



**AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI VITAMIN C DAN
AMOKSISILIN SEBAGAI BAHAN ALTERNATIF
INTRAKANAL MEDIKAMEN TERHADAP
Enterococcus faecalis SECARA IN VITRO**

SKRIPSI

Oleh

**Julia Eka Putri Ayuningtyas
NIM 161610101113**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2020**



**AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI VITAMIN C DAN
AMOKSISILIN SEBAGAI BAHAN ALTERNATIF
INTRAKANAL MEDIKAMEN TERHADAP
Enterococcus faecalis SECARA IN VITRO**

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

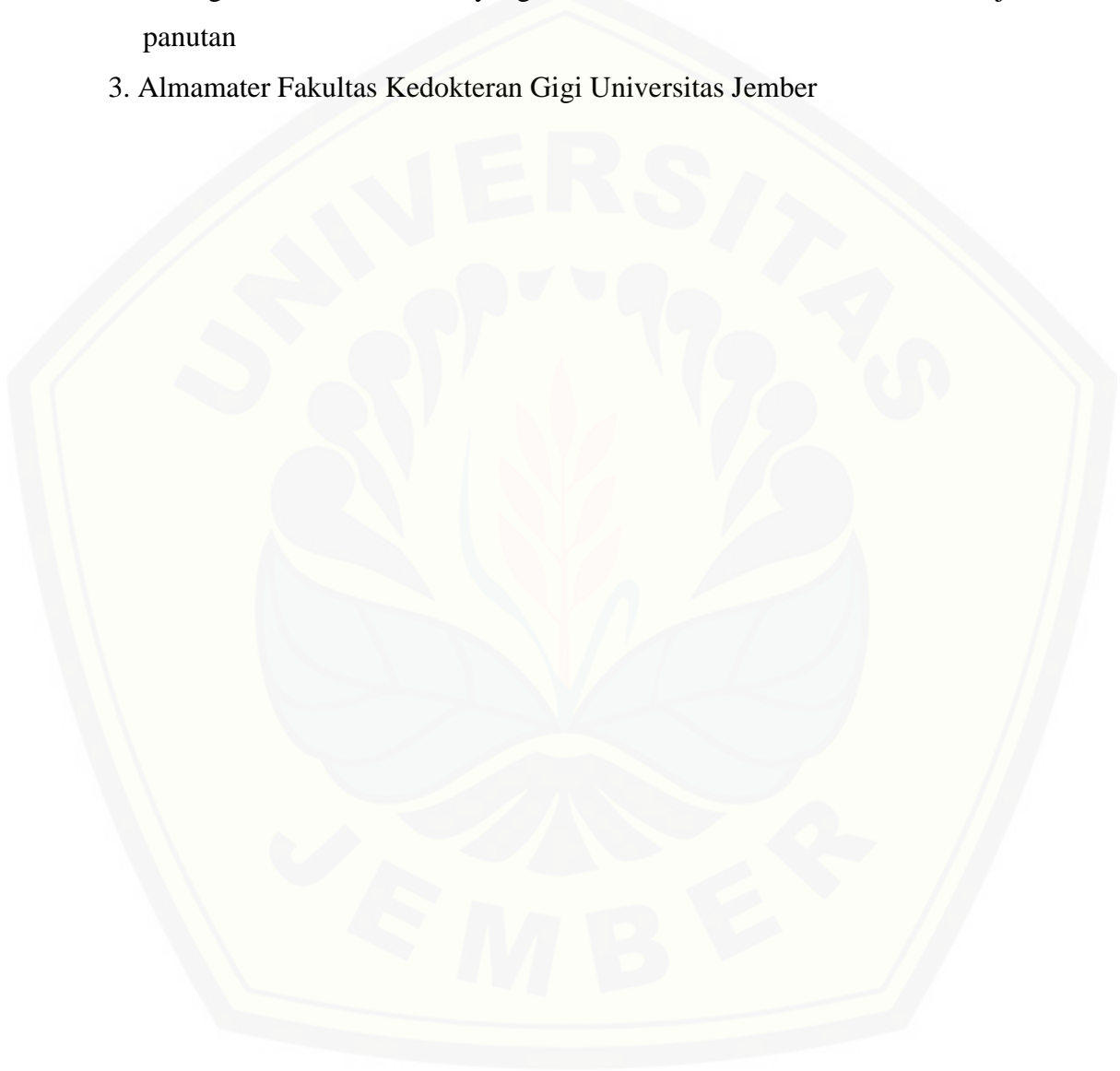
**Julia Eka Putri Ayuningtyas
NIM 161610101113**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2020**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Keluarga saya yang tercinta, Bapak Sutyas dan Ibu Ninik Zuliati
2. Guru-guru dan dosen-dosen yang telah memberikan ilmu dan selalu menjadi panutan
3. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember



MOTTO

Karena sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan. Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan Maka apabila kamu telah selesai (dari sesuatu urusan), kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan) yang lain dan hanya kepada Tuhanmu lah hendaknya kamu berharap.

(terjemahan surat Al-Insyirah ayat 5-8*)

*) Departemen Agama Republik Indonesia. 2013. Al-Qur'an dan Terjemahannya. Solo: PT. Tiga Serangkai Pustaka Mandiri.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Julia Eka Putri Ayuningtyas

NIM : 161610101113

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Aktivitas Antibakteri Kombinasi Vitamin C dan Amoksisilin Sebagai Bahan Alternatif Intrakanal Medikamen Terhadap *Enterococcus faecalis* Secara In Vitro” adalah benar-benar hasil karya saya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, Selasa 21 Juli 2020

Yang menyatakan,

Julia Eka Putri Ayuningtyas

NIM. 161610101113

SKRIPSI

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI KOMBINASI VITAMIN C DAN
AMOKSISILIN SEBAGAI BAHAN ALTERNATIF
INTRAKANAL MEDIKAMEN TERHADAP
Enterococcus faecalis SECARA IN VITRO**

Oleh

**Julia Eka Putri Ayuningtyas
NIM 161610101113**

Dosen Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : drg. Pudji Astuti, M.Kes

Dosen Pembimbing Pendamping : drg. Dwi Warna Aju Fatmawati, M.Kes

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Aktivitas Antibakteri Kombinasi Vitamin C dan Amoksisilin Sebagai Bahan Alternatif Intrakanal Medikamen Terhadap *Enterococcus faecalis* Secara In Vitro” telah diuji dan disahkan pada:

Hari, Tanggal : Selasa, 21 Juli 2020

Tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Dosen Penguji Ketua

Dosen Penguji Anggota

drg. Zahara Meilawaty, M.Kes

NIP. 198005272008122002

drg. Sri Lestari, M.Kes

NIP. 196608191996012001

Dosen Pembimbing Utama

Dosen Pembimbing Pendamping

drg. Pudji Astuti, M. Kes

NIP. 196810201966012001

drg. Dwi Warna Aju Fatmawati, M.Kes

NIP. 197012191999032001

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi

Universitas Jember

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

NIP. 196901121996011001

RINGKASAN

Aktivitas Antibakteri Kombinasi Vitamin C dan Amoksisilin Sebagai Bahan Alternatif Intrakanal Medikamen Terhadap *Enterococcus faecalis* Secara *In Vitro*; Julia Eka Putri Ayuningtyas; 161610101113; 2020; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Gigi dengan diagnosa nekrosis pulpa tidak dilakukan perawatan terdapat invasi bakteri dalam saluran akarnya. Salah satu bakteri yang dijumpai pada nekrosis pulpa yang sulit dieliminasi adalah *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*). Eliminasi mikroorganisme pada perawatan saluran akar melalui tahapan preparasi biomekanis dan tahapan sterilisasi saluran akar menggunakan bahan intrakanal medikamen. Medikamen intrakanal 3 MIX MP terdiri dari gabungan tiga antibiotik yang dapat digunakan sebagai bahan medikamen sterilisasi, akan tetapi memiliki kekurangan menimbulkan *multidrug* resisten pada ketiga antibiotik tersebut dan diskolorasi gigi.

Pengurangan resiko penggunaan antibiotik yang terkandung dalam 3 MIX MP dapat dihindari dengan memilih alternatif antibiotik lain yang lebih poten. Amoksisilin merupakan golongan antibiotik penisillin yang berspektrum luas namun memiliki kelemahan yaitu resistensi antibiotik tetapi dapat dicegah dengan penambahan bahan potensiator antibiotik. Potensiator antibiotik merupakan zat antibiotik atau non antibiotik yang bertujuan meningkatkan kinerja antibiotik. Vitamin C dalam bentuk asam askorbat memiliki sifat sebagai antimikroba terhadap bakteri maupun jamur. Berdasarkan penelitian sebelumnya vitamin C memiliki sinergisme dengan antibiotik penicillin G pada uji *in vitro*, sehingga memiliki potensi sebagai potensiator antibiotik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri kombinasi amoksisilin dan vitamin C terhadap *E. faecalis*.

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *the post test only control group design*. Keseluruhan jumlah sampel penelitian adalah 16 sampel yang dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan yaitu 3 MIX MP, amoksisilin, vitamin C, dan kombinasi vitamin C dan amoksisilin. Kelompok perlakuan 3 MIX MP, amoksisilin, vitamin C dan kombinasi vitamin

C dan amoksisilin dimasukkan sebanyak 100 mg kedalam lubang sumuran pada media MHA. Petridish diinkubasi pada suhu 37⁰C, dilakukan pengukuran zona hambat pada waktu 24 jam, 48 jam, 72 jam menggunakan jangka sorong digital.

Data hasil penelitian dilakukan uji normalitas *Shapiro Wilk* dan uji homogenitas *Levene* menunjukkan data penelitian tidak berdistribusi normal dan tidak homogen. Analisis data dilanjutkan dengan uji *Kruskal Wallis* dan *Mann Whitney* untuk melihat perbedaaan yang lebih lanjut dengan derajat signifikan 0,05. Hasil uji *Kruskal Wallis* menunjukkan bahwa terdapat perbedaaan yang bermakna antar seluruh kelompok penelitian. Analisis data *Mann Whitney* masing-masing kelompok antar hari pengamatan, menunjukkan masing-masing kelompok memiliki perbedaaan yang bermakna antara hari ke-1 dengan hari ke-3 pengamatan dan antara hari ke-2 dengan hari ke-3 pengamatan kecuali 3 MIX MP yang menunjukkan perbedaaan yang bermakna pada seluruh hari pengamatan. Uji *Mann Whitney* antar kelompok hari ke-1 pengamatan, menunjukkan seluruh kelompok memiliki perbedaaan yang bermakna sedangkan uji *Mann Whitney* antar kelompok hari ke-2 dan ke-3 pengamatan menunjukkan tidak ada perbedaaan yang bermakna antara 3 MIX MP dengan kombinasi vitamin C dan amoksisilin.

Kesimpulan penelitian ini adalah kombinasi vitamin C dengan amoksisilin sebagai bahan alternatif intrakanal medikamen menunjukkan efek antibakteri melalui zona hambat terhadap pertumbuhan *E. faecalis* yang setara dengan efek antibakteri 3 MIX MP dan lebih kecil dari amoksisilin serta lebih besar dari vitamin C.

SUMMARY

In Vitro Antibacterial Activities of Vitamin C Combination with Amoxicillin As an Alternative Intracanal Medicament Material Against *Enterococcus faecalis*; Julia Eka Putri Ayuningtyas; 161610101113; 2020; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Teeth diagnosed with pulp necrosis were not treated will be invaded by bacterial in their root canals. One of the bacteria found in pulp necrosis that is difficult to eliminate is *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*). Elimination of microorganisms in root canal treatment through the stages of biomechanical preparation and the stages of root canal sterilization using intracanal medicament. The intracanal medicament in the form of 3 MIX MP consists of a combination of three antibiotics which can be used as a sterilizing medicament, but has the disadvantage of causing multidrug resistance of the three antibiotics and tooth discoloration.

Reducing the risk of using the antibiotics contained in 3 MIX MP can be avoided by choosing other more potent antibiotic alternatives. Amoxicillin is a broad spectrum penicillin antibiotic class but has the disadvantages of antibiotic resistance but can be prevented by the addition of antibiotic potentiator. Antibiotic potentiators are antibiotic or non-antibiotic substances that aim to improve the performance of antibiotics. Vitamin C in the form of ascorbic acid has antimicrobial properties against bacteria and fungi. Based on previous research on the in vitro test, vitamin C has synergy with the antibiotic penicillin G so it has the potential as a potentiator of antibiotics. This research aims to determine the antibacterial activity of the combination of amoxicillin and vitamin C against *E. faecalis*.

This type of research is a laboratory experimental research design with the post test only control group design. The total number of research samples was 16 samples divided into 4 treatment groups, namely 3MIX MP, amoxicillin, vitamin C, and a combination amoxicillin of and vitamin C. The treatment group 3MIX MP, amoxicillin, vitamin C and a combination of vitamin C and amoxicillin were added as much as 100 mg into the wellbore on the MHA medium. Petridish were

incubated at 37°C, the inhibition zone was measured at 24 hours, 48 hours, 72 hours using a digital caliper.

The data from the research was tested for normality Shapiro Wilk and Levene homogeneity showing that the research data were not normally distributed and not homogeneous. Data analysis continued with the Kruskal Wallis and Mann Whitney tests to see further differences with a significant degree of 0.05. The Kruskal Wallis test results showed that there were significant differences between all research groups. Analysis of the Mann Whitney data for each group among observation days, showed that each group had a significant difference between day 1 and day 3 of observation and between day 2 and day 3 of observation except for 3 MIX MP which showed a significant difference on all observation days. The Mann Whitney test between groups on the 1st day of observation showed that all groups had significant differences, while the Mann Whitney test between groups on the 2nd and 3rd day of the observation showed no significant difference between 3 MIX MP with a combination of amoxicillin and vitamin C.

The conclusion of this research is that the combination of vitamin C with amoxicillin as an alternative intracanal medicament shows an antibacterial effect through the inhibition zone of *E. faecalis* which is equivalent to the antibacterial effect of 3 MIX MP and less than amoxicillin and greater than vitamin C.

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah Subhahanaahu WaTa'alla atas segala Anugrah dan RahmatNya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Aktivitas Antibakteri Kombinasi Vitamin C dan Amoksisilin Sebagai Bahan Alternatif Intrakanal Medikamen Terhadap *Enterococcus faecalis* Secara In Vitro”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

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

1. Allah Subhahanaahu WaTa'alla atas Limpahan Nikmat, Karunia dan Hidayah-Nya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
2. Kedua orang tuaku, Ibu Ninik Zuliati dan Bapak Sutyas Hadi Riyanto yang telah memberikan kasih sayang, doa, semangat dan perhatian yang tidak ternilai demi masa depan yang baik.
3. drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes, Sp. Pros selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, dan Dr. drg. Masniari Novita, M.Kes, Sp.Of (K) selaku Wakil Dekan 1 Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
4. drg. Pudji Astuti, M. Kes selaku Dosen Pembimbing Utama dan drg. Dwi Warna Aju Fatmawati, M.Kes selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah meluangkan waktunya untuk membimbing, memberikan saran dan motivasi sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
5. drg. Zahara Meilawaty, M.Kes selaku Dosen Penguji Ketua dan drg. Sri Lestari, M.Kes selaku Dosen Penguji Anggota yang telah memberikan masukan pemikiran dan saran yang membangun kesempurnaan skripsi ini.
6. Dr.drg. Didin Erma Indahyani, M.Kes selaku Dosen Pembimbing Akademik yang selalu memantau dan memberi motivasi serta saran pada setiap semester
7. Seluruh staff akademik yang telah membantu perijinan penelitian sehingga skripsis ini dapat terselesaikan
8. Keluarga besar tersayang yang selalu memberikan doa dan dukungan
9. Bu Indri (teknisi bagian Biomedik Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Gigi), Bu Nur (teknisi bagian Biomedik Laboratorium Fisiologi,

Fakultas Kedokteran Gigi) dan Bu Itus (teknisi Laboratorium Farmasetika, Fakultas Farmasi) yang telah turut membantu dalam penelitian saya

10. Sahabatku Astrid, Pintan, Yumna yang selalu setia menemani, mendukung dan membantu selama masa perkuliahan
11. Teman seperjuanganku skripsi Novia, Arba, Savira, Fifi, dan Raquel yang setia membantu dan memotivasi dalam setiap langkah penelitian
12. Teman-teman tutorial 12 dan teman KKN 265 yang memberikan semangat dan menghibur selama masa penyusunan skripsi
13. Sahabat-sahabat seperjuangan di Fakultas Kedokteran Gigi angkatan 2016
14. Semua pihak yang turut terlibat baik secara langsung maupun tidak langsung dalam penyelesaian skripsi ini.

Pada kesempatan ini, penulis juga ingin menyampaikan bahwa penyusunan skripsi ini masih banyak kekurangan, oleh karena itu penulis juga menerima kritik dan saran yang bersifat membangun. Akhirnya, penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Jember, 21 Juli 2020

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	xi
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Nekrosis Pulpa	5
2.2 Mikroorganisme Saluran Akar	6
2.1.1 <i>Enterococcus faecalis</i>	6
2.1.1.1 Morfologi dan Klasifikasi	8
2.1.1.2 Kultur	9
2.1.1.3 Virulensi	10
2.1.1.4 Mekanisme Kegagalan Perawatan Saluran Akar.....	11
2.3 Perawatan Saluran Akar	12
2.3.1 Peran <i>E. faecalis</i> Pada Kegagalan Perawatan Saluran Akar.....	13
2.4 Intrakanal Medikamen	15
2.4.1 Pasta Triple Antibiotik.....	17
2.5 Amoksisilin	17
2.5.1 Mekanisme Aksi Amoksisilin.....	18
2.5.2 Farmakokinetik.....	19
2.5.3 Efek Samping	19
2.5.4 Sediaan dan Posologi	20
2.5.5 Penggunaan Klinik	20
2.6 Vitamin C	21
2.6.1 Farmakokinetik.....	21
2.6.2 Efek Samping	22
2.6.3 Sediaan	22

2.6.4 Sifat	24
2.7 Kerangka Konsep	25
2.8 Penjelasan Kerangka Konsep	26
2.9 Hipotesis	27
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	28
3.1 Jenis Penelitian	28
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	28
3.2.1 Tempat Penelitian.....	28
3.2.2 Waktu Penelitian	28
3.3 Variabel Penelitian	28
3.3.1 Variabel Bebas	28
3.3.2 Variabel Terikat	28
3.3.2 Variabel Terkendali.....	28
3.4 Definisi Operasional	29
3.5.1 Aktivitas Antibakteri	29
3.5.2 <i>Enterococcus faecalis</i>	29
3.5.3 Amoksisilin	29
3.5.4 Kombinasi Amoksisilin dan Vitamin C	29
3.5 Sampel Penelitian	30
3.5.1 Pengelompokan Sampel.....	30
3.5.1 Jumlah Sampel	30
3.6 Alat dan Bahan Penelitian	30
3.7 Prosedur Penelitian	31
3.7.1 Tahap Persiapan	31
3.7.2 Tahap Perlakuan.....	37
3.7.3 Tahap Pengukuran.....	39
3.8 Analisis Data	40
3.9 Alur Penelitian	41
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	42
4.1 Hasil Penelitian	42
4.2 Analisis Data	44
4.3 Pembahasan	46
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	54
5.1 Kesimpulan.....	54
5.2 Saran	54
DAFTAR PUSTAKA	55
LAMPIRAN.....	63

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Taksonomi <i>Enterococcus faecalis</i>	7
4.1 Tabel rerata zona hambat kombinasi vitamin C dan amoksisilin, amoksisilin, vitamin C dan 3MIX MP.....	42
4.2 Hasil uji normalitas Shapiro Wilk.....	44
4.3 Hasil uji homogenitas <i>Levene</i>	45
4.4 Hasil uji <i>Kruskal-Wallis</i>	45
4.5 Hasil uji <i>Mann Whitney</i> dalam kelompok antar hari.....	45
4.6 Hasil uji <i>Mann Whitney</i> antar kelompok hari ke-1 pengamatan.....	46
4.7 Hasil uji <i>Mann Whitney</i> antar kelompok hari ke-2 pengamatan.....	46
4.8 Hasil uji <i>Mann Whitney</i> antar kelompok hari ke-3 pengamatan.....	47

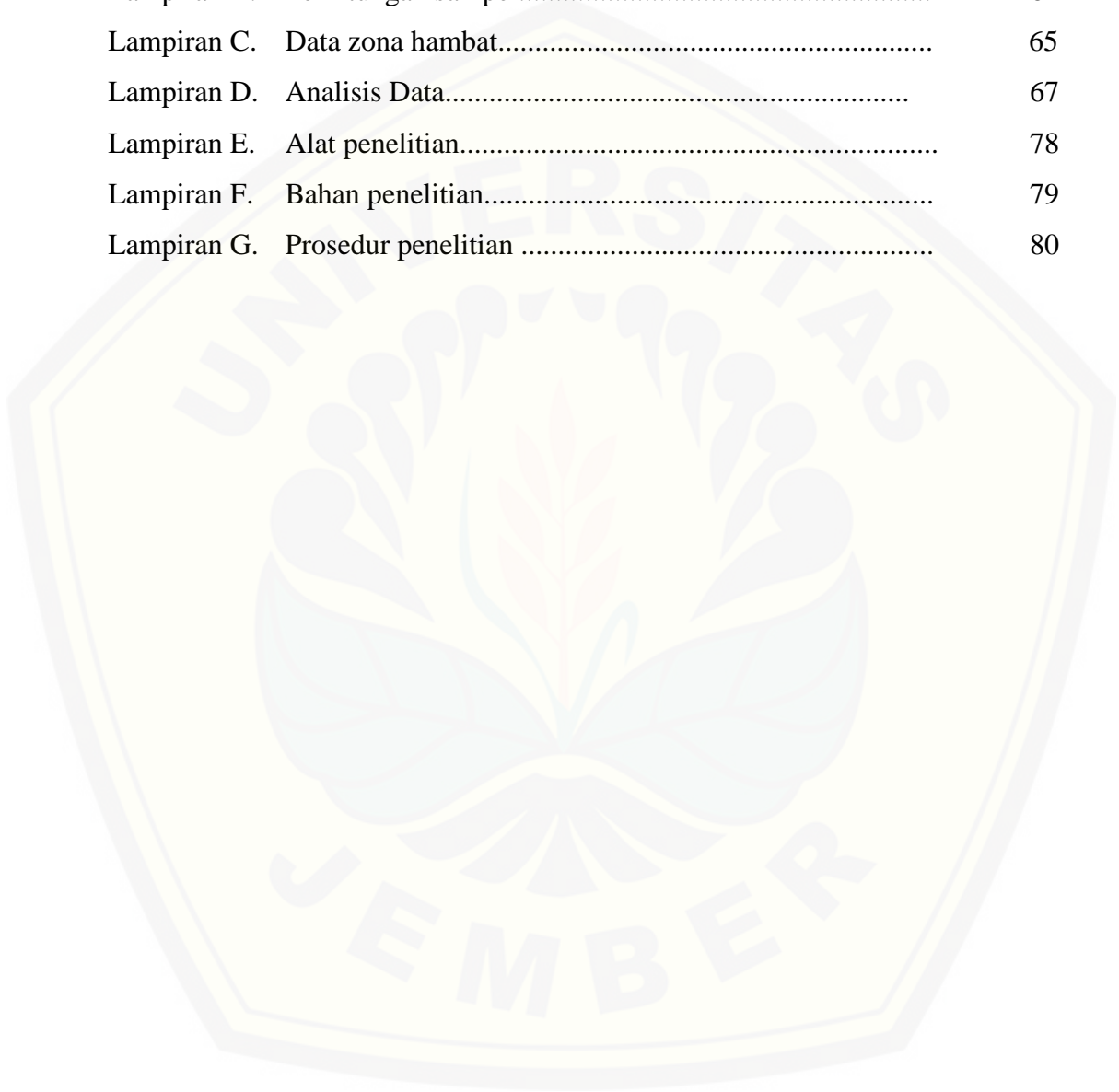
DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Sel <i>E. faecalis</i> menggunakan mikroskop SEM.....	7
2.2 <i>Enterococcus faecalis</i> pada media agar.....	8
2.3 Struktur kimia amoksisilin.....	17
2.4 Struktur kimia vitamin C.....	20
2.5 Kerangka Konseptual	25
3.1 Larutan MHA.....	31
3.2 Larutan MHB.....	32
3.3 Suspensi bakteri <i>E. faecalis</i>	32
3.4 Standar McFarland.....	33
3.5 Label penomoran pada petridish.....	33
3.6 Sediaan bubuk murni vitamin C.....	34
3.7 Sediaan bubuk vitamin C yang dihaluskan.....	34
3.8 Menimbang bubuk halus vitamin C.....	34
3.9 a Pencampuran amoksisilin dan aquades.....	35
3.9 b Pasta vitamin C.....	35
3.10 Sediaan bubuk amoksisilin.....	35
3.11 a Pencampuran amoksisilin dan aquades.....	36
3.11 b Pasta amoksisilin.....	36
3.12 Pasta amoksisilin dan pasta vitamin C.....	36
3.13 Campuran pasta amoksisilin dan vitamin C.....	36
3.14 Bubuk 3 MIX MP.....	36
3.15 Bubuk 3 MIX MP dan pasta MP 7:1.....	37
3.16 Pasta 3 MIX MP.....	37
3.17 Penetesan suspensi <i>E. faecalis</i>	37
3.18 Penuangan media MHA.....	38

3.19 Media inokulasi MHA yang memadat.....	38
3.20 a Alat steril cork borer	38
3.20 b Lubang sumuran pada media MHA.....	38
3.21 Gambar kelompok perlakuan pada petridish.....	39
3.22 Pengukuran zona hambat.....	39
3.23 Diagram Alur Penelitian.....	41
4.1 Daya hambat kombinasi vitamin C dan amoksisilin, amoksisilin, vitamin C dan 3MIX MP.....	43
4.2 Diagram hasil rerata zona hambat kombinasi vitamin C dan amoksisilin, amoksisilin, vitamin C dan 3MIX MP.....	44
4.3 Penghambatan dinding sel bakteri antibiotik golongan penisilin.....	48
4.4 Mekanisme kerja antibiotik siprofloksasin pada 3 MIX MP.....	49

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran A. Surat ijin penelitian.....	63
Lampiran B. Perhitungan sampel.....	64
Lampiran C. Data zona hambat.....	65
Lampiran D. Analisis Data.....	67
Lampiran E. Alat penelitian.....	78
Lampiran F. Bahan penelitian.....	79
Lampiran G. Prosedur penelitian	80



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Nekrosis pulpa merupakan suatu keadaan pulpa yang tidak merespon (asymptomatis) terhadap tes sensibilitas. Kondisi tersebut disebabkan karena dua faktor yaitu non infeksi dan infeksi. Faktor non infeksi yaitu adanya trauma gigi yang menyebabkan perpindahan posisi normal gigi sehingga suplai pembuluh darah apikal terputus. Faktor infeksi berupa lesi karies yang menimbulkan invasi bakteri pada pulpa yang terpapar dan tidak dilakukan perawatan. Nekrosis pulpa dengan infeksi akan menyisakan jaringan nekrotik dan menjadi sumber nutrisi bagi pertumbuhan bakteri (Yu dan Paul, 2016).

Beberapa jenis bakteri yang dapat ditemukan pada kasus nekrosis pulpa yaitu *Peptostreptococcus spp* (16%), *Streptococcus spp* (14,2%), *Porphyromonas spp* (12,2%) dan *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) (9,6%). Berdasarkan penelitian Fabris *et al* (2014) menunjukkan bahwa *Enterococcus spp* mendominasi saluran akar sebesar 50 % pada kasus nekrosis pulpa anak-anak. Bakteri *E. faecalis* menurut studi Gajan *et al* (2009) menempati urutan ke – 4 spesies bakteri terbanyak pada 150 kasus nekrosis pulpa dan kegagalan perawatan endodontik. *E. faecalis* menunjukkan patogenitas pada kegagalan perawatan endodontik dengan prevalensi sebesar 24-70%. Bakteri ini memiliki faktor virulensi gelatinase yang berperan pada proses persistensi bakteri di saluran akar. Pada kondisi kultur spesies campuran, kehadiran *E. faecalis* menghasilkan tingkat kelangsungan hidup bakteri lain lebih tinggi apabila dibandingkan tidak adanya *E. faecalis*. Jika dibandingkan bakteri yang lain, *E. faecalis* menimbulkan respon inflamasi yang lebih besar pada pulpa akibat tingkat perlekatannya yang lebih tinggi (Gajan *et al*, 2009; Zoletti *et al*, 2010; Nishio *et al*, 2018).

Kasus nekrosis pulpa memerlukan perawatan saluran akar. Perawatan saluran akar adalah mengeliminasi atau mengurangi bakteri beserta produknya dengan cara instrumentasi dinding saluran akar dan sterilisasi dan diakhiri dengan obturasi menggunakan bahan kimia untuk memulihkan kesehatan jaringan periradikuler. Eliminasi mikroorganisme dilakukan melalui preparasi kemo-

mekanis, penggunaan bahan irigasi antibakteri dan intrakanal medikamen. Preparasi mekanis menggunakan bahan irigasi air atau salin dapat mengeliminasi bakteri rata-rata sekitar 25% sedangkan penggunaan bahan irigasi berupa antiseptik kimia seperti natrium hipoklorit dapat mencapai rata-rata sekitar 75%. Area yang sulit dijangkau oleh preparasi kemomekanis menyebabkan bakteri persisten di saluran akar dengan prevalensi kasus sekitar 40-60%. Peningkatan desinfeksi setelah preparasi kemomekanis pada kunjungan antar perawatan (multivisit) dapat dicapai dengan cara aplikasi bahan intrakanal medikamen pada saluran akar (Jr Siquera dan Isabela, 2017 ; Gulabivala dan Yuan, 2015; Felippini, 2015).

Intrakanal medikamen adalah bahan yang digunakan untuk membunuh bakteri yang ada di dalam saluran akar dan digunakan untuk mencegah terjadinya infeksi ulang. Intrakanal medikamen merupakan agen antiseptik dalam bentuk kimia yang diaplikasikan pada dinding saluran akar dengan tujuan menghilangkan mikroorganisme yang tidak terjangkau pada preparasi kemomekanis. Efek yang dimiliki oleh intrakanal medikamen lebih panjang dibandingkan dengan bahan irigasi. Medikamen ini diaplikasikan pada saat antar kunjungan perawatan endodontik sebelum dilakukan obturasi (Felippini, 2015; Pal *et al*, 2019).

Bahan intrakanal medikamen terdapat berbagai golongan, salah satu golongan tersebut adalah antibiotik. Salah satu bahan intrakanal medikamen yang mengandung antibiotik yaitu pasta *triple* antibiotik. Pasta *triple* antibiotik pertama kali dikembangkan oleh Hoshino dkk sebagai 3 MIX MP yang efektif untuk mengeliminasi mikroorganisme saluran akar. Pasta *triple* antibiotik merupakan kombinasi dari antibiotik siprofloksasin, metronidazole dan minosiklin. 3 MIX MP merupakan gabungan dari ketiga antibiotik tersebut dengan *vehicle carier* berupa makrogol dan propilen glikol. Gabungan ketiga antibiotik tersebut dapat melawan Gram negatif, Gram positif dan bakteri anaerob (Parzhikar *et al*, 2018).

Menurut studi Pai *et al* (2014) bahwa aplikasi pasta *triple* antibiotik sebagai intrakanal medikamen menunjukkan hasil efektif dan tidak menimbulkan keluhan antar kunjungan pada perawatan saluran akar konvensional terhadap pasien periodontitis apikalis dengan riwayat diabetes. Selain itu pasta *triple* antibiotik

juga dapat digunakan sebagai intrakanal medikamen pada prosedur perawatan regenerasi endodontik. Bahan ini memiliki efek samping pada penggunaannya yaitu menyebabkan diskolorasi pada gigi akibat kandungan dari minosiklin dan berkembangnya *multidrug* resisten yang dapat mengurangi efektifitas bahan ini (Pai *et al*,2014; Parzhikar *et al*, 2018). Penggunaan pasta *triple* antibiotik berupa 3 MIX MP dengan metode LSTR (*Lesion Sterilization and Tissue Repair*) tanpa pengambilan jaringan nekrotik juga kontradiksi terhadap prosedur perawatan saluran akar konvensional.

Efek samping yang ditimbulkan bahan pasta *triple* antibiotik menyebabkan perlunya mencari bahan antibiotik alternatif yang sama berspektrum luas tetapi tidak menimbulkan diskolorasi gigi dan *multidrug* resisten. Bahan antibiotik lain yang dapat digunakan yaitu amoksisilin. Amoksisilin merupakan antibiotik golongan penisillin yang berspektrum luas berkerja dengan melawan bakteri Gram positif dan Gram negatif. Antibiotik ini memiliki kemampuan absorpsi dan bioviabilitas yang bagus. Bahan ini juga memiliki resiko terhadap resistensi akan tetapi dapat dicegah dengan menemukan potensiator antibiotik (Dalia *et al*, 2016).

Potensiator aktivitas antibiotik dikenal sebagai adjuvan antibiotik. Senyawa-senyawa potensiator merupakan molekul aktif, yang dapat berupa aktivitas non-antibiotik maupun antibiotik tetapi dalam kombinasi dengan antibiotik dapat sinergis meningkatkan aktivitas antimikroba. Adjuvan antibiotik dapat berfungsi baik dengan membalikkan mekanisme resistensi pada patogen yang sensitif secara alami atau dengan membuat kepekaan pada bakteri yang resisten (Bernal *et al*,2013). Oleh karena itu dibutuhkan suatu bahan digunakan untuk meningkatkan potensi kerja amoksisilin.

Salah satu bahan alternatif yang dapat digunakan sebagai adjuvan amoksisilin adalah vitamin C. Menurut studi Aburawi *et al* vitamin C dapat meningkatkan kerja Penicillin G dalam melawan bakteri sehingga meningkatkan zona hambat bakteri secara *in vitro*. Vitamin C memiliki sifat pro-oksidan pada *in vitro*. Sebuah studi menunjukkan bahwa vitamin C sebagai pro-oksidan meningkatkan produksi *reactive oxygen superoxide* dan radikal hidroksil yang menimbulkan kematian bakteri akibat kerusakan sel DNA. Pada studi yang

dilakukan Isela, vitamin C memiliki aktivitas antimikroba terhadap mikroorganisme rongga mulut diantaranya yaitu *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Porphyromonas gingivalis*, *Candida albicans*, *E. faecalis*. Studi yang dilakukan Sara (2019) menunjukkan bahwa vitamin C dalam bentuk asam askorbat memiliki potensi antimikroba terhadap *Enterobacter aerogenes* paling efektif pada konsentrasi 100 mg/ml. (Aburawi *et al*, 2013; Vilcheze *et al*, 2013; Isela, 2013).

Berdasarkan potensi sifat dari vitamin C peneliti tertarik untuk melakukan penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas antibakteri kombinasi vitamin C dan amoksisilin sebagai bahan alternatif intrakanal medikamen terhadap *E. faecalis* secara *in vitro*.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah :

Bagaimana aktivitas antibakteri kombinasi vitamin C dan amoksisilin sebagai bahan alternatif intrakanal medikamen terhadap *E. faecalis* secara *in vitro*

1.3 Tujuan Penelitian

Mengetahui aktivitas antibakteri kombinasi vitamin C dan amoksisilin sebagai bahan alternatif intrakanal medikamen terhadap *E. faecalis* secara *in vitro*

1.4 Manfaat Penelitian

1. Mengetahui aktivitas antibakteri kombinasi amoksisilin dengan vitamin C terhadap *E. faecalis* secara *in vitro*.
2. Bahan kajian dan panduan untuk penelitian selanjutnya, sehingga diharapkan dapat digunakan sebagai dasar menentukan perbandingan konsentrasi kombinasi vitamin C dan amoksisilin untuk meningkatkan aktivitas antibakteri amoksisilin terhadap *E. faecalis* secara *in vitro*.
3. Memberikan informasi dan sebagai bahan pertimbangan untuk mengembangkan kombinasi vitamin C dan amoksisilin sebagai bahan alternatif intrakanal medikamen.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Nekrosis Pulpa

Nekrosis pulpa adalah kondisi pulpa yang dicurigai saat pulpa gigi tidak merespon terhadap tes sensibilitas. Sebelum terjadinya nekrosis pulpa biasanya didahului dengan gigi mengalami trauma, rasa sakit, pernah dilakukan restorasi atau karies. Trauma pada gigi dapat menyebabkan nekrosis pulpa akibat pemutusan suplai darah pada daerah apikal apabila gigi berpindah posisi normalnya atau terjadi kerusakan atau peradangan signifikan pada ligamen periodontal apikal. Pulpa yang mengalami nekrosis dapat diinvasi oleh bakteri dan invasi bakteri dapat berlangsung selama 1-2 bulan. Gigi yang mengalami nekrosis pulpa tidak akan mengalami rasa sakit. Rasa sakit yang timbul pada nekrosis pulpa akibat peradangan jaringan periradikuler oleh adanya bakteri. Perubahan jaringan radikuler pada gigi nekrosis pulpa membutuhkan waktu 2-10 bulan. Hal tersebut dikarenakan bakteri akan menghilangkan jaringan nekrotik sebagai sumber nutrisinya 1-3 bulan setelah invasi. Proses ini menyebabkan timbulnya gambaran radiolusensi pada radiografi (Abbot dan Yu,2007).

2.2 Mikroorganisme Saluran Akar

Mikroorganisme adalah istilah luas yang digunakan untuk mencakup organisme jamur, ragi, bakteri dan beberapa definisi virus. Mikroorganisme membutuhkan inang untuk bertahan hidup dan dapat bereplikasi di luar inang manapun. Ukuran mikroorganisme berkisar kurang dari 100 nano meter sampai hampir 1 milimeter (Batt, 2016). Mikroflora rongga mulut terdiri dari berbagai kelompok mikroorganisme yang termasuk bakteri, jamur, mikoplasma, protozoa dan mungkin virus. Bakteri merupakan kelompok mikroorganisme yang dominan di rongga mulut (Vineet, 2016). Sekitar 700 spesies bakteri dapat ditemukan di rongga mulut, dengan masing-masing individu tertentu menampung 100-200 spesies (Narayanan, 2010).

Mikroorganisme memiliki peran penting dalam menginfeksi sistem saluran akar. Infeksi endodontik berbeda dengan infeksi oral lainnya karena infeksi ini

terjadi di lingkungan yang tertutup karena sistem saluran akar tertutup oleh jaringan keras di sekelilingnya. Infeksi endodontik terjadi dan berkembang saat saluran akar terpapar lingkungan luar dengan satu alasan atau yang lain dan secara bersamaan terjadi penurunan dalam respons imun tubuh. Pada awalnya, mikroba terbatas pada daerah intra-radikuler berasal dari lesi karies atau cedera traumatis pada struktur mahkota gigi. Namun apabila tidak dilakukan perawatan mikroorganisme akan menyebar mencapai foramen apikal dan jaringan periradikular. Pada kondisi infeksi saluran akar primer, mayoritas mikroba dalam kondisi ini adalah anaerob yang terdiri dari 10 hingga 30 spesies per kanal sedangkan pada infeksi sekunder setelah perawatan, mikroba yang lebih poten masuk ke dalam sistem saluran akar dari rongga mulut (Singh, 2016).

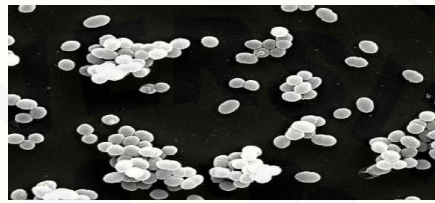
Studi yang dilakukan Gajan dkk pada 150 sampel meliputi 101 sampel dari kasus nekrosis pulpa dan 49 sampel dari kasus kegagalan perawatan endodontik didapatkan total 197 isolat kultur spesies. Isolat kultur tersebut terdiri dari 85 spesies anaerob obligat (43,1%), 104 spesies fakultative anaerob (52,8%) dan 8 spesies jamur (4,1%). Hasil kultur menunjukkan 68,9% isolat yaitu spesies bakteri Gram positif dan 31,2% spesies bakteri Gram negatif. *Peptostreptococcus spp* adalah spesies yang paling banyak ditemukan pada studi ini yaitu sebesar 16% diikuti oleh *Streptococcus spp* (14,2%), *Porphyromonas spp* (12,2%) dan *Enterococcus faecalis* (9,6%) (Gajan *et al*, 2009). Pada penelitian lain yang dilakukan pada 110 anak dengan 103 kasus nekrosis pulpa dan 7 kasus fistula didapatkan hasil bakteri yang dominan pada saluran yaitu kokus Gram positif sebesar 81,8% dan kokobacillus Gram negatif sebesar 49%. Bakteri yang paling banyak teridentifikasi adalah *Enterococcus spp.* (50%), *Porphyromonas gingivalis* (49%), *Fusobacterium nucleatum* (25%) and *Prevotella nigrescens* (11.4%) (Fabris *et al*, 2014).

2.2.1 *Enterococcus faecalis*

2.2.1.1 Morfologi dan Klasifikasi

Genus *Enterococcus* merupakan bakteri dengan karakteristik anaerob fakultatif. *Enterococcus* termasuk dalam bakteri Gram-positif dan tidak

membentuk spora. Enterococcus terdapat dalam bentuk coccus tunggal dan rantai seperti pada gambar 2.1 . Ukuran bakteri *E. faecalis* yaitu 0.5–1 μm . Pada media agar karateristik sel ini memiliki karakteristik koloni berbentuk bulat, tidak transparan dan berwarna putih atau krem yang ditunjukkan pada gambar 2.2. Enterococcus tidak menghasilkan enzim katalase. Namun Enterococcus termasuk dalam kelompok enzim yang dikenal sebagai *Lactic Acid Bacteria* (LAB) yang menghasilkan bakteriosin. (Fisher dan Carol,2009; Lei *et al*,2015).



Gambar 2.1 Sel *E. faecalis* menggunakan mikroskop SEM (Lei dkk,2015)

E. faecalis adalah enterococcus yang dominan terdapat pada manusia dan menyebabkan berbagai penyakit mulut seperti karies, infeksi endodontik, periodontitis, dan peri-implantitis. Taksonomi bakteri *E. faecalis* dapat dilihat pada tabel 2.1. Enterococcus sebagai komponen transien dari mikroba oral memiliki kepadatan kolonisasi yang rendah. Akan tetapi *E. faecalis* diimplikasikan sebagai penyebab kegagalan perawatan endodontik. Hal ini dikarenakan *E. faecalis* memiliki resistensi yang tinggi terhadap medikamen perawatan endodontik (Komiyama *et al*,2016).

Tabel 2.1 Taksonomi *Enterococcus faecalis*

Taksonomi <i>Enterococcus faecalis</i>	
Kingdom	Bacteria
Subkingdom	Posibacteria
Phylum	Firmicutes
Class	Bacilli
Ordo	Lactobacillales
Family	Enterococcaceae
Genus	Enterococcus
Spesies	<i>Enterococcus faecalis</i>

(ITIS,2012)

2.2.1.2 Kultur

Bakteri spesies *Enterococcus* tumbuh pada suhu antara 5 sampai 50 °C. Suhu optimal, minimum dan maksimum bakteri ini adalah 42.7, 6.5 dan 47.8 °C pada media *Brain Heart Infusion* (BHI) agar dalam kondisi aerob meskipun pertumbuhan juga akan terjadi di atmosfer anaerob. *E. faecalis* dapat bertahan hidup pada kondisi pemanasan 60 °C selama 30 menit. Trypticase soy agar atau Columbia agar dengan 5% darah domba yang defibrinasi dapat digunakan untuk menilai hemolisis yang dihasilkan oleh enterococci. Kultur pada media agar ditunjukkan pada gambar 2.2. Jika menggunakan darah manusia atau kuda, akan terjadi hemolisis didasarkan pada aktivitas sitolysin dan reaksi b-hemolitik (Fisher dan Philips,2009).



Gambar 2.2 *Enterococcus faecalis* pada media agar (Lei dkk,2015)

E. faecalis tumbuh dalam kisaran pH antara 4.6-9.9, dengan pH yang optimal adalah 7.5 . Ketahanan *E. faecalis* terhadap kisaran nilai pH diperkirakan karena daya tahan membran dan impermeabilitasnya terhadap asam dan alkali. Selain itu *E. faecalis* juga mampu tumbuh pada konsentrasi 6,5% NaCl dan memiliki homeostasis kation yang diperkirakan berkontribusi terhadap ketahanannya terhadap pH, garam, logam dan pengeringan. Apabila pertumbuhan spesies *Enterococcus* dinilai menggunakan kepadatan variabel optik, hal yang perlu diperhatikan dari kondisinya adalah pH, suhu dan konsentrasi garam. Pada saat terjadi fase lag, suhu adalah faktor terpenting yang mempengaruhi pertumbuhan, sedangkan pada fase stasioner sel paling resisten terhadap panas (Fisher dan Philips,2009).

2.2.1.3 Virulensi

Enterococci merupakan 10% dari penyebab infeksi nosokomial dan strain poliresisten terhadap antibiotik. Bakteri ini memiliki ketahanan natural terhadap antibiotik golongan sefalosporin, penisilin dan monobaktam. Enterococci kurang peka terhadap penisilin dan ampisilin 10 hingga 1000 kali dibandingkan bakteri streptokokus. Selain resisten terhadap antibiotik, *E. faecalis* juga mampu hidup pada suhu lingkungan yang tinggi. Bakteri ini juga kurang sensitif terhadap dosis toksik panas, keasaman, dan alkalinitas zat kimia (Karayasheva, 2015; Colaco,2018). Kemampuan *E. faecalis* menghasilkan superoksida dapat meningkatkan kelangsungan hidupnya dalam infeksi campuran. Sifat-sifat *E. faecalis* lain yang mempengaruhi virulensinya antara lain yaitu

a. *Enterococcal Surface Protein* (ESP)

Enterococcal Surface Protein (ESP) merupakan protein yang terikat pada dinding sel spesies Enterococcus. ESP dapat meningkatkan adhesi, kolonisasi, dan pembentukan biofilm. ESP juga berperan dalam resistensi antibiotik dan mekanisme dalam menghindari sistem imun. Tingkat konjugasi strain *E. faecalis* dengan gen ESP lebih tinggi dibandingkan strain yang tidak memiliki gen ini (Vineet dan Moksha,2016).

b. Sitolisin

Sitolisin berupa toksin bakteri yang berasal dari gen yang diproduksi oleh plasmid responsif pheromone. Sitolisin memiliki aksi hemolitik pada manusia dan bersifat bakterisida terhadap bakteri Gram positif lainnya. Regulasi sitolisin oleh mekanisme quorum sensing dengan melibatkan dua komponen sistem (Vineet dan Moksha,2016).

c. Enzim hidrolitik

Kelompok enzim hidrolitik yang terlibat dalam virulensi spesies ini meliputi hyaluronidase, gelatinase dan serine protease. Hyaluronidase merupakan enzim degradatif yang bekerja pada asam hialuronat yang terlibat dalam kerusakan jaringan. Hyaluronidase dapat menyebabkan penyebaran Enterococci serta racunnya melalui jaringan inang dengan cara depolimerisasi

jaringan ikat mukopolisakarida. Gelatinase adalah metalloprotease yang mampu menghidrolisis gelatin, kolagen, kasein, hemoglobin, dan peptida lainnya. Gelatinase dapat menyebabkan degradasi kolagen dan fibrinogen. Selain itu gelatinase juga menghasilkan protein pengikat kolagen lain seperti serine protease (Vineet dan Moksha,2016; Colaco,2018).

d. *Aggregation Substance* (AS)

Aggregation Substance (AS) adalah protein permukaan *E. faecalis* yang diinduksi oleh pheromone. AS memfasilitasi transfer plasmid dengan cara memediasi donor enterococcal dan kontak penerima. Disamping itu, AS berperan mempromosikan adhesi ke sel inang, meningkatkan hidrofobisitas permukaan sel, dan menolak fagositosis. Adhesi permukaan AS membantu pembentukan biofilm, yang dapat menolak alkalinitas bahan desinfektan kimia (Colaco,2018).

2.3 Perawatan Saluran Akar

Perawatan saluran akar memiliki fokus utama pada eliminasi mikroba dan substratnya dari sistem saluran akar. Eliminasi tersebut melibatkan jaringan pulpa nekrotik dan jaringan debris. Tahapan dari perawatan saluran akar yaitu

- a. Pengambilan seluruh jaringan, mikroorganismenya meliputi produk dan substratnya dari saluran akar.
- b. Pembentukan saluran akar untuk memfasilitasi penempatan bahan irigasi, medikamen dan obturasi.
- c. Pengisian saluran akar yang adekuat dan restorasi mahkota

(Chong,2014)

Tahapan awal dari perawatan saluran akar adalah preparasi saluran akar. Preparasi saluran akar bertujuan untuk pengambilan jaringan nekrotik, eliminasi mikroorganismenya dan produknya, membentuk ruang untuk obturasi, menjaga struktur anatomi apikal gigi serta menghindari kerusakan iatrogenik pada struktur saluran akar. Tujuan preparasi saluran akar dapat tercapai melalui preparasi manual dengan berbagai instrumen yang berbeda, preparasi otomatis dengan konvensional stainless steel instrumen, rotari sistem dengan instrumen Ni-Ti,

preparasi sonic dan ultrasonic, laser dan teknik non instrumen (Ingle dan Rotstein, 2017).

Pada tahapan instrumentasi mekanis saluran akar diperlukan bahan irigasi. Bahan irigasi digunakan untuk melarutkan smear layer, membersihkan debris, dan sebagai antibakteri. Selain itu bahan irigasi digunakan untuk menjaga kelembapan saluran akar sehingga instrumen berjalan dengan lancar. Bahan irigasi yang digunakan harus memiliki sifat yang meminimalisir jaringan yang rusak dan minimal toksik pada jaringan periapikal. Setelah selesai tahapan instrumentasi mekanis dan irigasi dilakukan pemilihan dressing (intrakanal medikamen) sebagai bahan antibakteri yang diaplikasikan pada saluran akar diantara kunjungan perawatan sebelum dilakukan tumpatan sementara (Bergenholtz *et al*,2010).

Tahapan akhir dari perawatan saluran akar adalah pengisian (obturasi). Pengisian saluran akar harus mencegah mikroorganisme masuk, berkembang dan berduplikasi pada ruang kosong saluran akar. Jika pengisian saluran akar tidak benar dan menyisakan ruang akan menyebabkan organisme residual kembali tumbuh berduplikasi. Pengisian saluran akar harus mengisi sepanjang saluran yang diinstrumentasi untuk memblok saluran keluar jaringan periapikal (Bergenholtz *et al*,2010).

2.3.1 Peran *E. faecalis* Pada Kegagalan Perawatan Saluran Akar

E. faecalis dapat dijumpai pada infeksi endodontik primer sekitar 4 hingga 40% sedangkan Pada kasus kegagalan perawatan saluran akar frekuensi ditemukannya *E. faecalis* sembilan kali lebih besar daripada infeksi endodontik primer. Hal ini dikarenakan *E. faecalis* memiliki serine protease, gelatinase dan protein pengikat kolagen yang membantu mengikat dentin. *E. faecalis* mampu bertahan lama dalam periode kelaparan sampai persediaan nutrisi yang cukup tersedia. Setelah nutrisi tersedia, sel-sel yang kelaparan dapat pulih dengan menggunakan serum sebagai sumber nutrisi. Serum yang didapatkan berasal dari tulang alveolar dan ligament periodontal. *E. faecalis* mampu membentuk biofilm yang membantu melawan kerusakan dan menjadi 1000 kali lebih tahan terhadap fagositosis, antibodi, dan antimikroba daripada organisme yang memproduksi nonbiofilm (Vineet dan Moksha,2016).

Kemampuan *E. faecalis* untuk berkoloni dan menginfeksi tubulus dentin dikarenakan memiliki ukuran diameter bakteri ini kecil dan mampu berikatan dengan kolagen. Hal lain yang mempengaruhi kegagalan perawatan saluran akar yaitu potensial resistensi yang dimiliki bakteri ini terhadap kalsium hidroksida. *E. faecalis* mampu menahan pH tinggi kalsium hidroksida yang merupakan bahan yang sering dipakai pada saluran akar. *E. faecalis* tidak dapat bertahan hidup pada pH 11,5 atau lebih akan tetapi adanya buffer pada dentin menyebabkan pH tinggi kalsium hidroksida tidak mencapai tubulus dentin. Selain itu *E. faecalis* memiliki respon adaptif dalam pH alkali dan sintesis protein yang diinduksi stres dengan cara mengasamkan sitoplasma. Mekanismenya melalui bom proton, yang terdiri atas respons bakteri terhadap penetrasi ion hidroksil ke dalam sitoplasma bakteri sehingga meningkatkan pH intraseluler. Pada reaksi ini, bom proton diaktifkan dan melakukan pengiriman ion kalium (bermuatan positif) ke sitoplasma bakteri untuk mencapai pengasaman dan mencegah penghambatan enzimatik (Niklitschek dan Gonzalo, 2015).

2.4 Intrakanal medikamen

Prinsip perawatan untuk mencapai hasil yang menguntungkan dalam perawatan infeksi endodontik membutuhkan pengenalan terhadap faktor penyebab dan menghilangkan faktor etiologi. Prosedur perawatan endodontik terdapat tiga tahapan yaitu preparasi biomekanik, desinfeksi dan pengisian saluran akar. Preparasi biomekanik tidak dapat menjangkau bakteri yang berada pada tubulus dentin. Sehingga saat proses desinfeksi diperlukan pengaplikasian medikamen untuk mengeradiksi mikroorganisme. Intrakanal medikamen merupakan medikamen yang efektif diaplikasikan untuk menginaktivasi inflamasi akibat bakteri diantara kunjungan perawatan (Pal, 2019).

Intrakanal medikamen adalah agen antiseptik kimia yang diaplikasikan pada dinding sel untuk mengeliminasi mikroorganisme yang masih tersisa setelah pembersihan dan irigasi saluran akar. Intrakanal medikamen digunakan sebagai bantuan untuk meningkatkan prediktabilitas dan prognosis terapi endodontik. Intrakanal medikamen berfungsi untuk mencegah kolonisasi kembali bakteri pada

saluran akar, disinfeksi saluran akar dan menekan rasa sakit post operasi dengan mencegah inflamasi serta memfasilitasi penyembuhan periapikal. Penggunaan intrakanal medikamen biasanya pada kondisi endodontik yang membutuhkan perawatan beberapa kali kunjungan (Kohli,2010; Rajendran dan Prasanna, 2013).

Beberapa sifat ideal bahan intrakanal medikamen yaitu sebagai berikut

- a. Bersifat fungisid dan germisid
 - b. Tidak mengiritasi
 - c. Bekerja dalam bentuk larutan
 - d. Memiliki efek antibakteri yang panjang
 - e. Dapat diaplikasikan dengan mudah pada saluran akar
 - f. Dapat penetrasi ke jaringan yang dalam
 - g. Dapat bereaksi dengan darah, serum dan derivat protein jaringan
 - h. Mencegah kebocoran mikro pada mahkota dan tidak berdifusi ke restorasi sementara
 - i Aman untuk jaringan periapikal
- (Pal, 2019).

Berikut beberapa tipe bahan intrakanal medikamen :

a. Senyawa fenolic

Fenol merupakan antimikrobal poten yang dapat menghancurkan jaringan sel dengan mengikat proteun dan lipid membran sel. Contoh intrakanal medikamen dari bahan ini adalah aqueous parachlorophenol, camphorated parachlorophenol, cresatin dan creosote. Aqueous parachlorophenol mengandung 1%-2% parachlorophenol. Camphorated parachlorophenol mengandung 35% parachlorophenol. Camphorated monochlorophenol paling sering digunakan sebagai intrakanal mediakmen akan tetapi penggunaannya dimasa sekarang berkurang. Bahan cresatin dan creosote merupakan bahan yang memiliki toksisitas tinggi (Kohli,2010).

b. Minyak esensial

Salah satu minyak esensial yang kandungannya dapat digunakan sebagai intrakanal medikamen salah satunya adalah eugenol. Eugenol merupakan minyak

esensial yang berasal dari cengkeh. Eugenol memiliki sifat anestesi serta sifat antiseptik (Pal, 2019).

c. Aldehid

Formaldehid, paraformaldehid dan glutaraldehid adalah bahan aldehid yang biasa digunakan pada intrakanal medikamen saluran akar. Bahan ini merupakan salah satu bahan poten disinfeksi dan sebagai agen denaturasi protein yang terlarut air. Contoh intrakanal medikamen dari bahan ini adalah formocresol. Formocresol mengandung 19% aldehid dan 35% cresol yang terlarut dalam 46% gliserin dan air. Bahan ini bersifat sitotoksik, mutagenik dan karsinogenik (Kohli,2010).

d. Halogen

Salah satu contoh intrakanal medikamen dari bahan ini adalah klorin. Aksi bahan disinfeksi beterkaitan dengan berat atom dan aksinya berbanding terbalik. Natrium hipoklorit dan kloramin adalah sumber klor aktif yang digunakan untuk *dressing* saluran akar jangka pendek (Pal, 2019).

e. Senyawa Quaternary ammonium

Bahan ini adalah senyawa deterjen dapat digunakan untuk irigasi saluran akar tanpa radang jaringan periapikal. Senyawa Quaternary ammonium lebih efektif dalam alkali daripada media asam. Senyawa ini bersifat stabil tidak berwarna dan tidak berbau dengan tegangan permukaan yang lebih rendah dalam larutan. Bahan ini merupakan jenis antiseptik ringan, contoh bahan ini yaitu biosida. Biosida terdiri dari berbagai agen kimia yang dapat menon-aktifkan berbagai mikroorganisme. Biosida merupakan bahan yang aman dan banyak diaplikasikan (Kohli,2010; Pal,2019).

f. Kalsium Hidroksida

Kalsium hidroksida merupakan intrakanal medikamen yang bersifat alkali tinggi dan pH yang tinggi. Bahan ini bersifat antimikroba terhadap bakteri Gram positif dan negatif. Kalsium hidroksida memiliki efek antibakteri paling baik pada kisaran pH 10-13. Kalsium hidroksida dapat digunakan pada pencegahan resorpsi akar, apeksifikasi dan apeksogenesis. Kekurangan dari kalsium hidroksida yaitu sulit dibersihkan dari saluran akar (Kohli,2010).

g. Antibiotik

Antibiotik dapat digunakan sebagai bahan tambahan secara lokal pada perawatan endodontik. Antibiotik pertama yang digunakan untuk perawatan endodontik yaitu PBSC (Penicillin, Bacitracin, Streptomycin, Caprylate). PBSC mengandung penisilin untuk Gram positif, basitrasin untuk mikroorganisme resisten penisilin, streptomisin untuk Gram negatif dan caprylate sodium untuk jamur. Akan tetapi obat ini sudah tidak dipergunakan karena tidak efektif dalam melawan mikroorganisme anaerob. Antibiotik sekarang yang paling sering digunakan sebagai bahan intrakanal medikamen adalah pasta ledermix dan septomixine forte. Keduanya juga mengandung bahan kortikosteroid yang berfungsi sebagai anti inflamasi (Murvindran *et al*,2014).

Pasta Ledermix mengandung kombinasi antibiotik tetrasiklin, demeclocycline HCl (3,2%), kortikosteroid, triamcinolone acetonide (1%) dalam basis polietilen glikol. Ledermix efektif untuk medikamen resorpsi akar inflamasi pada gigi yang mengalami trauma. Selain itu, medikamen antibiotik lain yang umum digunakan adalah kombinasi dari tiga antibiotik yang disebut sebagai *triple antibiotic paste* (TAP). Medikamen ini mengandung metronidazole, siprofloksasin, dan minosiklin. Kombinasi ini tersedia secara komersial sebagai 3 MIX MP. Metronidazole adalah senyawa nitroimidazole yang bersifat beracun bagi mikroba anaerob. Minosiklin yang merupakan sintesis derivat tetrasiklin bersifat bakterostatik, menghambat sintesis protein dengan mengikat ribosom 30S pada organisme yang rentan. Siprofloksasin adalah floroquinolon sintetis dengan aksi bakterisida cepat (Murvindran,2014).

2.4.1 Pasta Triple Antibiotik

Triple antibiotic paste (TAP) adalah pasta kombinasi antibiotik siprofloksasin, metronidazol, dan minosiklin. Pasta *triple* antibiotik pertama kali dikembangkan oleh Hoshino dkk dan biasa disebut dengan 3 MIX MP. 3 MIX MP merupakan kombinasi siprofloksasin, metronidazol, dan minosiklin (3 MIX) dengan *vehicle carrier* berupa makrogol dan propilen glikol (MP). 3 MIX MP dikenalkan pada 1988 oleh *Cariology Research Unit* Universitas Nigata di Jepang

menggunakan metode LSTR (*Lesion Sterilization and Tissue Repair*). Metode LSTR mengeliminasi bakteri pada dentin atau lesi pulpa melalui aplikasi lokal antibiotik dengan instrumentasi minimal yang penetrasi obatnya melalui dentin saluran akar (Sultana *et al*,2019). Metode LSTR kontradiksi dengan perawatan konvensional saluran akar sehingga aplikasi pasta triple antibiotik akhir-akhir ini juga dimodifikasi dengan menggunakan prosedur perawatan konvensional. Pasta *triple* antibiotik digunakan dengan perbandingan campuran siprofloksasin, metronidazol, dan minosiklin 1:1:1. Beberapa kegunaan pasta *triple* antibiotik pada perawatan endodontik sebagai berikut

- a. Protokol regenerasi dan revaskularisasi pulpa
 - b. Sebagai intrakanal medikamen perawatan:
 1. Lesi periapikal
 2. Inflamasi resorpsi akar eksternal
 3. Fraktur akar
 4. Gigi sulung
 - c. Sebagai agen intrakanal yang mengontrol kekambuhan
 - d. Sebagai medikamen sealer
 - e. Sebagai tambahan bahan pada gutta percha pada saat obturasi
 - f. Sebagai intrakanal medikamen pada scaffold
- (Parhizkar,2018).

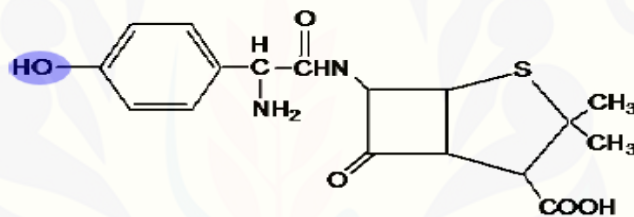
Berdasarkan laporan kasus Pai *et al* (2014) penggunaan pasta *triple* antibiotik 100 mg efektif digunakan sebagai intrakanal medikamen tanpa menimbulkan keluhan pada kasus perawatan saluran akar dengan riwayat pasien menderita diabetes. Selain itu penggunaan pasta *triple* antibiotik sebagai intrakanal medikamen menurut laporan kasus Taneja *et al* (2010) pada kasus perawatan saluran akar dengan lesi periradikuler juga menunjukkan hasil efektif tanpa keluhan dan penyembuhan lesi periradikuler.

Penggunaan pasta *triple* antibiotik meskipun efektif namun harus diperhatikan karena menimbulkan diskolorasi pada gigi akibat adanya antibiotik minosiklin. Pembersihan pasta *triple* antibiotik pada saluran akar juga perlu diperhatikan dalam pemilihan bahan irigasi. Pasta *triple* antibiotik dapat

dibersihkan dengan efektif apabila menggunakan sodium hypochlorit, klorheksidin dan photon induced photo acoustic streaming (PIPS) (Parhizkar,2018).

2.5 Amoksisilin

Amoksisilin merupakan obat semi-sintetis yang stabil terhadap asam. Amoksisilin termasuk golongan antibiotik penisilin (antibiotik β laktam). Obat ini memiliki rumus kimia yaitu $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ (substansi anhidrat), strukturnya dapat dilihat pada gambar 2.3. Berat molekul amoksisilin sebesar 365,40 g/mol dan memiliki titik lebur $194^{\circ}C$. Amoksisilin berbentuk serbuk berwarna putih, hampir putih atau sedikit merah muda atau berbentuk kristal padat (Thambavita dkk,2017).



Gambar 2.3 Struktur kimia amoksisilin (Thambavita dkk,2017)

2.5.1 Mekanisme Aksi Amoksisilin

Amoksisilin merupakan agen bakterisidal yang melawan mikroorganisme yang rentan terhadap penghambatan biosintesis dinding sel mukopeptida selama multiplikasi bakteri. Cara kerja antibiotik ini dengan mengikat *penisilin binding protein* 1A (PBP-1A) yang terletak di dalam sel bakteri. Penisilin (amoksisilin) menyebabkan inaktivasi enzim, mencegah pembentukan ikatan silang dua rantai peptidoglikan linier, menghambat tahap ketiga dan terakhir dari sintesis dinding sel bakteri yang diperlukan dalam proses pembelahan sel, bentuk sel dan proses penting lainnya. Kemampuan penisilin (amoksisilin) untuk membunuh bakteri melibatkan mekanisme litik dan non-litik. Sel lisis dimediasi oleh enzim autolitik dinding sel bakteri seperti autolysin. Hal ini memungkinkan bahwa amoksisilin mengganggu inhibitor autolysin. Sintesis dinding sel yang tidak sempurna menyebabkan sel bakteri menyerap air melalui osmosis. Bakteri Gram

positif dan Gram negatif mempunyai masing-masing tekanan osmotik intraseluler sebesar 10-30 dan 3 kali dari lingkungan eksternal. Amoksisilin lebih efektif melawan Gram positif daripada mikroorganisme Gram negatif (Rao *et al*, 2011).

Amoksisilin trihidrat juga tersedia dengan kombinasi klavunalat atau biasa disebut amoxiclav. Potasium klavunalat (garam kalium yang berasal dari asam klavunalat) adalah inhibitor β laktamase yang digunakan untuk mencegah inaktivasi oleh enzim bakteri. Inhibitor β laktamase secara irreversible berikatan dengan β laktamase. Inhibitor β laktamase bekerja dengan memperluas spektrum aktivitas obat tetapi tidak meningkatkan aktivitas intrinsik antibiotik. Enzim β laktamase yang diikat oleh inhibitor memungkinkan obat membunuh bakteri (Marek, 2019).

2.5.2 Farmakokinetik

Amoksisilin diserap dengan baik pada berbagai daerah usus dan saluran pencernaan. Pada penggunaan klinis luas, amoksisilin memiliki bioavailabilitas sekitar 70-90% dengan puncak kadar plasma terjadi dalam 1 hingga 2 jam tergantung pada dosis, umumnya 1,5-3 kali lebih besar daripada ampisilin pada dosis oral yang setara. Volume distribusi amoksisilin sekitar 0,26 - 0,31 L / kg dan didistribusikan secara luas ke banyak jaringan termasuk hati, paru-paru, prostat, otot, empedu, asites, cairan pleura dan sinovial serta cairan okular. Selain itu distribusi amoksisilin juga terakumulasi dalam cairan ketuban dan melintasi plasenta akan tetapi kemampuan amoksisilin menembus ke sistem saraf pusat buruk kecuali terdapat peradangan (10-60% ditemukan dalam serum) (Rao *et al*,2011).

Tingkat distribusi amoksisilin yang rendah ditemukan pada aqueous humor, air mata, keringat dan air liur. Ini sekitar 17-20% terikat dengan protein plasma manusia, terutama albumin. Ekskresi amoksisilin sebagian besar melalui ginjal dan lebih dari 80% diantaranya sekitar 50-70% tidak berubah dari dosis yang diberikan serta ditemukan kembali dalam urin. Amoksisilin juga disekresikan melalui air susu. Sekitar 10-25% amoksisilin dimetabolisme

menjadi asam penicilloic. Amoksisilin memiliki terminal paruh waktu eliminasi obat ($t_{1/2}$) yaitu 1 sampai 1,5 jam (Rao *et al*, 2011).

2.5.3 Efek Samping

Antibiotik amoksisilin dapat menimbulkan beberapa efek samping pada penggunaannya. Amoksisilin dapat menimbulkan reaksi pada kulit sekitar 82% pada penggunaan amoksisilin tunggal dan 76 % pada penggunaan kombinasi amoksisilin. Reaksi kulit tersebut berupa reaksi alergi tipe satu seperti pruritis, urtikaria dan purpura. Selain itu pada penggunaan obat ini juga dapat menimbulkan eritema multiformis. Pengaruh yang ditimbulkan amoksisilin pada saluran pencernaan dapat berupa mual, muntah diare. Sakit kepala dan pusing akibat pengaruh dari amoksisilin pada sistem saraf juga dapat ditemui akan tetapi jarang terjadi. Amoksisilin juga dapat memicu anafilaksis syok tetapi hal ini jarang terjadi. Penggunaan amoksisilin kombinasi berhubungan dengan resiko tinggi sindrom steven johnson, purpura dan hepatitis dibandingkan dengan penggunaan amoksisilin tunggal (Rao *et al*, 2011).

2.5.4 Sediaan dan Posologi

Amoksisilin tersedia dalam bentuk sediaan tablet 200–875 mg, tablet kunyah 125-500 mg, tablet dispersible 750 mg dan kapsul 250–500 mg. Selain itu amoksisilin juga tersedia bentuk suspensi oral dan bubuk kering untuk suspensi oral/tetes 50mg/ml - 400mg/ml (Rao *et al*, 2011). Pada penggunaan sediaan oral dosis 250 mg tiap 8 jam sedangkan pada anak sampai dengan 10 tahun dosis 125-250 mg tiap 8 jam. Penggunaan dosis amoksisilin untuk beberapa penyakit antara lain otitis media 1g setiap 8 jam, pneumonia 0,5-1 g setiap 8 jam dan antrax 500 mg tiap 8 jam serta infeksi saluran kemih 3 g diulangi setelah 10-12 jam. Penggunaan amoksisilin pada terapi oral jangka pendek seperti abses gigi dengan dosis 3 g diulangi setelah 8 jam (BPOM, 2015). Sediaan amoksisilin injeksi & bubuk kering untuk injeksi 250mg-1000mg pada penggunaan injeksi intramuskular dan intravena atau infus (Rao *et al*,

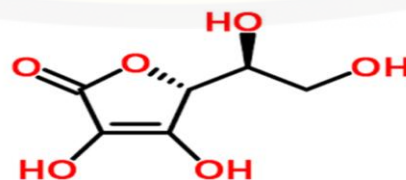
2011). Dosis pada injeksi intramuskular 500 mg tiap 8 jam dan untuk anak 50-100 mg/kg bb sehari dalam dosis terbagi (BPOM, 2015).

2.5.5 Penggunaan Klinik

Antibiotik ini efektif terhadap berbagai infeksi yang disebabkan oleh bakteri Gram-positif dan Gram-negatif pada manusia dan hewan. Amoksisilin digunakan dalam pengobatan dan pencegahan berbagai infeksi diantaranya yaitu infeksi saluran pernapasan atas dan bawah, infeksi rongga mulut, infeksi kulit dan jaringan serta infeksi saluran urogenital. Selain itu antibiotik ini juga digunakan pada indikasi penyakit otitis media, anthrax, infeksi bakteri *Helicobacter pylori* dan profilaksis endokarditis. Studi mikrobiologi menunjukkan bahwa antibiotik ini aktif melawan *Escherichia coli*, *Bifidobacterium*, *Clostridium*, *Bacteroides*, *Lactobacillus*, *Fusobacterium*, *Eubacterium* dan *Peptostreptococcus* (Thambavita *et al*, 2017).

2.6 Vitamin C

Vitamin C atau asam askorbat adalah antioksidan penting yang dibutuhkan oleh tubuh manusia. Rumus kimia asam askorbat adalah (R)-5-((S)-1,2-dihydroxyethyl)3,4-dihydroxyfuran 2 (5H)-satu, struktur kimia vitamin C ditunjukkan pada gambar 2.4. Vitamin C memiliki berat jenis 176,12 g mol⁻¹, titik lebur 190-192° C dan kelarutan dalam air sekitar 33 g/100 mL. Vitamin C sangat penting dalam reaksi biokimia sebagai agen pereduksi. Vitamin C adalah L-enansiomer asam askorbat yang banyak disintesis oleh kebanyakan hewan kecuali manusia dan primata lainnya. Vitamin C juga diperoleh dari sayur dan buah seperti lemon, jeruk, tomat dan brokoli (Isam *et al*, 2017).



Gambar 2.4 Struktur kimia vitamin C (Isam dkk, 2017).

2.6.1 Farmakokinetik

Distribusi vitamin C pada jaringan tubuh manusia menggunakan transporter spesifik yang disebut Sodium dependen Vitamin C Transporter (SVCT) 1 dan 2. SVCT1 diekspresikan oleh epitel usus, tubulus kontortus proksimal dan descendent lengkung Henle di ginjal serta liver. SVCT2 diekspresikan pada sebagian besar jaringan tubuh, seperti Glucose Transporters (GLUTs). Absorpsi vitamin C melalui saturable mucosal sodium-dependent vitamin C transporter 1 (SCVC1) dengan kadar maksimum vitamin C pada plasma setelah konsumsi 220mmol /l. Vitamin C diabsorpsi dari usus kecil pada saat mencapai konsentrasi puncak plasma vitamin C sekitar 120-180 menit setelah konsumsi. Setelah absorpsi vitamin C didistribusikan ke seluruh ruang ekstraseluler melalui SVCT2. Konsentrasi vitamin C jaringan tergantung pada konsentrasi vitamin C plasma dan cairan ekstraseluler, yang ditentukan pada asupan vitamin C (Padayatty,2016; Man *et al*,2018).

Konsentrasi sekresi asam askorbat jauh lebih tinggi di jaringan daripada di plasma. Konsentrasi vitamin C plasma berkisar 16 μ M-89 μ M. Vitamin C juga disekresikan ke dalam cairan lambung, cairan serebrospinal dan aqueous humor, sekresi tersebut memiliki konsentrasi lebih tinggi daripada yang ada di plasma. Sekresi vitamin C juga ditemukan pada kelenjar saliva akan tetapi dalam konsentrasi rendah. Peningkatan konsentrasi vitamin C pada saliva terjadi setelah beberapa jam pada konsumsi vitamin C. Selain itu kelenjar adrenal juga mensekresi vitamin C sebagai respons terhadap ACTH. Sekresi vitamin C dari kelenjar adrenal berlangsung cepat hanya dalam beberapa menit. Setelah diabsorpsi vitamin C akan diekresikan oleh tubuh. Ekskresi vitamin C dari urin dimulai dari kadar plasma sekitar 55 mmol /l (Padayatty,2016; Man *et al*,2018).

2.6.2 Efek Samping

Efek samping dari dosis farmakologis intravena vitamin C adalah nefropati oksalat, aktivitas pro-oksidatif dan hiperglikemia. Penggunaan vitamin C dosis tinggi jangka waktu lama juga dapat meningkatkan risiko nefropati oksalat. Konsentrasi vitamin C yang tinggi juga mempengaruhi pengukuran glukosa

darah. Penggunaan vitamin C dapat menyebabkan efek pro-oksidatif. Hal ini terjadi ketika vitamin C menyumbangkan satu elektron ke reactive oxygen scavenger (ROS), vitamin C dikonversi menjadi radikal askorbat dan menggantikan radikal yang jauh lebih kuat dan tidak stabil. Selain itu, vitamin C mengurangi status ion dari logam seperti tembaga dan besi serta vitamin C melalui reaksi Fenton menyebabkan produksi superoksida dan hidrogen peroksida (Man *et al*, 2018).

2.6.3 Sediaan

Sediaan vitamin C untuk injeksi intravena tersedia dalam dosis 500 mg/1mL. Bentuk sediaan larutan vitamin C untuk injeksi intravena, muskular, subkutan tersedia dosis 500 mg. Vitamin C dalam bentuk tablet tersedia dalam dosis 5,7 mg, 125 mg, 250 mg, 300 mg dan 500 mg. Penggunaan oral vitamin C dalam bentuk sediaan tablet juga tersedia dalam dosis lain yaitu 100 mg dan 1000 mg. Vitamin C dalam bentuk bubuk tersedia dosis sebesar 5 g. Bentuk sediaan larutan untuk penggunaan topikal terdapat dosis 39 g/100 g dan 39 g/70 g. Vitamin C juga tersedia dalam bentuk multivitamin dan kombinasi dengan bahan lainnya dengan berbagai macam dosis (Drugbank,2019).

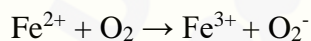
2.6.4 Sifat

Vitamin C memiliki fungsi sebagai antioksidan biologis, peredam stres oksidatif, faktor dalam fungsi kekebalan tubuh dan aktivasi enzim. Pada biosintesis kolagen, katekolamin dan hormon peptida, vitamin C berperan sebagai kofaktor. Vitamin C terdapat dalam dua bentuk utama yaitu bentuk tereduksi sebagai asam askorbat dan bentuk teroksidasi sebagai asam dehidroaskorbat. Vitamin C dalam bentuk asam dehidroaskorbat dapat dipertukarkan oleh reduktase asam dehidroaskorbat, glutaredoksin atau thiol lainnya yang bertindak sebagai donor elektron. Bentuk tereduksi sebagai asam askorbat berperan sebagai *scavenger* dan bermanfaat untuk menghilangkan radikal bebas di bawah pembentukan asam semidehydroascorbic, yang merupakan radikal non-reaktif. Namun dalam bentuk asam dehidroaskorbat,

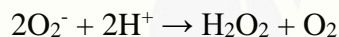
vitamin C mengalami hidrolisis dan dehidrasi secara spontan (Hussain *et al*, 2018).

Vitamin C berfungsi sebagai anti-oksidan dan pro-oksidan. Kemampuan vitamin C sebagai pro-oksidan yaitu dengan mengurangi ion ferric menjadi ion ferrous. Produksi ion ferrous mengarah pada pembentukan ROS (superoksida, hidrogen peroksida, dan radikal hidroksil) melalui reaksi Harber-Weiss dan Fenton. Mekanisme umum pembunuhan oleh obat bakterisidal pada bakteri Gram positif dan Gram negatif, melibatkan pembentukan radikal hidroksil melalui reaksi Fenton. Radikal hidroksil dapat menyebabkan kematian sel melalui kerusakan DNA (Vilcheze *et al*, 2013). Radikal hidroksil diperoleh dari kombinasi siklus Haber-Weiss dan reaksi Fenton sebagai berikut

(1) Ion ferrous bereaksi dengan oksigen menghasilkan superoksida



(2) Dismutase superoksida menjadi hidrogen peroksida



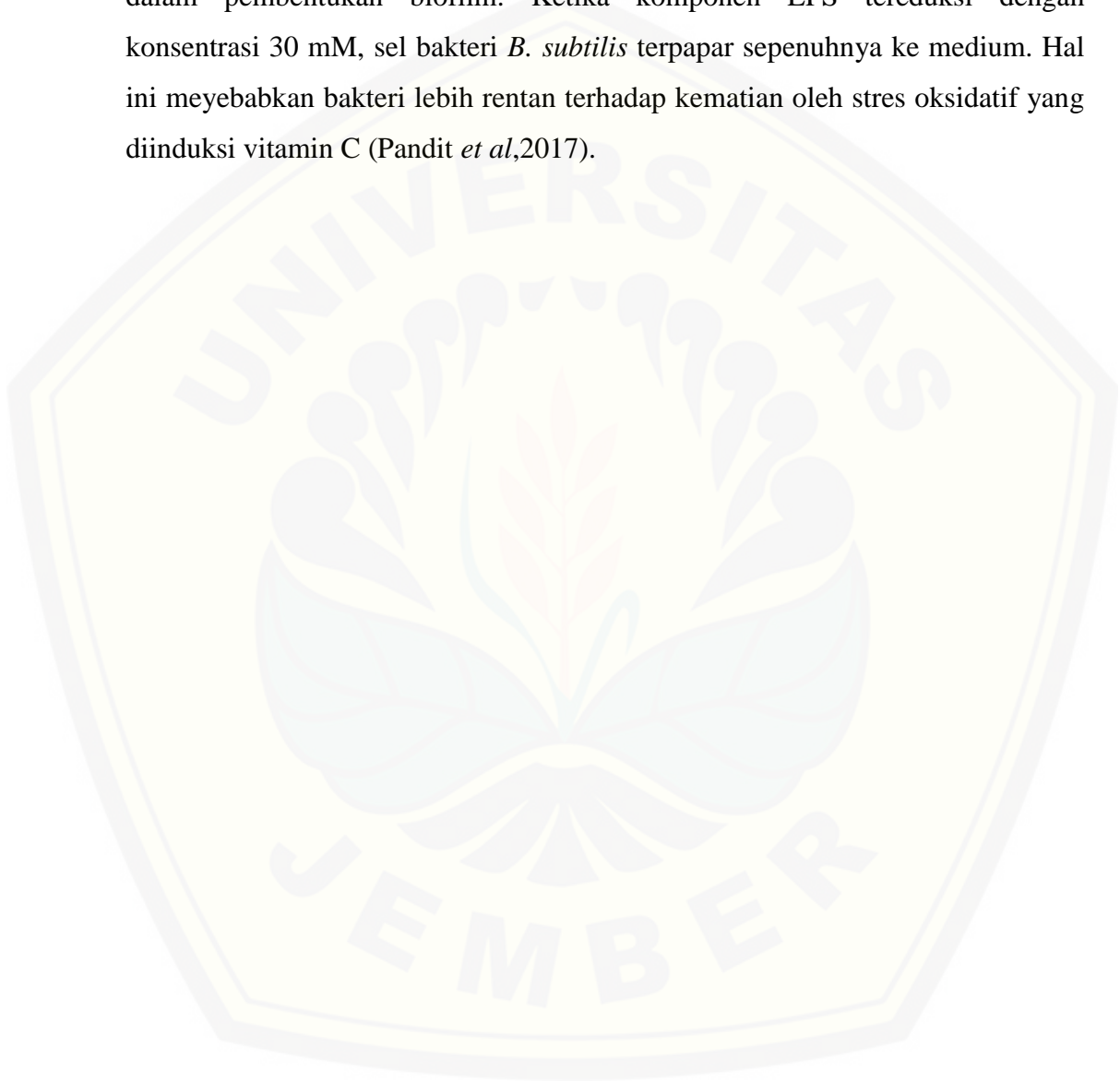
(3). Hidrogen peroksida bereaksi dengan ion besi membentuk radikal hidroksil



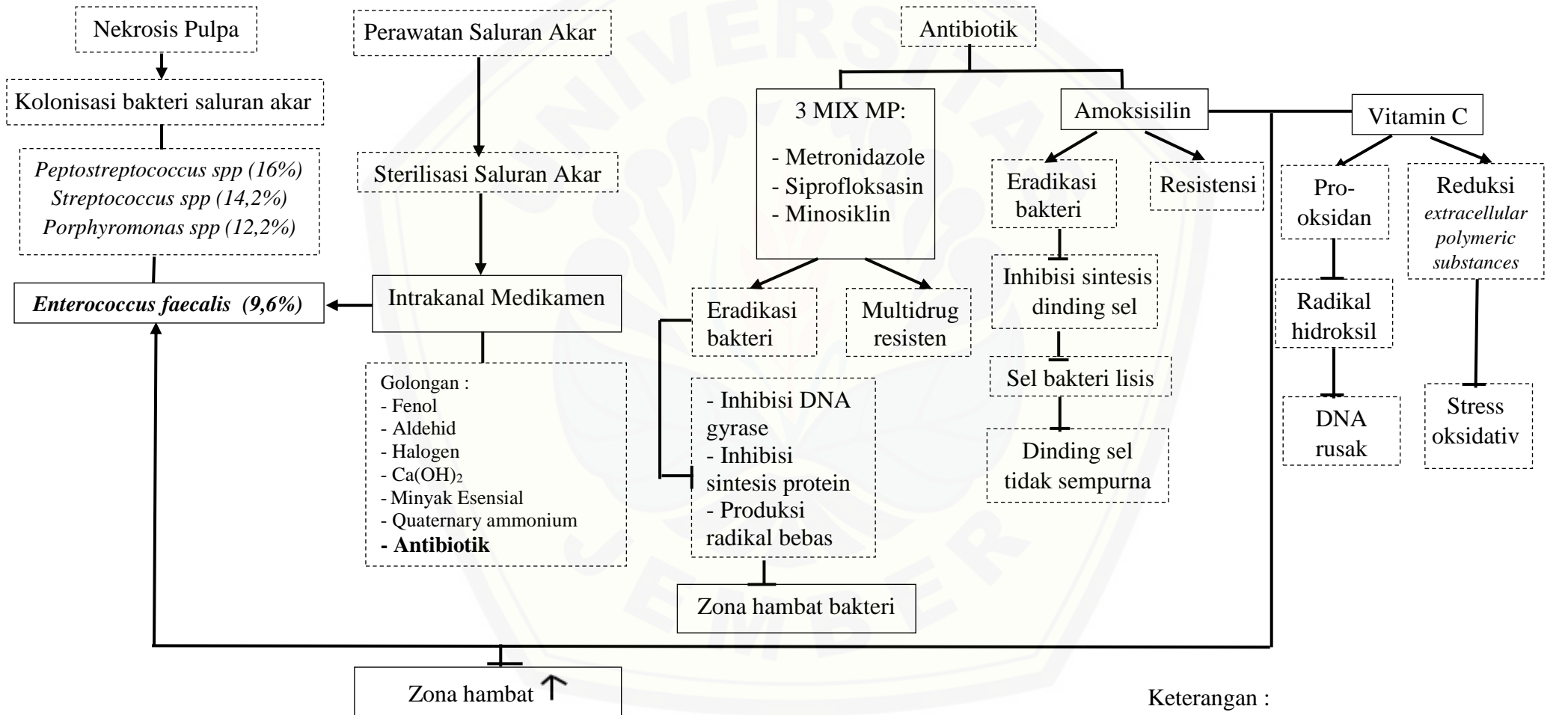
Selain bersifat sebagai antioksidan dan pro-oksidan, vitamin C pada konsentrasi tertentu juga dapat mereduksi *extracellular polymeric substances* (EPS). Bakteri memproduksi EPS membentuk sebuah matriks yang mendukung bentuk kompleks tiga dimensi *biofilm*. Komponen utama EPS yaitu polisakarida, protein dan DNA ekstraseluler. Komponen polisakarida dan protein dari matriks *biofilm* membentuk lapisan hidrofobik. Lapisan hidrofobik ini dapat menunda penetrasi agen antimikroba dan menyebabkan resistensi *biofilm* (Pandit *et al*, 2017).

Pada sebuah studi lain menggunakan bakteri *Bacillus subtilis* (*B.subtilis*) menunjukkan vitamin C dapat menyebabkan stress oksidatif. Vitamin C menyebabkan respon regulator ComA pada protein quorum sensing berkurang. ComA mempengaruhi transkripsi lebih dari 10% dari genom *B. subtilis* untuk pembentukan *biofilm*. Selain itu vitamin C juga menyebabkan ekspresi berlebih

dari RapC yang merupakan regulator negatif aktivitas ComA. Vitamin C menyebabkan penurunan jumlah *ComA-RapC-dependent protein* yang penting bagi pembentukan biofilm, seperti Spo0A, SlrR, YmdB, KinC, FloT, dan SpeA. Inaktivasi Spo0A, faktor transkripsi sporulasi awal utama, menyebabkan defek dalam pembentukan biofilm. Ketika komponen EPS tereduksi dengan konsentrasi 30 mM, sel bakteri *B. subtilis* terpapar sepenuhnya ke medium. Hal ini menyebabkan bakteri lebih rentan terhadap kematian oleh stres oksidatif yang diinduksi vitamin C (Pandit *et al*,2017).



2.7 Kerangka Konsep



Keterangan :
 [Solid Box] : variabel yang diteliti
 [Dashed Box] : variabel yang tidak diteliti
 — | — : menyebabkan
 —> : mekanisme

Gambar 2.5 Kerangka Konseptual

2.8 Penjelasan Kerangka Konsep

Nekrosis pulpa yaitu keadaan dimana gigi sudah menjadi tidak vital. Kondisi gigi dimana sudah tidak vital yang disebabkan karies, maka saluran akan menjadi tempat kolonisasi bakteri. Kolonisasi bakteri pada saluran akar terdiri dari berbagai macam bakteri. Menurut studi Gajan spesies yang paling banyak ditemukan pada kasus nekrosis pulpa yaitu *Peptostreptococcus spp* (16%) diikuti oleh *Streptococcus spp* (14,2%), *Porphyromonas spp* (12,2%) dan *Enterococcus faecalis* (9,6%). *E. faecalis* merupakan salah satu bakteri Gram positif anaerob fakultatif yang sering dijumpai pada kasus nekrosis pulpa. Gigi dalam keadaan nekrosis pulpa maka memerlukan perawatan saluran akar. Salah satu tujuan perawatan saluran akar untuk mengeliminasi mikroorganisme dan produknya di saluran akar (sterilisasi). Bahan sterilisasi saluran akar, salah satu nya dapat berupa bahan intrakanal medikamen. Bahan intrakanal medikamen terdapat beberapa jenis, salah satunya yaitu golongan antibiotik.

Salah satu golongan antibiotik yang dapat digunakan sebagai intrakanal medikamen yaitu 3 MIX MP. 3 MIX MP terdiri dari siprofloksasin, minosiklin dan metronidazole. Ketiga antibiotik tersebut bekerja dengan menghambat sintesis protein dan mengganggu enzim DNA girase serta memproduksi radikal bebas yang toksik dalam melawan bakteri. Penggunaan ketiga antibiotik secara berlebihan dapat menimbulkan resistensi pada lebih dari satu antibiotik.

Alternatif penggunaan antibiotik lainnya yaitu penggunaan antibiotik tunggal dengan spektrum luas. Amoksisilin merupakan golongan antibiotik spektrum luas sebagai agen antimikroba terhadap Gram positif dan negatif. Amoksisilin sebagai antibiotik memiliki mekanisme dalam mengeradikasi bakteri (pembasmian secara tuntas) Amoksisilin bekerja dengan menghambat sintesis dinding sel bakteri. Sintesis dinding sel bakteri yang terhambat menyebabkan bakteri gagal dalam proses pembelahan sel. Sel terus berkembang tanpa berkembangnya dinding sel sehingga menyebabkan sel bakteri menjadi lisis. Akan tetapi dibalik kelebihan antibiotik yang ampuh dalam mengeliminasi bakteri, terdapat kelemahan antibiotik yaitu berupa resistensi. Resistensi disebabkan oleh berbagai faktor dari host dan mikroorganisme. Resistensi menyebabkan

penurunan kerja dari antibiotik. Oleh karena itu dibutuhkan bahan tambahan dalam antibiotik untuk meningkatkan performa dalam mengeliminasi mikroorganisme.

Salah satu bahan yang digunakan untuk tujuan tersebut adalah vitamin C. Vitamin C memiliki sifat pro-oksidan pada in vitro. Pro-oksidan (pro-oksidasi) menyebabkan vitamin C sebagai agen pereduksi yang menimbulkan proses oksidasi pembentukan radikal hidroksil. Radikal hidroksil ini dapat merusak DNA sel bakteri. Selain itu vitamin C berperan dalam inhibisi pembentukan biofilm bakteri. Apabila pembentukan biofilm terganggu maka menyebabkan bakteri rentan terpapar pada lingkungan sekitar sehingga menyebabkan stress oksidatif dan menimbulkan kematian sel. Sifat yang dimiliki vitamin C ini dapat dipadukan dengan mekanisme kerja amoksisilin dalam membunuh bakteri. Aktivitas antibakteri amoksisilin berkerja dengan mempengaruhi sintesis dinding sel bakteri. Sehingga kombinasi amoksisilin dengan vitamin C kedua digunakan meningkatkan eliminasi bakteri.

2.9 Hipotesis

Kombinasi vitamin C dan amoksisilin sebagai bahan alternatif intrakanal medikamen memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *E. faecalis* lebih besar dibandingkan aktivitas antibakteri kelompok 3 MIX MP, amoksisilin dan vitamin C.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental. Rancangan penelitian menggunakan *post test only control group design*, yaitu pengujian dilakukan setelah diberikan perlakuan (Yusuf,2014).

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

3.2.1 Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Februari 2020.

3.2.2 Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember untuk persiapan suspensi bakteri, media, pembuatan pasta serta uji daya hambat amoksisilin, vitamin C, 3MIX MP dan kombinasi amoksisilin dan vitamin C terhadap *E. faecalis*.

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dari penelitian ini adalah pasta 3MIX MP 100 mg, pasta amoksisilin 100 mg, pasta vitamin C 100 mg, kombinasi pasta amoksisilin 100 mg dan pasta vitamin C 100 mg.

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dari penelitian ini adalah zona hambat *E. faecalis*

3.3.3 Variabel Terkendali

Variabel terkendali dari penelitian ini adalah media biakan bakteri, suspensi *E. faecalis*, suhu inkubasi, lama perlakuan, alat ukur (jangka sorong).

3.4 Definisi Operasional

3.4.1 Zona hambat

Zona hambat menunjukkan aktivitas antibakteri suatu bahan untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri. Zona hambat pada penelitian ini dilihat dari zona transparan berupa lingkaran atau oval yang berada di sekeliling lubang sumuran pada media agar dan diameternya diukur menggunakan jangka sorong digital dengan ketelitian 0,01 mm.

3.4.2 *Enterococcus faecalis*

Enterococcus faecalis yang digunakan merupakan stok *Enterococcus faecalis* tipe ATCC 5219 yang dibiakkan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

3.4.3 Amoksisilin

Amoksisilin yang digunakan yaitu sediaan murni amoksisilin trihidrat dalam bentuk bubuk berwarna putih yang diproduksi oleh kimia farma. Amoksisilin bubuk 100 mg dicampur dengan akuades steril 0,03 ml membentuk konsistensi pasta yang dempul.

3.4.4 Vitamin C

Vitamin yang digunakan sediaan murni dalam bentuk bubuk kristal berwarna putih yang didapat dari Fakultas Farmasi Universitas Jember. Vitamin C bubuk halus 100 mg dicampur dengan akuades steril 0,03 ml membentuk konsistensi pasta yang creamy.

3.4.5 Kombinasi Amoksisilin dan Vitamin C

Kombinasi amoksisilin dan vitamin C dibuat dengan mencampurkan 100 mg pasta amoksisilin dan 100 mg pasta vitamin C yang diaduk sampai homogen.

3.5 Sampel Penelitian

3.5.1 Pengelompokan sampel

Sampel yang akan digunakan akan dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu :

- a. Kelompok Perlakuan 1 (P1) : 3 MIX MP 100 mg
- b. Kelompok Perlakuan 2 (P2) : Amoksisilin 100 mg
- c. Kelompok Perlakuan 3 (P3) : Vitamin C 100 mg
- d. Kelompok Perlakuan 4 (P4) : Kombinasi Amoksisilin 100 mg dan vitamin C 100 mg

3.5.2 Jumlah sampel

Sampel penelitian terdiri dari empat kelompok perlakuan. Berdasarkan hasil penghitungan menggunakan rumus Daniel pada lampiran, jumlah minimal sampel pengulangan yang digunakan dari hasil perhitungan yaitu 4. Pada penelitian ini, peneliti menggunakan 4 sampel (pengulangan) untuk setiap kelompok.

3.6 Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah tabung reaksi, gelas ukur, bunsen, ose, petridish, tabung erlenmeyer, laminar flow, inkubator, jangka sorong, timbangan digital, spatula, mortar, alu, kompor, desikator, kertas perkamen putih, syringe 3ml, syringe 1 ml, bolpoin, kertas hvs.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah kultur murni *E. faecalis*, Mueller Hinton Agar (MHA), Mueller Hinton Broth (MHB), akuades steril, amoksisilin trihidrat (Kimia Farma), 3MIX MP (3MIX MP, Japan), vitamin C, alkohol 70%

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Tahap Persiapan

a. Sterilisasi alat dan bahan

Alat berupa jarum ose disterilkan menggunakan nyala api bunsen. Untuk semua alat yang terbuat dari kaca seperti petridish dan pipet, dapat disterilkan menggunakan oven dengan dibungkus dengan kertas tahan panas atau aluminium pada suhu 160°C selama 2 jam. Bahan media kultur dan solusio disterilkan menggunakan autoclav pada suhu 121 °C selama 15 menit (SGM,2016).

b. Persiapan Media MH-B

Mueller Hinton Broth digunakan untuk uji pengenceran kerentanan antimikroba terhadap semua spesies bakteri aerob dan anaerob fakultatif. Pembuatan MH-B disesuaikan dengan takaran pabrik pada kemasan, yaitu sebagai berikut

- 1) Timbang bubuk MH-B sebanyak 2,1 gram
- 2) Ukur akuades steril volume 100 ml dalam gelas ukur
- 3) Campur bubuk MH-B dengan akuades steril dan aduk menggunakan spatula didalam erlenmeyer (gambar3.1)
- 5) Panaskan hingga mendidih di atas kompor untuk melarutkan media sepenuhnya
- 6) Kemudian tabung erlenmeyer ditutup dengan kapas
- 7) Sterilkan menggunakan autoclave pada suhu 121 °C selama 15 menit.



Gambar 3.1 Larutan MHB (Koleksi pribadi,2020)

c. Pembuatan Media MH-A

Pembuatan MH-A disesuaikan dengan takaran pabrik pada kemasan, yaitu sebagai berikut

- 1) Timbang bubuk MH-A sebanyak 3,8 gram

- 2) Ukur akuades steril volume 100 ml dalam gelas ukur
- 3) Campur bubuk MH-A dengan akuades steril dan aduk menggunakan spatula didalam erlenmeyer
- 4) Panaskan hingga mendidih di atas kompor untuk melarutkan media sepenuhnya
- 5) Kemudian tabung erlenmeyer ditutup dengan kapas
- 6) Sterilkan menggunakan autoclave pada suhu 121 °C selama 15 menit.
- 7) Dinginkan larutan MH-A sampai suhu 45-50 °C sebelum dituangkan pada petridish steril (gambar 3.2)



Gambar 3.2 Larutan MHA (Koleksi pribadi,2020)

d. Pembuatan suspensi *Enterococcus faecalis*

Pembuatan suspensi sesuai dengan protokol standar dari National Committee for Clinical Laboratory Standards (Syafira,2018), yaitu sebagai berikut

- 1) Ukur MH-B sebanyak 2ml dalam gelas ukur
- 2) Siapkan tabung reaksi dan Isi dengan 2 ml MH-B
- 4) Ambil biakan bakteri *Enterococcus faecalis* sebanyak 1 jarum ose
- 5) Masukkan biakan *Enterococcus faecalis* ke dalam tabung reaksi yang berisi 2 ml MH-B untuk membuat suspensi bakteri



Gambar 3.3 Suspensi bakteri *E. faecalis* (Koleksi pribadi,2020)

- 6) Masukkan tabung reaksi ke dalam desikator kemudian inkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C.
- 7) Vibrasi menggunakan thermolyne dan ukur absorpsinya dengan alat spektrofotometer

- 8) Siapkan tabung reaksi lain dan masukkan saline sebanyak 4 ml menggunakan syringe
- 9) Ambil suspensi bakteri menggunakan syringe 3 ml
- 10) Masukkan beberapa tetes suspensi ke dalam tabung reaksi yang telah berisi saline
- 11) Sesuaikan kekeruhan suspensi hingga sesuai dengan standar McFarland 0,5 (gambar 3.3)

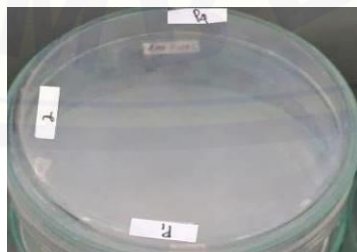


Gambar 3.4 Standar McFarland (kiri ke kanan) 0,5, 1,0, 2,0, 3,0 di depan kartu Wickerham (Hudzicki,2009).

- 12) Tambahkan larutan saline jika suspensi terlalu keruh dan tambahkan beberapa tetes suspensi bakteri jika suspensi terlalu jernih

e. Pemberian label pada bagian bawah petridish

- 1) Siapkan petridish ukuran 10 cm
- 2) Beri label pada peridish sebelum perlakuan. Buat label dari nomor 1- 6. Label nomor untuk melabeli pengulangan perlakuan pada media biakan.
- 3) Letakkan label nomor pengulangan di bagian bawah sisi tengah petridish
- 4) Buat label untuk P1 untuk sampel perlakuan 1, P2 untuk sampel perlakuan 2, P3 untuk sampel perlakuan 3, P4 untuk sampel perlakuan 4.
- 5) Letakkan label kelompok perlakuan di bagian bawah sisi samping petridish (gambar 3.5)



Gambar 3.5 Label penomoran pada petridish (Koleksi pribadi,2020)

f. Pembuatan pasta vitamin C :

- 1) Siapkan bahan bubuk vitamin C murni (gambar 3.6)



Gambar 3.6 Sediaan bubuk kristal vitamin C (Koleksi pribadi,2020)

- 2) Haluskan kembali bubuk kristal vitamin C menggunakan mortar dan alu sampai halus (gambar 3.7)



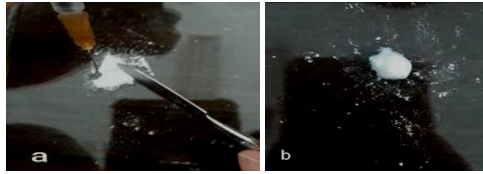
Gambar 3.7 Sediaan bubuk vitamin C yang dihaluskan (Koleksi pribadi,2020)

- 3) Timbang bubuk halus vitamin C sebanyak 100 mg menggunakan neraca dengan alas kertas perkamen (gambar 3.8)



Gambar 3.8 Menimbang bubuk halus vitamin C (Koleksi pribadi,2020)

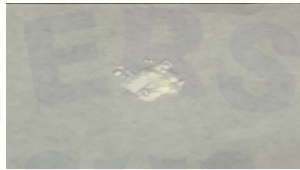
- 4) Letakkan bubuk 100 mg vitamin C diatas glass plate
- 5) Ambil akuades steril menggunakan syringe 1 ml (sebelum menggunakan syringe pastikan jarum terpasang pada spuit dengan benar dan rapat)
- 6) Ambil akuades steril sebanyak 0,03 ml dengan cara mengambil langsung 0,03 ml atau ambil per 0,01 ml sebanyak 3 kali (saat menakar volume akuades steril yang diinginkan, pastikan udara telah dikeluarkan dan tidak ada gelembung udara pada syringe)
- 7) Teteskan akuades steril yang telah diambil pada samping bubuk vitamin C kemudian masukkan bubuk secara bertahap ke akudes steril sambil diaduk dengan gerakan putar dan melipat menggunakan spatula semen sampai sampai konsistensi creamy (gambar 3.9)



Gambar 3.9 a) Pencampuran vitamin C dan akuades 3.9 b) Pasta vitamin C (Koleksi pribadi,2020)

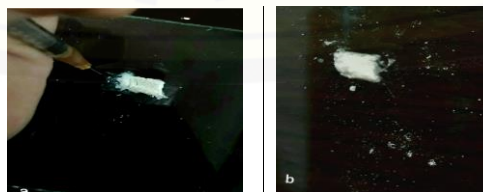
g. Pembuatan pasta amoksisilin :

- 1) Siapkan bahan bubuk amoksisilin murni (gambar 3.10)



Gambar 3.10 Sedian bubuk amoksisilin (Koleksi pribadi,2020)

- 2) Timbang bubuk amoksisilin sebanyak 100 mg menggunakan neraca dengan alas kertas perkamen
- 3) Letakkan bubuk 100 mg amoksisilin diatas glass plate
- 4) Ambil akuades steril menggunakan syringe 1 ml (sebelum menggunakan syringe pastikan jarum terpasang pada spuit dengan benar dan rapat)
- 5) Ambil akuades steril sebanyak 0,03 ml dengan cara mengambil langsung 0,03 ml atau ambil per 0,01 ml sebanyak 3 kali (saat menakar volume akuades steril yang diinginkan, pastikan udara telah dikeluarkan dan tidak ada gelembung udara pada syringe)
- 6) Teteskan akuades steril yang telah diambil pada samping bubuk amoksisilin kemudian masukkan bubuk secara bertahap ke akudes steril sambil diaduk dengan gerakan putar dan melipat menggunakan spatula semen sampai konsistensi dempul (gambar 3.11)



Gambar 3.11 a) Pencampuran amoksisilin dan akuades 3.11 b) Pasta amoksisilin (Koleksi pribadi,2020)

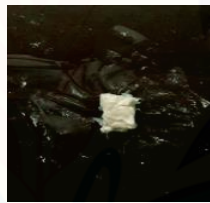
h. Pembuatan pasta kombinasi amoksisilin dan vitamin C :

- 1) Siapkan 100 mg bubuk amoksisilin dan 100 mg bubuk vitamin C
- 2) Siapkan glass plate (kaca) dan spatula semen (stainless steel)
- 3) Buat pasta vitamin C terlebih dahulu dengan langkah yang sama dengan prosedur pembuatan pasta vitamin C
- 4) Setelah pasta vitamin C jadi, buat pasta amoksisilin dengan langkah yang sama dengan prosedur pembuatan pasta amoksisilin (gambar 3.12)



Gambar 3.12 Pasta amoksisilin dan pasta vitamin C (Koleksi pribadi,2020)

- 5) Letakkan pasta amoksisilin diatas pasta vitamin C campur kedua bahan secara merata sekitar 20 kali gerakan pengadukan (gambar 3.13)



Gambar 3.13 Campuran pasta amoksisilin dan vitamin C (Koleksi pribadi,2020)

i. Pembuatan 3MIX MP

- 1) Siapkan bahan 3 MIX MP (gambar 3.14)



Gambar 3.14 Bubuk 3 MIX MP (Koleksi pribadi,2020)

- 3) Timbang bubuk 3 MIX sebanyak 100 mg
- 4) Letakkan bubuk 100 mg 3 MIX diatas glass plate
- 5) Bubuk 100 mg 3MIX dibagi menjadi 7 bagian rata menggunakan spatula semen
- 6) Ambil pasta MP satu bagian sama dengan satu bagian bubuk 3 MIX yang sudah dibagi 7 (gambar 3.15)



Gambar 3.15 Bubuk 3 MIX MP dan pasta MP 7:1 (Koleksi pribadi,2020)

- 7) Campurkan pasta MP dengan bubuk sedikit demi sedikit sampai menjadi pasta yang homogen (gambar 3.16)



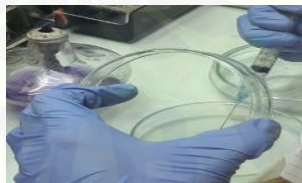
Gambar 3.15 Pasta 3 MIX MP (Koleksi pribadi,2020)

3.7.2 Tahap perlakuan

a. Tahap inokulasi pada MH-A

Tahap inokulasi MH-A menggunakan metode pour plate :

- 1) Buka tutup tabung reaksi yang berisi suspensi bakteri dan ambil suspensi bakteri menggunakan syringe
- 2) Dekatkan leher tabung reaksi dengan api bunsen pada saat mengambil suspensi bakteri
- 3) Ambil suspensi sebanyak 1 ml dan teteskan pada petridish steril yang telah diberi label (gambar 3.17)



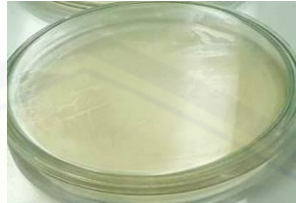
Gambar 3.17 Penetasan suspensi *E. faecalis* (Koleksi pribadi,2020)

- 4) Tuangkan 25 ml larutan MHA suhu 45-50 °C hingga mencapai kurang lebih 3 mm ketebalan agar pada petridish steril (gambar 3.18)



Gambar 3.18 Penuangan MHA (Koleksi pribadi,2020)

- 5) Putar petridish secara perlahan dengan membentuk angka delapan diatas meja yang rata dalam kondisi aseptis untuk menghomogenkan campuran media dan suspensi bakteri
- 6) Biarkan hingga memadat (gambar 3.19)

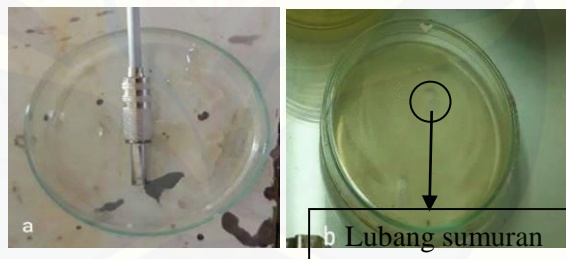


Gambar 3.19 Media inokulasi MHA yang memadat (Koleksi pribadi,2020)

b. Tahap Pembuatan Lubang Sumuran

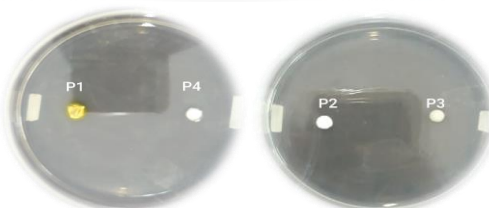
Tahap pembuatan lubang sumuran dengan metode *agar well diffusion* (Balouiri dkk,2016) :

- 1) Tempatkan petridish media inokulasi MH-A pada permukaan yang rata dan lepaskan tutupnya
- 2) Buat lubang pada media agar dengan diameter 5 mm menggunakan *steril cork borer* (gambar 3.20)



Gambar 3.20 a) alat steril cork borer b) Lubang sumuran pada media MHA padat (Koleksi pribadi,2020)

- 3) Kelompok perlakuan pasta 3 MIX MP (P1), amoksisilin (P2), vitamin C (P3), kombinasi amoksisilin dan vitamin C (P4) yang telah ditimbang seberat 100 mg dimasukkan menggunakan spatula semen kecil ke dalam lubang sumuran yang dipinggirnya telah diberi label kelompok perlakuan (gambar 3.21)



Gambar 3.21 Gambar kelompok perlakuan pada petridish (Koleksi pribadi,2020)

- 4) Setelah semua lubang sumuran terisi, pasang kembali tutupnya dan balik petridish
- 5) Tempatkan petridish dalam inkubator dengan suhu 37 ° C selama 24, 48, 72 jam

3.7.3 Tahap Pengukuran

Zona hambat berbentuk melingkar seragam dan terdapat zona pertumbuhan yang rapat. Pengukuran menggunakan alat jangka sorong dari tepi zona hambat (break point) dengan mengukur diameter vertikal dan diameter horizontal zona hambat (gambar 3.22). Diameter vertikal dan diameter horizontal dijumlahkan kemudian dibagi dua. Pengukuran dilakukan sebanyak 3 kali dan di ambil rata-rata (Subagya,2019). Rumus pengukuran zona hambat sebagai berikut

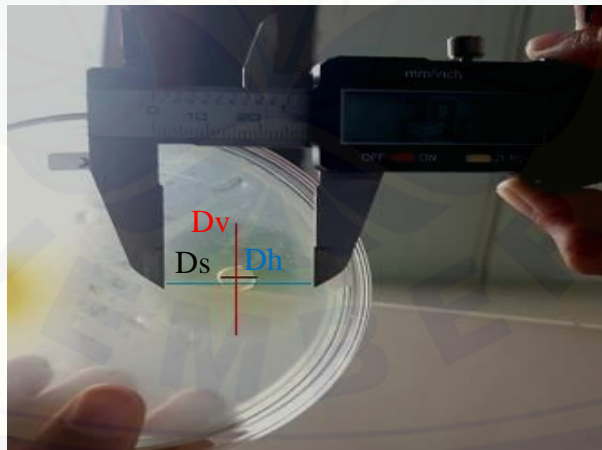
$$\frac{(Dv - Ds) + (Dh - Ds)}{2}$$

Keterangan :

Dv = Diameter vertikal

Dh = Diameter horizontal

Ds = Diameter sumuran



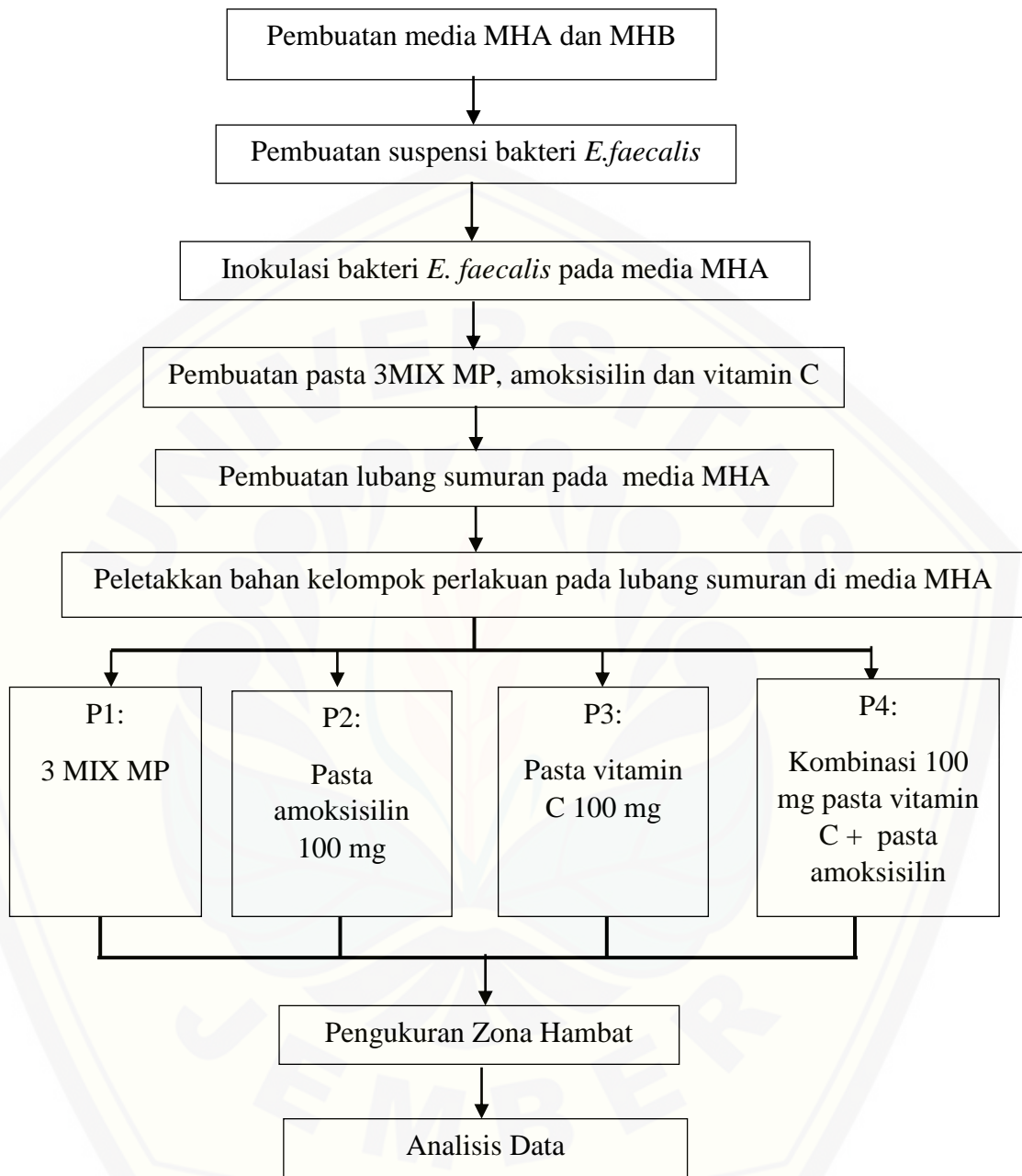
Gambar 3.22 Pengukuran zona hambat (Koleksi pribadi,2020)

3.8 Analisis Data

Data yang didapatkan dari penelitian merupakan data diameter zona hambat bakteri. Data disusun dalam bentuk tabel, kemudian diolah dalam program *Statistical and Service Solutions* (SPSS). Untuk menguji kenormalitasan data maka dilakukan uji *Shapiro Wilk* dan uji varian *Levene's* untuk mengetahui variansi data homogen. Analisis data tidak terdistribusi normal dan tidak homogen, selanjutnya digunakan uji non parametrik berupa uji *Kruskal Wallis* dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha=95\%$) dan dilanjutkan uji *Man Whitney* dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha=95\%$) untuk mengetahui perbedaan antar kelompok.



3.9 Alur Penelitian



Gambar 3.23 Diagram Alur Penelitian

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa

- a. Kombinasi vitamin C dan amoksisilin sebagai bahan alternatif intrakanal medikamen memiliki aktivitas antibakteri yang ditunjukkan melalui zona hambat terhadap pertumbuhan *E. faecalis* secara *in vitro*
- b. Kombinasi vitamin C dan amoksisilin sebagai bahan alternatif intrakanal medikamen memiliki aktivitas antibakteri setara 3 MIX MP dan lebih kecil dari amoksisilin serta lebih besar dari vitamin C

5.2 Saran

- a. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai sinergisme kombinasi vitamin C dan amoksisilin menggunakan metode uji antibakteri lain seperti uji mikrodilusi checkboard untuk mengetahui sinergisme kedua bahan dari berbagai perbandingan konsentrasi dilusi kedua obat.
- b. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas antibakteri vitamin C dikombinasikan dengan bahan antibiotik lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbot, P.V dan C. Yu. 2007. A Clinical Classification of The Status of The Pulp and The Root Canal System. *Australian Dental Journal*. 52 (1):S17-S31.
- Aburawi, S.M, Elahmer, N.M, Eltaif, N.F. 2013. Effect of Vitamin C on Penicillin G Efficiency to Inhibit Bacterial Populations. *Tripolitana Medical Journal*. 2 (2): pp 44-49.
- Addotey, J.N.A, L. Y.Awudzi, R. K. Adosraku. 2014. Stability Studies on Reconstituted Amoxicillin-Clavulanic Acid Oral Powder by HPLC Method Development and Quantification. *International Journal of Pharmaceutical Science and Practice*. 3 (1):pp1-12.
- Ayre, W.N., Melling G., Cuveiler, M.N. 2018. *Enterococcus faecalis* Demonstrates Pathogenicity through Increased Attachment in an Ex Vivo Polymicrobial Pulpal Infection. *Infect Immun*. 86(5):e00871-17
- Batt, CA. 2016. *Microorganisms: Reference Module in Food Science*. Elsevier: New York USA
- Balouiri, M., Moulay S.S., Koraichi I. 2016. Methods for In Vitro Evaluating Antimicrobial Activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 6 (Issue 2): 71-79.
- Bansal, R. dan Aditya J. 2014. Overview on the Current Antibiotic Containing Agents Used in Endodontics. *N Am J Med Sci*; 6(8): 351–358.
- Bardal, S.K., Waechter J.E, Martin D.S. 2011. *Applied Microbiology*. USA: Elsevier.
- Bernal, P.C.M.S., Abdelali D., María A.L. 2013. Antibiotic Adjuvants: Identification and Clinical Use. *Microb Biotechnol*; 6(5): 445–449.
- Borgholtz, G., Bindslev P.H., Reit, C. 2010. *Text Book of Endodontology*. Wiley-Backwell: Oxford.
- Biswas S, Thomas N, Mandal A, Mullick A, Chandra D. 2013. In Vitro Analysis of Antibacterial Activity of Vitamin c Alone and in Combination with Antibiotics on Gram Positive Rod Isolated from Soil of a Dumping Site of Kolkata. *Int J Pharm Bio Sci*. 33(3):101-110
- Bollenbach, T. 2015. Antimicrobial Interactions: Mechanisms and Implications for Drug Discovery and Resistance Evolution. *Current Opinion in Microbiology*. 27:1–9

- BPOM. 2015. IONI: Amoksisilin. <http://pionas.pom.go.id> [Diakses pada 15 April 2019]
- Colaco, S.A. 2018. Extreme Resistance of *Enterococcus Faecalis* and Its Role in Endodontic Treatment Failure. *Prog Med Sci*. 2:9–13
- Connor B. Weir, Jacqueline K. Le. 2019. Metronidazole. StartPearls. [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK539728/> diakses pada 10 maret 2020]
- Dalia, K., Bodil L., Margareta H. 2016. Antibiotics in Implant Dentistry, Dental Implantology and Biomaterial. Mazen Ahmad Jawad Amin Almasri, IntechOpen. <https://www.intechopen.com/books/dental-implantology-and-biomaterial/antibiotics-in-implant-dentistry> [Diakses pada 17 April 2019]
- Daniel, W. 2015. Biostatic a Foundation for Analysis in The Health Science 6th Edition. Canada: John Wiley and Sons, Inc.
- Drugbank. 2005. Ascorbic acid. <https://www.drugbank.ca./drugs/DB00126> [Diakses pada 15 April 2019]
- Dumani, A., O. Yoldaz, S.Yilmaz. 2012. In Viro Supcebility of *Enterococcus Faecalis* and *Candida Albicans* IsolatesFrom Apical Periodontitis to Common Antimicrobial Agents, Antibiotics and Antifungal Medicaments. *J Clin Exp Dent*. 4(1):e1-e7.
- Fabris, AS., Viviane N., Mario J. A.C. 2014. Bacteriological Analysis of Necrotic Pulp and Fistulae in Primary Teeth. *J Appl Oral Sci*. 22(2): 118–124.
- Fadime, E.P., Amal H.H. 2017. Vitamin C: An Antioxidant Agent, Vitamin C IntechOpen. <https://www.intechopen.com/books/vitamin-c/vitamin-c-an-antioxidant-agent> [Diakses pada 17 April 2019]
- Felippini, A.L.C. 2019. Introductory Chapter: Some Important Aspects of Root Canal Treatment, IntechOpen. IntechOpen. <https://www.intechopen.com/online-first/introductory-chapter-some-important-aspects-of-root-canal-treatment> [Diakses pada 17 April 2019]
- Fisher, K., dan Carol P. 2009. The Ecology, Epidemiology and Virulence of *Enterococcus*. *Microbiology*. 55: 1749–1757
- Gajan, E. B. , Mohammad A., Rahib A., Amin S. M., Zohreh M.. 2009. Microbial Flora of Root Canals of Pulpally-infected Teeth: *Enterococcus faecalis* a Prevalent Species. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects*. 3(1): 24–27

- Ghabraei, S., Marvi, M., Bolhari, B., Bagheri P. 2018. Minimum Intracanal Dressing Time of Triple Antibiotic Paste to Eliminate *Enterococcus Faecalis* (ATCC 29212) and Determination of Minimum Inhibitory Concentration and Minimum Bactericidal Concentration: An Ex Vivo Study. *J Dent Tehran*. 15(1):1-9.
- Ghirardelo, R., P.J.M Bispo, T.M Yamanaka, A.C. Gales. 2012. Cation Concentration of Four Distinct Mueller Hinton Agar Brands Influences Polymyxin B Supceptibility Results. *J Clin Microbiol*. 50(7):2414-2418.
- Gomes, B.P. F.A. dan Herrera D.R. 2018. Etiologic Role of Root Canal Infection in Apical Periodontitis and its Relationship with Clinical Symptomatology. *Braz. Oral Res*. 32(1):82-110.
- Gulabivala, K. dan Yuan Ling Ng. 2015. *The Root Canal Biofilm*. London: Springer
- Hudzicki, J. 2009. *Kirby Bauer Disk Diffusion Supceptibility Test Protocol*. American Society of Microbiology. <https://www.asm.org> [Diakses pada 21 April 2019].
- Hussain, A., Elsa T., Jagannadha P. 2018. Vitamin C: A Preventative, Therapeutic Agent Against *Helicobacter pylori*. *Cureus*. 10(7): p1-p11.
- Ingle, J.I dan Rotstein I. 2019. *Ingle's Endodontics 7*. North Carolina: PMPH-USA.
- Integrated Taxonomic Information System (ITIS). 2012. *Enterococcus faecalis*. https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=961474#null [Diakses pada 21 April 2019].
- Isela, S.N.R., Nakagoshi C.S., Martínez S.J.J., Hernandez D.R., Cabral R.C. 2013. Ascorbic Acid On Oral Microbial Growth and Biofilm Formation. *The Pharma Innovation – Journal*. 2(4): 103-109.
- Isam, E.H.E., Mohamed A.M.G.E., Elnoor A.A.N., Omer E.A.A., Ahmed M.A.A. 2017. Comparison of Two Methods for The Determination of Vitamin C (Ascorbic Acid) in Some Fruits. *American Journal of Chemistry*. 2(1): 1-7
- Jayakaran, T.G, C Rekha, V., Annamalai, S., Baghkomeh, P.N. 2018. Antibiotics and its Use in Pediatric Dentistry: A review. *International Journal of Applied Dental Sciences*. 4(2): 310-314.

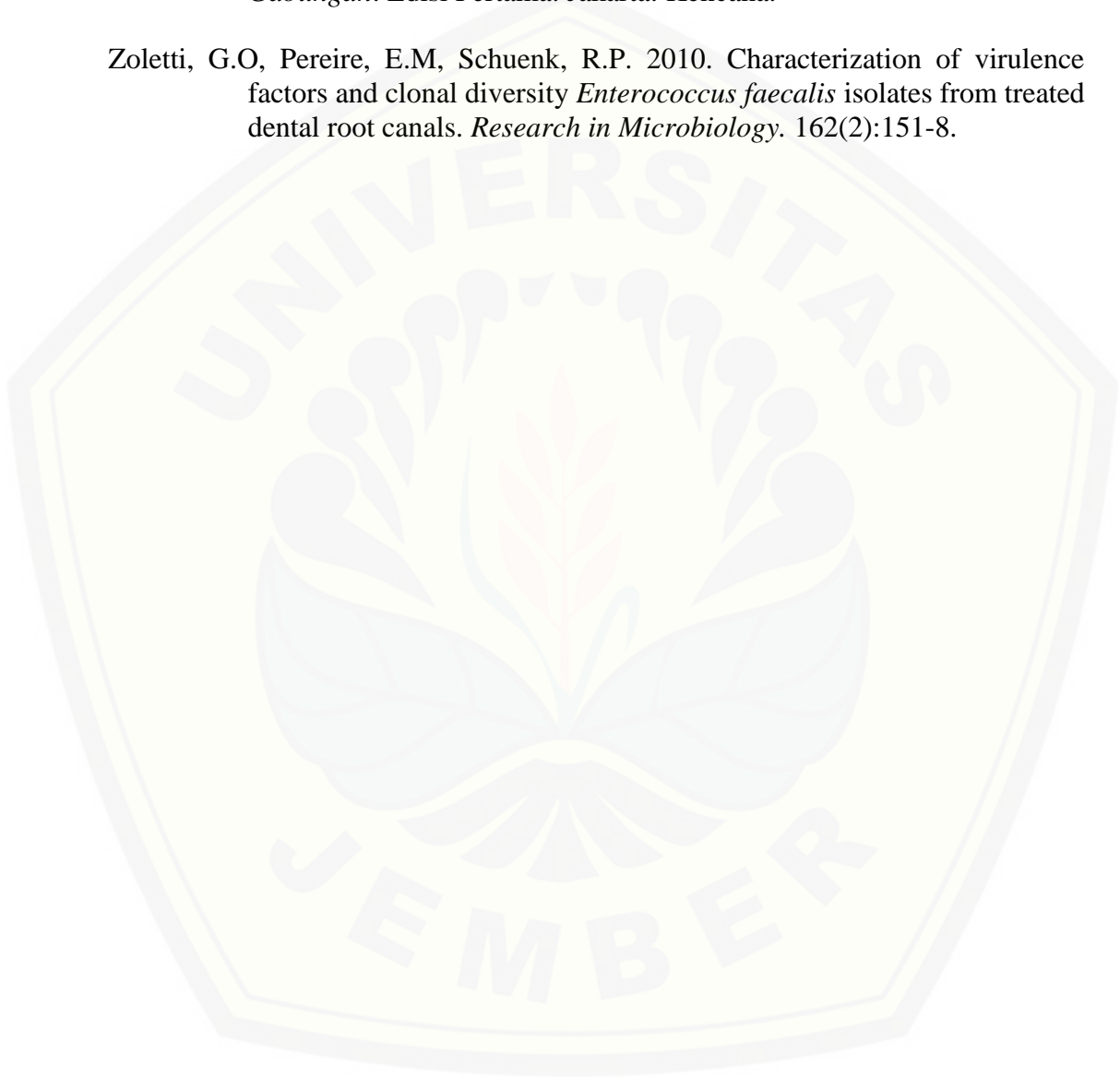
- Jr Siquera, J.F. dan Isabela N Rocas. 2017. *Harty's Endodontics in Clinical Practice E-Book*. London: Elsevier.
- Karayasheva D., Radeva E. Importance of Enterococci (*Enterococcus faecalis*) for Dental Medicine-Microbiological Characterization, Prevalence and Resistance. *International Journal of Science and Research (IJSR)*. 6(Issue 7):1970-1975.
- Kohli A. 2010. Textbook of endodontics. *J Conserv Dent*;13:2-3
- Komiyama EY, Lepesqueur LSS, Yassuda CG, Samaranayake LP, Parahitiyawa NB, Balducci I. 2016. Enterococcus Species in the Oral Cavity: Prevalence, Virulence Factors and Antimicrobial Susceptibility. *PLoS ONE*. 11(9): p1-p11.
- Kouidhi Bochra, Tarek Zmantar, Kacem Mahdouani, Hajer Hentati, dan Amina Bakhrouf. 2011. Antibiotic resistance and adhesion properties of oral Enterococci associated to dental caries. *BMC Microbiol*.11: 155.
- Lei, C., Xingqun C., Meng D. 2015. *Atlas of Oral Microbiology*. USA: Elsevier.
- Liu J., Shuyu X, Guyue C. 2017. Antimicrobial Activity and Resistance : Influencing Factors. *Front Pharmacol*. 8:364
- Man, A.M.E.S., Paul W.G.E., Heleen M.O.S. 2018. Vitamin C Supplementation. *Current Opinion in Critical Care*. 24(4): 248-255.
- Marek, C.L., S.R. Timnous. 2019. Antimicrobial in Pediatric Dentistry: Pediatric Dentistry:6th Edition. Elsevier
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S187887501930092> [Diakses pada 27 April 2020).
- Microbiology Society. 2016. Basic Practical Microbiology – A Manual. London: Microbiology Society. <https://microbiologyonline.org/> [Diakses pada 21 April 2019]
- Mozayeni M.A., Ali H., Omid D., Ali R.J. 2014. Antimicrobial Effects of Four Intracanal Medicaments on *Enterococcus Faecalis*: An in Vitro Study. *Iran Endod J*. 9(3): 195–198.
- Murvindran. V dan James.D.R. 2014. Antibiotics as an Intracanal Medicament in Endodontics. *J. Pharm. Sci. & Res*. 6(9): 297-301.
- N Garrido-Mesa, A Zarzuelo, J Gálvez. 2013. Minocycline: far beyond an antibiotic. *Br J Pharmacol*. 169(2): 337–352.

- Narayanan, LL., Vaishnavi C. 2010. Endodontic microbiology. *J Conserv Dent*. 13(4): 233–239.
- Nalawade, T.M, K. Bhat, S. H. P. Sogi. 2017. Bactericidal activity of propylene glycol, glycerine, polyethylene glycol 400, and polyethylene glycol 1000 against selected microorganisms. *Journal of International Society of Preventive and Community Dentistry*. 5 (2): 114-119.
- Niklitscheka, C.R. dan Gonzalo H.O. 2015. Clinical Implications of *Enterococcus faecalis* Microbial Contamination in Root Canals of Devitalized Teeth: Literature review. *Revista Odontológica Mexicana*. 19 (Issue 3): e177-e182.
- Nishio Ayre, W., Melling, G., Cuveillier, C. 2018. *Enterococcus faecalis* Demonstrats Pathogenecity through Increased Attachment in an Ex Vivo Polymicrobial Pulpal Infection. *Infect Immun*. 86(5):e00871-17
- Padayatty S.J, Levine M. 2016. Vitamin C physiology: The Known and The Unknown and Goldilocks. *Oral Dis*. 22(6): 463–493
- Pal, H., Arpita S., Lopamoodra D., Subrata S., Subir S. 2019. Application of Intracanal Medicaments: A Review. *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences*. 18 (1):14-21.
- Pandit, S., Ravikumar V., Abdel-Haleem AM, Derouiche A., Mokkaapati V.R.S.S., Sihlbom C., Mineta K., Gojobori T., Gao X., Westerlund F. and Mijakovic I. 2017. Low Concentrations of Vitamin C Reduce the Synthesis of Extracellular Polymers and Destabilize Bacterial Biofilms. *Front Microbiol*. 8: p1-p11.
- Pai, S., Pai, A. R.V., Thomas M.S, Bhat V. 2014. Effect of Calcium Hydroxide and Triple Antibiotic Paste as Intracanal Medicaments on the Incidence of Inter-Appointment Flare-up in Diabetic Patients: An in Vivo Study. *J Conserv Dent*. 17(3): 208-211.
- Parhizkar, A., Nojehdehian, H., Asgary S. 2018. Triple Aantibiotic Paste: Momentous Roles And Applications In Endodontics A Review. *Restor Dent Endod*. 43 (3): p1-p16.
- Patel, S., dan Barners J. J. 2013, *The Principles of Endodontics*, United Kingdom: Oxford University Press.
- Pham, T.D.M., Ziora, Z.M, Blaskovich, M.AT. 2019. Quinolone Antibiotic. *MedChemComm*. 10:1719-1739.

- Patidar, R.K., M.K. Gupta, V. 2013. Singh. Phenotypic detection of virulence traits and antibiotic susceptibility of endodontic *Enterococcus faecalis* isolates. *American Journal of Microbiological Research*. 1(1):4-9
- Prada, I. , Pedro M.M., Teresa G.L, Pablo M.M., Nicolás C.C., Alberto M.S. 2019. Influence of Microbiology on Endodontic Failure. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 24(3): e364-72.
- Pringgini, D., A. Ridlo, N. Sembiring. 2017. Antibacterial Activity For Multi Drug Resistance (MDR) Bacteriae Bysea Cucumber *Stichopus vastus* Extract From Karimun Island- Indonesia. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*. 9(2):695-707.
- Prihanti, G. S. 2018. *Pengantar Biostatistik Cetakan Kedua*. Malang:UMM Press
- Quock Ryan L. 2015. Dental Caries: A Current Understanding and Implications. *Journal of Nature and Science*. 1(1):p1-p4.
- Rajendran, S. dan Prasanna Neelakantan. 2013. Applications of Antiseptics in Endodontics. *International Journal Pharmaceutical Sciences Review and Research*. 22(2): 232-234.
- Rams TE, Feik D, Mortensen JE, Degener JE, van Winkelhoff AJ. 2013. Antibiotic Susceptibility of Periodontal *Enterococcus faecalis*. *J Periodontol*. 84(7):1026-33.
- Rao R, Simar Preet Kaur, Sanju nanda. 2011. Amoxicillin: A Broad Spectrum Antibiotic. *Int J Pharm Pharm Sci*. 3(Issue 3): 30-37.
- Reddy, G. A., Sridevi E., Sankar A. J.S. 2017. Endodontic Treatment of Chronically Infected Primary Teeth Using Triple Antibiotic Paste: An In Vivo Study. *J Conserv Dent*. 20(6): 405–410.
- Sara, H.M., Yasmin, M.S. 2019. Ascorbic acid inhibitory activity on resistant strains of *Enterobacter* spp: in vitro study. *Current Research in Pharmaceutical Sciences*. 9(4):67-72.
- Syafira, N.L. 2018. Daya Antibakteri Ekstrak Minyak Atsiri Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) Terhadap Pertumbuhan *Enterococcus faecalis* dan *Fusobacterium nucleatum*. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Sharma P C , Ankit J , Sandeep J , Rakesh P , and Mohammad SY. Ciprofloxacin: review on developments in synthetic, analytical, and medicinal aspects. 2010. *J of Enzyme Inhibition and Med Chem*. p1-p12

- Sharsmita, B., T. Nivya, M. Anamika. 2013. In Vitro Analysis of Antibacterial Activity of Vitamin C Alone and in Combination with Antibiotics on Gram Positive Rod Isolated From Soil of a Dumping Site of Kolkata. *Int J Pharm Bio Sci.* 3 (issue 3):101-110.
- Singh, Harpreeth. 2016. Microbiology of Endodontic Infections. *Journal of Dental and Oral Health.* 2 (Issue 5) : 1-4.
- Santoso, S. 2018. Mahar Statistik Multivariat dengan SPSS. Jakarta: PT. Elex Media Komputindo.
- Society of General Microbiology (SGM). 2016. Basic Practical Microbiology: A Manual. <https://microbiologyonline.org> [Diakses pada 21 April 2019]
- Sultana, S., S. Afroz, F.A.A. Karim. 2019. LSTR 3 Mix MP Therapy and Conventional Root Canal Therapy: A Comparative Clinical & Radiological Study for the Treatment Outcome of Irreversible Pulpitis in Prmanent Tooth. *Update Dental College Journal.* 9 (Issue 2): 20-26
- Subagya, R.S. 2019. Daya Antibakteri Ekstrak Buah Kersen (*Muntinga calabura L.*) Terhadap *Porphyromonas gingivalis*. Skripsi. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Taneja, S. M. Kumari, H. Parkash. 2010. Nonsurgical healing of large periradicular lesions using a triple antibiotic paste: A case series. *Contemp Clin Dent.* 1(1): 31–35
- Thambavita D , Priyadarshani G., Uthpali M. 2017. Biowaiver Monograph for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms: Amoxicillin Trihydrate. *Journal of Pharmaceutical Sciences.* 106 : 2930-2945.
- Vidana, R., Sullivan, A., Billstro H., Ahlquist M., Lund, B. 2010. Enterococcus Faecalis Infection in Root Canals Host Derived or Exogenous Source?. *Letters in Applied Microbiology.* 52:109-115.
- Vilcheze C., Travis H., Brian W., William R.J. 2013. Mycobacterium Tuberculosis is Extraordinarily Sensitive to Killing by a Vitamin C-Induced Fenton Reaction. *Nat Commun;* 4: 1881.
- Vineet, R.V dan Moksha Nayak. 2016. Enterococcus faecalis: An Enigma in Root Canal Infections. *International Research Journal of Pharmaceutical and Biosciences.* 3(1):12-21.
- Vineet. 2016. Flora of the oral cavity. Smashwords Edition License Notes <http://www.researchgate.net> [Diakses tanggal 5 Mei 2019]

- Yu, C.Y dan Paul Abbot. 2016. Responses of The Pulp, Periradicular and Soft Tissues Following Trauma to The Permanent Teeth. *Australian Dental Journal*. 61(1):39-58.
- Yusuf, Muri. 2014. *Metode Penelitian Kuantitatif, Kualitatif dan Penelitian Gabungan*. Edisi Pertama. Jakarta: Kencana.
- Zoletti, G.O, Pereire, E.M, Schuenk, R.P. 2010. Characterization of virulence factors and clonal diversity *Enterococcus faecalis* isolates from treated dental root canals. *Research in Microbiology*. 162(2):151-8.



LAMPIRAN

A. Lampiran Surat Ijin Penelitian

235


 KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
 UNIVERSITAS JEMBER
 FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
Jl. Kalimantan No. 37 Jember ☎(0331) 333536, Fak. 331991

Nomor : *5765/UN25.8.TL/2019*
 Perihal : Pengamatan Zona Hambat *Enterococcus faecalis* 09 SEP 2019

Kepada Yth
 Kepala Bagian Laboratorium Mikrobiologi
 Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
 Di Jember

Dalam rangka pengumpulan data penelitian guna penyusunan skripsi maka, dengan hormat kami mohon bantuan dan kesediaannya untuk memberikan ijin pengamatan zona hambat *Enterococcus faecalis* bagi mahasiswa kami di bawah ini:

1	Nama	: Julia Eka Putri Ayuningtyas
2	NIM	: 161610101113
3	Semester/Tahun	: VII/2019
4	Fakultas	: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
5	Alamat	: Jl. Kalimantan IV no 88, kecamatan Sumbersari Kabupaten Jember
6	Judul Penelitian	: Aktivitas Antibakteri Kombinasi Vitamin C dan Amoksisilin Sebagai Bahan Alternatif Intrakanal Medikamen Terhadap <i>Enterococcus faecalis</i> Secara In Vitro
7	Lokasi Penelitian	: Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
8	Data/alat yg di pinjam	: -
9	Waktu	: September 2019 s/d Selesai
10	Tujuan Penelitian	: Mengetahui efek vitamin c dalam meningkatkan daya hambat amoksisilin terhadap <i>Enterococcus faecalis</i>
11	Dosen Pembimbing	: 1. drg. Pudji Astuti, M.Kes 2. drg. Dwi Warna Aju Fatmawati, M.Kes

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih



 Masniari Novita, M.Kes., Sp. OF (K)
 NIP. 196811251999032001

B. Lampiran Perhitungan Sampel

Penentuan besar sampel menggunakan rumus jumlah sampel minimum menurut Daniel (2015).

$$n = \frac{z^2 \sigma^2}{\alpha^2}$$

Keterangan:

n = Besar sampel minimum

σ = Standart deviasi penelitian sejenis

α = Kesalahan yang masih ditoleransi

P = keterpercayaan penelitian (95%)

Z = nilai koefisien kepercayaan, bila besarnya 95%, maka nilai $Z = 1,96$.

Pada penelitian ini σ diasumsikan sama dengan nilai α ($\sigma = \alpha$), hal ini karena nilai σ^2 jarang sekali diketahui sehingga harus menduganya. Masalah ini dapat dihilangkan dengan mendefinisikan α diucapkan dalam σ . Maka hasil perhitungan besar sampel sebagai berikut:

$$n = \frac{(1,96)^2 \sigma^2}{\alpha^2}$$

$$n = (1,96)^2$$

$$n = 3,84$$

$$n = 4$$

C. Lampiran Data Zona Hambat

C 1. Data dimensi horizontal (dh) dan dimensi vertikal (dv) zona hambat hari ke 1

No. Sampel	Pengamatan ke -	P1 (mm)		P2 (mm)		P3 (mm)		P4 (mm)	
		dh	dv	dh	dv	dh	dv	dh	dv
1	1	33,00	32,28	34,51	33,39	27,94	27,79	30,85	30,59
	2	32,27	32,56	34,50	33,71	27,89	28,25	29,81	30,26
	3	32,96	32,29	34,83	33,50	27,62	27,96	30,32	31,01
	rata-rata	32,74	32,38	34,61	33,53	27,82	28,00	30,33	30,62
2	1	32,80	31,60	34,37	33,62	28,12	28,31	30,90	30,62
	2	32,75	32,87	33,94	34,00	28,02	28,40	30,12	30,85
	3	33,00	32,25	33,44	34,22	28,34	28,15	30,47	30,91
	rata-rata	32,85	32,24	33,92	33,95	28,16	28,29	30,50	30,79
3	1	32,98	32,63	34,55	34,66	28,45	27,46	30,72	31,78
	2	32,75	32,84	33,93	34,19	28,42	27,51	30,32	31,59
	3	32,53	32,67	34,15	33,94	27,90	27,81	30,11	31,88
	rata-rata	32,75	32,71	34,21	34,26	28,26	27,59	30,38	31,75
4	1	32,94	32,96	34,89	33,76	27,81	27,60	31,93	31,49
	2	32,66	32,70	34,72	33,97	27,99	27,55	31,80	31,60
	3	32,76	32,86	35,03	33,76	27,53	27,19	31,44	31,09
	rata-rata	32,79	32,84	34,88	33,83	27,78	27,45	31,72	31,39

C2. Data dimensi horizontal (dh) dan dimensi vertikal (dv) zona hambat hari ke-2

No. Sampel	Pengamatan ke -	P1 (mm)		P2(mm)		P3(mm)		P4(mm)	
		Dh	Dv	dh	dv	Dh	dv	dh	dv
1	1	30,34	32,32	34,25	33,28	27,89	27,19	30,18	29,15
	2	30,24	32,64	34,28	33,83	27,75	27,07	29,50	29,72
	3	29,82	32,19	34,80	33,45	27,68	27,00	29,66	29,83
	rata-rata	30,13	32,38	34,44	33,52	27,77	27,09	29,78	29,57
2	1	31,19	31,72	34,30	33,70	28,27	27,92	29,82	29,42
	2	31,02	31,96	33,92	33,92	28,18	27,87	29,76	29,52
	3	31,10	32,17	34,02	33,46	28,02	27,24	29,50	30,10
	rata-rata	31,10	31,95	34,08	33,69	28,16	27,68	29,69	29,68
3	1	30,54	31,17	34,24	33,95	28,20	27,07	30,80	31,43
	2	30,63	31,42	33,45	33,41	28,25	26,72	30,28	31,45
	3	30,84	31,67	34,06	34,22	28,01	27,24	30,16	31,36
	rata-rata	30,67	31,42	33,92	33,86	28,15	27,01	30,41	31,41
4	1	30,85	31,25	34,24	33,49	25,92	27,05	31,80	31,18
	2	30,76	31,22	34,42	33,72	25,70	26,95	31,62	31,14
	3	30,51	31,58	34,16	33,61	25,94	27,12	31,40	31,25
	rata-rata	30,71	31,35	34,27	33,61	25,85	27,04	31,61	31,19

C3. Data dimensi horizontal (dh) dan dimensi vertikal (dv) zona hambat hari ke-3

No. Sampel	Pengamatan ke -	P1 (mm)		P2 (mm)		P3 (mm)		P4 (mm)	
		dh	dv	dh	dv	Dh	Dv	dh	dv
1	1	27,30	31,10	33,95	32,50	25,33	25,00	27,78	27,56
	2	27,91	30,70	33,88	32,65	25,00	25,07	27,50	27,10
	3	27,90	30,75	33,70	32,50	25,41	25,17	27,92	27,70
	rata-rata	27,70	30,85	33,84	32,55	25,25	25,08	27,73	27,45
2	1	31,05	31,80	33,20	33,54	25,40	24,76	29,00	28,10
	2	29,88	31,75	33,45	33,60	25,31	24,83	28,66	28,15
	3	29,90	31,45	33,11	33,65	25,45	24,91	28,70	28,30
	rata-rata	30,28	31,67	33,25	33,60	25,39	24,83	28,79	28,18
3	1	28,00	29,85	33,26	32,50	24,45	25,00	29,00	29,10
	2	27,80	29,70	34,42	33,72	24,30	24,89	29,76	29,05
	3	27,55	29,70	34,16	33,61	24,42	24,96	29,85	29,22
	rata-rata	27,78	29,75	33,95	33,28	24,39	24,95	29,54	29,12
4	1	28,42	29,20	34,00	33,00	24,05	25,55	29,18	28,50
	2	28,12	29,32	33,80	33,10	24,13	25,42	29,20	28,55
	3	28,55	29,38	33,80	32,95	24,19	25,68	29,30	28,70
	rata-rata	28,36	29,30	33,87	33,02	24,12	25,55	29,23	28,58

C4. Data Hasil Perhitungan Zona Hambat hari ke-1, ke-2 dan ke-3

No. Sampel	P1 (mm)			P2 (mm)			P3 (mm)			P4(mm)		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	27,56	26,26	24,28	29,07	28,98	28,44	22,91	22,43	20,16	25,47	24,67	22,59
2	27,55	26,53	25,97	28,93	28,89	28,20	23,22	22,92	20,11	25,65	24,69	23,49
3	27,73	26,05	23,77	29,24	28,89	28,43	22,93	22,58	19,67	26,07	25,91	24,33
4	26,94	26,03	23,83	29,36	28,94	28,61	22,61	21,45	19,84	26,56	26,40	23,91
RATA"	27,44	26,21	24,46	29,15	28,92	28,42	22,92	22,34	19,95	25,94	25,42	23,58

Keterangan :

P1: 3 MIX MP

P2 : Amoksisilin

P3 : Vitamin C

P4 : Kombinasi amoksisilin dan vitamin C

D. Lampiran Uji Analisis Data

D 1. Uji Normalitas

Tests of Normality							
	Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
zona hambat	P1	,230	12	,080	,885	12	,103
	P2	,234	12	,069	,948	12	,606
	P3	,274	12	,013	,815	12	,014
	P4	,154	12	,200*	,951	12	,651

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

D 2. Tabel Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances					
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
zona hambat	Based on Mean	6,098	3	44	,001
	Based on Median	3,312	3	44	,029
	Based on Median and with adjusted df	3,312	3	29,252	,034
	Based on trimmed mean	5,982	3	44	,002

D 3. Tabel Uji Kruskal Wallis

Ranks			
	Kelompok	N	Mean Rank
zona hambat	P1	12	27,08
	P2	12	42,50
	P3	12	6,92
	P4	12	21,50
	Total	48	

Test Statistics ^{a,b}	
	zona hambat
Kruskal-Wallis H	39,727
Df	3
Asymp. Sig.	,000
a. Kruskal Wallis Test	
b. Grouping Variable: kelompok	

D 4. Tabel Uji Mann Whitney

- Uji Mann Whitney 3 mix mp hari ke -1 dan ke-2

Ranks				
	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona hambat	P11	4	6,50	26,00
	P12	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics ^a	
	zona hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

- Uji Mann Whitney 3 mix mp hari ke -1 dan ke-3

Ranks				
	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona hambat	P11	4	6,50	26,00
	P13	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics ^a	
	zona hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

- Uji Mann Whitney 3 mix mp hari ke -2 dan ke-3

Ranks				
	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona hambat	P12	4	6,50	26,00
	P13	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics ^a	
	zona hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

- Uji Mann Whitney amoksisilin hari ke-1 dan ke-2

Ranks				
	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona	P21	4	6,00	24,00
	P22	4	3,00	12,00
Total		8		

Test Statistics ^a	
	zona hambat
Mann-Whitney U	2,000
Wilcoxon W	12,000
Z	-1,742
Asymp. Sig. (2-tailed)	,081
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,114 ^b

- Uji Mann Whitney amoksisilin hari ke-1 dan ke-3

Ranks				
	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona	P21	4	6,50	26,00
	P23	4	2,50	10,00
Total		8		

Test Statistics ^a	
	zona hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

- Uji Mann Whitney amoksisilin hari ke-2 dan ke-3

Ranks				
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona	P22	4	6,50	26,00
	P23	4	2,50	10,00
Total		8		

Test Statistics ^a	
	zona hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,323
Asymp. Sig. (2-tailed)	,020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

• Uji Mann Whitney vitamin C hari ke-1 dan ke-2

Ranks				
	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona hambat	P31	4	6,00	24,00
	P32	4	3,00	12,00
	Total	8		

Test Statistics ^a	
	zona hambat
Mann-Whitney U	2,000
Wilcoxon W	12,000
Z	-1,732
Asymp. Sig. (2-tailed)	,083
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,114 ^b

• Uji Mann Whitney vitamin C hari ke-1 dan ke 3

Ranks				
	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona hambat	P31	4	6,50	26,00
	P33	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics ^a	
	zona hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

• Uji Mann Whitney vitamin C hari ke-2 dan ke-3

Ranks				
	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona hambat	P32	4	6,50	26,00
	P33	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics ^a	
	zona hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

- Uji Mann Whitney amoksisilin+vitamin C hari ke-1 dan ke-2

Ranks				
	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona hambat	P41	4	5,25	21,00
	P42	4	3,75	15,00
	Total	8		

Test Statistics ^a	
	zona hambat
Mann-Whitney U	5,000
Wilcoxon W	15,000
Z	-,866
Asymp. Sig. (2-tailed)	,386
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,486 ^b

- Uji Mann Whitney amoksisilin+vitamin C hari ke-1 dan ke-3

Ranks				
	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona hambat	P41	4	6,50	26,00
	P43	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics ^a	
	zona hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

- Uji Mann Whitney amoksisilin+vitamin C hari ke-2 dan ke-3

Ranks				
	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona hambat	P42	4	6,50	26,00
	P43	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics ^a	
	zona hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

- Uji Mann Whitney amoksisilin dan 3 mix mp hari ke-1

Ranks				
	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona hambat	p11	4	2,50	10,00
	P21	4	6,50	26,00
	Total	8		

Test Statistics ^a	
	zona hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

- Uji Mann Whitney amoksisilin dan vitamin c hari ke-1

Ranks				
	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona hambat	P21	4	6,50	26,00
	P31	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics ^a	
	zona hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

- Uji Mann Whitney amoksisilin dan amoksisilin+ vitamin c hari ke-1

Ranks				
	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona hambat	P21	4	6,50	26,00
	P41	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics ^a	
	zona hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

- Uji Mann Whitney vitamin C dan amoksisilin+ vitamin c hari ke-1

Ranks				
	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona hambat	P31	4	2,50	10,00
	P41	4	6,50	26,00
	Total	8		

Test Statistics ^a	
	zona hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

- Uji Mann Whitney 3 mix mp dan amoksisilin+ vitamin c hari ke-1

Ranks				
	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona hambat	P11	4	6,50	26,00
	P41	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics ^a	
	zona hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

- Uji Mann Whitney 3 mix mp dan vitamin c hari ke-1

Ranks				
	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona hambat	P11	4	6,50	26,00
	P31	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics ^a	
	zona hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

- Uji Mann Whitney amoksisilin dan 3 mix mp hari ke-2

Ranks				
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona hambat	P12	4	2,50	10,00
	P22	4	6,50	26,00
	Total	8		

Test Statistics ^a	
	zona hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,323
Asymp. Sig. (2-tailed)	,020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

- Uji Mann Whitney amoksisilin dan vitamin c hari ke-2

Ranks				
	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona hambat	P22	4	6,50	26,00
	P32	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics ^a	
	zona hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,323
Asymp. Sig. (2-tailed)	,020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

- Uji Mann Whitney amoksisilin dan amoksisilin+ vitamin c hari ke-2

Ranks				
	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona hambat	P22	4	6,50	26,00
	42,00	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics ^a	
	zona hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,323
Asymp. Sig. (2-tailed)	,020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

- Uji Mann Whitney vitamin C dan amoksisilin+ vitamin c hari ke-2

Ranks				
	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona hambat	P32	4	2,50	10,00
	42,00	4	6,50	26,00
	Total	8		

Test Statistics ^a	
	zona hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

- Uji Mann Whitney 3 mix mp dan amoksisilin+ vitamin c hari ke-2

Ranks				
	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona hambat	P12	4	5,75	23,00
	P42	4	3,25	13,00
	Total	8		

Test Statistics ^a	
	zona hambat
Mann-Whitney U	3,000
Wilcoxon W	13,000
Z	-1,443
Asymp. Sig. (2-tailed)	,149
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,200 ^b

- Uji Mann Whitney 3 mix mp dan vitamin c hari ke-2

Ranks				
	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona hambat	P12	4	6,50	26,00
	P32	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics ^a	
	zona hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

- Uji Mann Whitney amoksisilin dan 3 mix mp hari ke-3

Ranks				
	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona hambat	P13	4	2,50	10,00
	P23	4	6,50	26,00
	Total	8		

Test Statistics ^a	
	zona hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

- Uji Mann Whitney amoksisilin dan vitamin c hari ke-3

Ranks				
	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona hambat	P23	4	6,50	26,00
	P33	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics ^a	
	zona hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

- Uji Mann Whitney amoksisilin dan amoksisilin+ vitamin c hari ke-3

Ranks				
	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona hambat	P23	4	6,50	26,00
	P43	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics ^a	
	zona hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

- Uji Mann Whitney vitamin C dan amoksisilin+ vitamin c hari ke-3

Ranks				
	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona hambat	P33	4	2,50	10,00
	P43	4	6,50	26,00
	Total	8		

Test Statistics ^a	
	zona hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

- Uji Mann Whitney 3 mix mp dan amoksisilin+ vitamin c hari ke-3

Ranks				
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona hambat	P13	4	5,25	21,00
	P43	4	3,75	15,00
	Total	8		

Test Statistics ^a	
	zona hambat
Mann-Whitney U	5,000
Wilcoxon W	15,000
Z	-,866
Asymp. Sig. (2-tailed)	,386
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,486 ^b

- Uji Mann Whitney 3 mix mp dan vitamin c hari ke-3

Ranks				
	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona hambat	P13	4	6,50	26,00
	P33	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics ^a	
	zona hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

E. Lampiran Alat Penelitian



Keterangan :

A. Glass plate

B. Petridish

C. Mortar dan alu

D. Neraca Ohaus

E Erlenmeyer

F. Tabung gelas

G. Spektofotometri

H. Jangka sorong digital

I. Bunsen

J. Jarum ose

K Laminar flow

L Oven

M Inkubator

N. Spatula semen

O. Syringe 1 ml

P. Syringe 3 ml

Q. Tabung reaksi

R. Kompor listrik

F. Lampiran Bahan Penelitian

Keterangan :

A. MHA

B. MHB

C. Amoksisilin Trihidrat Murni (Kimia Farma)

D. Suspensi *E. faecalis*

E Vitamin C

F. 3MIX MP (3 MIX MP, Japan)

G. Aquades steril (Otsu Wi)



H. Alkohol 70%

G. Lampiran Prosedur Penelitian

Pembuatan Media MHA


Gambar	Keterangan
	Bubuk MHA dimasukkan ke erlenmeyer dan ditambah kan aquades dan diaduk sampai menjadi larutan
	Erlenmeyer berisi larutan MHA dimasukkan kedalam air yang dipanaskan dengan suhu 210 derajat celcius, dan diaduk sampai homogen selama 15 menit`
	Setelah selesai dipanaskan tutup erlenmeyer dengan kapas dan kertas, masukkan dalam autoklaf selama 15 menit

Tahap Perlakuan

Gambar	Keterangan
	Menginokulasikan bakteri 1ml ke petridish
	Menuang media MHA steril dalam suhu 45-50 derajat celcius ke dalam petridish sampai ketebalan kurang lebih 3 mm

	<p>Memutar petridish secara perlahan untuk mencampur media dengan bakteri, biarkan sampai memadat</p>
	<p>Membuat lubang sumuran dengan steril cork borer</p>
	<p>Masukkan kelompok penelitian yang sudah ditimbang seberat 100 mg ke dalam lubang sumuran menggunakan spatula semen kecil</p>

Gambar Pengukuran Zona Hambat

	<p>Mengukur zona hambat menggunakan jangka sorong digital dengan ketelitian 0,01 mm</p>
---	---