghambat sintesis asam nukleat sel mikroba

Antimikroba yang termasuk dalam golongan ini ialah rifampisin, dan golongan kuinolon. Rifampisin dapat berikatan dengan enzim polimerase-RNA sehingga menghambat sintesis RNA dan DNA oleh enzim tersebut. Golongan kuinolon menghambat DNA girase pada kuman yang berfungsi menata kromosom yang sangat panjang menjadi bentuk spiral sehingga dapat tertampung dalam sel kuman kecil (Tanu, 2007).

## 2.4 Kamboja Putih (*Plumeria acuminata*)

### 2.4.1 Klasifikasi dan Morfologi Kamboja

Dalam taksonomi, kamboja diklasifikasikan sebagai berikut:

Divisio	: <i>Spermatophyta</i>
Sub-divisio	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Dicotyledonae</i>
Ordo	: <i>Apocynales</i>
Famili	: <i>Apocynaceae</i>
Genus	: <i>Plumeria</i>
Spesies	: <i>Plumeria acuminata</i>



Gambar 2.3 Tanaman Kamboja



Gambar 2.4 Daun Kamboja

a. Tanaman

Ketinggian tanaman ini berkisar 3 hingga 7 meter. Batang halus dan berkilau dengan batang sekulen menyimpan banyak air. Mengandung getah berwarna putih seperti susu dan lengket. Getah tanaman ini dapat menimbulkan iritasi bila terkena mata. Memiliki kayu berwarna putih kekuningan dan lembut dengan percabangan tebal dan berdaun pada ujungnya (Gambar 2.3) (Trubus, 2013).

b. Daun

Daun tanaman ini tumbuh mengumpul pada ujung cabang. Daun berbentuk bulat memanjang dengan ukuran 20-40 cm dan lebar sekitar 7 cm yang tersusun spiral pada akhir cabang (Gambar 2.4) (Trubus, 2013).

d. Buah

Buah kamboja berbentuk elips dengan ujung lancip. Panjang buah tanaman ini 15-20 cm dengan diameter 1,5-2cm. Terdapat banyak biji bersayap di dalamnya (Trubus, 2013).



Gambar 2.5 Bunga Kamboja Putih

c. Bunga

Bunga kamboja termasuk bunga biseksual atau disebut juga bunga sempurna. Tanaman ini bunga berwarna putih dan kuning di bagian tengahnya dengan aroma wangi dan panjang sekitar 5-6 cm (Gambar 2.5) (Trubus, 2013).

#### 2.4.2 Kandungan Kimia Daun Kamboja Putih

Getah yang terdapat dalam daun kamboja putih mengandung damar, *kautcuk*, senyawa karet, senyawa triterpenoid, *amyrin*, dan *laupeol*. Daun kamboja putih mengandung *fulvoplumierin* serta banyak minyak menguap, diantaranya *geraniol*, *sitronellol*, *linallol*, *famrnesol*, dan *fenil alcohol* (Hariana, 2013). Daun juga mengandung senyawa-senyawa antibakteri, diantaranya saponin, tanin, flavonoid, polifenol, dan alkaloid (Hariana, 2013; Widodo dkk, 2010).

### 2.5 Metode Ekstraksi

Ekstrak merupakan sediaan pekat berisi zat aktif yang didapat dari simplisia baik nabati maupun hewani dengan menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa yang tersisa diperlakukan sedemikian rupa hingga memenuhi baku yang ditetapkan (Puspitasari, 2014).

Beberapa macam metode ekstraksi yang dapat digunakan, yaitu:

a. Maserasi

Maserasi merupakan metode yang sederhana. Metode ekstraksi ini dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif sehingga zat aktif terlarut dalam cairan penyari. Cairan penyari dapat berupa air, etanol, air-etanol, atau pelarut lain (Puspitasari, 2014).

Perendaman simplisia yang telah berbentuk bubuk dengan larutan penyari dapat dilakukan selama 2-14 hari. Mayoritas pembuatan antimikroba dengan cara mengekstrak tumbuh-tumbuhan melakukan perendaman sebanyak 3 hari karena sudah dirasa cukup untuk melarutkan zat-zat aktif yang terdapat pada bubuk simplisia (Ansel, 2005).

b. Perkolasi

Perkolasi adalah metode ekstraksi yang dilakukan dengan mengalirkan cairan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi. Prinsip metode perkolasi yaitu serbuk simplisia ditempatkan dalam suatu bejana silinder, yang bagian bawahnya diberi sekat pori. Cairan penyari dialirkan dari atas ke bawah melalui serbuk tersebut, cairan penyari akan melarutkan zat aktif dari simplisia hingga mencapai keadaan jenuh (Puspitasari, 2014).

c. Ekstraksi dengan Menggunakan Soxhlet

Soxhlet adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru dan umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Puspitasari, 2014).

d. Ekstraksi dengan menggunakan gas superkritis

Ekstraksi ini menggunakan gas superkritis seperti CO<sub>2</sub>, metode ini sekarang sering digunakan karena efisiensinya lebih baik dibandingkan berbagai metode lainnya. Kelemahan dari metode ini peralatan yang cukup rumit dan mahal (Puspitasari, 2014).

## 2.6 Uji Efektivitas Antibakteri

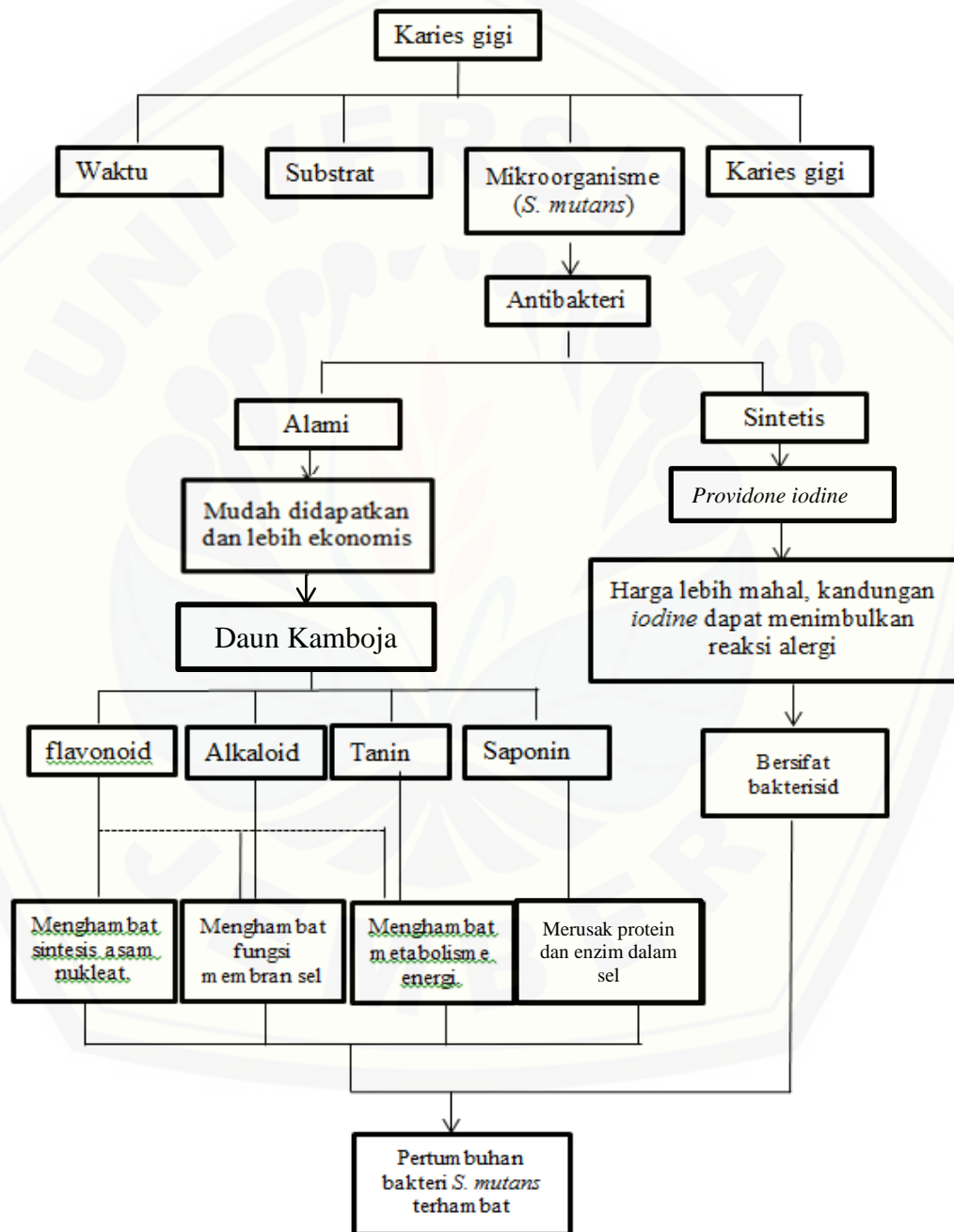
Uji efektivitas antibakteri merupakan metode atau cara yang dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui daya kerja atau efektivitas antibakteri. Uji efektivitas antibakteri dapat dilakukan dengan cara difusi (*disk diffusion method*) sesuai dengan metode Kirby Bauer. Metode tersebut dapat dilakukan dengan cara menggunakan cakram kertas maupun dengan menggunakan lubang sumuran (*hole* atau *well diffusion*) yaitu dengan memberi lubang sumuran pada media agar dan diisi dengan bahan antibakteri sesuai konsentrasi (Maliana dkk, 2013; Nuria dkk, 2009). Cara pengukuran diameter zona hambat pada metode ini dapat dengan mudah diukur menggunakan jangka sorong digital dengan mengukur diameter terluar dari zona hambat.

Selain dengan metode difusi, uji efektifitas juga dapat dilakukan dengan menggunakan metode dilusi. Metode dilusi dilakukan dengan cara membuat beberapa macam konsentrasi suatu bahan antimikroba dan dimasukkan kedalam tabung yang telah terisi media, kemudian diinokulasikan mikroorganisme yang akan diuji pada setiap tabung. Setelah 24 jam dapat dilihat kekeruhan media dalam tabung. Kekeruhan pada media menandakan adanya pertumbuhan mikroorganisme yang telah diinokulasikan, media yang jernih menandakan tidak adanya pertumbuhan mikroorganisme pada media yang menunjukkan konsentrasi efektif dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme tersebut (Nelson, 2000).

## 2.7 Hipotesis

1. Ekstrak daun kamboja memiliki daya antibakteri terhadap pertumbuhan *S. mutans*.
2. Konsentrasi terkecil ekstrak daun kamboja yang masih mampu menghambat pertumbuhan *S. mutans* adalah 12,5%.

2.8 Kerangka Konsep





#### Keterangan Kerangka Konsep:

Karies gigi dapat disebabkan oleh beberapa faktor yang saling berkaitan yaitu faktor host, substrat, waktu, dan mikroorganisme. Karies gigi tidak akan terjadi apabila salah satu faktor tidak terpenuhi, yaitu dapat dengan cara mengontrol mikroorganisme penyebab karies. Mikroorganisme merupakan faktor utama penyebab terjadinya karies. Pertumbuhan mikroorganisme dapat dikontrol dengan menggunakan bahan antimikroba. Antimikroba bisa didapat dari bahan sintetis maupun bahan alami. Antimikroba sintetis yang sering digunakan yaitu povidone iodine, namun antimikroba jenis ini dapat menimbulkan alergi pada individu tertentu. Selain cenderung memiliki efek samping, antimikroba jenis ini sulit didapatkan di daerah terpencil dan lebih mahal. Beberapa tumbuhan memiliki zat-zat yang bersifat antimikroba yang dapat dijadikan alternatif lain bahan antimikroba, salah satunya tumbuhan kamboja. Pada daun tanaman kamboja terdapat senyawa-senyawa berupa flavonoid, saponin, tanin, dan alkaloid yang bersifat antibakteri. Senyawa-senyawa tersebut dapat ditarik dari daun kamboja dengan cara pengekstrakan. Ekstrak daun kamboja yang mengandung senyawa-senyawa antibakteri akan digunakan untuk dilakukan uji daya antimikroba pada bakteri penyebab karies gigi dengan tujuan untuk mengontrol pertumbuhan mikroorganisme penyebab karies, salah satunya *S. mutans* sehingga proses terjadinya karies gigi dapat terhambat.

## **BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN**

### **3.1 Jenis Penelitian**

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian yang digunakan adalah *the post test only control group design*, yaitu pengujian dilakukan setelah perlakuan (Notoatmojo, 2010).

### **3.2 Waktu dan Tempat Penelitian**

#### **3.2.1 Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilakukan pada bulan Oktober-Desember 2015

#### **3.2.2 Tempat Penelitian**

Pembuatan ekstrak etanol daun kamboja dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember, sedangkan penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Bagian Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

### **3.3 Identifikasi Penelitian**

#### **3.3.1 Variabel Bebas**

Variable bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol daun kamboja dengan konsentrasi 6,25%, 12,5%, 25%, dan 50%.

#### **3.3.2 Variabel Terikat**

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah diameter zona hambat pertumbuhan *S. mutans*.

### 3.3.3 Variabel Terkendali

Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah:

- a. Suspensi *S.mutans*
- b. Suhu inkubasi (37C)
- c. Kriteria daun kamboja
- d. Cara pembuatan ekstrak etanol daun kamboja

### 3.3.4 Kriteria Daun Kamboja

- a. Daun kamboja putih yang digunakan merupakan spesies *Plumeria acuminata* Ait yang telah dilakukan identifikasi di Laboratorium Botani dan Kultur Jaringan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.
- b. Daun kamboja putih dengan kondisi segar, bebas kontaminasi hama.
- c. Daun kamboja putih dipetik saat fotosintesis maksimal, yaitu pada pagi hari atau sore hari dan ditandai dengan tanaman sudah berbunga hampir 50%.
- d. Daun kamboja putih yang tidak terlalu tua dan tidak terlalu muda, yaitu daun pada urutan ke 5 dari pucuk, daun ke-6 dan seterusnya. Daun berada pada posisi paling bawah tidak digunakan.
- e. Ukuran daun yang digunakan dengan panjang 20-25 cm dan lebar 10-12 cm.
- f. Daun kamboja putih yang dipetik dari halaman Argotekno Park Universitas Jember.

## 3.4 Definisi Operasional

### 1. Ekstrak daun kamboja

Ekstrak etanol daun kamboja adalah hasil penyaringan zat-zat aktif dari daun kamboja yang bertujuan untuk menarik komponen kimia yang terdapat dalam simplisia daun kamboja yang telah dihaluskan sebanyak 200 gram dan direndam dengan etanol 70% sebanyak 1,5 liter selama 3 hari kemudian disaring dan dilakukan pengenceran dengan konsentrasi 6,25%, 12,5%, 25%, dan 50% (Puspitasari, 2014).

## 2. *Streptococcus mutans*

*Streptococcus mutans* merupakan bakteri rongga mulut gram positif berbentuk coccus yang dapat menghasilkan asam dan merupakan mikroorganisme utama penyebab terjadinya karies gigi. Penelitian ini menggunakan galur murni *S. mutans* yang didapat dari Balai Besar Laboratorium Kesehatan (BBLK) Surabaya dengan bionumber 140011564753731 dan telah diidentifikasi secara mikroskopis yang dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Hal tersebut bertujuan untuk memastikan tidak terdapat kontaminasi didalamnya.

## 3. Zona hambat pertumbuhan *S.mutans*

Zona hambat pertumbuhan *S.mutans* adalah daerah jernih yang tampak di sekeliling lubang sumuran pada media yang telah diinokulasi bakteri dan kemudian diukur dengan menggunakan jangka sorong digital. Diameter zona hambat diukur dari tepi (*break point*) ke tepi (*break point*) zona hambat yang bersebrangan melewati pusat lubang sumuran. Jika tidak terdapat zona hambat di sekitar lubang sumuran, maka nilai diameter zona hambat dikatakan 0,00 mm (Hudzicki, 2009).

## 3.5 Sampel Penelitian

### 3.5.1 Pengelompokan Sampel

Sampel dibagi menjadi 6 kelompok perlakuan, yaitu :

- a. Kelompok M50 : ekstrak etanol daun kamboja konsentrasi 50%
- b. Kelompok M25 : ekstrak etanol daun kamboja konsentrasi 25%
- c. Kelompok M12,5 : ekstrak etanol daun kamboja konsentrasi 12,5%
- d. Kelompok M6,25 : ekstrak etanol daun kamboja konsentrasi 6,25%
- e. Kelompok K(+) : kontrol positif *povidone iodine*
- f. Kelompok K(-) : kontrol negatif aquades steril

### 3.5.2 Jumlah Sampel

Rumus perhitungan sampel menurut Steel and Torie (1995) adalah sebagai berikut :

$$n = \frac{(Z\alpha + Z\beta)^2 \sigma_p^2}{\delta^2}$$

Keterangan :

n : Besar sampel minimal

$Z\alpha$  : Batas atas nilai konversi pada tabel distribusi normal untuk batas atas kemaknaan (1,96)

$Z\beta$  : Batas bawah nilai konversi pada tabel distribusi normal untuk batas bawah kemaknaan (0,85)

$\sigma_p^2$  : Diasumsikan  $\sigma_p^2 = \delta^2$

$\alpha$  : Tingkat signifikansi (0,025)

$\beta$  : 0,20

Penghitungan jumlah sampel adalah sebagai berikut,

$$n = \frac{(Z\alpha + Z\beta)^2 \sigma_p^2}{\delta^2}$$

$$n = \frac{(1,96 + 0,85)^2 \sigma_p^2}{\delta^2}$$

$$n = (1,96 + 0,85)^2$$

$$n = 7,8961 \approx 8$$

Dari hasil penghitungan menggunakan rumus di atas, diperoleh jumlah sampel minimal adalah 8 plate untuk setiap kelompok perlakuan.

### 3.6 Alat dan Bahan Penelitian

#### 3.6.1 Alat Penelitian

Alat-alat yang dibutuhkan untuk penelitian ini yaitu:

1. Pisau *stainless steel*
2. Tampah
3. Wadah toples kaca bertutup
4. Mesin penggiling dengan ayakan 80 mesh (Farmasi UNEJ, Indonesia)
5. Timbangan digital (Electronic Balance, BS 600 H, USA)
6. Neraca (Cent-O-gram Ohaus, tipe 311, USA)
7. *Beaker glass* (Pyrex, Japan)
8. Tabung *erlenmeyer* (Pyrex, Japan)
9. Gelas ukur (Pyrex, Japan)
10. Corong kaca (Herma, Japan)
11. *Petridish* tidak bersekat dengan diameter 9 cm (Pyrex, Germany)
12. Tabung reaksi (Pyrex, Japan)
13. Bunsen (Pyrex, Japan)
14. Cawan uap porselen
15. Gelas takaran (Kirapak, Indonesia)
16. Kertas saring (Whatman, No. 40, United Kingdom)
17. *Aluminium foil* (Klin Pak, Indonesia)
18. Spatula kaca
19. Spatula laboratorium *stainless steel*
20. *Borer stainless steel* dengan diameter 5 mm
21. Ose
22. Gigaskrin
23. Mikropipet (Eppendorf, Germany)
24. Tip kuning 20  $\mu$ l
25. *Syringe* (One-Med, Indonesia)

26. Jangka sorong digital dengan derajat ketelitian 0,01 mm (Inoki, Japan)
27. Oven (Mettler GmbH + Co. KG, tipe 300, Germany)
28. *Rotary evaporator*(Heidolph, Laborota 4000, Germany)
29. *Incubator* (WTC Binder, Germany)
30. *Spektrofotometer* (Milton Roy, Spektronik 20<sup>+</sup>, Germany)
31. *Thermolyne* (Maxi Mix II, tipe 37600 mixer, USA)
32. *Laminar flow* (Super Clean Bench, HF-100, Korea)
33. *Desicator* (Duran, Germany)
34. *Autoclave* (Hanshin Medical Co., Ltd., HS-85E, Korea )
35. *Object glass*
36. *Deck glass*
37. Mikroskop (Olympus, X21LED, Japan)

### 3.6.2 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang dibutuhkan dalam penelitian ini yaitu :

1. Aquades steril
2. Alkohol 70 %
3. Etanol 70%
4. Minyak emersi
5. *Carbol gentian violet*
6. *Lugol*
7. *Safranin*
8. *Selective decolorizer*(alkohol 96%)
9. *Betadine Solution* (PT. Mahakam Beta Farma, Indonesia)
10. Daun Kamboja putih segar (Jember)
11. Galur murni *S.mutans* (Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya)
12. *Blood Heart Infusion-Agar* (BHI-A)
13. *Blood Heart Infusion-Broth* (BHI-B)

### 3.7 Prosedur Penelitian

#### 3.7.1 Tahap Persiapan

##### a. Uji Identifikasi daun kamboja

Daun kamboja yang akan digunakan dilakukan identifikasi terlebih dahulu. Proses identifikasi dilakukan di Laboratorium Botani Fakultas MIPA Universitas Jember, Kabupaten Jember, Jawa Timur.

##### b. Sterilisasi alat

Semua alat yang terbuat dari kaca dicuci bersih dan dikeringkan kemudian disterilkan dalam oven dengan suhu 170°C selama 60 menit (Rutala, 2008). Alat-alat berbahan plastik dicuci bersih dan dikeringkan kemudian diulas alkohol 70%.

##### c. Pembuatan ekstrak etanol daun kamboja

- 1) Daun kamboja sebanyak 1 kg dicuci bersih dengan air dan ditiriskan.
- 2) Daun yang telah tiris dipotong-potong kecil-kecil, kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan pada suhu kamar selama 2 hari sampai kering.
- 3) Selanjutnya daun kering dioven pada suhu 40°C selama 17 menit hingga benar-benar kering.
- 4) Daun kamboja yang telah dioven kemudian digiling dengan mesin penggiling hingga menjadi bubuk halus kemudian ditimbang, didapat serbuk simplisia sebanyak 252 gram.
- 5) Setelah itu, bubuk halus 200 gram dimaserasi dengan etanol 70% sebanyak 1,5 liter selama 3 hari dalam *beaker glass* dan ditutup dengan *aluminium foil*.
- 6) Setelah dimaserasi selama 3 hari kemudian disaring menggunakan kertas saring.
- 7) Maserat kemudian diuapkan dengan tujuan membebaskan dari pelarut etanol menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 45°-50°C.
- 8) Setelah itu dioven kembali untuk menghilangkan kadar airnya pada suhu 40°C selama 12 jam.



- 9) Hasil akhir didapatkan ekstrak dengan konsentrasi 100% dengan konsistensi *semi solid* dengan nilai rendemen 10,36% (Lampiran I. Penghitungan Rendemen). Kualitas rendemen yang baik adalah dengan nilai >10.
- 10) Pembagian konsentrasi ekstrak 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25% dengan menggunakan rumus  $M1.V1=M2.M2$ .

d. Persiapan media *BHI-B*

*BHI-B* merupakan media penyubur dalam bentuk cair untuk pertumbuhan bakteri yang digunakan dalam pembuatan suspensi. *BHI-B* sebanyak 3,7 gr ditimbang menggunakan neraca dan mengukur aquades steril sebanyak 100 ml dengan gelas ukur. *BHI-B* dan aquades steril dimasukkan dalam tabung *erlenmeyer* dan diaduk dengan spatula kemudian dipanaskan di atas kompor sampai mendidih dan homogen. Setelah itu, ditutup dengan kapas dan disterilkan dalam *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit.

e. Membuat Suspensi *S. mutans*

Pembuatan suspensi *S. mutans* dengan mencampur 2 ml larutan *BHI-B* steril ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 1 ose *S. mutans* dengan melewati di atas lampu spiritus. Kemudian dimasukkan dalam desikator dan diinkubasi dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam. Pertumbuhan *S. mutans* ditandai dengan adanya kekeruhan pada media.

f. Identifikasi Kultur Murni *S. mutans*

Identifikasi bakteri dilakukan secara mikroskopis. Sediaan dibuat dengan cara melakukan pewarnaan gram pada *S. mutans*. Pewarnaan gram dilakukan dengan empat macam larutan. Pewarnaan gram A merupakan larutan *gentian violet* dengan waktu 1 menit. Pewarnaan gram B merupakan larutan *lugol* dengan waktu 1 menit. Pewarna gram C yaitu alkohol 96% selama 10-15 detik. Pewarna gram D adalah *safranin* sekitar 1 menit. Pada setiap pewarnaan dilakukan pembilasan dengan aquades steril.

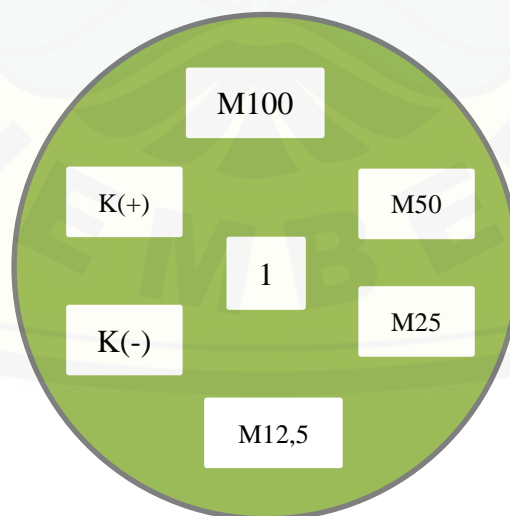
g. Pembuatan media *BHI-A*

Pembuatan *BHI-A* (agar nutrien) dilakukan dengan cara mencampurkan 5,2 gram bubuk *BHI-A* dan 100 ml aquades steril dalam tabung erlenmeyer. Kemudian diaduk dan dipanaskan di atas kompor hingga mendidih dan homogen. Setelah itu ditutup dengan kapas dan disterilkan dalam *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit.

### 3.7.2 Tahap Perlakuan

a. Mempersiapkan *Petridish*

*Petridish* sebanyak 8 buah diberi tanda dengan menempelkan kertas label yang telah diberi nomor 1 sampai 8 pada bagian tengah *petridish* dan memberi tanda pada tempat yang akan dibuat sumuran dan diberi bahan perlakuan dengan kertas label sesuai dengan kelompok sampel. M50 untuk konsentrasi ekstrak etanol daun kamboja 50%, M25 untuk konsentrasi ekstrak etanol daun kamboja 25%, M12,5 untuk konsentrasi ekstrak etanol daun kamboja 12,5%, M6,25 untuk konsentrasi ekstrak etanol daun kamboja 6,25 %, K(-) untuk kontrol negatif aquades steril, dan K(+) untuk kontrol positif *povidone iodine* seperti pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1. Gambaran penandaan pada bagian bawah *petridish*

keterangan :

- g. Kelompok M50 : ekstrak etanol daun kamboja konsentrasi 50%
- h. Kelompok M25 : ekstrak etanol daun kamboja konsentrasi 25%
- i. Kelompok M12,5 : ekstrak etanol daun kamboja konsentrasi 12,5%
- j. Kelompok M6,25 : ekstrak etanol daun kamboja konsentrasi 6,25%
- k. Kelompok K(+) : kontrol positif *povidone iodine*
- l. Kelompok K(-) : kontrol negatif aquades steril

b. Inokulasi *S. mutans* pada Media MRS-A

Masing-masing *petridish* yang telah diberi tanda dan disterilkan dituangi media BHI-A sebanyak 25 ml. Kemudian ditambahkan 0,5 ml suspensi *S. mutans* pada media dengan menggunakan *syringe* dan diaduk menggunakan *gigaskrin* kemudian ditunggu hingga dingin dan padat (metode inokulasi *pour-plate*). Setelah itu pada setiap *petridish* dibuat 6 lubang sumuran sesuai pada tanda. Pembuatan lubang sumuran menggunakan borer berdiameter 5 mm yang telah disterilisasi dengan kedalaman 4 mm.

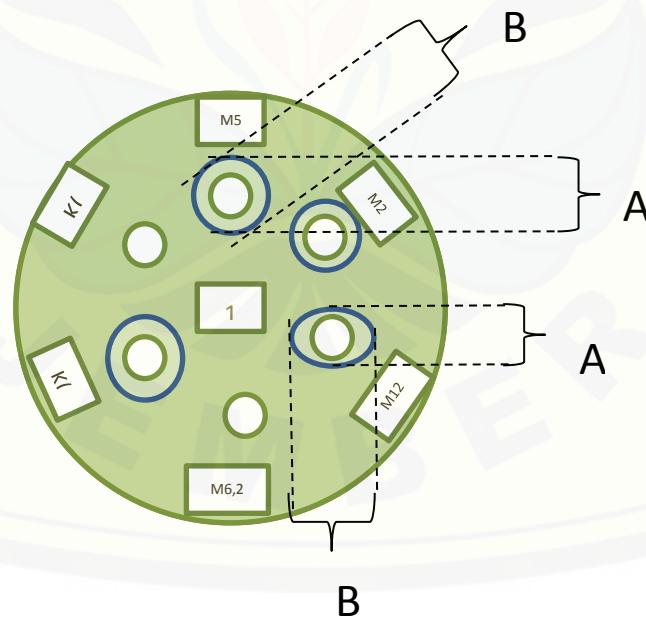
Masing-masing sumuran ditetesi larutan sesuai kelompok sampel sebanyak 20  $\mu$ l. ekstrak etanol daun kamboja dengan konsentrasi 50% pada setiap sumuran dengan label M50, ekstrak etanol daun kamboja dengan konsentrasi 25% pada setiap sumuran dengan label M25, ekstrak etanol daun kamboja dengan konsentrasi 12,5% pada setiap sumuran dengan label M12,5, ekstrak etanol daun kamboja dengan konsentrasi 6,25% pada setiap sumuran dengan label M6,25, aquades steril pada setiap sumuran dengan label K(-), dan obat *povidone iodine* pada setiap sumuran dengan label K(+).

c. Inkubasi

Setelah masing-masing sumuran telah diisi larutan sesuai dengan label, selanjutnya 8 *petridish* tersebut dimasukkan kedalam desikator untuk memperoleh suasana anaerob dan diinkubasi selama 24 jam dengan suhu tubuh (37°C).

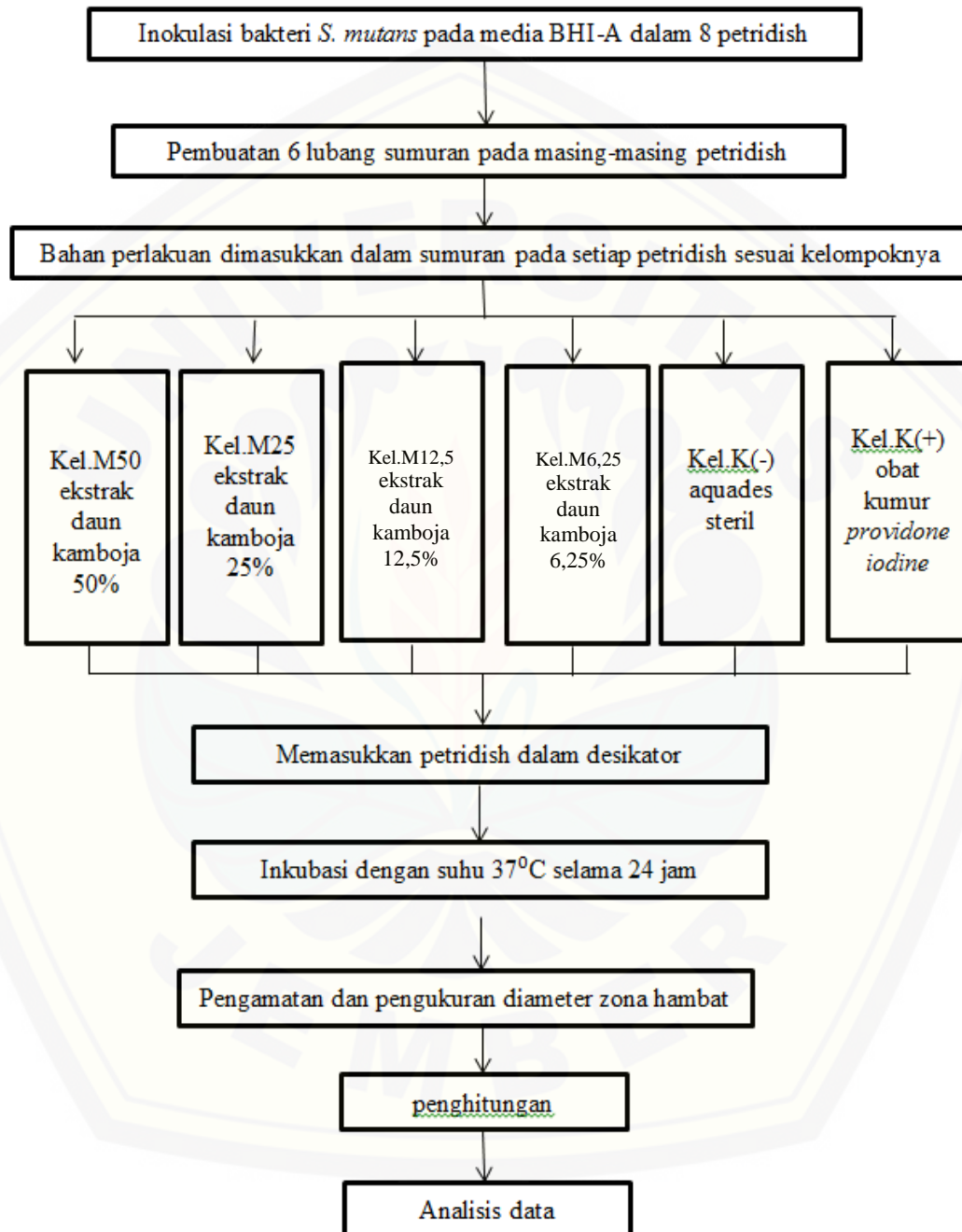
#### d. Pengukuran

Pengukuran dilakukan setelah proses inkubasi selama 24 jam. Pengukuran dilakukan dengan mengukur diameter zona hambat yaitu daerah yang tidak terdapat pertumbuhan bakteri. Pengukuran diameter dilakukan dengan mengukur menggunakan jangka sorong digital dengan ketelitian 0,01 mm. Diameter zona hambat diukur dari tepi (*break point*) ke tepi (*break point*) zona hambat yang bersebrangan melewati pusat lubang sumuran. Jika tidak terdapat zona hambat di sekitar lubang sumuran, maka nilai diameter zona hambat dikatakan 0,00 mm (Hudzicki, 2009). Pengukuran dilakukan oleh tiga orang pengamat. Pengukuran dilakukan pada dua diameter zona hambat yang berbeda secara acak. Apabila zona hambat berbentuk lonjong maka penghitungan dengan mengambil rata-rata diameter terpanjang dan terpendek. Penghitungan dilakukan dengan cara mengambil rata-rata dari pengukuran masing-masing pengamat (Gambar 3.2).



Gambar 3.2 Pengukuran Zona Hambat

### 3.7.3 Alur Penelitian



### 3.8 Analisis Data

Data hasil penelitian dilakukan uji normalitas dengan uji *Kolmogorov-Smirnov* dan uji homogenitas dengan uji *Levene*. Hasil uji *Kolmogorov-Smirnov* dan uji *Levene* menunjukkan data terdistribusi normal dan tidak homogen maka dilakukan uji statistik non-parametrik *Kruskal-Wallis* untuk membandingkan data masing-masing kelompok perlakuan dan uji lanjutan *Mann-Whitney* untuk mengetahui perbedaan antara masing-masing kelompok perlakuan.



## BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak etanol daun kamboja putih (*Plumeria acuminata*) memiliki daya antibakteri terhadap pertumbuhan *S. mutans*.
2. Konsentrasi terkecil dari ekstrak etanol daun kamboja putih (*Plumeria acuminata*) yang masih memiliki daya hambat antibakteri terhadap pertumbuhan *S. mutans* adalah konsentrasi 25%.

### 5.2 Saran

1. Perlu penelitian lebih lanjut untuk mengetahui daya antibakteri kandungan flavonoid, saponin, tanin, dan alkaloid daun kamboja putih terhadap pertumbuhan *S. mutans*.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kemampuan ekstrak etanol daun kamboja putih terhadap mikroflora patogen lain yang ada di dalam rongga mulut.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan metode yang berbeda untuk mengetahui perbandingan keefektifan metode yang digunakan.
4. Perlu dilakukan uji biokompatibilitas sebelum dipakai sebagai bahan obat kumur maupun bahan pasta gigi.
5. Perlu dilakukan uji lanjutan bakterisid.

DAFTAR PUSTAKA

- Adrian, Sulistyorini, E. *Kamboja (Plumeria acuminata)*. [http://ccrc.farmasi.ugm.ac.id/?page\\_id=656](http://ccrc.farmasi.ugm.ac.id/?page_id=656) [22 September 2015]
- Amrun, Muslichan, Puspitasari, dan Ulfa. 2014. *Buku Petunjuk Praktikum Fitokimia*. Jember: Bagian Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember.
- Ansel, 2005. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. UI Press, Jakarta
- Balitbang Kemenkes RI. 2007. *Riset Kesehatan Dasar; RISKESDAS*. Jakarta: Balitbang Kemenkes RI
- Balitbang Kemenkes RI. 2013. *Riset Kesehatan Dasar; RISKESDAS*. Jakarta: Balitbang Kemenkes RI
- Bidarisugma, Timur, Purnamasari. 2012. Antibodi Monoklonal *S. mutans* 1 (c) 67 kDa sebagai Imunisasi Pasif dalam Alternatif Pencegahan Karies Gigi secara Topical. *BIMKES. Vol 1. No 1*.
- Brown, Wolf, Rosales, Arturo Casadevall. 2015. Through the wall: extracellular vesicles in Gram-positive bacteria, mycobacteria and fungi. *Nature Rev Microbiol. 3: 620-630*.
- Cushnie, T.P.Tim. Lamb, Andrew J. 2005. Antimicrobial Activity of Flavonoids, *IJAA. 26, 343-356*.
- Darsana, I. Besung, I. Mahatmi, H. 2012. Potensi Daun Binahong (*Anredera Cordifolia (Tenore) Steenis*) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* secara In Vitro. *IMV. 1 (3): 337-351*.
- Forssten, S.D., Bjorklund, M., & Ouwehand, A.C. 2010, *Streptococcus mutans*, Caries and Simulation Models, *Nutrient. 2: 290-289*.
- Hariana, A. 2013. *262 Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. Cetakan pertama Jakarta: Penebar Swadaya.



- Hudzicki, J. 2009. Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol [serial on line]. <http://www.microbelibrary.org/component/resource/laboratorytest/3189-kirby-bauer-disk-diffusion-susceptibility-test-protocol>. [21 November 2015]
- Jannah Wardatul, Wahyukundari Melok, Lestari Pujiana. 2014. Potensi Antimikroba Ekstrak Bunga Kamboja Putih (*Plumeria alba* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri Saliva. *Jurnal Pustaka Kesehatan Universitas Jember*
- Karou, Damintoti. Savadogo. Aly. 2005. Antibacterial activity of alkaloids from *Sida acuta*. *J. Afric.Bio.*,5 (2): 195-229
- Kidd EAM. 2005. *Essential Of Dental Caries*, New York : Oxford University Press.
- Kidd EAM, Bechal SJ. 1992. *Dasar-dasar karies*. Alih Bahasa: Sumawinata N, Faruk S. Jakarta: EGC Press.
- Lamont Richard J. 2006. *Oral microbiology and immunology*. Unites States of America: ASM Press.
- Maliana, Yayang, Khotimah, Siti, Diba, Farah. 2013. Aktifitas Antibakteri Kulit *Garcinia mangostana* Linn.Terhadap Pertumbuhan *Flavobacterium* dan *Enterobacter* dari *Captotermes Curvignathus* Holmgren. *Protobiont*. Vol.2(1): 7-11
- Nelson WE, 2000. *Ilmu kesehatan anak*. 15<sup>th</sup> ed. Alih bahasa. Samik Wahab.Jakarta:EGCPress
- Nolte AW, 1982, *Oral microbiologi*, 4 ed , St Louis, Toronto, London: The C.V Mosby co.
- Notoatmodjo, S. 2010. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta : Rineka Cipta.
- Nurdina, Praharani, Ermawati. 2012. Daya Hambat Ekstrak Daun Pare (*Momordica charantia*) Terhadap *Lactobacilus acidophilus*. *Jurnal Kesehatan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember*
- Nuria, maulita cut, Faizaitun, Arvin, Sumantri, 2009. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha Curcas* L) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Atcc 25923, *Escherichia Coli* Atcc 25922, Dan *Salmonella Typhi* Atcc 1408,. *Jurnal Ilmu – ilmu Pertanian*. Vol.5: 26 – 37.

- Pambayun, Gardjito, Sudarmadji, Rahayu. 2008. Sensitivitas Bakteri Gram Positif terhadap Katekin yang Diekstraksi dari Gambir (*Uncaria gambir*). *AGRITECH*, Vol. 28, No. 4.
- Rijayanti, Luliana, Trianto. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang (*Mangifera foetida L.*) Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Tanjungpura : Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura*
- Rutala W.A, Weber D.J, and HICPAC. 2008. *Guidline for Disinfection and Sterillization in Healthcare Failities*. North Carolina: University of North Carollina School of Medicine.
- Sinaredi, Pradopo, Wibowo. 2014. Daya antibakteri obat kumur chlorhexidine, povidone iodine, fluoride suplementasi zinc terhadap, *S. mutans* dan *Porphyromonas gingivalis*. *Surabaya: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga*
- Tarigan, Rasinta. 2006. *Perawatan Pulpa Gigi (Endodonti)*. Jakarta : EGC Press.
- Tanu, I., 2007, *Farmakologi dan Terapi*. Edisi 5, Jakarta: UI Press
- Trubus. 2013. *100 Plus Herbal Indonesia Bukti Ilmiah dan Racikan Vol.11*. Jakarta : Trubus Swadaya.
- Widodo, Ningsih, Aprilia. 2010. Aktivitas Antibakteri dan Penyembuhan Luka Fraksi-Fraksi Ekstrak etanol daun kamboja (*Plumeria acuminata Ait*) pada Kulit Kelinci yang Diinfeksi *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Farmasi Indonesia*. Vol 7 No 2. 73-77.
- Yavascan Onder, Kara Orhan, Sozen Gulben. 2005. Allergy Dermatitis Caused by Providone Iodine: Uncommon Compilation of Chronic Peritoneal Dialysis Treatment. Turkey: SSK Tepecik Teaching Hospital. Vol. 21
- Yoshida A, Kuramitsu HK. 2002. *S. mutans* Biofilm Formation: Utilization of a gtfB promoter-green fluorescent protein (PgtfB :: gfp) Construct to Monitor Development. *Aplied and Environmental Microbiology*, p. 2372-2380.

LAMPIRAN

A. Analisis Data

A.1 Hasil Uji Normalitas dengan Uji *Kolmogorov-Smirnov*

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		povidone.iodin	Aquades	ekstrak6.2	ekstrak12.	ekstrak2	ekstrak5
		e	t	5	5	5	0
N		8	8	8	8	8	8
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	19.4804	.0000	.0000	.0000	8.3602	10.3804
	Std. Deviation	.90810	.00000 <sup>c</sup>	.00000 <sup>c</sup>	.00000 <sup>c</sup>	.29526	.41120
Most Extreme Differences	Absolute	.183				.178	.309
	Positive	.132				.133	.199
	Negative	-.183				-.178	-.309
Kolmogorov-Smirnov Z		.518				.503	.875
Asymp. Sig. (2-tailed)		.951				.962	.429

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. The distribution has no variance for this variable. One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test cannot be performed.

### A.2 Hasil Uji Homogenitas Menggunakan Uji *Levene*

Test of Homogeneity of Variances

Dayahambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
9.656	5	42	.000

### A.3 Hasil Uji Non-Parametrik Menggunakan Uji *Kruskal-Wallis*

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank
Dayahambat	K+	8	44.50
	K-	8	12.50
	M6,25	8	12.50
	M12,5	8	12.50
	M25	8	28.50
	M50	8	36.50
	Total	48	

Test Statistics<sup>a,b</sup>

	dayahambat
Chi-Square	46.265
Df	5
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Kelompok

**A.4 Hasil Uji Non-Parametrik Menggunakan Uji Mann-Whitney**

**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
dayahambat	K+	8	12.50	100.00
	K-	8	4.50	36.00
	Total	16		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	Dayahambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	36.000
Z	-3.590
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
dayahambat	K+	8	12.50	100.00
	M25	8	4.50	36.00
	Total	16		

Test Statistics<sup>b</sup>

	Dayahambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	36.000
Z	-3.361
Asymp. Sig. (2-tailed)	.001
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
dayahambat	K+	8	12.50	100.00
	M50	8	4.50	36.00
	Total	16		

Test Statistics<sup>b</sup>

	Dayahambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	36.000
Z	-3.361
Asymp. Sig. (2-tailed)	.001
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

Test Statistics<sup>b</sup>

	Dayahambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	36.000
Z	-3.361
Asymp. Sig. (2-tailed)	.001
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Dayahambat	K+	8	12.50	100.00
	M6,25	8	4.50	36.00
	Total	16		

Test Statistics<sup>b</sup>

	Dayahambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	36.000
Z	-3.590
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
dayahambat	K+	8	12.50	100.00
	M12,5	8	4.50	36.00
	Total	16		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	dayahambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	36.000
Z	-3.590
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
dayahambat	K-	8	8.50	68.00
	M6,25	8	8.50	68.00
	Total	16		



**Test Statistics<sup>b</sup>**

	dayahambat
Mann-Whitney U	32.000
Wilcoxon W	68.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
dayahambat	K-	8	8.50	68.00
	M12,5	8	8.50	68.00
	Total	16		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	dayahambat
Mann-Whitney U	32.000
Wilcoxon W	68.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Ranks

Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Dayahambat K-	8	4.50	36.00
M25	8	12.50	100.00
Total	16		

Test Statistics<sup>b</sup>

	dayahambat
Mann-Whitney U	32.000
Wilcoxon W	68.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	0.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Ranks

Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Dayahambat K-	8	4.50	36.00
M50	8	12.50	100.00
Total	16		

Test Statistics<sup>b</sup>

	dayahambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	36.000
Z	-3.590
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
dayahambat	M6,25	8	4.50	36.00
	M50	8	12.50	100.00
	Total	16		

Test Statistics<sup>b</sup>

	dayahambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	36.000
Z	-3.590
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
dayahambat	M6,25	8	4.50	36.00
	M25	8	12.50	100.00
	Total	16		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	dayahambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	36.000
Z	-3.590
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
dayahambat	M6,25	8	8.50	68.00
	M12,5	8	8.50	68.00
	Total	16		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	dayahambat
Mann-Whitney U	32.000
Wilcoxon W	68.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
dayahambat	M12,5	8	4.50	36.00
	M25	8	12.50	100.00
	Total	16		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	dayahambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	36.000
Z	-3.590
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

**Ranks**

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
dayahambat	M12,5	8	4.50	36.00
	M50	8	12.50	100.00
	Total	16		

**Test Statistics<sup>b</sup>**

	dayahambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	36.000
Z	-3.590
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

**Ranks**

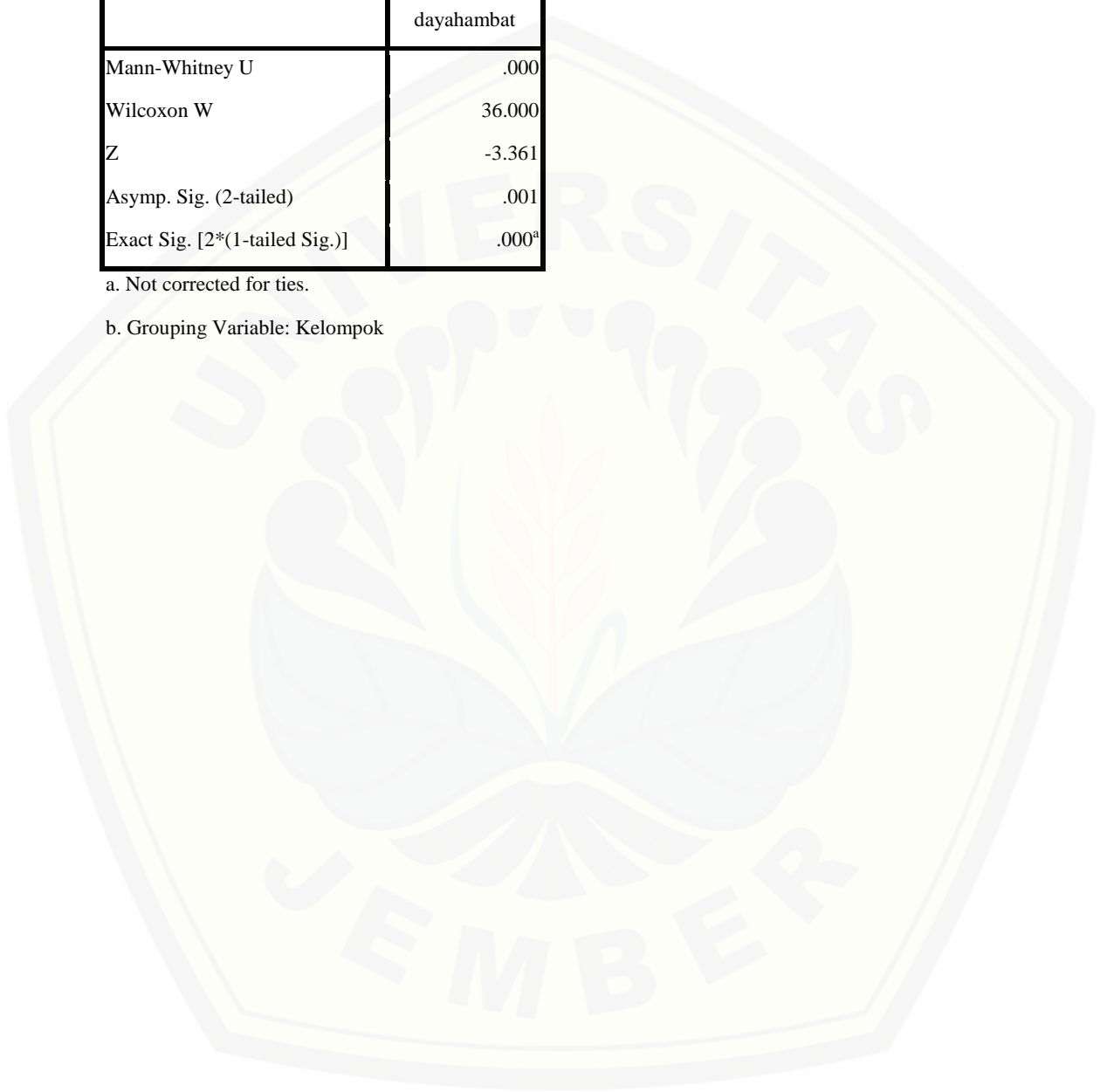
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
dayahambat	M25	8	4.50	36.00
	M50	8	12.50	100.00
	Total	16		

Test Statistics<sup>b</sup>

	dayahambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	36.000
Z	-3.361
Asymp. Sig. (2-tailed)	.001
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 <sup>a</sup>

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok



**B. Alat dan Bahan**

**B.1 Alat**



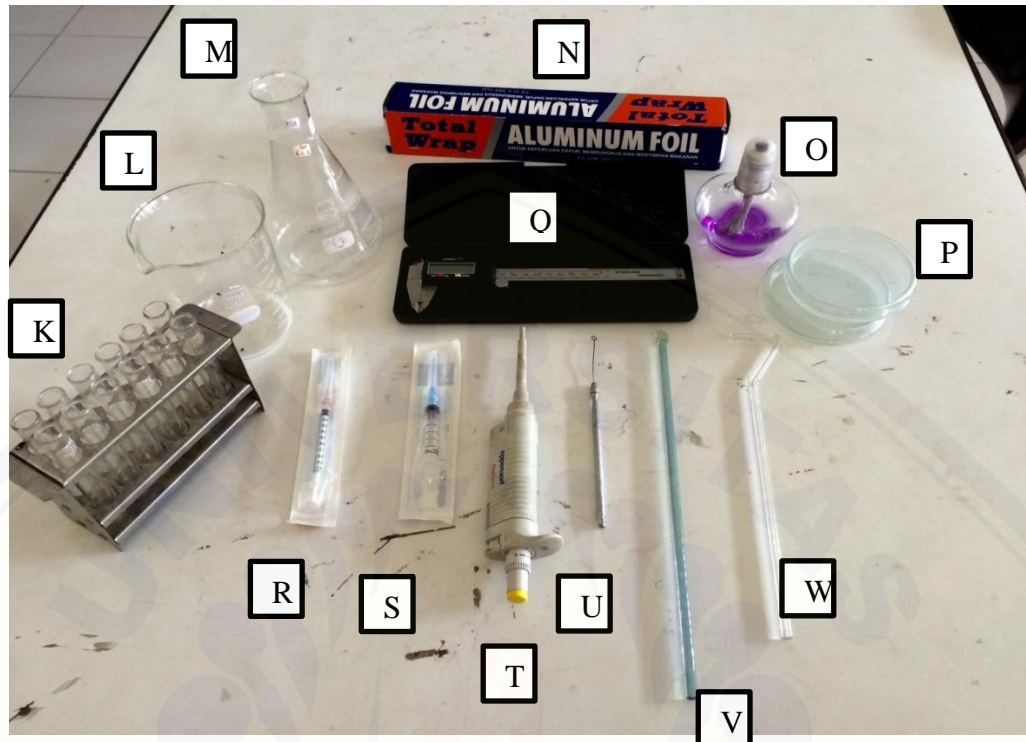
**Keterangan :**

- A. Borer stainless-steel
- B. Oven
- C. Inkubator
- D. Spektrofotometer

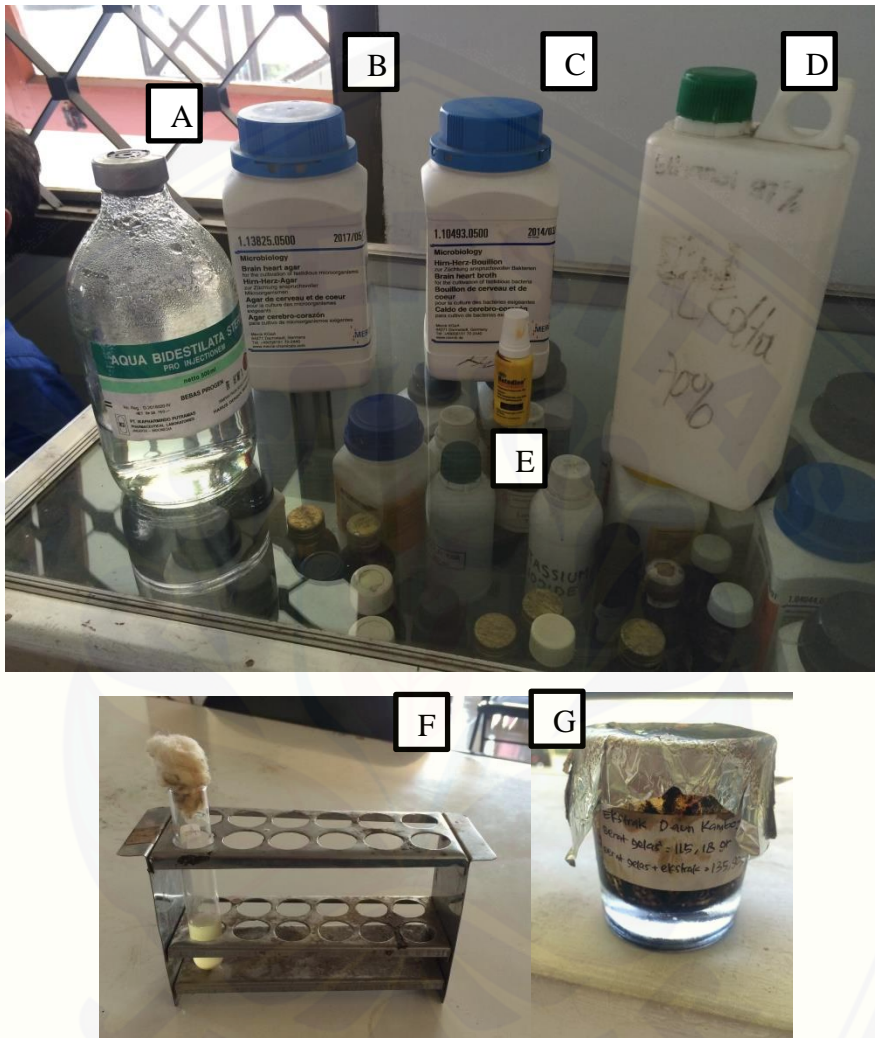




- E. Timbangan
- F. Thermolyne
- G. Kompor dan Panci
- H. Laminar Flow
- I. Autoclave
- J. Desicator

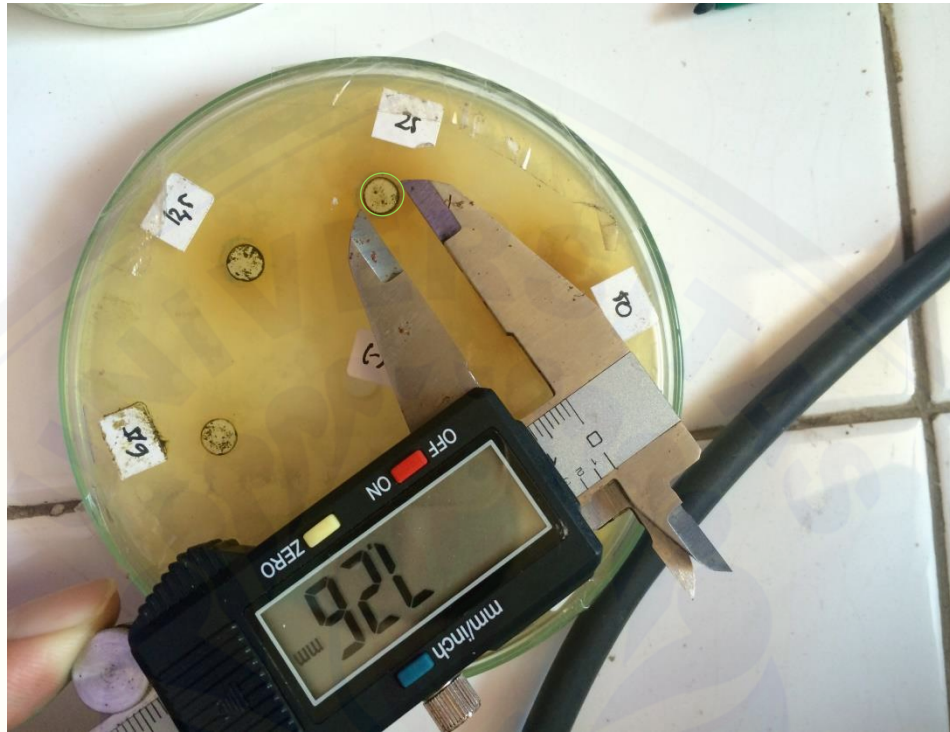


- K. Tabung Reaksi dan Rak
- L. Beaker Glass
- M. Tabung Erlenmeyer
- N. Aliminium Foil
- O. Bunsen
- P. Petridish Tanpa Sekat
- Q. Jangka Sorong Digital
- R. Disposable Syringe 1mm
- S. Disposable Syringe 3mm
- T. Micropipet
- U. Ose
- V. Spatula Kaca
- W. Gigaskrin

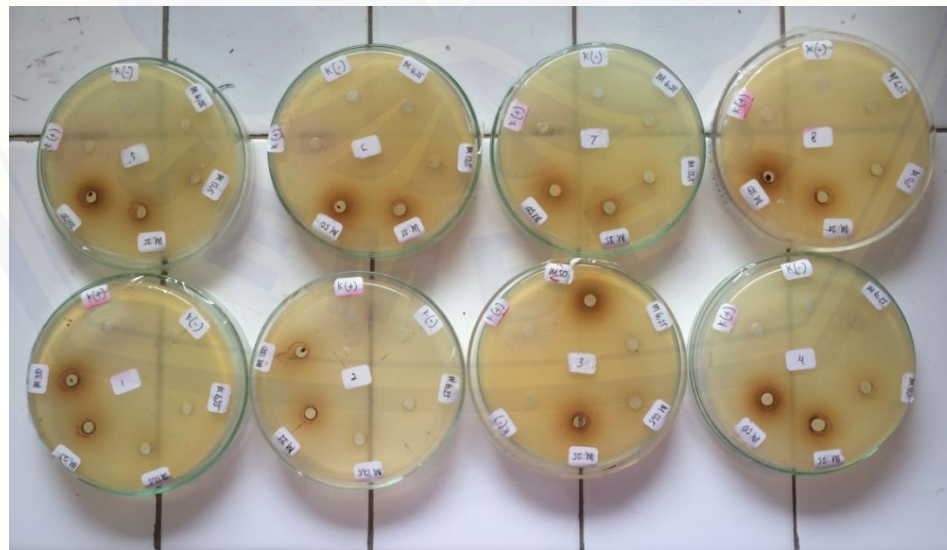
**B.2 Bahan**

- A. Aquades steril
- B. BHI-A
- C. BHI-C
- D. Etanol 70%
- E. Prividine Iodine
- F. Suspensi *S. mutans*
- G. Ekstrak etanol daun kamboja

### C. Pengukuran Zona Hambat

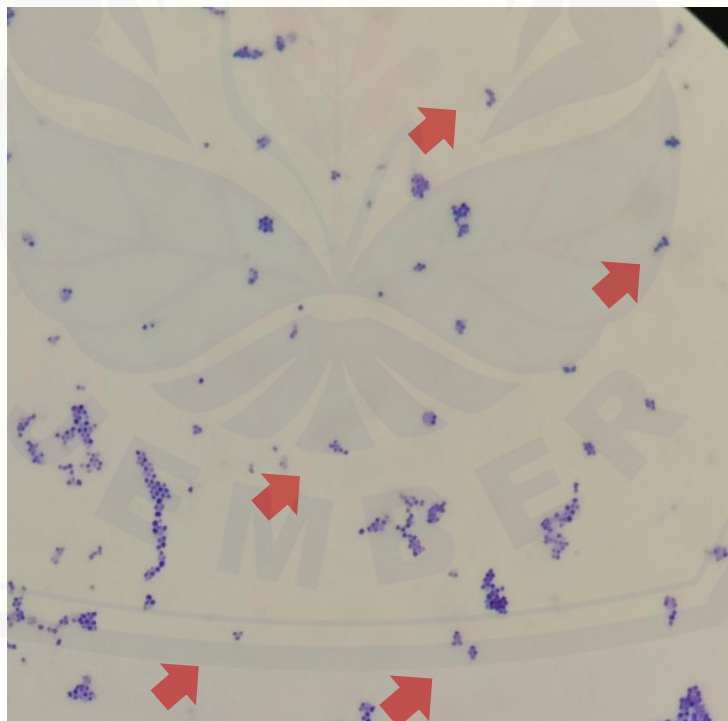
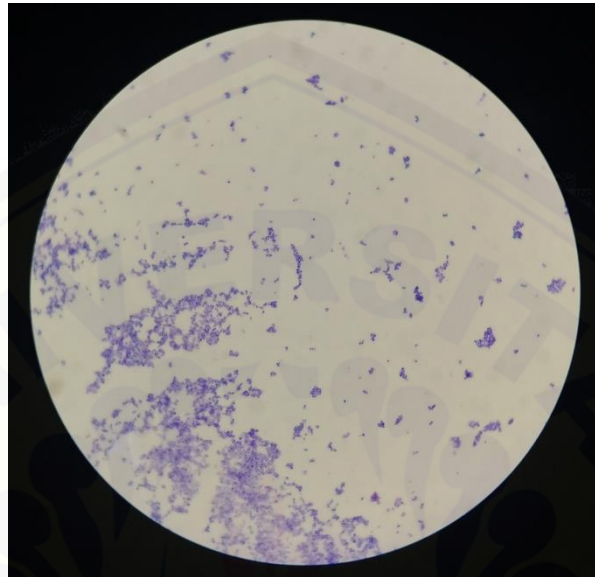


Pengukuran Zona Hambat pada kelompok M25




Dokumentasi Hasil Pengamatan

**D. Identifikasi *S. mutans***



Gambaran mikroskopis *S. mutans*.

**E. Surat Keterangan Identifikasi Bakteri**

LABORATORIUM MIKROBIOLOGI  
BAGIAN BIOMEDIK KEDOKTERAN GIGI  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS JEMBER

---

**SURAT KETERANGAN**  
No.072/MIKRO/SKET/2015

Sehubungan dengan keperluan identifikasi mikroorganisme, maka kami menerangkan bahwa mahasiswa berikut :

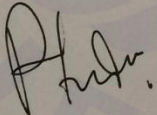
Nama : AFFIAN HUDATAMA PUTRA  
Nim : 121610101081  
Fakultas : Kedokteran Gigi  
Keperluan : Identifikasi Bakteri (pengecatan Gram)

Telah melakukan uji identifikasi terhadap isolat *Streptococcus mutans*; hasil uji identifikasi dengan pengecatan Gram dan mikroskopis menunjukkan bakteri streptococcus gram positif dan tidak terdapat kontaminasi.

Jember, 3 Desember 2015,

Mengetahui,

Ketua Bagian Biomedik Kedokteran Gigi      Penanggung Jawab Laboratorium Mikrobiologi

  
(Prof.DR.drg. I. D. A. Ratna Dewanti, M.Si)      ( drg. Pujiana Endah Lestari, M. Kes )  
NIP. 196705021997022001      NIP. 197608092005012002

**H. Surat Keterangan Identifikasi Botani**

KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI  
**UNIVERSITAS JEMBER**  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
Jln. Kalimañtan 37KampusTegalbotoKotakPos 159 Jember 68121  
Telp. (0331) 334293 Fax (0331) 330225

---

**SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI**  
No. 03 /2015

Ketua Laboratorium Botani Jurusan Biologi FMIPA dengan ini menerangkan bahwa material tanaman yang dibawa oleh:

Nama : Affian Hudatama  
NIP/NIM/NIK : 121610101081  
Institusi asal : Fakultas Kedokteran Gigi

maka dapat disampaikan hasilnya bahwa spesimen tersebut adalah :

1. *Plumeria acuminata* W.T. Aiton ( Backer II-225) ; Family – Apocynaceae ;  
Vernacular name – Kamboja, Semboja (Jawa.), Kamoja (Sunda.), Cempaka Sabakul (Madura).

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya

Jember, 16 Nopember 2015

Mengetahui  
Pembantu Dekan I,  
  
Dwi Siswanto, MSi  
NIP 196012161993021001

Ketua Laboratorium Botani,  
  
Dra. Dwi Setyati, MSi  
NIP 196404171991032001

Determined by Dra. Hari Sulistiyowati, MSc., PhD

### I. Rumus Pengenceran

$$M1 \cdot V1 = M2 \cdot V2$$

Keterangan : M1 = Konsentrasi Ekstrak Asal

V1 = Volume Ekstrak yang Asal

M2 = Konsentrasi Ekstrak yang Diinginkan

V2 = Volume Ekstrak yang Diinginkan

### J. Penghitungan Rendemen Ekstrak Daun Kamboja Putih

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat simplisia}} \times 100\%$$

$$\text{Rendemen} = \frac{(\text{Berat Ekstrak\&Bejana} - \text{Berat abejana})}{\text{Berat simplisia}} \times 100\%$$

$$= \frac{20,70}{200} \times 100\%$$

$$= 10,36\%$$