



**ANALISIS ANTIBAKTERI RESINOID DAUN TEMBAKAU  
KASTURI TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI  
*Porphyromonas gingivalis***

Oleh

**Nurhalimah  
NIM 161610101038**

Dosen Pembimbing Utama : Dr. drg. Banun Kusumawardani, M.Kes.  
Dosen Pembimbing Pendamping : Dr. drg. I Dewa Ayu Susilawati, M.Kes.  
Dosen Penguji Ketua : Dr. drg. Desi Sandra Sari, M.Kes.  
Dosen Penguji Anggota : drg. Yani Corvianindya Rahayu, M.KG.

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2020**



**ANALISIS ANTIBAKTERI RESINOID DAUN TEMBAKAU KASTURI  
TERHADAP BAKTERI *Porphyromonas gingivalis***

SKRIPSI

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

Oleh  
Nurhalimah  
NIM 161610101038

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2020**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Kotaku tercinta, Kota Tembakau, Kabupaten Jember dan Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
2. Ibuku yang sangat tangguh, Faida.



MOTTO

“Do not lose hope, nor be sad” (Al-Qur’an, 3 : 319)



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Nurhalimah

NIM : 161610101038

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Analisis Antibakteri Resinoid Daun Tembakau Kasturi Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Porphyromonas Gingivalis*” adalah benar-benar hasil karya saya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun dan 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 dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik apabila di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 29 Juli 2020  
Yang menyatakan,

(Nurhalimah)  
NIM 161610101038

**SKRIPSI**

**ANALISIS ANTIBAKTERI RESINOID DAUN TEMBAKAU KASTURI  
TERHADAP BAKTERI *Porphyromonas gingivalis***

Oleh :  
Nurhalimah  
NIM 161610101038

Pembimbing :

Dosen Pembimbing Utama : Dr. drg. Banun Kusumawardani, M.Kes.  
Dosen Pembimbing Pendamping : Dr. drg. I Dewa Ayu Susilawati, M.Kes.

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Analisis Antibakteri Resinoid Daun Tembakau Kasturi Terhadap Bakteri *Porphyrromonas gingivalis*” telah diuji dan disahkan pada:

Hari, Tanggal : Senin, 29 Juli 2020

Tempat : Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember

Dosen Penguji Ketua

Dosen Penguji Anggota

Dr. drg. Desi Sandra Sari, MDSc.  
NIP 197512152003122005

drg. Yani Corvianindya Rahayu, M.KG  
NIP 197308251998022001

Dosen Pembimbing Utama

Dosen Pembimbing Pendamping

Dr. drg. Banun Kusumawardani, M.Kes.  
NIP 197005091999032001

Dr. drg. I Dewa Ayu Susilawati, M.Kes.  
NIP 196109031986022001

Mengesahkan,  
Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember,

drg. R Rahardyan Parnaadji, M.Kes., Sp.Pro.  
NIP 196901121996011001



RINGKASAN

**Analisis Antibakteri Resinoid Daun Tembakau Kasturi Terhadap Bakteri *Porphyromonas gingivalis***; Nurhalimah; 161610101038; 2020; 73 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Penyakit periodontal memiliki prevalensi tertinggi selain karies diantara semua penyakit gigi dan mulut. Salah satu upaya untuk mengobati penyakit periodontal yaitu dengan debridemen yang disertai pemberian antibiotik untuk mengeliminasi bakteri patogen yang sulit dijangkau, seperti di furkasi gigi. Bakteri yang paling banyak ditemui pada kasus penyakit periodontal adalah *Porphyromonas gingivalis*. Pemberian antibiotik untuk eliminasi bakteri patogen tersebut masih memiliki efek samping yang beragam seperti; neurotoksisitas, genotoksisitas dan yang paling yang paling menantang adalah terjadinya *Multidrug Resistance* (MDR), oleh karena itu dibutuhkan agen antibakteri yang tidak bersifat toksik terhadap jaringan normal namun spesifik pada bakteri. Agen antibakteri berbahan dasar alam merupakan salah satu yang menjanjikan, salah satunya yaitu tanaman Tembakau Kasturi. Eksplorasi Tembakau Kasturi sebagai agen antibakteri masih sangat minim. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji aktivitas antibakteri resinoid daun Tembakau Kasturi terhadap bakteri *Porphyromonas gingivalis*.

Jenis metode penelitian ini yaitu eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *the post test only control group design*. Tahapan-tahapan penelitian ini yaitu ekstraksi daun tembakau Kasturi, fraksinasi resinoid, uji antibakteri terhadap *Porphyromonas gingivalis* dan analisis data dengan Kruskal-Wallis.

Hasil penelitian menunjukkan kemampuan antibakteri resinoid daun Tembakau Kasturi terhadap bakteri *Porphyromonas gingivalis* sangat lemah (resisten), ditunjukkan dengan adanya zona hambat pertumbuhan bakteri pada waktu inkubasi 12 jam. Semua kelompok perlakuan resinoid tidak memiliki perbedaan efek antibakteri yang signifikan, sedangkan untuk kelompok kontrol pelarut tidak menunjukkan adanya efek antibakteri.

Saran yang dapat diberikan yaitu melakukan karakterisasi bakteri *Porphyromonas gingivalis* lebih detail sampai uji biokimia dan uji genetis yang



spesifik untuk mengetahui tingkat mutasi, melakukan optimasi konsentrasi resinoid untuk menemukan konsentrasi optimal untuk menghambat pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*, serta dilakukannya studi *in silico* untuk mengetahui ikatan antara senyawa pada resinoid daun Tembakau Kasturi terhadap bakteri *Porphyromonas gingivalis*.



## PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Analisis Antibakteri Resinoid Daun Tembakau Kasturi Terhadap Bakteri *Porphyromonas gingivalis*”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

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

1. Ibu saya, Faida yang telah menjadi 24/7 penyemangat dalam penyelesaian skripsi ini.
2. drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes., Sp.Pros., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
3. Dr. drg. Banun Kusumawardani, M.Kes., dan Dr. drg. I Dewa Ayu Susilawati, M.Kes., selaku dosen pembimbing skripsi.
4. drg. Dwi Kartika Apriyono, M.Kes., Sp.OF. selaku Wakil Dekan III yang sangat suportif
5. drg. Zahara Meilawaty, M.Kes. dan drg. Nadie Fatimatuzzahro, MDSc., selaku Komisi Bimbingan
6. Tim *Tobacco For Health*, Agis Dwi Aprili, Fergysyah, Radityo Indra, Malihatul Rosidah, Deri Abdul Azis, Milhatul Maiziah.
7. Tim Fraksinasi Sembranoid 2020, Larissa Tania dan Karelina Amarta.
8. Tim riset PHAGE, Ria Yulian, *et al.*,
9. Teman-teman spesialku; Safira Zahra Marari, Rosellina Charisma Iلمان, Ayu Imamatul Muslimah
10. Nailul Farih, sebagai partner terbaik selama menempuh Pendidikan di Jember sejak tahun 2019
11. Teman-temanku yang ada dikala masa sulit; Gusti, Dea Ajeng Pravita Suendi, Zion Mahardika, Satrio Agung Bhaskoro, Yosafat Pratista Galih Mahasmara, Satria Priambada Dwija Kusuma, Kristin Rizki, Muh. Ali Hasbi, Moh. Iqbal, Debby Zunta, Mas Erwan, Mila Datul Muharromah.
12. Bapak Radik Sanjaya, S.Pd. yang selalu memberi motivasi sejak tahun 2013

Peneliti juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya, penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pendidikan khususnya di bidang kesehatan serta menjadi upaya dalam meningkatkan mutu kesehatan masyarakat.

Jember, 27 Juli 2020



**DAFTAR ISI**

JUDUL.....	i
SKRIPSI .....	ii
PERSEMBAHAN.....	iii
MOTTO .....	iv
PERNYATAAN .....	v
Pembimbing : .....	vi
PENGESAHAN.....	vii
RINGKASAN.....	viii
PRAKATA .....	x
DAFTAR ISI .....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GAMBAR .....	xv
<b>BAB 1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	2
1.3 Tujuan Penelitian .....	2
1.4 Manfaat Penelitian .....	2
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>4</b>
2.1 Tembakau.....	4
2.1.1 Klasifikasi Tembakau .....	4
2.1.2 Morfologi Daun Tembakau.....	4
2.1.3 Tembakau Kasturi .....	5
2.1.4 Kandungan Antibakteri Daun Tembakau .....	6
2.3 Resinoid .....	7
2.4 <i>Porphyromonas gingivalis</i> .....	8
2.4.1 Klasifikasi <i>Porphyromonas gingivalis</i> .....	8
2.4.2 Morfologi <i>Porphyromonas gingivalis</i> .....	8
2.5 Mekanisme Agen Antibakteri.....	9
2.6 Mekanisme resisten antibiotik.....	11
2.7 Kerangka Konsep Penelitian .....	12
2.8 Hipotesis Penelitian .....	12
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN.....</b>	<b>13</b>
3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian.....	13
3.2 Tempat Penelitian .....	13
3.3 Waktu Penelitian .....	13
3.4 Variabel Penelitian .....	13
3.5 Definisi Operasional .....	14

3.6 Pengelompokan Sample Penelitian .....	15
3.7 Alat dan Bahan Penelitian .....	15
3.8 Prosedur Penelitian.....	17
3.9 Analisis Data.....	21
3.10 Bagan Alur Penelitian .....	21
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>22</b>
4.1 Hasil Penelitian dan Analisis Data .....	22
4.1.1 Hasil Uji <i>Free</i> Nikotin dan Analisis GC-MS Resinoid Daun Tembakau Kasturi .....	22
4.1.2 Karakterisasi <i>Porphyromonas gingivalis</i> .....	24
4.1.3 Uji Antibakteri Resinoid Daun Tembakau Kasturi terhadap Bakteri <i>Porphyromonas gingivalis</i> .....	25
4.2 Pembahasan.....	28
4.2.1 Hasil Analisis GC-MS Resinoid Daun Tembakau Kasturi .....	28
4.2.2 Kemampuan Antibakteri Resinoid Daun Tembakau Kasturi terhadap Bakteri <i>Porphyromonas gingivalis</i> .....	30
<b>BAB 5. PENUTUP .....</b>	<b>33</b>
5.1 Kesimpulan .....	33
5.2 Saran .....	33
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>34</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>40</b>

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Karakteristik Tembakau Kasturi 1 dan Kasturi 2.....	6
Tabel 4.1 Diameter zona hambat <i>P. gingivalis</i> berdasarkan kelompok konsentrasi.....	25
Tabel 4.2 Aktivitas antibakteri resinoid daun Tembakau Kasturi terhadap <i>Porphyromonas gingivalis</i> berdasarkan klasifikasi Popova <i>et al.</i> , 2015.....	27



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Morfologi Tanaman Tembakau.....	4
Gambar 2.2 Daya Hambat Ekstrak Daun Tembakau terhadap Beberapa Bakteri.....	5
Gambar 2.3 Tembakau Kasturi 1 dan 2.....	7
Gambar 2.4 Kultur <i>Porphyromonas gingivalis</i> pada <i>blood agar</i> .....	9
Gambar 2.5 Mekanisme Agen Antibakteri.....	10
Gambar 2.6 Mekanisme Resisten Antibakteri.....	11
Gambar 3.1 Pengukuran Zona Hambat.....	20
Gambar 4.1 Hasil Uji <i>Free</i> Nikotin.....	22
Gambar 4.2 Kandungan Senyawa Bioaktif pada Resinoid Daun Tembakau Kasturi.....	23
Gambar 4.3 <i>Total Ion Chromatogram</i> (TIC) Resinoid Daun Tembakau Kasturi.....	23
Gambar 4.4 Struktur Kimia Diterpen.....	24
Gambar 4.5 Karakterisasi <i>Porphyromonas gingivalis</i> .....	24
Gambar 4.6 Zona Hambat Kelompok Kontrol dan Perlakuan.....	26
Gambar 4.7 Pengukuran Zona Hambat pada Resinoid 12mg/ml.....	42
Gambar 4.8 Inkubasi 3 dan 6 jam.....	56
Gambar 4.9 Inkubasi Uji Antibakteri 12 jam.....	56
Gambar 4.10 Inkubasi Uji Antibakteri 24 jam.....	57



## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Permasalahan gigi dan mulut di Indonesia menjadi salah satu problematika kesehatan yang cukup besar. Berdasarkan RISKESDAS 2018 sebanyak 57,6% penduduk Indonesia mengalami masalah gigi dan mulut (Balitbangkes, 2018). Salah satu penyakit gigi dan mulut yang memiliki prevalensi tinggi adalah penyakit periodontal yang menempati peringkat ke-2 tertinggi setelah karies (Suanda, 2018). Penyakit periodontal menyerang semua jenjang usia mulai dari anak-anak, remaja bahkan orang dewasa (Mantiri *et al.*, 2018).

Perawatan untuk penyakit periodontal yaitu debridemen jaringan dengan *Scaling and Root Planning* (SRP) menggunakan instrumen. Perawatan ini membersihkan plak atau kalkulus yang terakumulasi di jaringan periodontal terutama di bagian sub gingiva (Hofer *et al.*, 2019). Secara klinis, perawatan ini masih memerlukan perawatan tambahan oleh karena sulitnya jangkauan untuk debridemen pada beberapa bagian seperti furkasi gigi. Penatalaksanaan *antimicrobial Photodynamic Therapy* (aPDT) dan pemberian agen antibakteri dilakukan setelah perawatan SRP untuk mengeliminasi mikroba pencetus penyakit periodontal yang dicurigai masih belum bisa dieliminasi dengan SRP (Pal *et al.*, 2019).

Mikroba yang menyebabkan penyakit periodontal terdiri dari berbagai macam bakteri, salah satu yang mendominasi yaitu bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Bakteri ini tumbuh sangat baik di area subgingiva yang sulit dijangkau oleh instrument karena bersifat anaerob obligat (Phillips *et al.*, 2018). *Porphyromonas gingivalis* membentuk ko-adhesi biofilm sehingga menyebabkan respon inflamasi yang berlebihan dan mendestruksi jaringan. Eliminasi *Porphyromonas gingivalis* setelah perawatan SRP dapat dengan memberikan agen antibakteri. Berbagai agen antibakteri yang umum digunakan pada kasus penyakit periodontal memberikan efek samping neurotoksisitas, genotoksisitas dan menyebabkan *multidrug resistance* (MDR), selain itu *Porphyromonas gingivalis* telah resisten terhadap beberapa agen antibakteri yang sudah ada (How *et al.*, 2016).

& Ledezma & Contreras, 2019). Berdasarkan fakta tersebut, agen antibakteri berbahan alam menjadi salah satu agen antibakteri yang menjanjikan.

Berbagai penelitian menunjukkan bahwa beberapa tumbuhan memiliki sifat antibakteri yang baik (Sriyono & Andriyani, 2013). Salah satu tumbuhan yang berpotensi sebagai antibakteri adalah tembakau. Tembakau mengandung senyawa antibakteri seperti flavonoid, polifenol dan resinoid (Fatimah, 2016, Yan *et al.*, 2019, Popova *et al.*, 2019). Flavonoid pada daun tembakau memiliki antibakteri yang baik (Fatimah, 2016). Penelitian Popova *et al.*, (2019) menunjukkan bahwa resinoid tembakau pada konsentrasi 25 dan 50 mg/ml dapat menghentikan pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* ATCC 6633 dan *Bacillus cereus*.

Tembakau Kasturi dapat dimanfaatkan untuk agen antibakteri. Bagian dari Tembakau Kasturi yang dimanfaatkan adalah daun koseran yang merupakan limbah dan tidak memiliki nilai ekonomis. Pemanfaatan Tembakau Kasturi sebagai agen antibakteri untuk diekstrak resinoidnya masih belum pernah diteliti, oleh karena itu peneliti ingin menganalisis antibakteri resinoid daun Tembakau Kasturi dimulai dari konsentrasi 6, 8, 10 dan 12 mg/ml, khususnya terhadap bakteri *Porphyromonas gingivalis*.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang penelitian yang telah diuraikan, maka dapat dirumuskan permasalahan apakah resinoid daun Tembakau Kasturi pada konsentrasi 6, 8, 10 dan 12 mg/ml dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis*?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Menganalisis peran antibakteri resinoid daun Tembakau Kasturi pada konsentrasi 6, 8, 10 dan 12 mg/ml terhadap pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis*.

## 1.4 Manfaat Penelitian

1. Memberikan pengetahuan mengenai daya antibakteri resinoid daun Tembakau Kasturi terhadap bakteri *Porphyromonas gingivalis*.

2. Sebagai acuan bahan dasar pembuatan agen antibakteri untuk terapi tambahan setelah perawatan SRP pada penyakit periodontal.



## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tembakau

Tembakau merupakan tanaman semusim yang tergolong pada tanaman perkebunan non pangan (Ali & Hariyadi, 2018). Selama ini, pemanfaatan tembakau sebagai bahan utama dalam pembuatan rokok dan cerutu (Ridwan & Mukhlis, 2018). Bagian tanaman yang dimanfaatkan adalah daunnya, dengan kriteria tertentu, daun tembakau yang tidak memenuhi kriteria tidak dimanfaatkan dalam industr rokok dan menjadi limbah (Nurnasari & Subiyakto, 2018)

#### 2.1.1 Klasifikasi Tembakau

Berikut adalah klasifikasi tanaman tembakau menurut Matnawi (1997) :

Klas	: <i>Dycotyledoneae</i>
Ordo	: <i>Personatae</i>
Familia	: <i>Solanaceae</i>
Sub Familia	: <i>Nicotianae</i>
Genus	: <i>Nicotiana</i>
Species	: <i>Nicotiana tabaccum L.</i>

Tanaman tembakau memiliki lebih dari 70 spesies di seluruh dunia dan termasuk dalam famili *solanaceae*. Dua spesies yang banyak dibudidayakan karena nilai ekonomis yang tinggi yaitu *Nicotiana tabaccum L* dan *Nicotiana rustica* (Widiyanto, 2017).

#### 2.1.2 Morfologi Daun Tembakau

Daun tembakau berbentuk bulat lonjong dengan ujung yang meruncing, tulang daun menyirip, dan memiliki tangkai yang langsung menempel pada batang (Matnawi, 1997). Tepi daun agak bergelombang dan licin serta ketebalan daun bervariasi tergantung varietas budidaya. Letak mulut daun merata dan tumbuh berselang-seling. Jumlah daun dalam satu tanaman sekitar 28 – 32 helai dengan lebar daun 2 – 30cm (Ali & Hariyadi, 2018). Lihat gambar 2.1



Gambar 2.1 Morfologi daun tembakau yang berbentuk lonjong dan bertangkai yang menempel langsung pada batang (Sumber : Dokumentasi pribadi, Ledokombo 28 September 2019)

### 2.1.3 Tembakau Kasturi

Tembakau Kasturi merupakan tembakau yang banyak dibudidayakan di Kota Jember. Berdasarkan data Badan Pusat Statistik (2018) tahun 2014 dan 2015 Jember merupakan penghasil tembakau terbanyak di Jawa Timur sebesar 19.393 ton dan 18.511 ton. Sejak tahun 2006 produksi tembakau di Jember cenderung meningkat. Hal ini telah disebutkan oleh Dinas Perkebunan Provinsi Jawa Timur (2013) bahwa areal penanaman tembakau di Jember merupakan areal terluas dibandingkan dengan areal penanaman di kota lain yang rata-rata luasnya dibawah 1000 hektar, sedangkan areal tembakau di Jember seluas 9.791 hektar .

Pembudidayaan Tembakau Kasturi dilakukan di musim kemarau yang dikenal dengan istilah *Vor Oogst* (VO). Pengolahannya dilakukan secara krosok (*leaf type*) dan proses pengeringannya termasuk dalam tipe burley, yaitu dikeringkan dengan bantuan sinar matahari secara langsung. Ciri khas lain yang dimiliki oleh Tembakau Kasturi yaitu aroma yang dimiliki menyerupai coklat (Fatimah, 2016).

Jenis Tembakau Kasturi yang dibudidayakan di Jember adalah Tembakau Kasturi 1 dan Tembakau Kasturi 2 (gambar 2.3) yang merupakan hasil pemuliaan berdasarkan SK Mentan No:132/Ktps/SR.120/2 2007 dan No:33/Ktps/SR.120/2/2007 (Herminingsih, 2014). Kedua varietas tersebut dideskripsikan secara lengkap pada tabel 2.1.



Tabel 2.1 Karakteristik Tembakau Kasturi 1 dan Kasturi 2

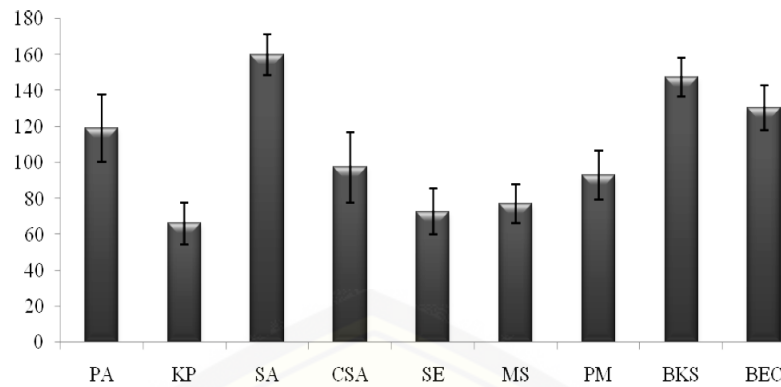
Karakteristik	Kasturi 1	Kasturi 2
Asal varietas	Seleksi massa positif kasturi mawar, Jember	Seleksi massa positif kasturi Ledok Ombo
Bentuk daun	Lonjong	Lonjong
Ujung daun	Meruncing	Meruncing
Tepi daun	Rata	Rata
Permukaan daun	Rata	Rata
Phylotaxi	2/5 putar ke kiri	2/5 putar ke kiri
Indeks daun	0,486	0,529
Jumlah daun	16 – 19 lembar	17 – 19 lembar
Produksi	1,75 ton krosok / ha	1,75 ton krosok / ha
Indeks mutu	81,75 ± 0,98	82,40 ± 1,03
Kadar nikotin	3,21 ± 0,08	3,54 ± 0,04

Sumber : <http://balittas.litbang.pertanian.go.id>

#### 2.1.4 Kandungan Antibakteri Daun Tembakau

Daun tembakau mengandung lebih dari 4000 senyawa kimia yang beberapa diantaranya dapat berperan sebagai antibakteri (Davis & Nielson, 1999; Bakht *et al.*, 2012). Berbagai senyawa bioaktif yang terkandung dalam daun tembakau yang dikeringkan diantaranya yaitu : asam amino, asam lemak, polifenol, alkaloid, dan produk aromatik resinoid yang mengandung berbagai macam kelompok senyawa bioaktif (Tirosastro dan Murdiyati, 2010, Popova *et al.*). Ameya *et al.*, (2017) telah melaporkan bahwa ekstrak daun tembakau memiliki aktivitas antibakteri yang baik pada kultur bakteri uropatogen (Gambar 2.2). Hal ini diduga oleh karena senyawa *Pyridine, 3-(1-methyl-2-pyrrolidinyl)-* yang berspektrum luas.

*Pyridine, 3-(1-methyl-2-pyrrolidinyl)-* merupakan bagian dari senyawa volatil yang didapatkan dari ekstrak etil asetat daun tembakau. Ekstrak tersebut kemudian dianalisis dengan GC-MS. *Pyridine, 3-(1-methyl-2-pyrrolidinyl)-(S)* memiliki *peak* tertinggi. Rumus kimia dari senyawa ini adalah  $C_{10}H_{14}N_2$  dengan waktu retensi 7.57 (Ameya *et al.*, 2017).



Gambar 2.2 Daya hambat ekstrak daun tembakau terhadap beberapa bakteri [PA – *P. aeruginosa* ; KP – *K. pneumonia*, ; SA – *S. aureus* ; CSA – *Clinical S. aureus* ; SE – *Salmonella enterica* ; MS – *Micrococcus Sp* ; PM – *P. mirabilis* ; BKS – *biofilm forming Klebsiella sp.*; BEC – *biofilm forming E. Coli*] (Sumber : Amyea *et al.*, 2017)

### 2.3 Resinoid

Resinoid merupakan salah satu produk aromatik yang didapatkan dari tanaman tembakau (Tasheva *et al.*, 2019). Resinoid memiliki aroma yang sangat spesifik. Beberapa senyawa yang terdapat di resinoid tembakau yaitu; asam fenol, nikotin, fitol, n-eikosanol, asam linoleat, asam palmitat dan yang lainnya. Resinoid daun tembakau memiliki sifat antibakteri dan sudah diuji pada bakteri *Staphylococcus epidermidis* dan *Satphylococcus aureus* (MBC 0,2%) (Popova *et al.*, 2015).

Varietas tanaman tembakau juga menentukan komponen dan sifat antibakteri yang berbeda. Penelitian yang dilakukan oleh Popova *et al.*, (2019) menunjukkan bahwa tiga varietas tanaman tembakau yaitu; *Burley Tobacco* (BU), *flue-cured Virginia Tobacco* (FCV) dan *Oriental Tobacco* (OR) masing-masing memiliki kandungan senyawa bioaktif dengan kadar dan kemampuan antibakteri yang berbeda. Resinoid tembakau dengan kemampuan antibakteri yang tinggi dimiliki oleh varietas *Oriental Tobacco*, sedangkan dua varietas yang lain tidak memiliki sifat antibakteri yang signifikan.

Kemampuan antibakteri resinoid tembakau yang berbeda-beda pada setiap varietas tembakau diduga karena kandungan hidrokarbon yang tinggi. Resinoid *Oriental Tobacco* mengandung senyawa bioaktif yang lebih kompleks dan kandungan nikotin yang sangat rendah (5,73%) dibandingkan dengan varietas *Burley Tobacco* (28,27%) dan *flue-cured Virginia Tobacco* (45,71%). Kandungan



asam fenolat juga berbeda pada setiap varietas, *Oriental Tobacco* dan *flue-cured Virginia Tobacco* memiliki kandungan asam fenolat yang lebih tinggi dibandingkan dengan *Burley Tobacco* (Popova *et al.*, 2015).

## 2.4 *Porphyromonas gingivalis*

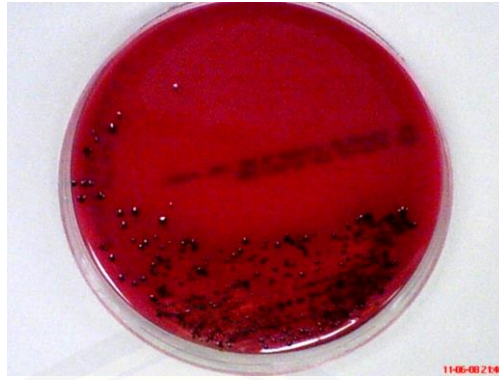
### 2.4.1 Klasifikasi *Porphyromonas gingivalis*

Parks, D. H. *et al.*, (2018) pada “*The Genome Taxonomy Database*” (GTDB) mengklasifikasikan *Porphyromonas gingivalis* dalam taksonomi sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Bacteria</i>
Phylum	: <i>Bacterioidetes</i>
Class	: <i>Bacteroides</i>
Ordo	: <i>Bacteriales</i>
Family	: <i>Porphyromonadaceae</i>
Genus	: <i>Porphyromonas</i>
Species	: <i>Porphyromonas gingivalis</i>

### 2.4.2 Morfologi *Porphyromonas gingivalis*

*Porphyromonas gingivalis* merupakan bakteri gram negatif non-motil yang terlibat dalam patogenesis penyakit periodontal. Bakteri ini membentuk koloni hitam pada kultur *blood agar*, lihat gambar 2.4. warna hitam pada kultur tersebut muncul setelah 6 sampai 10 hari oleh karena akumulasi *heme* yang telah teroksidasi (Shah dan Collinns, 1998 dalam How *et al.*, 2016). Pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis* dipengaruhi oleh suhu dan adanya karbohidrat. Suhu maksimal untuk pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis* yaitu 37° C. *Porphyromonas gingivalis* dapat tumbuh pada media agar darah (*blood agar*) dan media *Brain Heart Infusion* (BHI) (Ashshobirin *et al.*, 2014; Kadowaki *et al.*, 2004).



Gambar 2.4 Kultur bakteri *Porphyromonas gingivalis* pada *blood agar* (sumber : How *et al.*, 2016)

Bakteri *Porphyromonas gingivalis* memiliki beberapa faktor virulen dalam penyakit periodontal, yaitu enzim hyaluronidase, aminopeptidase, kolagenasi dan lipopolisakarida. Lipopolisakarida merupakan komponen penting pada membrane sel dengan komponen yang terdiri dari o-antigen, oligosakarida dan lipid A. Lipid A merupakan komponen yang paling dalam pada regio biologi aktif dari lipopolisakarida berperan pada deregulasi system imun bawaan, berinteraksi dengan *toll-like receptor 2* dan *4*. Pola alkilasi pada lipid A sangat heterogen dan membantu bakteri mampu bertahan pada host. Secara keseluruhan lipopolisakarida mampu mengaktivasi respon inflamasi pada host dan dapat mengganggu proses remodeling (How *et al.*, 2016).

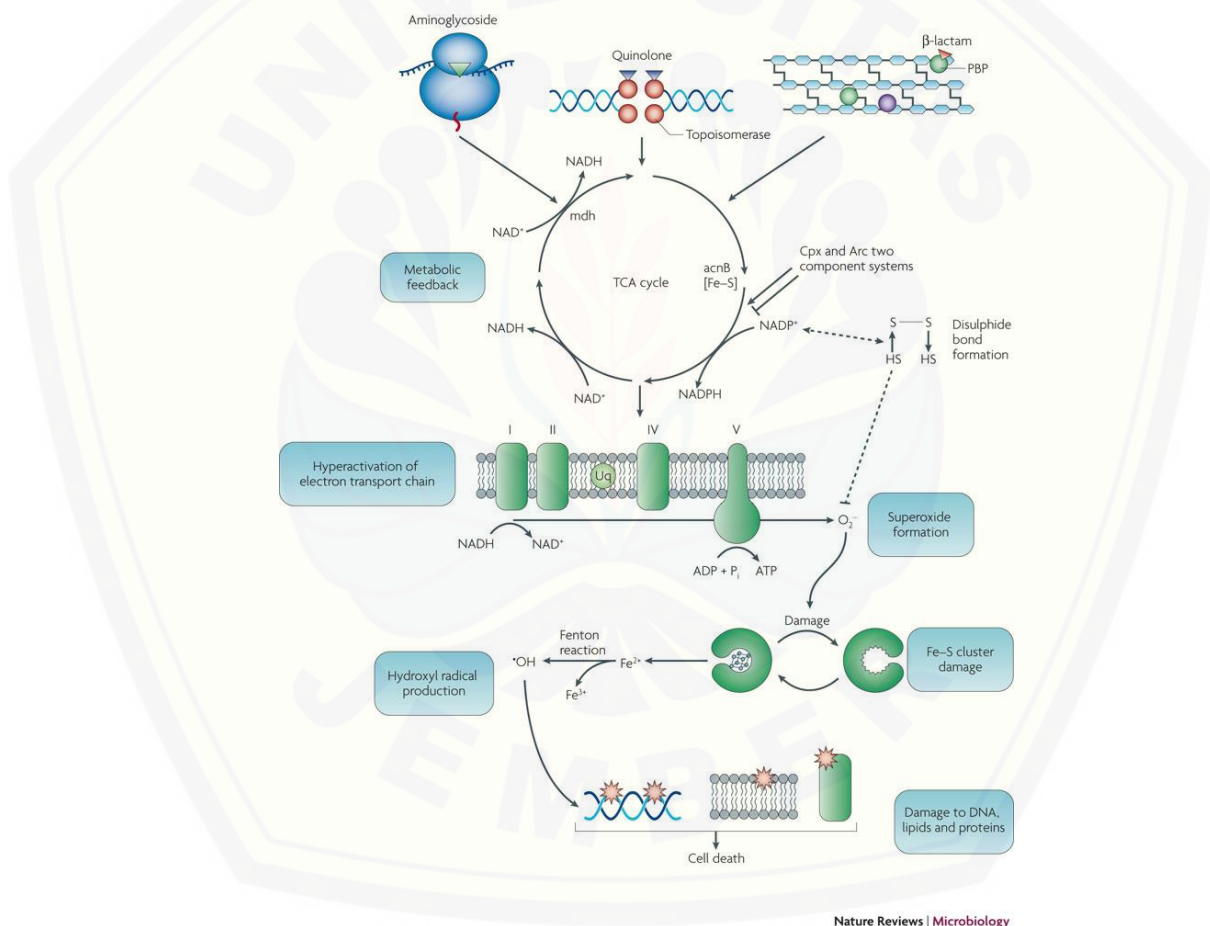
## 2.5 Mekanisme Agen Antibakteri

Mekanisme kerja antibakteri terdapat dua, yaitu bakteristatik dan bakterisidal. Mekanisme antibakteri yang menyebabkan bakteri mati disebut dengan bakterisidal, sedangkan antibakteri yang menghambat pertumbuhan bakteri disebut dengan bakteristatik. Kedua mekanisme ini sulit untuk ditentukan karena tidak ada batas yang jelas, pada agen antibakteri yang bersifat bakteristatik mampu berubah menjadi bakterisidal apabila konsentrasinya tinggi (Aminov, 2010).

Mekanisme antibiotik yang tergolong dalam bakterisidal diantaranya yaitu dengan merusak dinding sel bakteri. Contoh dari golongan obat ini yaitu obat-obatan  $\beta$ -laktam. Obat-obatan ini melakukan proses disintegrasi pada peptidoglikan dengan memecah peptida yang menyambungkan antara lapisan peptidoglikan. Contoh obat lain yang menargetkan dinding sel bakteri yaitu daptomycin yang

mendepolarisasi membran yang bergantung pada kalsium, sehingga menyebabkan penghentian sintesis makromolekul dan menghancurkan dinding sel bakteri (Kohanski *et al.*, 2010 ; Alborn *et al.*, 1991 dalam Etebu dan Arikekpar, 2016). Mekanisme kerja antibakteri bakterisidal dapat dilihat pada gambar 2.5.

Agen antibiotik yang bekerja dengan mekanisme bakteriostatik menghambat pertumbuhan bakteri, contoh dari golongan ini adalah klindamisin dan kloramfenikol. Sintesis protein pada bakteri dihambat sehingga pertumbuhan bakteri terhambat bahkan terhenti. Antibiotik golongan bakteriostatik tidak memproduksi radikal bebas seperti hidroksil, sehingga DNA tidak terganggu dan bakteri tetap bertahan (Bertanova *et al.*, 2013)

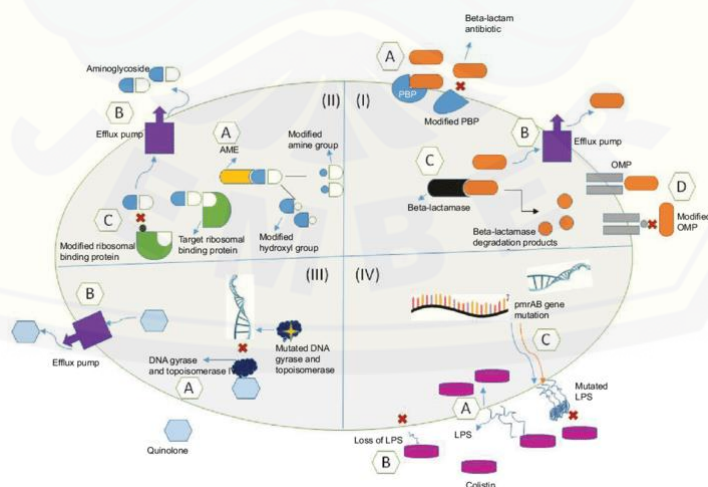


Gambar 2.5 Mekanisme kerja antibiotik bakterisidal oleh aminoglikosid, quinolon dan  $\beta$ -laktam yang menstimulasi oksidasi NADH melalui rantai transport elektron yang bergantung pada siklus TCA. Rantai tranport elektron juga menstimulasi superoksida yang dapat merusak DNA, lipid dan protein sehingga menyebabkan kematian sel. (Sumber : Kohanski *et al.*, 2010)

## 2.6 Mekanisme resisten antibiotik

Resistensi bakteri terhadap antibiotik dapat disebabkan oleh transfer gen pada bakteri secara horizontal dan vertikal. Gen resisten ditransfer melalui elemen-elemen genetik seperti plasmid, bakteriofag dan transporon. Mekanisme resisten yang terjadi yaitu transformasi, konjugasi dan transduksi. Ketika gen resisten telah ditransfer pada bakteri, maka kemampuan resisten lebih besar. Oleh karena itu, tingkat resistensi bakteri semakin lama semakin besar (Burmeister, 2015).

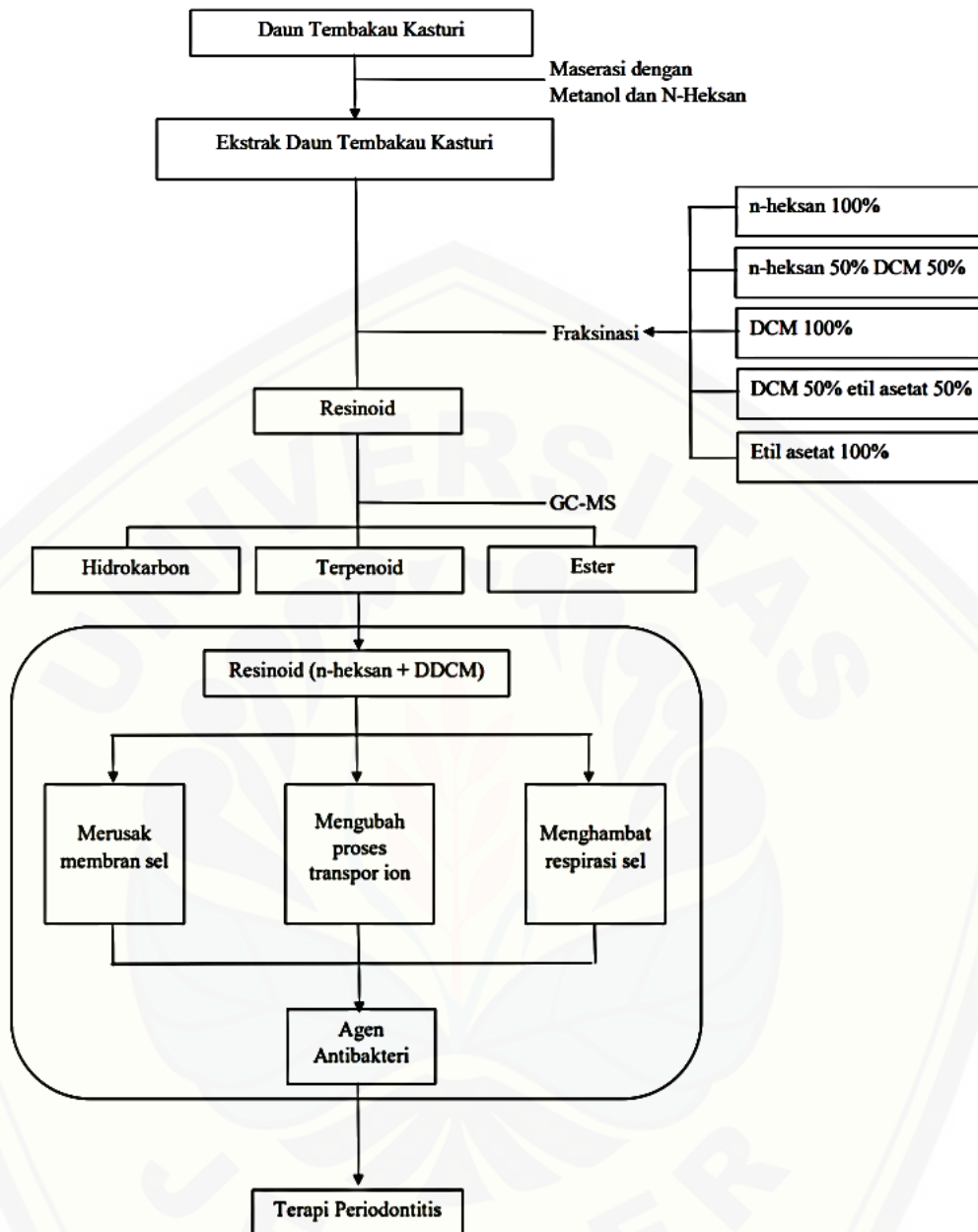
Bakteri yang memiliki gen resisten dapat menolak antibiotik untuk masuk ke dalam sel dengan melakukan pemompaan, memodifikasi protein target antibiotik dan menghasilkan enzim untuk memecah antibiotik. Pemompaan atau dikenal dengan *efflux pump* yang dilakukan oleh bakteri terjadi sebelum antibiotik kontak dengan targetnya. Pemompaan dilakukan oleh protein transpor membran hasil dari *coding* terhadap gen resisten. Selain pemompaan, bakteri juga telah memiliki enzim degradasi antibiotik dan protein target yang telah dimodifikasi. Enzim degradasi antibiotik menghancurkan antibiotik sehingga antibiotik tidak aktif dan tidak pernah berkontak dengan target. Sedangkan protein target yang telah termodifikasi contohnya adalah *penicillin binding protein* yang ada pada lapisan peptidoglikan. Ketika struktur protein telah berubah oleh karena *coding* gen yang bersifat resisten, maka struktur protein berubah dan tidak kompatibel lagi dengan antibiotik (Pratiwi, 2017). Diagram berbagai macam resisten antibiotik dapat dilihat pada gambar 2.6.



Gambar 2.6 Berbagai mekanisme resistensi pada antibiotik (I) bakteri dengan *efflux pump* dan protein target yang telah mengalami modifikasi (II) dan (III) bakteri dengan *efflux pump* dan (IV) bakteri dengan protein yang telah termodifikasi. (Sumber : Asif *et al.*, 2018)



## 2.7 Kerangka Konsep Penelitian



## 2.8 Hipotesis Penelitian

Resinoid daun Tembakau Kasturi memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis*.

## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Metode yang digunakan untuk penelitian ini yaitu eksperimental laboratoris dengan rancangan *The posttest only control group design*.

### 3.2 Tempat Penelitian

- a. Fakultas Farmasi Universitas Jember untuk melakukan pengeringan limbah daun Tembakau Kasturi dan ekstraksi resinoid limbah daun Tembakau Kasturi.
- b. Pembuatan resinoid daun Tembakau Kasturi dilakukan di Laboratorium Kimia (*Drug Utilization and Discovery Research Group* - DUDRG) Fakultas Farmasi Universitas Jember.
- c. Pengenceran resinoid daun Tembakau Kasturi di Laboratorium Farmasetika Fakultas Farmasi Universitas Jember.
- d. Uji aktivitas antibakteri dilakukan di Laboratorium *Bioscience* Rumah Sakit Gigi dan Mulut, Universitas Jember.

### 3.3 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September 2019 – Juli 2020, yang telah memperoleh perizinan dan persetujuan layak etik dari Unit Etika dan Advokasi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember (Lampiran 3.1)

### 3.4 Variabel Penelitian

- a. Variabel bebas  
Variabel bebas pada penelitian ini adalah Resinoid daun Tembakau Kasturi (*Nicotiana tabacum*) pada konsentrasi 6 mg/ml, 8 mg/ml, 10 mg/ml dan 12 mg/ml serta waktu paparan yaitu 3 jam, 6 jam, 12 jam, 24 jam dan 48 jam.
- b. Variabel Terikat  
Variabel terikat pada penelitian ini adalah pertumbuhan bakteri dengan parameter berupa diameter zona hambat bakteri *Porphyromonas gingivalis*.
- c. Variabel terkendali

Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah isolate bakteri *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277  $1,5 \times 10^8$  CFU, media blood agar, diameter kertas cakram (6 mm), suhu inkubasi (37°C), daun Tembakau Kasturi yang sesuai kriteria sampel, dan sterilisasi alat dan bahan.

### 3.5 Definisi Operasional

- a. Resinoid daun Tembakau Kasturi (*Nicotiana tabacum* L.) merupakan ekstrak dari daun tembakau jenis kasturi berkualitas rendah yang diambil pada daun bagian bawah, berasal dari Kecamatan Ledokombo, Kabupaten Jember, Jawa Timur yang diekstrak dengan metode maserasi dan fraksinasi menggunakan *methanol*, *n-hexane*, dan *ethyl acetate* dan telah bebas nikotin dengan indikator warna kuning saat diuji dengan reagen *dragendorff*. Konsentrasi yang digunakan adalah 6 mg/ml, 8 mg/ml, 10 mg/ml dan 12 mg/ml. Parameter senyawa bioaktif dengan dilakukannya uji GC-MS.
- b. Zona hambat adalah wilayah jernih di sekeliling kertas cakram dan diukur dengan jangka sorong dalam satuan milimeter untuk mengetahui kekuatan daya hambat resinoid daun Tembakau Kasturi (*Nicotiana tabacum* L) terhadap pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*.
- c. *Porphyromonas gingivalis* merupakan stok bakteri Gram negatif anaerob berbentuk batang dari Laboratorium *Bioscience*, Rumah Sakit Gigi dan Mulut Universitas Jember yang telah diidentifikasi melalui pemeriksaan pengecatan Gram.
- d. Uji daya hambat merupakan suatu metode untuk mengetahui kemampuan agen antibakteri yang ditandai dengan terbentuknya daerah bening di sekeliling kertas cakram pada waktu pengamatan 3, 6, 12, 24 dan 48 jam metode yang digunakan yaitu *disc diffusion* oleh Kirby-Bauer.



### 3.6 Pengelompokan Sample Penelitian

Terdapat kelompok perlakuan dengan empat kertas cakram pada perlakuan ekstrak resinoid, dua kertas cakram untuk masing-masing kelompok pelarut :

- a. Pelarut I : DMSO 0,8% dengan 2 kertas cakram pada sampel bakteri
- b. Pelarut II : DMSO 1,6% dengan 2 kertas cakram pada sampel bakteri
- c. Pelarut III : DMSO 3,2% dengan 2 kertas cakram pada sampel bakteri
- d. Pelarut IV : DMSO 6,4% dengan 2 kertas cakram pada sampel bakteri
- e. Perlakuan 1 : resinoid konsentrasi 6 mg/ml sebanyak 4 kertas cakram pada sampel bakteri
- f. Perlakuan 2 : resinoid konsentrasi 8 mg/ml sebanyak 4 kertas cakram pada sampel bakteri
- g. Perlakuan 3 : resinoid konsentrasi 10 mg/ml sebanyak 4 kertas cakram pada sampel bakteri
- h. Perlakuan 4 : resinoid konsentrasi 12 mg/ml sebanyak 4 kertas cakram pada sampel bakteri

Sehingga jumlah sampel kertas cakram yang akan digunakan pada penelitian adalah sebanyak 24 kertas cakram dan dilakukan penghitungan oleh 3 pengamat.

### 3.7 Alat dan Bahan Penelitian

#### 3.7.1 Alat Penelitian

Alat untuk ekstraksi resinoid yaitu :

- a. Toples kaca dilengkapi dengan tutupnya
- b. Gelas ukur
- c. Labu erlenmeyer
- d. Tabung reaksi

Alat untuk pengenceran konsentrasi ekstrak yaitu :

- a. Mikropipet
- b. Tabung reaksi
- c. *Thermolyne*
- d. Timbangan *milimeter*
- e. Mikrotip
- f. *Microtube*
- g. *Microfilter 0,22 $\mu$ m miliphore (MA 01730, USA)*
- h. *Syringe*

Alat untuk uji antibakteri yaitu :

- a. Tabung erlenmeyer
- b. *Petridish* tidak bersekat
- c. Ose
- d. Bunsen
- e. Tabung reaksi
- f. *Spreader*
- g. Desikator
- h. Jangka Sorong
- i. Mikropipet

### 3.7.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya :

- a. Daun Tembakau Kasturi diperoleh dari Kecamatan Ledokombo, Kabupaten Jember, Jawa Timur
- b. Bakteri *Phorpyromonas gingivalis*
- c. Media *blood agar plate*
- d. Media BHIB
- e. *Aquadest*
- f. Masker dan sarung tangan
- g. HCl 10%
- h. *Methanol*
- i. *Ethyl acetate*
- j. *N-hexane*

- k. *Aquadest*
- l. *Reagent dragendorf*
- m. *Blank discs* 6mm
- n. Spidol dan kertas label
- o. Masker dan sarung tangan

### 3.8 Prosedur Penelitian

#### 3.8.1 Tahap Persiapan

Tahap persiapan Penelitian dimulai dengan surat ijin penelitian (Lampiran 3.1).

#### 3.8.2 Ekstraksi dan fraksinasi resinoid daun Tembakau Kasturi

Daun tembakau dicuci bersih dan dikeringkan dengan cara kering angin pada suhu kamar. Daun tembakau yang sudah kering dihaluskan dengan menggunakan blender. Daun tembakau yang sudah dihaluskan kemudian ditimbang sebanyak 100 gram dan dimasukkan dalam labu Erlenmeyer dan ditambahkan methanol dengan perbandingan 1 (sampel) : 6 (pelarut) kemudian didiamkan 10 menit. Ekstrak metanol disaring sampai pelarut jernih kemudian ditambahkan n-heksan dan distirer selama 20 menit. Ekstraksi n-heksan ditambahkan HCl 10% kemudian distirer selama 30 menit kemudian diuji dengan *Dragendorff Reagent* untuk menguji bebas nikotin (Qian *et al.*, 2014 dan Afdilla, 2019).

Hasil evaporasi yang dihasilkan kemudian dimasukkan ke dalam kolom kromatografi yang sudah diisi dengan *silica gel*. selanjutnya diberi pelarut n-heksan 100%; n-heksan 50%; DCM (*Dichloromethane*) 50%; DCM 100%; DCM 50%; etil asetat 50% dan etil asetat 100% (Qian *et al.*, 2014 dan Afdilla, 2019).

Hasil ekstraksi dari *soft* kromatografi dianalisis menggunakan GC-MS Thermo ISQ (ThermoFisher, Radano, Italy) yang dilengkapi dengan kolom DB-5MS, digunakan sistem ionisasi elektron dengan energi ionisasi 70Ev. Gas helium digunakan sebagai gas pembawa pada laju aliran konstan 1ml/menit. Sampel ekstrak kental daun Tembakau Kasturi sebanyak 1ml diinjeksikan ke GC-MS yang dioperasikan dengan kolom kaca panjang 30 m, diameter 0,25 mm dan ketebalan 0,25  $\mu$ m. Temperatur kolom diprogram dari suhu awal 160°C, kemudian ditahan

selama 2 menit, setelah itu suhu kolom ditingkatkan 10°C/menit sampai 210°C, selanjutnya ditahan selama 35 menit kemudian suhu kolom ditinggikan kembali 10°C/menit hingga mencapai 250°C. Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan *software* GC-MS yang dilengkapi dengan perpustakaan senyawa. Hasil berupa kromatogram-kromatogram dan spektra massa digunakan untuk analisis kualitatif berupa struktur senyawa (Qian *et al.*, 2014 dan Afdilla, 2019).

### 3.8.3 Pengenceran resinoid daun Tembakau Kasturi

Penelitian ini menggunakan resinoid daun tembakau daun kasturi yang diencerkan menggunakan DMSO 1%. Pengenceran dilakukan dengan menggunakan rumus :

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

Ket:

V1: Volume awal ekstrak resinoid daun tembakau

M2: Konsentrasi awal ekstrak resinoid daun tembakau

V2: Volume akhir ekstrak resinoid daun tembakau

M2: Konsentrasi akhir ekstrak resinoid daun tembakau

FHasil penghitungan kebutuhan DMSO dan resinoid terlampir di Lampiran 3.2

### 3.8.4 Pembuatan Media Kultur

Pada penelitian ini digunakan media kultur *Blood agar* yang ditambahkan 5% *sheep blood* yang siap digunakan dan sudah dikemas dalam *petridish*. *Blood agar base* didapatkan dari laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran, *Blood Agar (base)* – Merck KGaA 1.10886.0500. 10 gram *blood agar base* dilarutkan dengan aquades, kemudian di stirrer dengan *magnetic stirrer* dan *hot plate*. *Blood agar* kemudian disterilkan dengan autoclave selama 15 menit dengan suhu 121°C. *Sheep blood* ditambahkan setelah suhu *blood agar base* 40°C, dihomogenkan. Media yang telah homogen dituangkan ke petri (*Merck Microbiology Manual 12<sup>th</sup> Ed*, diakses pada Juni 2020).

### 3.8.5 Pembuatan suspensi bakteri *Porphyromonas gingivalis*

Suspensi dibuat dengan mengambil 1 ose bakteri *Porphyromonas gingivalis* dari sediaan biakan dan dilarutkan dalam 1cc larutan saline/PZ pada tabung reaksi

hingga mencapai 0,5 *Mc farland* atau sebanding dengan jumlah bakteri  $1,5 \times 10^8$  CFU/mL. Tahap pembuatan suspensi *Porphyromonas gingivalis* dilakukan di dalam *laminar flow*, sehingga steril (Cappucino & Sherman, 2014).

### 3.8.6 Inokulasi bakteri

Inokulasi bakteri dilakukan menggunakan teknik *spread plate* pada media kultur *blood agar plate* pada bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Media kultur terlebih dahulu dibagi menjadi empat bagian menggunakan spidol, dan diratakan di atas permukaan media kultur menggunakan swab steril hingga merata sebanyak 100 $\mu$ l. Tahapan inokulasi dilakukan di dalam *laminar flow* (Bereksi *et al.*, 2018).

### 3.8.7 Uji daya hambat antibakteri

Uji daya hambat antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode *disc-diffusion* pada media kultur *Blood agar plate* pada uji antibakteri *Porphyromonas gingivalis*. Kertas cakram steril 6 mm direndam dengan resinoid daun Tembakau Kasturi konsentrasi 6 mg/ml, 8 mg/ml, 10 mg/ml dan 12 mg/ml. Sebagai kontrol pelarut kertas cakram steril 6mm dioles dengan bahan DMSO 0,8%, 1,6%, 3,2% dan 6,4% (Cappucino & Sherman, 2014).

Cakram direndam pada tiap kelompok perlakuan selama 30 menit. Kemudian kertas cakram tersebut ditempelkan di atas masing-masing permukaan media kultur yang telah diinokulasi dengan biakan bakteri menggunakan pinset steril. Setelah itu, kertas cakram ditekan secara perlahan menggunakan pinset steril untuk memastikan bahwa kertas cakram sudah benar-benar menempel pada masing-masing media kultur yang digunakan. Cara peletakan kertas cakram pada media kultur untuk kelompok pelarut I s/d pelarut IV dilakukan seperti pada kelompok perlakuan. Tahapan uji antibakteri dilakukan di dalam *laminar flow*. Media kultur dibalik supaya uap pada permukaan tutup media kultur tidak jatuh mengenai permukaan media kultur. Kemudian, dilakukan inkubasi selama 3, 6, 12, 24 dan 48 jam pada suhu 37° C dengan kondisi anaerobik (Cappucino & Sherman, 2014).

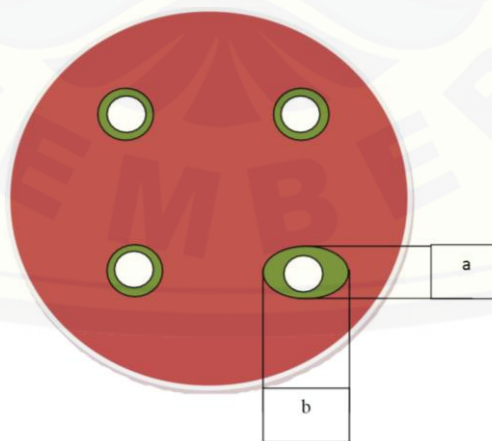
### 3.8.8 Pengukuran Zona Hambat



Pengukuran diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* dilakukan menggunakan jangka sorong sebanyak 3 kali oleh 3 orang pengamat yang berbeda. Pengukuran dilakukan setelah inkubasi bakteri selama 12, 24, 36 dan 48 jam. Zona hambat adalah daerah atau wilayah jernih yang tampak di sekeliling kertas cakram. Konsentrasi dikatakan memiliki aktivitas terhadap mikroorganisme apabila diameter zona hambat lebih dari 7 mm. Cara pengukuran zona hambat yaitu apabila zona hambat berbentuk lingkaran maka pengukuran dilakukan dengan mengukur diameter dari zona hambat. Apabila zona hambat berbentuk lonjong, maka pengukuran dilakukan pada diameter zona hambat yang panjang (misal a mm) dan diameter zona hambat yang pendek (misal b mm) kemudian keduanya dijumlah dan dibagi dua. Jadi diameter zona hambatnya =  $\frac{a+b}{2}$  (Majidah, 2014).

Hasil pengukuran dikelompokkan ke dalam klasifikasi Popova (2019), yaitu:

- Resisten (tidak memiliki sifat antibakteri / memiliki kemampuan antibakteri yang tidak signifikan) apabila diameter zona hambat < 12 mm
- Cukup sensitif (memiliki kemampuan antibakteri yang moderat) apabila diameter zona hambat 12 – 18 mm
- Sensitif (kemampuan antibakteri sangat kuat) apabila diameter zona hambat > 18 mm

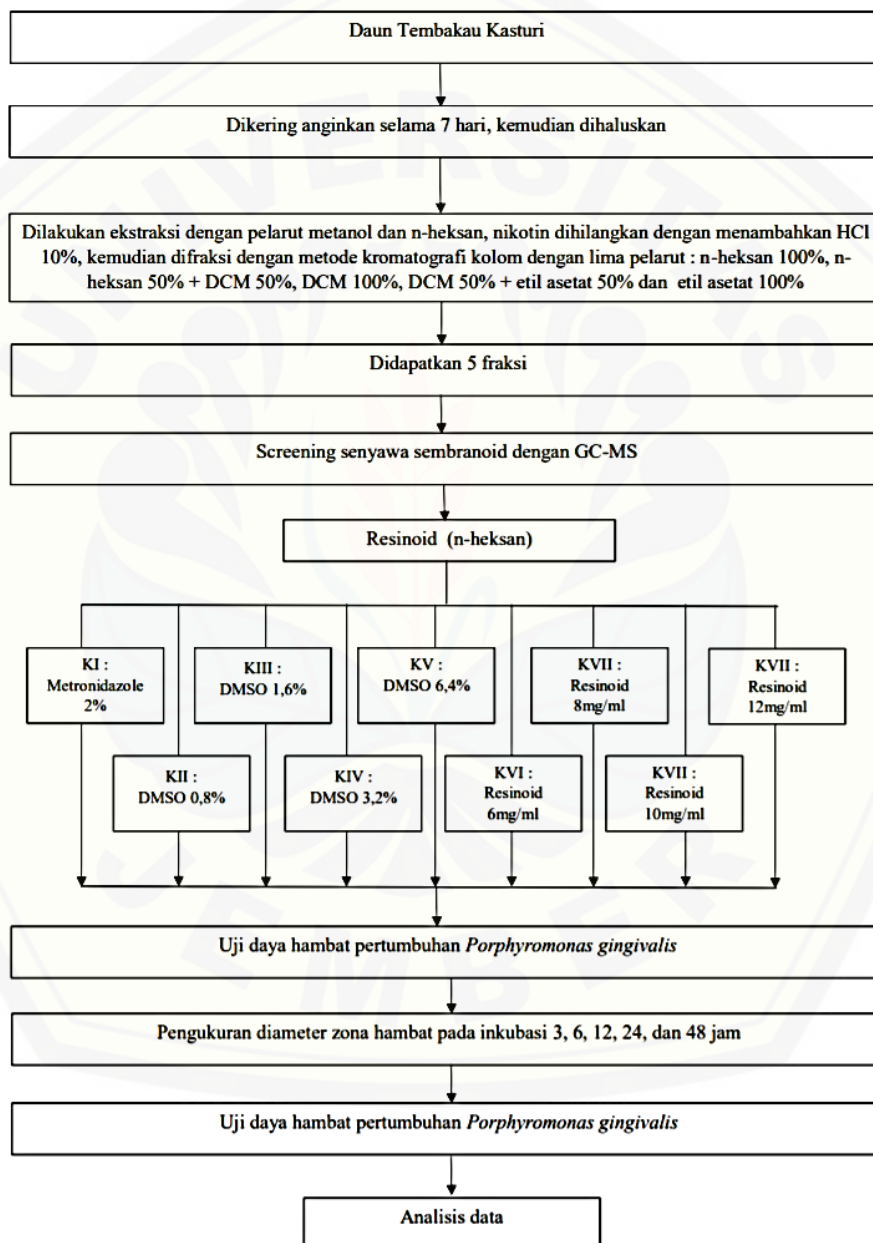


Gambar 3.1 Pengukuran zona hambat bakteri yang berbentuk lonjong dan desain peletakan disc, a: diameter terpendek, b: diameter terpanjang, warna putih menunjukkan kertas cakram ukuran 6 mm, warna hijau menunjukkan zona hambat, warna merah menunjukkan media agar.

### 3.9 Analisis Data

Pada penelitian ini, data yang didapat dianalisis menggunakan SPSS, yang diawali dengan uji normalitas data. Apabila data berdistribusi normal maka uji selanjutnya yaitu dengan One Way ANOVA apabila data tidak berdistribusi normal maka data akan diuji dengan Kruskal Wallis.

### 3.10 Bagan Alur Penelitian





## BAB 5. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan beberapa hal berikut :

- a. Resinoid daun Tembakau Kasturi tidak memiliki daya hambat secara signifikan terhadap pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* yang merupakan bakteri penyebab penyakit periodontal
- b. Waktu paling efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* adalah 12 jam inkubasi

### 5.2 Saran

- a. Identifikasi bakteri perlu dilakukan lebih detail sampai uji biokimia dan uji genetis yang spesifik
- b. Melakukan identifikasi pertumbuhan bakteri untuk menentukan fase pertumbuhan logaritmik yang tepat
- c. Eliminasi senyawa hidrokarbon pada resinoid daun Tembakau Kasturi, sehingga didapatkan isolat senyawa bioaktif yang memiliki kemampuan antibakteri yang baik
- d. Perlu dilakukan penelitian secara *in silico* untuk mengetahui resistensi bakteri *Porphyromonas gingivastlis*

## DAFTAR PUSTAKA

- Afrina, S. Chismirina, dan C.R.P. Aulia. 2016. Konsentrasi Hambat dan Bunuh Minimum Ekstrak Buah Kapulaga (*Amomum compactum*) terhadap *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. *Journal of Syiah Kuala Dentistry Society*, 1(2): 192-200.
- Afdilla, F. D. 2019. Efek Fraksi Senyawa Sembranoid Daun Tembakau Kasturi Terhadap Viabilitas Sel Kanker Payudara. *Skripsi*. Jember: Universitas Jember
- Ali, M. dan B.W. Hariyadi. 2018. Teknik Budidaya Tembakau. <https://doi.org/10.31219/osf.io/zy3eb> [Diakses pada 21/05/2019].
- Ameya, G., A. Manilal, dan B. Merdekios. 2017. In vitro Antibacterial Activity and Phytochemical Analysis of *Nicotiana tabacum* L. Extracted in Different Organic Solvents. *The Open Microbiology J*, 11: 352-359
- Aminov, R.I. A Brief History of the Antibiotic Era: Lessons Learned and Challenges for the Future. *Frontiers in Microbiology*, 1(134): 1-7.
- Aqil, F., M. Zahin, K.A. El Sayed, I. Ahmad, K.Y. Orabi, dan J.M. Arif. 2011. Antimicrobial, Antioxidant, and Antimutagenic Activities of Selected Marine Natural Products and Tobacco Sembranoid. *Informa Healthcare-Drug and Chemical Toxicology*, 34(2): 167-179.
- Ardhyarini, S.I. 2017. Efek Knockdown Ekstrak Daun Tembakau (*Nicotiana Tobacum*) sebagai Insektisida Alami Stadium Dewasa Nyamuk *Aedes Aegypti*. *Skripsi*. Malang: Universitas Muhammadiyah Malang
- Ashshobirin, A., A.B. Dhartono, C.A. Ramadhany, dan A. Taqwim. 2014. Efektivitas Antibakteri Ekstrak Kayu Siwak (*Salvadora persica*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Porphyromonas gingivalis*. *BIMKGI*, 2(1): 12-23.
- Asif, M., I.A. Alvi, dan S.U. Rehman. 2018. Insight into *Acinetobacter baumannii*: Pathogenesis, Global Resistance, Mechanism of Resistance, Treatment Options and Alternativemodalities. *Infect Drug Resist*, 11: 1249–1260.

- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan (Balitbangkes) <http://www.depkes.go.id/resources/download/info-terkini/hasil-risikesdas-2018.pdf> [Diakses pada 20/03/2019].
- Badan Pusat Statistik. <https://jatim.bps.go.id/statictable/2018/02/08/920/produksi-perkebunan-tembakau-di-jawa-timur-ton-2006-2015-.html> [Diakses 22 Maret 2019].
- Bakht, J., Azra, dan M. Shafi. 2012. Antimicrobial Activity of *Nicotiana tabacum* Using Different Solvens Extract. *Pakistan Journal of Botany*, 44(1):459-463.
- Bertanova, S., O. Samek, Z. Pilat, M. Sery, J. Jezek, P. Jakl, M. Siler, V. Krzyzanek, P. Zemanek, V. Hola, M. Dvorackova, dan F. Ruzicka. 2013. Following the Mechanism of Bacteriostatic versus Bactericidal Action Using Raman Spectroscopy. *Molecules J*, 18: 13188-13199.
- Bereksi, M.S., Hassaine, H., Bekhechi, C. dan Abdelouahid, D. B. 2018. Evaluation of antibacterial activity of some Medicinal Plants Extract Commonly Used in Algerian Traditional medicine against som Pathogenic Bacteria. *Pharmacogn J*, 10(3) : 507 – 512
- Burmeister, A.R. 2015. Horizontal Gene Transfer. *Evolution, Medicine and Public Health Oxford University Press*, 1: 193-194.
- Cappucino, J. G. dan Sherman, N. 2014. Microbiology : a Manual. Jakarta : EGC.
- Davis, D.L. dan M.T. Nielson. 1999. *Basic Chemical constituents of Tobacco Leaf and Differences Among Tobacco Types*. New Jersey: Blackwell Science.
- Dinas Perkebunan Provinsi Jawa Timur. 2013. *Mekanisme Pengolahan Tanah dan Pasca Panen Tembakau Kasturi*. Surabaya: Dinas Perkebunan Provinsi Jawa Timur.
- Djajadi. 2015. Tobacco Diversity in Indonesia. *Journal of Biological Research*, 20: 27-32.
- Etebu, E. dan I. Ariekpar. 2016. Antibiotics: Classifications and Mechanism of Action with Emphases on Molecular Perspective. *International Journal of Applied Microbiology and Biotechnology Research IJAMBR* 4: 90-101.

- Fatimah, I.A. 2016. Pengaruh Ekstrak Flavonoid Rendah Nikotin Limbah Daun Tembakau Kasturi (*Nicotana tabacum* L.) terhadap Pertumbuhan Mikroba Rongga Mulut. *Skripsi*. Jember: Universitas Jember.
- Gerits, E., N. Verstraeten, dan J. Michiels. 2017. New Approaches to Combat *Porphyromonas gingivalis* Biofilms. *Journal of Oral Microbiology*, 9(1): 1300366.
- Herminingsih, H. 2014. Hubungan Adaptasi Petani terhadap Perubahan Iklim dengan Produktivitas Tembakau pada Lahan Sawah dan Tegalan di Kabupaten Jember. *JSEP (Journal of Social and Agricultural Economics)*, 7(2): 31-44.
- Hofer, D., S.J. Gartenmann, D.B. Wiedemeier, B. Sener, T. Attin, dan P.R. Schmidlin. 2019. Preclinical Competency in Scaling/Root Planing: Comparing Dental and Dental Hygiene Student's Outcomes. *Swiss Dent J*, 129(3): 186-191.
- How, K.Y., K.P. Song, dan K.G. Chan. 2016. *Porphyromonas gingivalis*: An Overview of Periodontopathic Pathogen below the Gum Line. *Front. Microbiol*, 7: 53.
- Kadowaki, T., A. Baba, N. Abe, R. Takii, M. Hashimoto, T. Tsukuda, S. Okazaki, Y. Suda, T. Asao, dan K. Yamamoto. 2004. Suppression of Pathogenicity of *Porphyromonas gingivalis* by Newly Developed Gingipain Inhibitors. *Mol Pharmacol*, 66(6): 1599-1606.
- Kohanski, M.A., D.J. Dwyer, dan J.J. Collins. 2010. How Antibiotics Kill Bacteria: from Targets to Networks. *Nat Rev Microbiol*, 8(6): 423-435.
- Ledezma, J.C.R. dan L. Contreras. 2019. Therapeutic Uses of Metronidazole and Its Side Effects: An Update. *European Review for Medical and Pharmacological Science*, 23: 397-401.
- Majidah, D., D.W.A. Fatmawati, dan A. Gunadi. 2014. Daya Anti Bakteri Ekstrak Daun Seledri (*Apium graveolens* L.) terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans* sebagai Alternatif Obat Kumur. *Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa UNEJ*, 1-6.

- Mantiri, A.N.P., V.N.S. Wowor, dan C.N. Mintjelungan. 2018. Status Periodontal Anak Usia 8-12 Tahun di Sekolah Dasar Negeri 126 Manado. *J. e-GiGi (eG)*, 6 (2): 136-142.
- Matnawi, H. 1997. *Budidaya Tembakau Bawah Naungan*. Yogyakarta : Penerbit Kanisius
- Merck Microbiology Manual 12<sup>th</sup> Edition. [https://www.merckmillipore.com/INTERSHOP/web/WFS/Merck-PE-Site/es\\_ES/-/PEN/ShowDocument-File?ProductSKU=MDA\\_CHEM-110886&DocumentId=201011.048.ProNet&DocumentUID=17600&DocumentType=TI&Language=EN&Country=NF&Origin=PDP](https://www.merckmillipore.com/INTERSHOP/web/WFS/Merck-PE-Site/es_ES/-/PEN/ShowDocument-File?ProductSKU=MDA_CHEM-110886&DocumentId=201011.048.ProNet&DocumentUID=17600&DocumentType=TI&Language=EN&Country=NF&Origin=PDP). (diakses pada Juni, 2020)
- Nurnasari, Elda dan Subiyakto. 2018. Diversifikasi Produk Tembakau Non Rokok. *Perspektif*, 17 (1) : 40 – 51
- Pal, A., S. Paul, R. Perry, dan J. Puryer. 2019. Is the Use of Antimicrobial Photodynamic Therapy or Systemic Antibiotics More Effective in Improving Periodontal Health When Used in Conjunction with Localised Non-Surgical Periodontal Therapy? A Systematic Review. *Dent J (Basel)*, 7(4): 108.
- Parks, D.H., M. Chuvochina, D.W. Waite, C. Rinke, A. Skarszewski, P. Chaumeil, dan P. Hugenholtz. 2018. A Standardized Bacterial Taxonomy Based on Genome Phylogeny Substantially Revises The Tree of Life. *Nature Biotechnology*, 36: 996–1004.
- Phillips, P.L., L. Reyes, E.M. Sampson, E.A. Murrel, J.A. Whitlock, dan A. Progulsk-Fox. 2018. Deletion of a Conserved Transcript PG\_RS02100 Expressed During Logarithmic Growth in *Porphyromonas gingivalis* Results in Hyperpigmentation and Increased Tolerance to Oxidative Stress. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0207295> [Diakses pada 06/07/2020].
- Popova, V., V. Gochev, T. Girova, I. Ilev, T. Ivanova, dan A. Stoyanova, A. 2015. Extraction Products from Tobacco – Aroma and Bioactive Compounds and Activities. *Current Bioactive Compound*, 11(1): 31-37.



- Popova, V., Y. Tumbarski, T. Ivanova, R. Hadjikinova, dan A. Stoyanova,. 2019. Tobacco Resinoid (Nicotiana tabacum L.) as an Active Ingredient of Cosmetic Gels. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 9(9): 111-118.
- Pratiwi, R.H. 2017. Mekanisme Pertahanan Bakteri Patogen terhadap Antibiotik. *Jurnal Pro Life*, 4(3): 418-429.
- Qian, X., Ye, J., Chen, X., Zhang, C., Liang, Y., Li, Z. dan Yang, J. 2014. Analysis of Cembranoids in Flue-cured Tobacco by Accelerated Solvent Extraction and Gas Chromatography-Mass Spectrometry-Selected Ion Monitoring. *Journal of The Chinese Chemical Society*, (61) : 1133 – 1140
- Ridwan, S.P. dan S. Mukhlis. 2018. Rancang Bangun Pembibitan Knock Down Sistem Semi Floating Menggunakan Media Sphagnum Moss pada Bibit Tembakau Kasturi Voor Oogst (*Nicotiana Tabacum*). <https://publikasi.polije.ac.id/index.php/prosiding/article/view/1227/840> [Diakses pada 21 Mei 2019].
- Sriyono, R.A.N. dan I. Andriyani. 2013. Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Manggis (*Garcinia Mangostana Linn.*) terhadap Bakteri *Porphyromonas gingivalis*. *Indonesian Dental Journal*, 2(2): 76-82.
- Suanda, I.W. 2018. Gerakan Masyarakat Hidup Sehat dalam Mencegah Terjadinya Penyakit Gigi dan Mulut. *J. Kesehatan Gigi*, 6(1): 29-34.
- Tasheva, S., V. Popova, T. Ivanova, A. Stoyanova, dan G. Valtchev. 2019. Kinetics Coefficients of Solid-Liquid Extraction of Resinoid from Tobacco Leaves. <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1757-899X/595/1/012057/pdf> [Diakses pada : 19/07/2020].
- Tirosastro, S. dan A.S. Murdiyati. 2010. Kandungan Kimia Tembakau dan Rokok. *Buletin Tanaman Tembakau, Serat & Minyak*, 2(1): 33-43.
- Wang, Q., A. Weinberg, dan R.J. Lamont. 2018. Transcriptome Analysis of *Porphyromonas gingivalis* and *Acinetobacter baumannii* in Polymicrobial Communities. *Mol Oral Microbiol*, 33(5): 364-377.
- Widiyanto, H. 2017. Analisis Efisiensi Faktor Produksi Usaha Tembakau Rakyat (Studi Kasus: Desa Munggangsari, Kecamatan Kaliangkrik, Kabupaten Magelang). *Skripsi*. Semarang: Universitas Diponegoro.



Yan, N., Y. Du, X. Liu, H. Zhang, Y. Liu, dan Z. Zhang. 2019. A Review on Bioactivities of Tobacco Sembranoid Diterpenes. Multidiciplinary Digital Publishing Institute. <https://www.mdpi.com/2218-273X/9/1/30/htm>  
[Diakses pada : 26/05/2019]



## LAMPIRAN

Lampiran 3.1 *Ethical clearance* dan Surat Ijin Penelitian

	KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN (KEPK) FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI UNIVERSITAS JEMBER (THE ETHICAL COMMITTEE OF MEDICAL RESEARCH FACULTY OF DENTISTRY UNIVERSITAS JEMBER)
<b>ETHIC COMMITTEE APPROVAL</b> <u>No.935/UN25.8/KEPK/DL/2020</u>	
Title of research protocol :	"Antibacterial Analysis of Kasturi Tobacco Leaf Resinoid against <i>Porphyromonas Gingivalis</i> "
Document Approved :	Research Protocol
Principal investigator :	Nurhalimah
Member of research :	1. Dr. drg Banun Kusumawardani, M.Kes 2. Larissa Tania, S.Farm 3. Karelina Amarta
Responsible Physician :	Nurhalimah
Date of approval :	Juni 2020-Selesai
Place of research :	1. Laboratorium Drug Utilisation and Discovery Research Group (DUDRC) Fakultas Farmasi UNEJ 2. Laboratorium Biologi Farmasi Fakultas Farmasi UNEJ 3. Laboratorium Kimia Fakultas Farmasi UNEJ 4. Laboratorium Biomedik FKG UNEJ 5. Laboratorium Bioscience RSGM UNEJ
The Research Ethic Committee Faculty of Dentistry Universitas Jember States That the above protocol meets the ethical principle outlined and therefore can be carried out.	
Jember, June 29 <sup>th</sup> 2020	
 Dean of Faculty of Dentistry Universitas Jember (drg. R. Rahardyan P. M. Kes, Sp. Pros.)	 Chairperson of Research Ethics Committee Faculty of Dentistry Universitas Jember (Prof. Dr. drg. I Dewa Ayu Ratna Dewanti, M.Si.)



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

Nomor : 177/UN25.8.TL/2019  
Perihal : Ijin Penelitian

05 SEP 2019

Kepada Yth  
Kepala Bagian Laboratorium Kimia  
Universitas Jember  
Di Jember

Dalam rangka pengumpulan data penelitian guna penyusunan skripsi maka, dengan hormat kami mohon bantuan dan kesediaannya untuk memberikan ijin penelitian bagi mahasiswa kami dibawah ini :

- |    |                        |  |
|----|------------------------|--|
| 1  | Nama                   | : Nurhalimah   |
| 2  | NIM                    | : 161610101038   |
| 3  | Semester/Tahun         | : 2019/2020  |
| 4  | Fakultas               | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember  |
| 5  | Alamat                 | : Dusun Karang Kebon RT 01 / RW 05 Desa Sumberlesung Kec. Ledokombo, Jember.   |
| 6  | Judul Penelitian       | : Analisis Antibakteri Fraksi Sembranoid Daun Tembakau Kasturi terhadap Pertumbuhan Bakteri <i>Porphyromonas gingivalis</i> dan <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> |
| 7  | Lokasi Penelitian      | : Laboratorium Kimia Fakultas Farmasi Universitas Jember   |
| 8  | Data/alat yg di pinjam | : Satu Set Alat Ekstraksi  |
| 9  | Waktu                  | : September 2019 s/d Selesai   |
| 10 | Tujuan Penelitian      | : Membuat fraksi sembranoid daun tembakau kasturi  |
| 11 | Dosen Pembimbing       | : 1. Dr. drg. Banun Kusumawardani, M.Kes.<br>2. Dr. drg. I Dewa Ayu Susilawati, M.Kes.   |

Demikian atas perkenan dan kerjasama yang baik disampaikan terimakasih



Dr. drg. Masniari Novitasari, M.Kes., Sp.OF(K).  
NIP.196311251999032001



  Drug Utilisation and Discovery Research Group (DUDRG)  
Faculty of Pharmacy University of Jember  
Jalan Kalimantan 1/2 Kampus Tegalboto, Jember 68121, ID  
<http://ddrg.farmasi.unej.ac.id> | [arisatia@unej.ac.id](mailto:arisatia@unej.ac.id)

**SURAT PERMOHONAN IZIN MASUK LAB. RISET DUDRG**

Kepada Koordinator Keris DUDRG  
Fakultas Farmasi Universitas Jember

Dengan hormat,  
Saya bermaksud mengajukan permohonan izin menggunakan Lab. Riset DUDRG untuk keperluan penelitian dengan keterangan sebagai berikut.

Periset: Nurhalimah  
Instansi: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember  
NIM: 161610101038  
Judul Riset: Analisis Antibakteri Sembravid Daun Tembakau Kasturi Terhadap Bakteri Porphyromonas gingivalis dan Aggregatibacter actinomycetemcomitans

Pembimbing: Dr. drg. Banun Kusumawardani, M.Kes.

Alasan pemohon menggunakan Lab. Riset DUDRG:\*

Join Research: ...

Lainnya: Penelitian Tugas Akhir

Demikian dan terima kasih atas kerja samanya.

Pembimbing

Jember, 6 November 2019  
Pemohon/Periset

  
Dr. drg. Banun Kusumawardani, M.Kes.

  
Nurhalimah

\*silakan centang salah satu dan cantumkan judul atau keterangannya

Template surat      Form izin masuk lab

**Lampiran 3.2 Perhitungan Pengenceran Resinoid dan DMSO**

- i) Pembuatan stok resinoid daun tembakau Kasturi

100 mg resinoid yang didapat dilarutkan menggunakan 800 $\mu$ l DMSO 100% sehingga diperoleh konsentrasi stok 125.000  $\mu$ g/ml.

- ii) Pembuatan DMSO konsentrasi 6,4% untuk resinoid konsentrasi 12000
- $\mu$
- g/ml

$$\begin{aligned} V_1 \cdot N_1 &= V_2 \cdot N_2 \\ 100 \mu\text{l} \cdot 12000 \mu\text{g/ml} &= V_2 \cdot 125000 \mu\text{g/ml} \\ 6,4 \mu\text{l} &= V_2 \\ \text{Konsentrasi DMSO} &= \frac{6,4\%}{100 \mu\text{l}} \times 100\% = 6,4\% \end{aligned}$$

Pengenceran DMSO menggunakan *serial dilution* digunakan untuk mendapat DMSO konsentrasi 3,2%, 1,6%, dan 0,8%.

- iii) Pembuatan resinoid konsentrasi 12.000
- $\mu$
- g/ml

$$\begin{aligned} V_1 \cdot N_1 &= V_2 \cdot N_2 \\ 700 \mu\text{l} \cdot 12000 \mu\text{g/ml} &= V_2 \cdot 125000 \mu\text{g/ml} \\ 67,2 \mu\text{l} &= V_2 \end{aligned}$$

Sehingga untuk mendapatkan resinoid daun tembakau Kasturi konsentrasi 12.000  $\mu$ g/ml dibutuhkan 67,2  $\mu$ l resinoid daun tembakau Kasturi dengan ditambah 632,8  $\mu$ l aquadest.

- iv) Pembuatan resinoid konsentrasi 10.000
- $\mu$
- g/ml

$$\begin{aligned} V_1 \cdot N_1 &= V_2 \cdot N_2 \\ 700 \mu\text{l} \cdot 10000 \mu\text{g/ml} &= V_2 \cdot 125000 \mu\text{g/ml} \\ 56 \mu\text{l} &= V_2 \end{aligned}$$

Sehingga untuk mendapatkan resinoid daun tembakau Kasturi konsentrasi 10.000  $\mu$ g/ml dibutuhkan 56  $\mu$ l resinoid daun tembakau Kasturi dengan ditambah 644  $\mu$ l aquadest.

- v) Pembuatan resinoid konsentrasi 8.000
- $\mu$
- g/ml

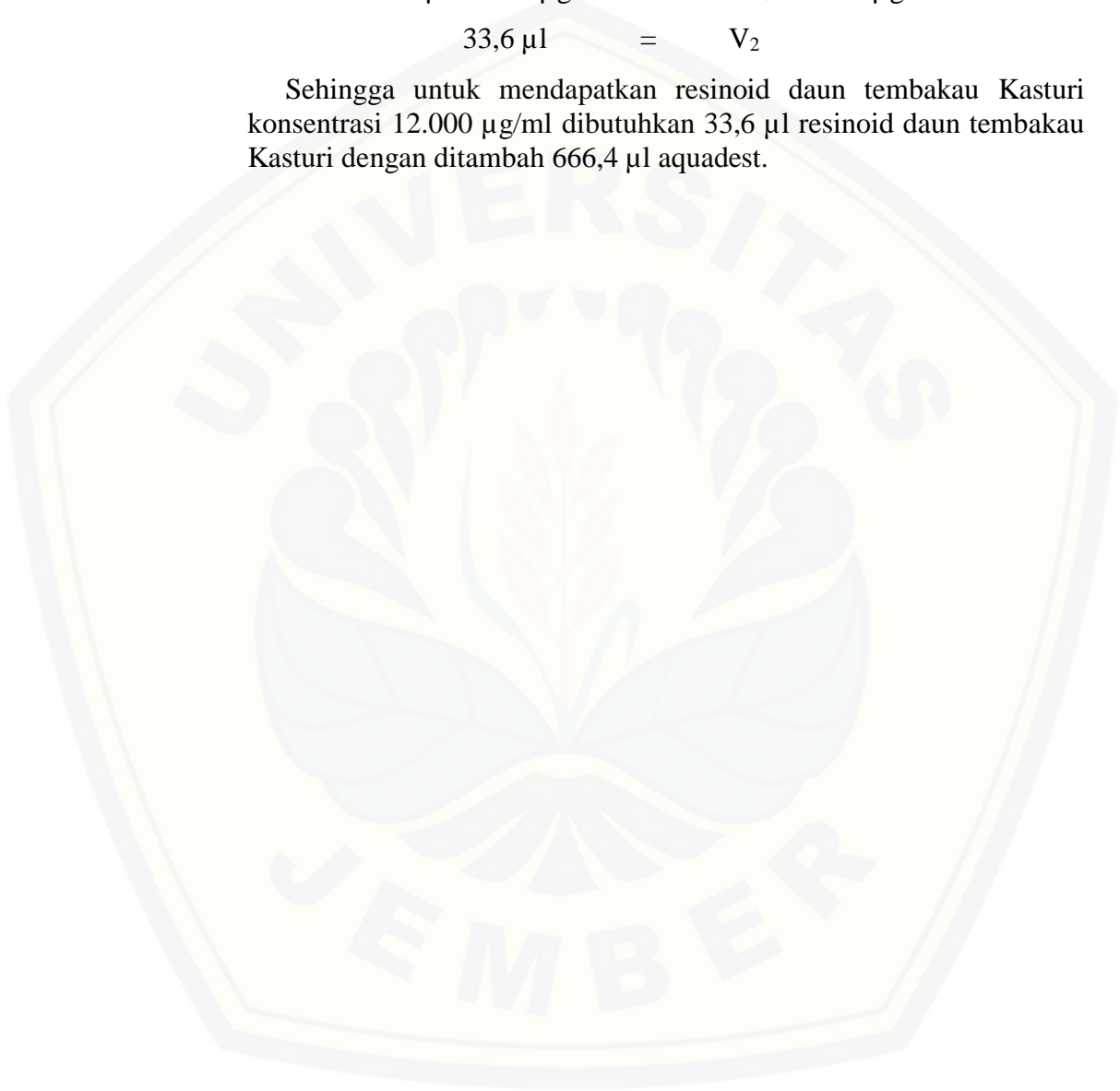
$$\begin{aligned} V_1 \cdot N_1 &= V_2 \cdot N_2 \\ 700 \mu\text{l} \cdot 8000 \mu\text{g/ml} &= V_2 \cdot 125000 \mu\text{g/ml} \\ 44,8 \mu\text{l} &= V_2 \end{aligned}$$

Sehingga untuk mendapatkan resinoid daun tembakau Kasturi konsentrasi 12.000  $\mu\text{g/ml}$  dibutuhkan 44,8  $\mu\text{l}$  resinoid daun tembakau Kasturi dengan ditambah 655,2  $\mu\text{l}$  aquadest.

vi) Pembuatan resinoid konsentrasi 6.000  $\mu\text{g/ml}$

$$\begin{aligned}V_1 \cdot N_1 &= V_2 \cdot N_2 \\700 \mu\text{l} \cdot 6000 \mu\text{g/ml} &= V_2 \cdot 125000 \mu\text{g/ml} \\33,6 \mu\text{l} &= V_2\end{aligned}$$




Sehingga untuk mendapatkan resinoid daun tembakau Kasturi konsentrasi 12.000  $\mu\text{g/ml}$  dibutuhkan 33,6  $\mu\text{l}$  resinoid daun tembakau Kasturi dengan ditambah 666,4  $\mu\text{l}$  aquadest.


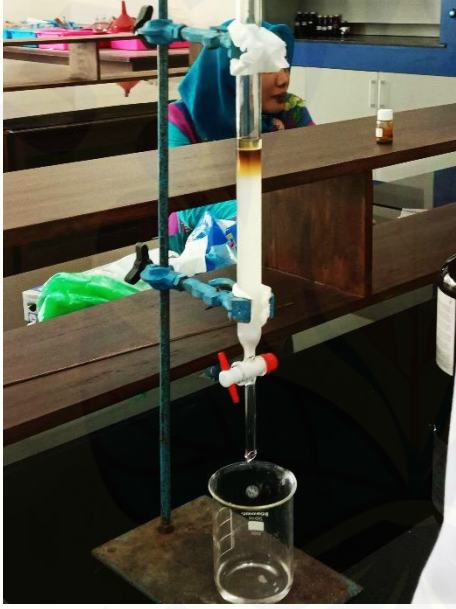







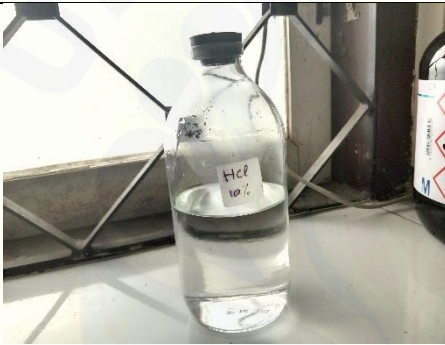

## Lampiran 3.3 Alat dan Bahan


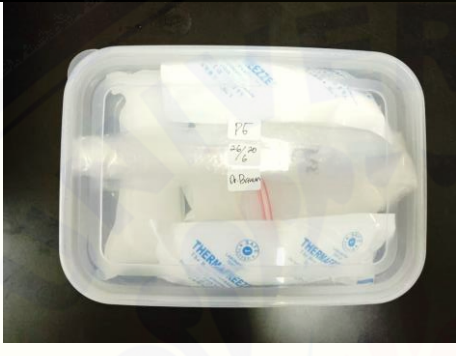
No	Gambar	Keterangan
1		Blender
		Timbangan

<p>2</p>		<p>Destilator</p>
		<p><i>Orbital Shake</i></p>
		<p><i>Magnetic Stirrer</i></p>

	 A rotary evaporator setup. It features a white motor unit with a digital display, a glass condenser coil, and a glass receiver flask. The unit is mounted on a black base labeled 'STRIKE 300'.	<p><i>Rotary Evaporator</i></p>
	 A chromatography column setup. A glass column is held vertically by a metal stand. The column contains a liquid and is connected to a glass flask at the bottom. The setup is on a laboratory bench.	<p>Kolom Kromatografi</p>
<p>3</p>	 A tray filled with dried, brown, and crumpled tobacco leaves, known as Kasturi tobacco.	<p>Daun Tembakau Kasturi Kering</p>

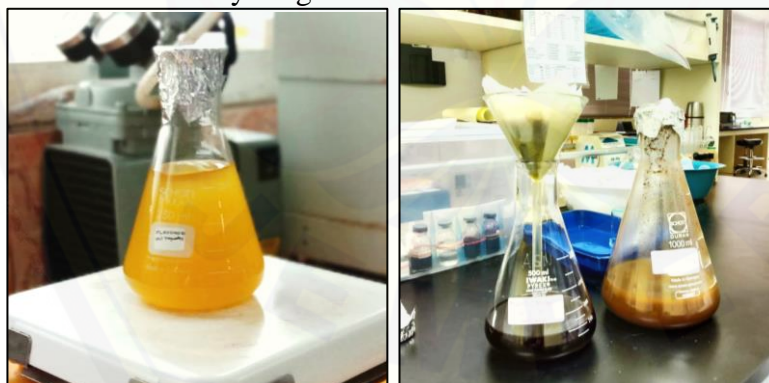


4		Serbuk daun Tembakau Kasturi
5		<i>Methanol, N-Hexane, Ethyl Acetate, Dichloromethane</i>
		HCl 10%
		Reagen Dragendorff

	<p><i>Silica Gel</i></p>
	<p>Stok murni <i>Porphyromonas gingivalis</i></p>

**Lampiran 3.4 Dokumentasi Prosedur Penelitian**

Maserasi dan Penyaringan ekstrak metanol daun Tembakau Kasturi



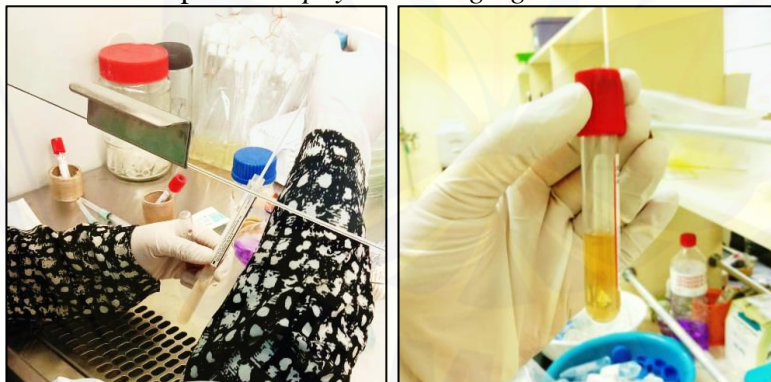
Fraksinasi Ekstrak Daun Tembakau Kasturi



Preparasi Resinoid daun Tembakau Kasturi dan DMSO

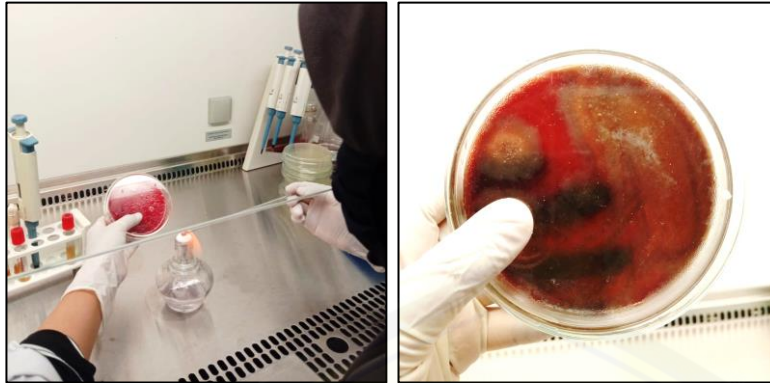


Membuat Suspensi *Porphyromonas gingivalis* dari stok Murni

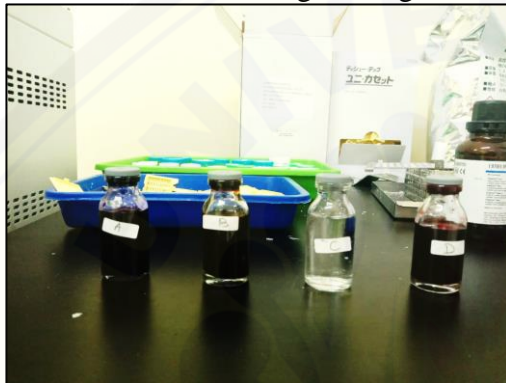




Regenerasi Bakteri *Porphyromonas gingivalis*



Identifikasi Bakter dengan Pengecatan Gram



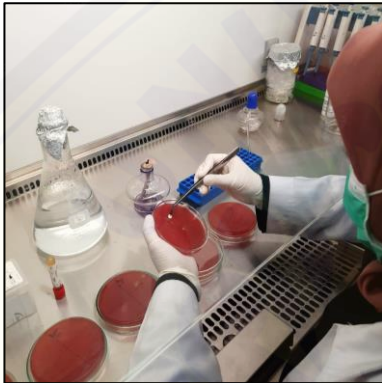
Sterilisasi



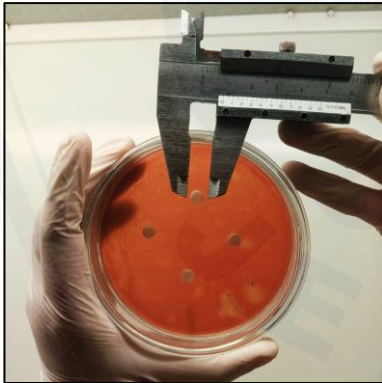
Pembuatan Suspensi Bakteri *Porphyromonas gingivalis* dengan standar 0,5McFarland



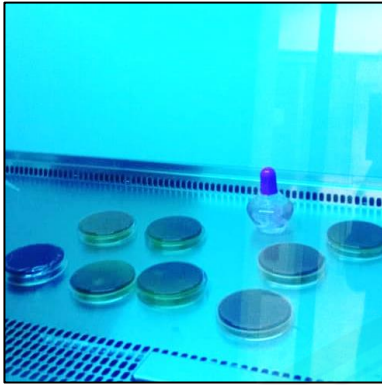
Peletakan Cakram



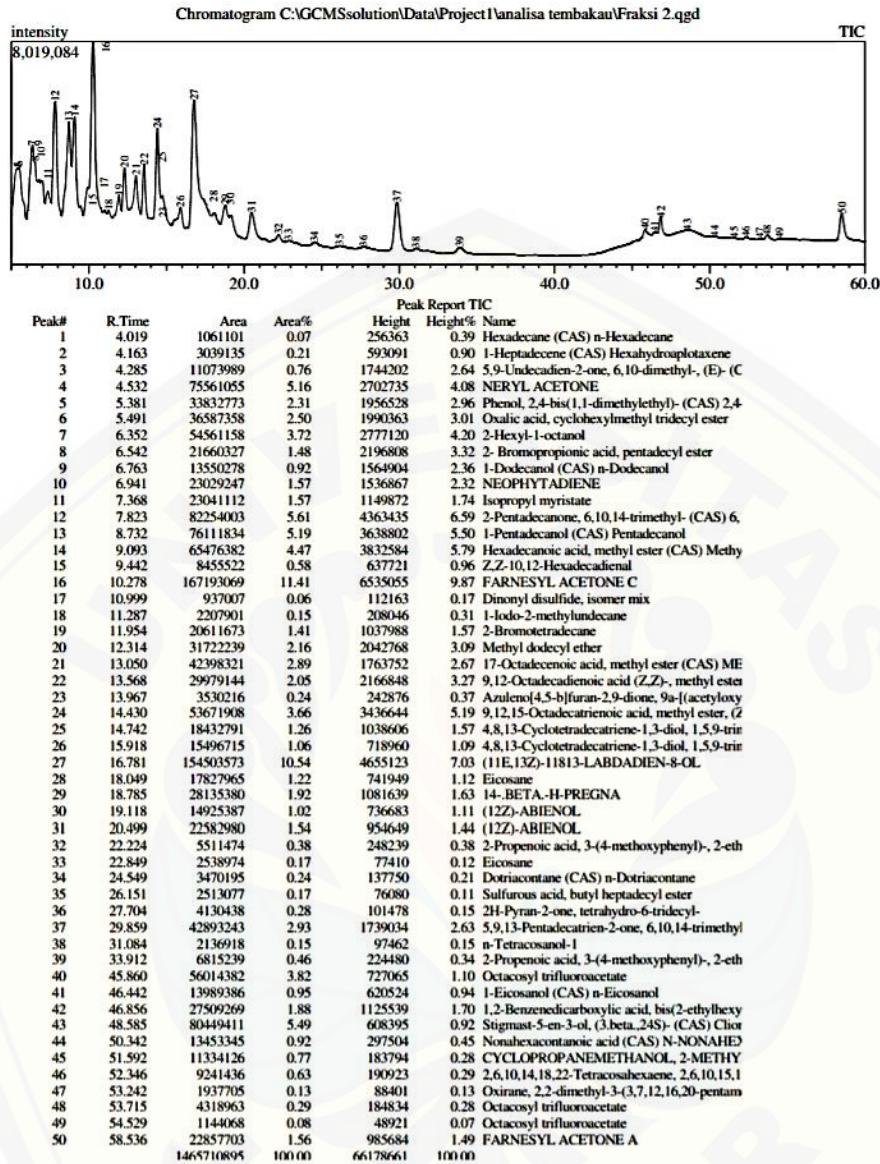
Pengukuran zona hambat pada sampel



*Killing* sampel yang telah selesai diuji



Lampiran 4.1 Hasil analisis GC-MS Resinoid Daun Tembakau Kasturi





### Lampiran 4.2 Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Pengamatan 3 Jam

Kelompok	Pengamat 1 (mm)	Pengamat 2 (mm)	Pengamat 3 (mm)	rata-rata (mm)
K - (DMSO 0,8%)	6	6	6	6
K - (DMSO 1,6%)	6	6	6	6
K - (DMSO 3,2%)	6	6	6	6
K - (DMSO 6,4%)	6	6	6	6
Resinoid 6 mg/ml	6	6	6	6
Resinoid 8 mg/ml	6	6	6	6
Resinoid 10 mg/ml	6	6	6	6
Resinoid 12 mg/ml	6	6	6	6

### Pengamatan 6 Jam

Kelompok	Pengamat 1 (mm)	Pengamat 2 (mm)	Pengamat 3 (mm)	rata-rata (mm)
K - (DMSO 0,8%)	6	6	6	6
K - (DMSO 1,6%)	6	6	6	6
K - (DMSO 3,2%)	6	6	6	6
K - (DMSO 6,4%)	6	6	6	6
Resinoid 6 mg/ml	6	6	6	6
Resinoid 8 mg/ml	6	6	6	6
Resinoid 10 mg/ml	6	6	6	6
Resinoid 12 mg/ml	6	6	6	6

### Pengamatan 12 Jam

Kelompok	Pengamat 1 (mm)	Pengamat 2 (mm)	Pengamat 3 (mm)	rata-rata (mm)
K - (DMSO 0,8%)	6	6	6	6
K - (DMSO 1,6%)	6	6	6	6
K - (DMSO 3,2%)	6	6	6	6
K - (DMSO 6,4%)	6	6	6	6
Resinoid 6 mg/ml	7,5	7,8	8,9	8,07
Resinoid 8 mg/ml	7,7	8,65	8,7	8,35
Resinoid 10 mg/ml	9,4	8,5	9,4	9,1
Resinoid 12 mg/ml	9,15	8,7	8,4	8,75

### Pengamatan 24 Jam

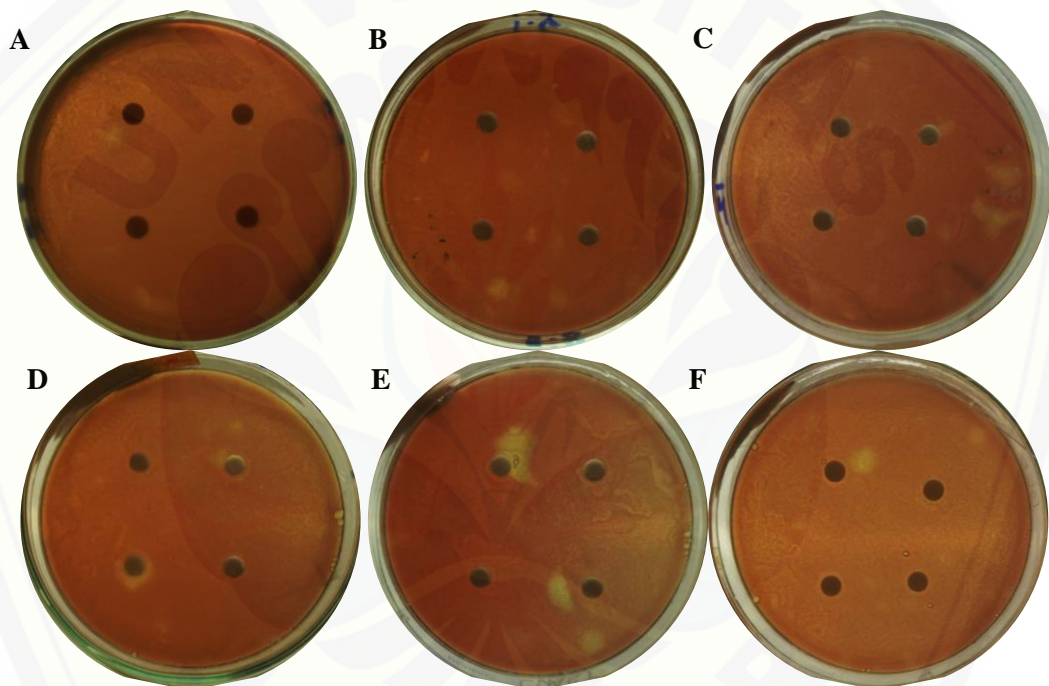
Kelompok	Pengamat 1 (mm)	Pengamat 2 (mm)	Pengamat 3 (mm)	rata-rata (mm)
K - (DMSO 0,8%)	6	6	6	6
K - (DMSO 1,6%)	6	6	6	6
K - (DMSO 3,2%)	6	6	6	6
K - (DMSO 6,4%)	6	6	6	6
Resinoid 6 mg/ml	6	6	6	6
Resinoid 8 mg/ml	6	6	6	6
Resinoid 10 mg/ml	6	6	6	6
Resinoid 12 mg/ml	6	6	6	6

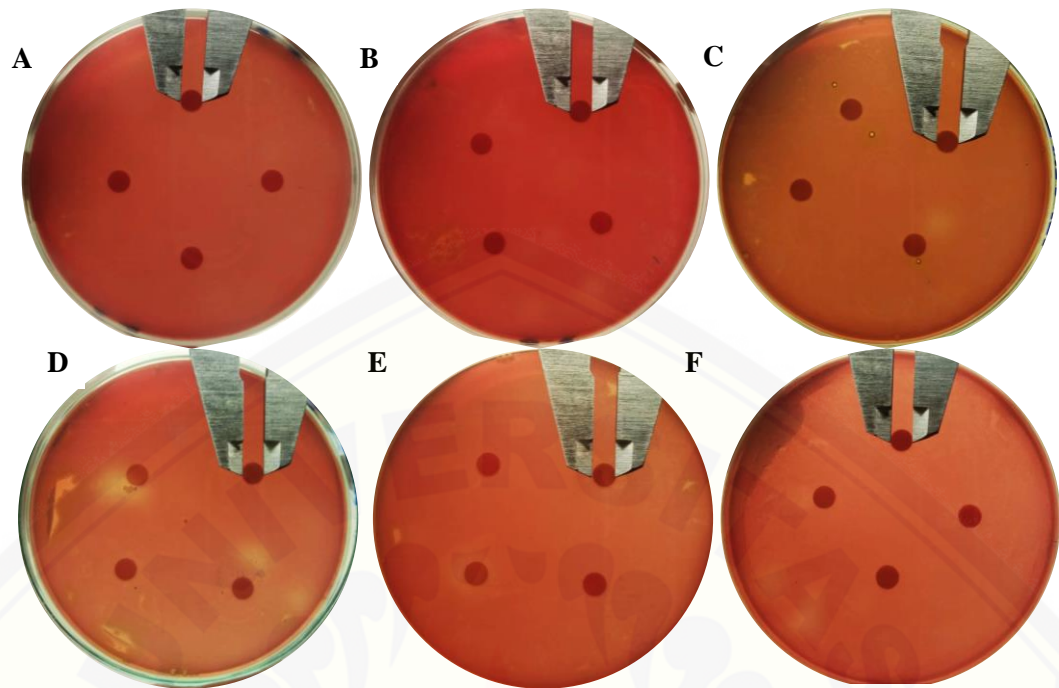


## Lampiran 4.3 Dokumentai Hasil Pengamatan



Gambar 4.8 Hasil inkubasi 3 dan 6 jam, masih belum ada pertumbuhan bakteri

Gambar 4.9 Inkubasi 12 Jam bakteri *Porphyromonas gingivalis* yang diberi perlakuan DMSO 0,8% & 1,6% (A), DMSO 3,2% & 6,4% (B), Resinoid 6 mg/ml (C) Resinoid 8 mg/ml (D) Resinoid 10 mg/ml (E) dan Resinoid 12 mg/ml (F)



Gambar 4.10 Inkubasi 24 Jam bakteri *Porphyromonas gingivalis* yang diberi perlakuan metronidazole 2% (A), DMSO 0,8% & 1,6% (B), DMSO 3,2% & 6,4% (C), Resinoid 6 mg/ml (D) Resinoid 8 mg/ml (E) Resinoid 10 mg/ml (F) dan Resinoid 12 mg/ml (G)

## Lampiran 4.4 Hasil Uji Statistika

## A. Uji normalitas Kolmogorov-Smirnov

**UJI NORMALITAS****Inhibisi / Zona Inhibisi****One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		inhibisi
N		45
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	6,62
	Std. Deviation	2,276
Most Extreme Differences	Absolute	0,474
	Positive	0,474
	Negative	-0,393
Test Statistic		0,474
<b>Asymp. Sig. (2-tailed)</b>		<b>.000<sup>c</sup></b>

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. Lilliefors Significance Correction.

## B. Uji Kruskal wallis

**KRUSKAL WALLIS****Semua Kelompok - Zona Inhibisi****Ranks**

Perlakuan		N	Mean Rank
inhibisi	DMSO 0,8%	5	20,00
	DMSO 1,6%	5	20,00
	DMSO 3,2%	5	20,00
	DMSO 6,4%	5	20,00
	Resinoid 6mg/ml	5	24,00
	Resinoid 8mg/ml	5	24,20
	Resinoid 10mg/ml	5	24,60
	Resinoid 12mg/ml	5	24,40
	Total	45	

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

	inhibisi
Kruskal-Wallis H	7,405
Df	8
<b>Asymp. Sig.</b>	<b>0,494</b>

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Perlakuan

**Kelompok Konsentrasi - Zona Inhibisi  
Ranks**

Perlakuan		N	Mean Rank
inhibisi	Resinoid 6mg/ml	5	10,20
	Resinoid 8mg/ml	5	10,40
	Resinoid 10mg/ml	5	10,80
	Resinoid 12mg/ml	5	10,60
	Total	20	

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

	inhibisi
Kruskal-Wallis H	0,058
df	3
<b>Asymp. Sig.</b>	<b>0,996</b>

- a. Kruskal  
Wallis Test  
b. Grouping  
Variable:  
Perlakuan