



**EFEK ANTIBAKTERI EKSTRAK FLAVONOID DAUN  
SINGKONG (*Manihot esculenta*) TERHADAP *Porphyromonas  
gingivalis* ( IN VITRO)**

**SKRIPSI**

Oleh

**Miladatus Syafiyah**

**171610101108**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI**

**UNIVERSITAS JEMBER**

**2021**



**EFEK ANTIBAKTERI EKSTRAK FLAVONOID DAUN  
SINGKONG (*Manihot esculenta*) TERHADAP *Porphyromonas  
gingivalis* ( 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:

**Miladatus Syafiyah**

**NIM 171610101108**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI**

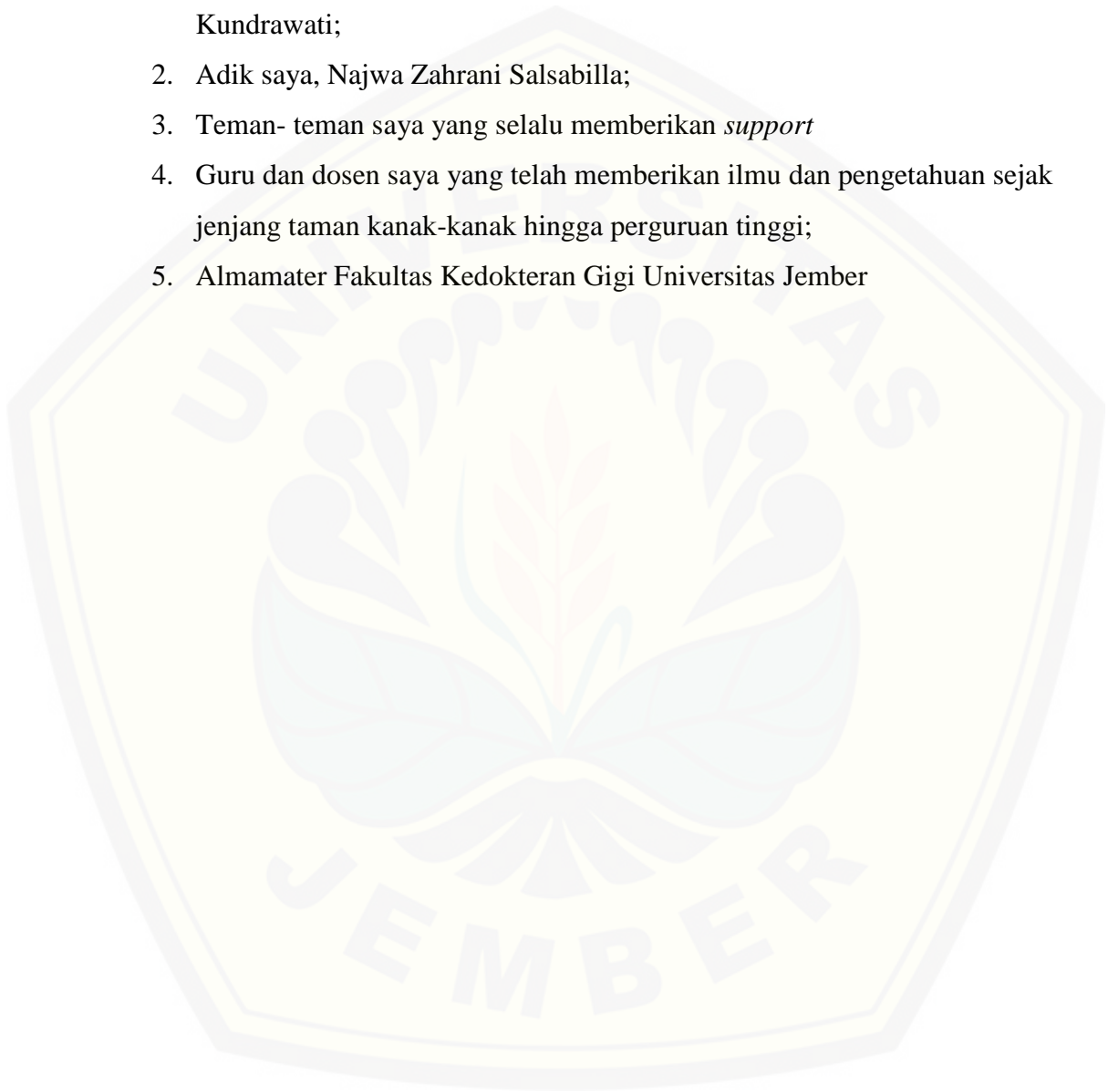
**UNIVERSITAS JEMBER**

**2021**

## PERSEMBAHAN

Bismillahirrahmanirrahim, atas izin Allah SWT. dengan rasa syukur dan segala kerendahan hati, skripsi ini saya persembahkan kepada:

1. Kedua orang tua yang sangat saya sayangi, Bapak Khalis dan Ibu Kundrawati;
2. Adik saya, Najwa Zahrani Salsabilla;
3. Teman-teman saya yang selalu memberikan *support*
4. Guru dan dosen saya yang telah memberikan ilmu dan pengetahuan sejak jenjang taman kanak-kanak hingga perguruan tinggi;
5. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember



**MOTTO**

“innalāha lā yugayyiru mā biqaumin hattā yugayyiru mā bi’anfusihim”

(Sesungguhnya Allah tidak akan mengubah keadaan suatu kaum hingga mereka mengubah diri mereka sendiri)

(Q.S Ar-Ra’d : 11)<sup>\*)</sup>

“Selagi bisa, jadilah orang yang bermanfaat”



---

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

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Miladatus Syafiyah

NIM : 171610101108

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Efek Antibakteri Ekstrak Flavonoid Daun Singkong (*Manihot Esculenta*) terhadap *Porphyromonas gingivalis* (In Vitro)” 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 dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 28 Januari 2021

Yang menyatakan,

(Miladatus Syafiyah)

NIM 171610101108

**SKRIPSI**

**EFEK ANTIBAKTERI EKSTRAK FLAVONOID DAUN  
SINGKONG (*Manihot esculenta*) TERHADAP *Porphyromonas  
gingivalis* ( IN VITRO)**

oleh:

Miladatus Syafiyah

NIM 171610101108

**Pembimbing**

Dosen Pembimbing Utama : drg. Zahara Meilawaty, M.Kes

Dosen Pembimbing Pendamping : drg. Agustin Wulan Suci D. MDSc.

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Efek Antibakteri Ekstrak Flavonoid Daun Singkong (*Manihot Esculenta*) terhadap *Porphyromonas gingivalis* (In Vitro)” telah di uji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Gigi pada:

Hari, tanggal : Kamis, 28 Januari 2021

Tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Penguji Ketua,

Penguji Anggota,

drg. Tantin Ermawati M.Kes  
NIP 198003222008122003

drg. Peni Pujiastuti M.Kes  
NIP 196705171996012001

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

drg. Zahara Meilawaty, M.Kes  
NIP 198005272008122002

drg. Agustin Wulan Suci D. MDSc  
NIP 197908142008122003

Mengesahkan,  
Dekan Fakultas Kedokteran Gigi  
Universits Jember

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



## RINGKASAN

**Efek Antibakteri Ekstrak Flavonoid Daun Singkong (*Manihot esculenta*) terhadap *Porphyromonas gingivalis* (In Vitro);** Miladatus Syafiyah; 171610101108; 2021; 93 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi; Universitas Jember.

Periodontitis kronis merupakan penyakit periodontal yang sering dikeluhkan oleh hampir 75% penduduk Indonesia. Periodontitis kronis ini disebabkan oleh periodontal patogen terutama *Porphyromonas gingivalis* (*P.gingivalis*). *P.gingivalis* banyak ditemukan dalam kasus periodontitis kronis yaitu sebesar 53,8%. *P.gingivalis* ini merupakan bakteri yang membutuhkan perhatian khusus oleh karena memiliki faktor virulensi yang diduga memiliki keterlibatan pada berbagai kelainan sistemik, seperti *cardiovascular disease* (CVD), kelahiran prematur, dan preklamsia.

Kontrol proliferasi dan virulensi bakteri ini perlu dilakukan selain melakukan perawatan *scaling* dan *root planning*, pemberian antibiotik seperti *metronidazole gel* merupakan salah satu upaya kontrol koloni *P.gingivalis*. *Metronidazole* bekerja dengan cara menghambat sintesis DNA asam nukleat bakteri. Akan tetapi penggunaan *metronidazole* akan menyebabkan efek samping berupa sakit kepala, mual, mulut kering, dan berasa logam di mulut, serta dapat menimbulkan resistensi.

Hal tersebut yang mendasari pemanfaatan obat alternatif dari bahan alam yang memiliki daya antibakteri, salah satunya yaitu daun singkong. Daun singkong diketahui memiliki kandungan flavonoid yang diduga memiliki aktivitas antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya hambat ekstrak flavonoid daun singkong (*Manihot esculenta*) terhadap pertumbuhan *P.gingivalis*.

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian yang digunakan adalah *the post test only control group design*. Penelitian ini menggunakan metode *disk diffusion* yang terdiri dari 8 kelompok penelitian (2 kelompok kontrol dan 6 kelompok perlakuan). Kelompok kontrol terdiri atas kontrol positif (*metronidazole analog*) dan kontrol negatif (*propylene*



*glycol*). Kelompok perlakuan terdiri dari ekstrak flavonoid daun singkong (*Manihot esculenta*) dosis 6,25 µg/ml, 12,5 µg/ml, 25 µg/ml, 50 µg /ml, 100 µg/ml, 200 µg/ml. Setiap kelompok diambil sebanyak 10 µl dan diteteskan pada kertas cakram. Kertas cakram kemudian diletakkan diatas media agar MHA yang telah diinokulasi *P.gingivalis*. Petridish kemudian dimasukkan kedalam desikator dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Selanjutnya dilakukan pengukuran diameter zona hambat disekitar kertas cakram menggunakan jangka sorong digital.

Data hasil penelitian dianalisis menggunakan uji statistik non parametrik dengan uji *Kruskal Wallis*. Hasil uji *Kruskal Wallis* menunjukkan nilai signifikansi kurang dari 0,05 yang artinya terdapat perbedaan pada kelompok penelitian. Selanjutnya dilakukan uji *Mann Whitney U* dengan hasil terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok, kecuali pada kelompok kontrol negatif dengan 25µg /ml, 12,5µg/ml, dan 6,25µg/ml, dan antara kelompok 25µg /ml, 12,5µg/ml, dan 6,25µg/ml. Hal tersebut menunjukkan bahwa pada kelompok kontrol negatif, dan ekstrak flavonoid daun singkong dosis 25 µg/ml, 12,5 µg/ml, dan 6,25 µg/ml memiliki kekuatan daya hambat yang sama dalam menghambat pertumbuhan *P.gingivalis*.

Kesimpulan hasil penelitian ini bahwa ekstrak flavonoid daun singkong (*Manihot esculenta*) mempunyai efek antibakteri terhadap *P.gingivalis* pada dosis 50 µg /ml, 100 µg/ml, dan 200 µg/ml.

## PRAKATA

Alhamdulillah Robbil ‘Alamiin, puji syukur kepada Allah SWT atas karunia, rahmat, nikmat, dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Efek Antibakteri Ekstrak Flavonoid Daun Singkong (*Manihot Esculenta*) terhadap *Porphyromonas gingivalis* (In Vitro)”, sebagai salah satu persyaratan penyelesaian program sarjana (S1) Pendidikan Dokter Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan, bimbingan serta dukungan berbagai pihak. Oleh karena itu penulis menyampaikan terimakasih kepada:

1. Allah SWT atas berkat rahmatNya saya dapat menyelesaikan skripsi ini;
2. Orang tua tercinta, Bapak Khalis dan Ibu Kundrawati yang selalu mendukung, selalu memberikan waktu dan segalanya untuk buah hatinya. Terimakasih dan doa selalu terpanjat dari anak-anakmu karena sudah menjadi orang tua terbaik;
3. Adik tersayang, Najwa Zahrani Salsabilla yang selalu siap memberikan bantuan selama proses pengerjaan skripsi ini;
4. drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes., Sp. Pros selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
5. Dr. drg. Masniari Novita, M.Kes.,Sp.OF (K). selaku Wakil dekan I Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
6. drg. Rendra Christedy P. MDS.c, selaku Wakil Dekan II Fakultas kedokteran Gigi universitas jember;
7. drg. Dwi Kartika Apriyono, M. Kes. selaku Wakil Dekan III Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
8. drg. Amandia Dewi Permana Shita M. Biomed selaku Dosen Pembimbing Akademik yang banyak membantu dan membimbing sejak saya menjadi mahasiswa baru di Fakultas Kedokteran Gigi hingga saat ini;
9. drg. Zahara Meilawaty, M.Kes selaku Dosen Pembimbing Utama dan drg. Agustin Wulan Suci D. MDSc. selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah berbaik hati dengan sabar membimbing dan meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;

10. drg. Tantin Ermawati, M.Kes selaku Dosen Penguji Ketua dan drg. Peni Pujiastuti, M.Kes. selaku Dosen Penguji Anggota yang telah memberikan kritik dan saran demi kesempurnaan skripsi ini;
11. Staf Laboratorium Teknik Kimia Politeknik Negeri Malang;
12. Staf Laboratorium Mikrobiologi bagian Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga;
13. Sahabat saya di FKG, Riska dan Rido yang selalu ada untuk saya selama masa perkuliahan dan siap membantu apapun, terimakasih banyak;
14. Ilham Nur Iman, yang sudah dengan susah payah membantu *install* SPSS;
15. Teman-teman seperjuangan dalam mengerjakan skripsi, Zhafira, Laksmi, Dhea, dan Rido;
16. Teman-teman Dentition Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
17. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Semoga penulisan skripsi ini dapat bermanfaat dalam pengembangan ilmu pendidikan dan kesehatan. Penulis mengharapkan kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini.

Jember, Januari 2021

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL.....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN.....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN MOTTO.....</b>	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN.....</b>	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PEMBIMBING .....</b>	<b>v</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN .....</b>	<b>vi</b>
<b>RINGKASAN .....</b>	<b>vii</b>
<b>PRAKATA .....</b>	<b>ix</b>
<b>DAFTAR ISI .....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR TABEL.....</b>	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR GAMBAR .....</b>	<b>xv</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xvi</b>
<b>BAB 1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
1.4 Manfaat Penelitian .....	3
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>4</b>
2.1 Penyakit Periodontal .....	4
2.2 <i>Porphyromonas gingivalis</i> .....	5
2.2.1 Morfologi <i>Porphyromonas gingivalis</i> .....	5
2.2.2 Metabolisme <i>Porphyromonas gingivalis</i> .....	6
2.2.3 Virulensi <i>Porphyromonas gingivalis</i> .....	7
2.3 Tanaman Singkong ( <i>Manihot esculenta</i> ) .....	8
2.3.1 Klasifikasi Tanaman Singkong ( <i>Manihot esculenta</i> ).....	9

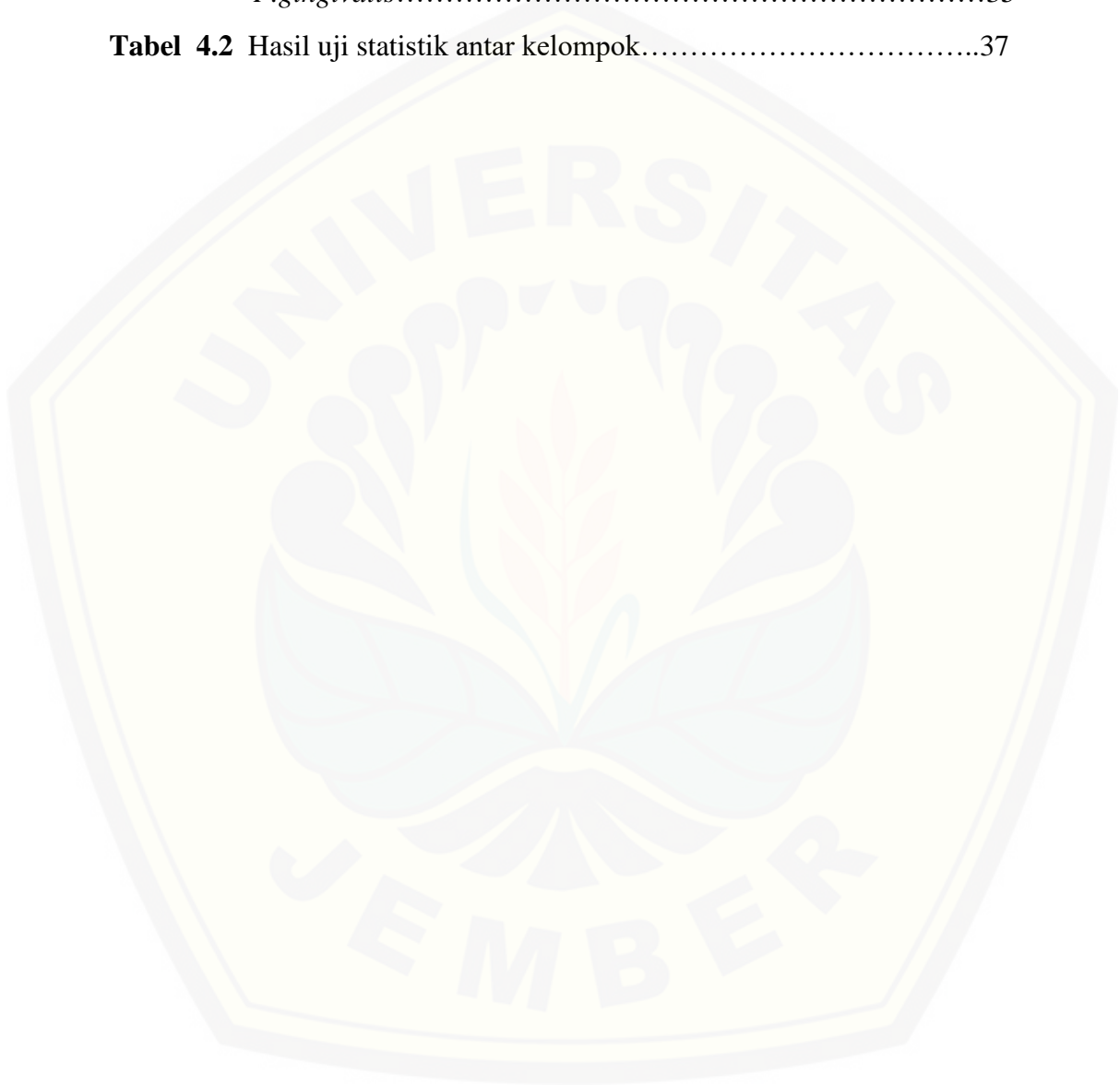
2.3.2	Habitat Tanaman Singkong ( <i>Manihot esculenta</i> ) .....	9
2.4	Daun Singkong .....	9
2.4.1	Morfologi Daun Singkong .....	9
2.4.2	Kandungan Daun Singkong .....	10
2.4.3	Manfaat Daun Singkong .....	11
2.5	Metode Ekstraksi .....	11
2.6	Flavonoid .....	13
2.7	Flavonoid Daun Singkong .....	15
2.8	Antibakteri .....	15
2.8.1	Mekanisme Kerja Antibakteri .....	15
2.8.2	Metode Uji Daya Hambat Antibakteri .....	17
2.9	<i>Metronidazole</i> .....	18
2.10	Kerangka Konsep .....	19
2.11	Penjelasan Kerangka Konsep .....	20
2.12	Hipotesis .....	20
<b>BAB 3.</b>	<b>METODE PENELITIAN .....</b>	<b>21</b>
3.1	Jenis Penelitian .....	21
3.2	Rancangan Penelitian .....	21
3.3	Tempat Penelitian dan Waktu Penelitian .....	21
3.3.1	Tempat Penelitian .....	21
3.3.2	Waktu Penelitian .....	21
3.4	Variabel Penelitian .....	22
3.4.1	Variabel Bebas .....	22
3.4.2	Variabel Terikat .....	22
3.4.3	Variabel Terkendali .....	22
3.5	Definisi Operasional .....	22
3.5.1	Ekstrak Flavonoid Daun Singkong ( <i>Manihot esculenta</i> ) .....	22
3.5.2	<i>Porphyromonas gingivalis</i> .....	22
3.5.3	Daya Antibakteri Ekstrak Flavonoid Daun Singkong ( <i>Manihot esculenta</i> ) .....	23

3.6	Sampel Penelitian .....	23
3.6.1	Pembagian Kelompok Perlakuan .....	23
3.6.2	Jumlah Sampel Penelitian .....	23
3.6.3	Kriteria Daun Singkong .....	24
3.7	Alat dan Bahan Penelitian .....	24
3.7.1	Alat Penelitian .....	24
3.7.2	Bahan Penelitian .....	25
3.8	Prosedur Penelitian .....	25
3.8.1	Tahap Persiapan .....	25
3.8.2	Prosedur <i>disk diffusion</i> .....	29
3.8.3	Tahap Pengukuran Diameter Zona Hambat .....	32
3.9	Analisi Data .....	33
3.10	Alur Penelitian .....	34
<b>BAB 4.</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>35</b>
4.1	Hasil Penelitian .....	35
4.2	Analisis Data .....	36
4.3	Pembahasan .....	38
<b>BAB 5.</b>	<b>KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>41</b>
5.1	Kesimpulan .....	41
5.2	Saran .....	41
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>		<b>42</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>		<b>48</b>



DAFTAR TABEL

	Halaman
<b>Tabel 4.1</b> Rata-rata diameter zona hambat (mm) dan standar deviasi ekstrak flavonoid daun singkong ( <i>Manihot esculenta</i> ) terhadap <i>P.gingivalis</i> .....	35
<b>Tabel 4.2</b> Hasil uji statistik antar kelompok.....	37





DAFTAR GAMBAR

	Halaman
<b>Gambar 2.1</b> Gambaran klinis penyakit periodontal.....	4
<b>Gambar 2.2</b> <i>P.gingivalis</i> dengan perbesaran 1000x.....	5
<b>Gambar 2.3</b> <i>P.gingivalis</i> yang dibiakkan dalam media agar darah.....	6
<b>Gambar 2.4</b> Daun tanaman singkong.....	10
<b>Gambar 2.5</b> Perkolator.....	12
<b>Gambar 2.6</b> Alat ekstraksi sokletasi.....	13
<b>Gambar 2.7</b> Struktur dasar senyawa flavonoid.....	13
<b>Gambar 2.8</b> Struktur golongan flavonoid.....	14
<b>Gambar 2.9</b> Kerangka konsep.....	19
<b>Gambar 3.1</b> Gambaran gerakan <i>streaking</i> .....	30
<b>Gambar 3.2</b> Ilustrasi pengukuran diameter zona hambat.....	32
<b>Gambar 3.3</b> Alur Penelitian.....	34

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
<b>Lampiran A.</b> Surat izin penelitian .....	48
<b>Lampiran B.</b> <i>Ethical Clearance</i> .....	49
<b>Lampiran C.</b> Surat keterangan identifikasi tanaman singkong.....	50
<b>Lampiran D.</b> Sertifikat <i>P.gingivalis</i> .....	51
<b>Lampiran E.</b> Alat dan bahan penelitian.....	52
<b>Lampiran F.</b> Prosedur penelitian.....	55
<b>Lampiran G.</b> Hasil Penelitian.....	58
<b>Lampiran H.</b> Data hasil penelitian.....	60
<b>Lampiran I.</b> Analisis data.....	61

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Periodontitis kronis merupakan penyakit rongga mulut yang sering dikeluhkan oleh hampir seluruh penduduk dunia. Hampir 75% penduduk Indonesia menderita periodontitis kronis (Wijaksana, 2019). Prevalensi periodontitis kronis ini banyak terjadi pada kelompok usia rata-rata 35 tahun ke atas. Periodontitis kronis ini disebabkan oleh periodontal patogen terutama *Porphyromonas gingivalis* (*P.gingivalis*) (Nasutiano dalam Putri dkk, 2019).

*P.gingivalis* merupakan bakteri anaerob rongga mulut gram negatif yang berkoloni dalam jaringan rongga mulut dan tumbuh serta berkembang pada daerah subgingiva (Samaranayake, 2018). *P.gingivalis* banyak ditemukan dalam kasus periodontitis kronis yaitu sebesar 53,8%. *P.gingivalis* ini merupakan periodontal pathogen yang membutuhkan perhatian khusus oleh karena beberapa penelitian menduga keterlibatan invasi bakteri ini pada berbagai kelainan sistemik, seperti *cardiovascular disease* (CVD), kelahiran prematur, dan preklamsia. Hal ini kemungkinan disebabkan kemampuan *P.gingivalis* dan faktor virulensinya untuk merusak jaringan dan bermigrasi melewati epitel membran basal *host* dan merusak jaringan ikat. (Newman dkk., 2015).

Kontrol proliferasi dan virulensi bakteri ini perlu dilakukan, selain melakukan perawatan *scaling* dan *root planning*. Hal ini dilakukan untuk mencegah progresifitas periodontitis dan dampak sistemiknya (Newman dkk, 2015). Pemberian antibiotik dapat menjadi upaya kontrol koloni dan virulensi bakteri ini, salah satunya menggunakan *metronidazole gel* (Wijayanto dkk., 2014). *Metronidazole* bekerja efektif terhadap *P.gingivalis* dengan cara menghambat sintesis DNA asam nukleat bakteri (Newman dkk., 2015). Akan tetapi penggunaan *metronidazole* jangka panjang dapat menimbulkan efek samping berupa sakit kepala, mual, mulut kering, dan berasa logam di mulut (Tedjasulaksana, 2016). Selain itu, penggunaan *metronidazole* yang berlebihan dan tidak tepat dosis dapat menimbulkan resistensi, sehingga pengobatan alternatif lain terus dikembangkan (Ardila dkk., 2010).

Komoditas potensial di sektor pertanian Kabupaten Jember adalah singkong, tidak hanya produksinya yang cukup tinggi tetapi menjadi komoditi unggulan dalam ketahanan pangan di Kabupaten Jember (Tanuwijaya, 2013). Pemanfaatannya tidak hanya pada umbi, tetapi pada juga daunnya. Sebagian besar masyarakat memanfaatkan daun singkong sebagai sayur. Selain itu, daun singkong juga digunakan sebagai terapi alternatif, karena aktivitas antiinflamasi, antibakteri, dan antioksidan. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak daun singkong dosis 3.125  $\mu\text{g/ml}$  sd 200  $\mu\text{g/ml}$  mampu menghambat pertumbuhan *P.gingivalis*. Hal ini diduga karena kandungan flavonoidnya terutama pada gugus *quarsetin* dan *kaempferol* (Hamzah dkk., 2019). Flavonoid merupakan salah satu senyawa aktif yang terkandung dalam daun singkong dengan jumlah yang paling banyak dibandingkan senyawa aktif lain (Ogbuji dan David-Chukwu, 2016).

Flavonoid berasal dari golongan fenol alam yang tersebar dalam hampir seluruh jenis tanaman (Parwata, 2016). Flavonoid merupakan salah satu senyawa organik pada tanaman yang telah diketahui memberikan efek farmakologis, diantaranya antibakteri dan antivirus (Robinson dalam Meilawaty, 2013). Flavonoid sebagai antibakteri tergantung pada struktur cincin aromatiknya (Alghazeer dkk., 2017). Penelitian pendahuluan mengenai ekstrak flavonoid propolis menunjukkan hasil bahwa flavonoid memiliki efek daya antibakteri terhadap pertumbuhan *P.gingivalis* (Amanda dkk., 2019). Penelitian lain memaparkan bahwa ekstrak flavonoid dari spesies *Epimedium* bekerja dengan cara menghambat *gingipains* pada *P.gingivalis* sebagai salah satu faktor virulensi (Kariu dkk., 2017). Mekanisme flavonoid sebagai antibakteri bekerja dengan cara menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel dan menghambat metabolisme energi bakteri (Sapara dkk., 2016).

Berdasarkan latar belakang tersebut, penulis ingin meneliti efek antibakteri ekstrak flavonoid daun singkong (*Manihot esculenta*) terhadap *P.gingivalis* secara *in vitro*. Ekstrak flavonoid yang dipakai adalah konsentrasi 100% dalam dosis 6,25  $\mu\text{g/ml}$ , 12,5  $\mu\text{g/ml}$ , 25  $\mu\text{g/ml}$ , 50  $\mu\text{g/ml}$ , 100  $\mu\text{g/ml}$ , 200  $\mu\text{g/ml}$ . Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat dan bisa menjadi acuan untuk bahan dasar obat antibakteri pada penyakit periodontitis.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas, rumusan masalah pada penelitian ini adalah apakah ekstrak flavonoid daun singkong (*Manihot esculenta*) mempunyai efek antibakteri terhadap *P.gingivalis*?

## 1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efek antibakteri ekstrak flavonoid daun singkong (*Manihot esculenta*) terhadap *P.gingivalis*.

## 1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

### 1. Bagi Peneliti

Dapat memberikan informasi mengenai daya antibakteri ekstrak flavonoid daun singkong (*Manihot esculenta*) dalam menghambat pertumbuhan *P.gingivalis*.

### 2. Bagi Institusi

Memberikan informasi tambahan dan menjadi acuan untuk melakukan penelitian lebih lanjut dalam mengembangkan pengetahuan di bidang kedokteran gigi.

### 3. Bagi Masyarakat

Memberikan informasi kepada masyarakat dan tenaga kesehatan khususnya dalam mendukung upaya kesehatan gigi dan mulut dengan cara pemanfaatan salah satu tanaman herbal yaitu daun singkong (*Manihot esculenta*) dalam menghambat pertumbuhan *P.gingivalis*.



## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Penyakit Periodontal

Penyakit periodontal merupakan inflamasi lokal pada jaringan periodontal meliputi tulang alveolar, sementum, ligamen periodontal, dan gingiva yang dapat mengakibatkan kehilangan gigi (Ekaputri dan Masulili, 2010). Gingivitis dan periodontitis adalah jenis penyakit periodontal yang sering dijumpai dikalangan masyarakat (Mawaddah dkk., 2017). Gingivitis merupakan inflamasi pada gingiva yang ditandai dengan warna kemerahan di area margin gingiva, pendarahan, serta perubahan bentuk, tekstur, dan konsistensi gingiva. Sedangkan periodontitis adalah bentuk inflamasi dengan kerusakan yang lebih kompleks sehingga terdapat *attachment loss* atau hilangnya perlekatan pada serabut ligamen periodontal dan kerusakan tulang alveolar, hal tersebut menyebabkan terbentuknya poket, resesi gingiva, atau keduanya (Newman dkk., 2015). Gambaran klinis penyakit periodontal dapat dilihat pada gambar 2.1.



**Gambar 2.1** Gambaran klinis penyakit periodontal (a) Gingivitis;(b) Periodontitis (Newman dkk., 2015)

Penyakit periodontal tidak disebabkan oleh satu faktor saja, etiologi primer dari penyakit ini adalah akumulasi bakteri plak. J. Leon Williams (1852) menyebutkan bahwa plak merupakan bentukan seperti gelatin yang mengandung akumulasi bakteri dan menempel pada permukaan enamel gigi serta dikaitkan dengan proses karies (Newman dkk., 2015). Hasil kultur bakteri plak menunjukkan bahwa terdapat bakteri gram negatif tertentu pada penyakit periodontitis spesifik

misalnya periodontitis kronis (Sapara dkk., 2016). Bakteri utama yang berperan dalam penyakit periodontitis kronis adalah *P.gingivalis* (Putri dkk., 2019).

## 2.2 *Porphyromonas gingivalis*

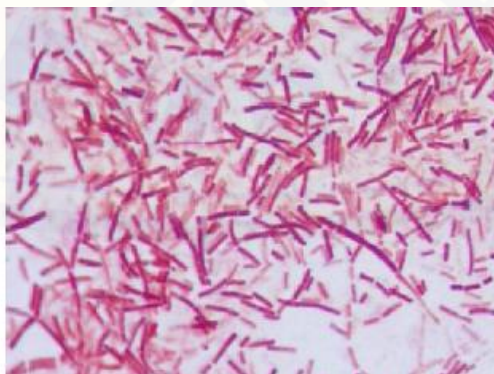
Secara taksonomi *P.gingivalis* diklasifikasikan sebagai berikut:

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

(Kusumawardani dkk., 2010)

### 2.2.1 Morfologi *Porphyromonas gingivalis*

*P.gingivalis* merupakan bakteri anaerob, non-motil, dan tidak berspora yang berbentuk *cocobasil* dengan panjang 0.5-2  $\mu\text{m}$ . Pewarnaan gram pada kultur *P.gingivalis* menunjukkan hasil warna merah, hal tersebut berarti bahwa bakteri ini termasuk golongan gram negatif (Fitriyana dkk., 2013). Gambaran mikroskopis hasil pewarnaan gram *P.gingivalis* dapat dilihat pada gambar 2.2.

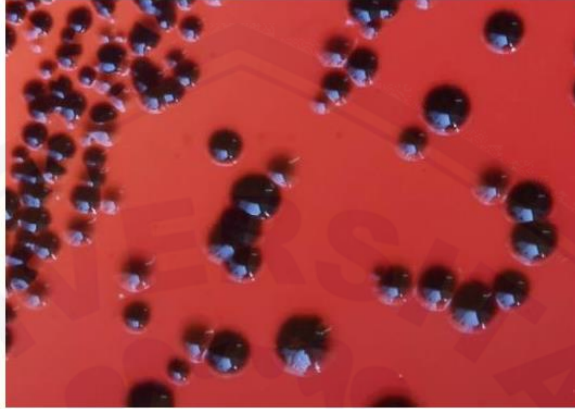


**Gambar 2.2** *P.gingivalis* dengan perbesaran 1000x (Fitriyana dkk., 2013)

*P.gingivalis* yang dibiakkan dalam media agar darah membentuk koloni dengan diameter 1-2 mm, konveks, berpigmen hitam kecoklatan dengan



permukaan yang halus dan mengkilap serta bagian tengahnya berwarna lebih gelap (Gambar 2.3). Bagian tengah yang lebih gelap tersebut disebabkan karena produksi *protoheme*, yaitu substansi yang bertanggung jawab atas warna khas koloni ini (Kusumawardani dkk., 2010).



**Gambar 2.3** *P.gingivalis* yang dibiakkan dalam media agar darah (Nakayama, 2015)

### 2.2.2 Metabolisme *Porphyromonas gingivalis*

*P.gingivalis* tumbuh optimum pada suhu 37°C. Hemin pada *host* memegang peranan penting dalam metabolisme *P.gingivalis*. Hemin mampu mengikat zat besi serta digunakan dalam proses biologis bakteri seperti pertumbuhan, kelangsungan hidup, serta menentukan patogenitas dari *P.gingivalis* misalnya sintesis lipopolisakarida (Newman dkk., 2015). Habitat utama dari *P.gingivalis* terletak pada sulkus subgingiva rongga mulut manusia.

Kelangsungan hidup *P.gingivalis* di dalam sulkus dipengaruhi oleh pembentukan asam amino sebagai produksi (How dkk., 2016). Selain itu, bakteri juga memiliki enzim pendegradase protein inang dan memicu produksi amonia yang dimanfaatkan bakteri sebagai sumber nitrogen (Newman dkk., 2015). Nitrogen berperan dalam memicu terjadinya proses inflamasi dengan mengaktifkan berbagai sitokin dan endotoksin bakteri patogen (Suryadinata, 2018).

### 2.2.3 Virulensi *Porphyromonas gingivalis*

Virulensi adalah kemampuan bakteri untuk menimbulkan infeksi dan penyakit. Faktor virulensi merupakan konstituen atau metabolit dari organisme yang berperan penting dalam siklus kehidupan *P.gingivalis* serta mampu menyebabkan kerusakan pada *host* (Kimura dkk., 2012). Faktor virulensi *P.gingivalis* berguna dalam penetrasi ke gingiva dan menimbulkan destruksi jaringan melalui respon inflamasi baik secara langsung maupun tidak langsung (Hajishengallis dkk., 2012).

Secara garis besar, faktor virulensi *P.gingivalis* diklasifikasikan menjadi dua. Pertama, meningkatkan invasi dan kolonisasi bakteri pada sel inang dengan adhesin, kapsul, lipopolisakarida, dan lain-lain. Kedua, faktor yang dapat merusak sel inang yaitu endotoksin, kolagenase, proteolitik, dan induksi mediator inflamasi (Pratiwi dkk., 2015).

Faktor-faktor virulensi *P.gingivalis* meliputi :

#### a. Protease (*Gingipains*)

*P.gingivalis* menghasilkan protease untuk mendegradasi protein pada jaringan periodontal seperti kolagen, fibronectin, dan elastin. Protease yang dihasilkan *P.gingivalis* dikenal dengan istilah *gingipains*. *Gingipains* terdiri dari dua produk diantaranya yaitu, *lysine specific gingipain* (Kgp) dan *arginin specific gingipain* (RgpA dan RgpB). *Gingipains* berpotensi meningkatkan kerusakan pada jaringan periodontal sebab dapat memodulasi sistem imun dan mengganggu respon inflamasi, menginaktifkan TNF- $\alpha$  (*tumor necrosis factor – alpha*), dan meningkatkan sekresi sitokin melalui PARs (*protease activated receptors*) (Newman dkk., 2015).

#### b. Lipopolisakarida (LPS)

Lipopolisakarida (LPS) merupakan molekul yang tersusun dari lipid dan polisakarida. Molekul ini terdapat pada membran luar bakteri dan menjadi berperan penting dalam menginisiasi respon inflamasi. Pada bagian luar dari

membran sel host terdapat TLRs (*tool like receptors*) yang akan mendeteksi dan mengenali lipopolisakarida dan merangsang terjadinya respon inflamasi pada jaringan dengan cara menimbulkan vasodilatasi pembuluh darah, kemotaksis, hingga pelepasan sitokin proinflamatori (Newman dkk., 2015).

c. Kapsul

*P.gingivalis* mempunyai kapsul polisakarida yang mengelilingi membran luar sel. Kapsul ini berfungsi untuk melindungi sel bakteri dari sistem imun *host* berupa fagositosis. Selain itu, kapsul juga berperan dalam sistem adhesi *P.gingivalis* terhadap sel inang (Newman dkk., 2015). Agregasi bersama periodontal patogen lain misalnya *Fusobacterium nucleatum* juga memanfaatkan kapsul dari bakteri (Singh dkk., 2011).

d. Fimbriae

Fimbriae merupakan tonjolan permukaan sel yang berfilamen dan berguna dalam perlekatan bakteri pada protein saliva, matriks ekstraseluler, sel eukariotik, dan bakteri dari spesies sama atau spesies berbeda. Fimbriae pada *P.gingivalis* dapat merangsang kerjasama antara sitokin IL-6 (*interleukin-6*) dan CR-3 (*complement receptors-3*) untuk menghambat produksi IL-12 (*interleukin-12*) yang berperan dalam aktivasi sel NK (*natural killer*) dan CD8<sup>+</sup> (*cluster of differentiation 8<sup>+</sup>*). Proses tersebut mengakibatkan terhambatnya pembunuhan *P.gingivalis* (Newman dkk., 2015).

### 2.3 Tanaman Singkong (*Manihot esculenta*)

Singkong menjadi salah satu komoditi pertanian yang harus ditingkatkan produksinya, baik sebagai varietas pangan berbasis sumberdaya lokal selain padi dan jagung maupun dikembangkan menjadi berbagai jenis produk olahan. Peningkatan produksi singkong menjadi pemasok ketahanan pangan nasional, sebab singkong telah menjadi salah satu varietas pangan yang berbasis pada sumber daya lokal (Tanuwijaya, 2013).

### 2.3.1 Klasifikasi Tanaman Singkong (*Manihot esculenta*)

Tanaman singkong memiliki 7.200 spesies dan termasuk dalam tanaman perdu tidak bercabang maupun bercabang, taksonomi tanaman singkong dapat diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Subdivisi	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Dicotyledonae</i>
Ordo	: <i>Euphorbiales</i>
Famili	: <i>Euphorbiaceae</i>
Genus	: <i>Manihot</i>
Spesies	: <i>Manihot esculenta</i>

(Bahekar dan Kale, 2013).

### 2.3.2 Habitat Tanaman Singkong (*Manihot esculenta*)

Indonesia mengenal tanaman singkong sebagai ubi kayu yang banyak tumbuh pada daerah dengan ketinggian 5-1.300 m. Istilah lain tanaman singkong adalah kasepe, dan dalam bahasa inggris disebut *cassava*. Tanaman singkong mudah tumbuh meskipun pada keadaan tanah kering dan pH tanah yang asam (pH: 4-8), serta tahan terhadap serangan gulma maupun penyakit. Umumnya, budidaya tanaman singkong dengan cara stek batang. Tanaman singkong dapat tumbuh pada curah hujan 500-5000 mm. Tanaman ini toleran terhadap kadar kalsium yang rendah serta aluminium dan mangan yang tinggi (Utama dan Rukismono, 2018).

## 2.4 Daun Singkong

### 2.4.1 Morfologi Daun Singkong

Tanaman singkong termasuk berdaun tunggal sebab hanya memiliki satu helai daun pada setiap tangkainya. Susunan tulang daun menjari dengan cangkup 5-9 helai dan ujungnya meruncing. Daun singkong dibedakan menjadi enam, diantaranya sebagai berikut :

- 1) Daun sempit dan memanjang dengan 2-3 sudut tajam pada tiap sisi daun.



- 2) Daun sempit memanjang dengan 2-3 sudut tumpul (bergelombang).
- 3) Daun sempit memanjang dengan tepi rata.
- 4) Daun lebar memanjang.
- 5) Daun lebar lonjong,
- 6) Daun lebar dengan ujung membulat.

Bagian atas helai daun memiliki warna berbeda-beda, yakni berwarna hijau gelap, hijau muda, ungu kehijauan, dan kuning belang-belang. Warna tulang daun juga bervariasi mulai dari hijau hingga ungu. Tangkai daun berukuran panjang 10-20 cm dengan variasi warna merah, ungu, hijau, kuning, atau kombinasi keempatnya (Taufiq dkk., 2016). Daun tanaman singkong dapat dilihat pada gambar 2.4.



**Gambar 2.4** Daun tanaman singkong (Taufiq dkk., 2016)

#### 2.4.2 Kandungan Daun Singkong

Daun singkong memiliki berbagai kandungan kimia yang dapat dimanfaatkan dalam dunia kesehatan, dalam 100 gram daun singkong terkandung 90 kalori, 77 gram air, 6,8 gram protein, 1,2 gram lemak, 13 gram karbohidrat, 165 mg kalsium, 54 gram fosfor, 2 gram zat besi, dan 0.12 mcg thiamin. Daun singkong juga mempunyai kandungan vitamin A dan vitamin C yang cukup tinggi, dalam 100 gram daun singkong terkandung 3.300 RE vitamin A dan 275 mg vitamin C (Subeki dkk., 2013). Selain itu, daun singkong memiliki kandungan

utama berupa senyawa kimia flavonoid yang mencapai 881,33 mg RE/g (*Miligram Rutin Equivalent Per Gram*) (Hasim dkk., 2016). Kandungan senyawa organik lain berupa saponin, triterpenoid, dan tanin juga dimiliki daun singkong (Robbins SL dalam Meilawaty, 2013).

#### 2.4.3 Manfaat Daun Singkong

Masyarakat tentunya tidak asing lagi dengan daun singkong, sebab sudah umum dimanfaatkan sebagai sayuran bahan pangan dan makanan ternak. Namun, kebanyakan masyarakat belum mengetahui dengan pasti kandungan kimia daun singkong. Kandungan vitamin dan mineral yang dimiliki daun singkong cukup tinggi, dalam 100 gram daun singkong mengandung 3.300 RE vitamin A yang baik untuk kesehatan mata serta 275 mg vitamin C yang bermanfaat untuk meningkatkan kekebalan tubuh, mencegah sariawan, membantu menangkal radikal bebas, mengurangi rasa sakit, dan mempercepat penyembuhan luka. Daun singkong juga mempunyai kandungan serat yang tinggi sehingga membantu melancarkan buang air besar (Utama dan Rukismono, 2018).

Kandungan senyawa organik berupa flavonoid, saponin, triterpenoid, dan tanin mempunyai beberapa efek farmakologis. Flavonoid sebagai kandungan utama senyawa kimia daun singkong dilaporkan mempunyai aktivitas antivirus, antiinflamasi, dan antibakteri (Zakaryan dkk., 2017). Senyawa saponin dan tanin juga mempunyai sifat antibakteri (Sapara dkk., 2016).

### 2.5 Metode Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pengambilan zat aktif dari suatu simplisia. Ekstraksi dilakukan dengan beberapa metode berikut :

#### a. Ekstraksi dingin

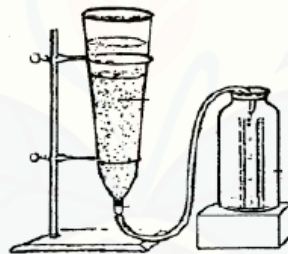
Ekstraksi secara dingin merupakan metode yang paling sederhana, prinsip dari metode ini adalah dengan mengekstraksi bahan kering pada suhu kamar dengan pelarut yang polaritasnya tinggi. Berikut yang termasuk dalam ekstraksi dingin adalah:

### 1) Maserasi

Merupakan metode yang dilakukan dengan mengaduk beberapa kali simplisia dalam suhu kamar. Metode ini tidak dilakukan dengan suhu tinggi. Maserasi sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam sebab membutuhkan biaya yang relatif sedikit. Pada perendaman sampel tumbuhan, pelarut akan mengalir ke dalam sel kemudian menyebabkan lisisnya dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar dinding sel sehingga metabolit yang ada pada sitoplasma akan terlarut (Susanty dan Bachmid, 2016).

### 2) Perkolasi

Arti kata perkolasi berasal dari kata *perkolare* yang berarti penetesan. Prinsip metode perkolasi adalah dengan menempatkan serbuk simplisia pada suatu bejana silindris bernama perkolator, yang terdapat sekat berpori pada bagian bawahnya (Hasanah dkk., 2015). Gambaran perkolator dapat dilihat pada gambar 2.5.



**Gambar 2.5** Perkolator (Leba, 2017)

### b. Ekstraksi panas

Metode ini menggunakan peningkatan suhu pada pelarutnya, beberapa jenis ekstrak panas diantaranya :

#### 1) Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan cara meningkatkan temperatur pelarut sampai titik didihnya selama waktu yang ditentukan, dan dengan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan digunakan pendingin balik. Umumnya



dilakukan proses pengulangan pada residu pertama sampai 3-5 kali hingga mendapatkan ekstrak yang sempurna (Hasrianti dkk., 2016).

## 2) Sokletasi

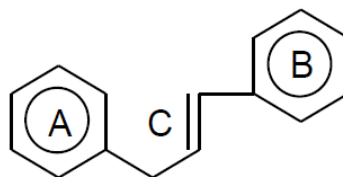
Sokletasi merupakan ekstraksi berkesinambungan dengan diawali proses pemanasan pelarut hingga menguap, kemudian uap pelarut akan terkondensasi menjadi molekul air oleh pendingin balik dan melarutkan bahan dalam klongsong, selanjutnya masuk kembali dalam labu alas bulat setelah melewati pipa (Leba, 2017). Alat sokletasi terdiri dari pipa pendingin, tabung soxhlet dan labu lemak (Gambar 2.6).



**Gambar 2.6** Alat ekstraksi sokletasi (Leba, 2017)

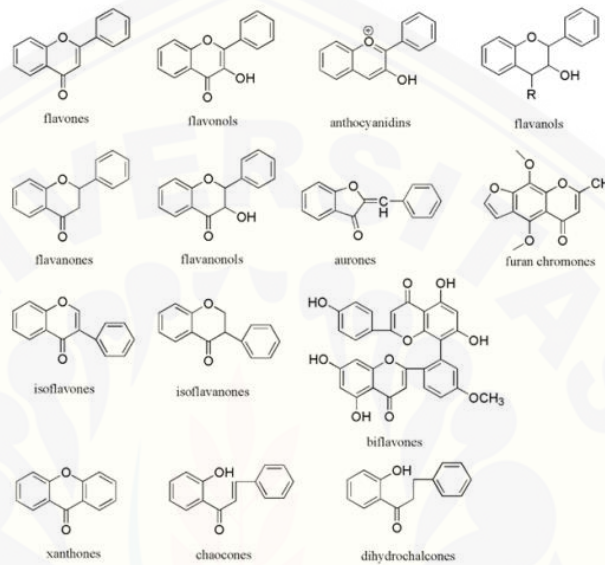
## 2.6 Flavonoid

Flavonoid berasal dari golongan senyawa fenol alam yang tersebar dalam hampir seluruh jenis tanaman. Flavonoid tersusun oleh 15 atom karbon sebagai inti dasarnya dan memiliki konfigurasi  $C_6 - C_3 - C_6$ , atau dikenal dengan cincin aromatik dan dihubungkan oleh tiga atom karbon (Parwata, 2016). Gambaran senyawa flavonoid dapat dilihat pada gambar 2.7.



**Gambar 2.7** Struktur dasar senyawa flavonoid (Parwata, 2016)

Flavonoid dibedakan menjadi beberapa subkelas didasarkan pada sifat-sifat struktural, diantaranya : flavonols, flavanon, flavon, isoflavon, anthocyanidins, dan flavonol. Dari subkelas tersebut, flavonoid masih dibedakan menjadi beberapa golongan lagi. Golongan flavonoid dan gambaran struktur kimianya dapat dilihat pada gambar 2.8 berikut:



**Gambar 2.8** Struktur golongan flavonoid (Arifin dan Ibrahim, 2018)

Aktivitas biologis yang dimiliki flavonoid adalah sifat antibakteri, antiinflamasi, antialergi, antioksidan, dan antikarsinogen. Flavonoid sebagai antibakteri tergantung pada struktur cincin aromatikanya (Alghazeer dkk., 2017). Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri terbagi menjadi tiga jenis, yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel dan menghambat metabolisme energi bakteri. Proses penghambatan sintesis asam nukleat bakteri akan memanfaatkan cincin A dan B flavonoid yang berperan pada proses interkelasi atau ikatan hidrogen dengan cara menumpuk basa asam nukleat sehingga proses pembentukan DNA dan RNA akan terganggu.

Hasil interaksi flavonoid juga akan menimbulkan permeabilitas dinding sel terganggu. Pada kerja penghambatan fungsi membran sel, flavonoid akan membentuk senyawa kompleks dari protein ekstraseluler hingga membran sel akan rusak dan kandungan senyawa intraseluler akan keluar. Sedangkan dalam

kerja penghambatan metabolisme energi bakteri, flavonoid akan menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri. Penghambatan ini dilakukan dengan cara mencegah pembentukan energi pada membran sitoplasma dan menghambat motilitas bakteri (Nomer dkk., 2019).

## 2.7 Flavonoid Daun Singkong

Salah satu unsur senyawa kimia yang dimiliki daun singkong adalah flavonoid. Sebanyak 881,33 mg RE flavonoid didapatkan dalam 100 gram daun singkong (Hasim dkk., 2016). Salah satu macam flavonoid yang dimiliki daun singkong adalah jenis *quersetin*, golongan flavonol. Penelitian terdahulu menunjukkan flavonoid jenis *quersetin* mampu menurunkan kadar gula glukosa darah mencit yang diinduksi aloksan sehingga flavonoid daun singkong ini diduga mempunyai sifat antihiperlikemia (Warditiani dkk., 2015). Gugus *quersetin* juga bekerja sebagai antioksidan, dengan cara berikatan dengan radikal bebas (Alrawaiq, 2014). Menurut Oktiani dkk. (2009) dan Tsumbu dkk. (2011), hasil identifikasi dari jenis flavonoid daun singkong adalah *rutin (quersetin-3-rutinosida)* (Hasim dkk., 2016). *Rutin* merupakan flavonoid golongan flavonol yang mengandung satu glikosida (*monoglikosida*). Penelitian sebelumnya menunjukkan hasil bahwa flavonoid jenis *rutin* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, sehingga flavonoid daun singkong juga diduga mempunyai aktivitas antibakteri (Aryantini dkk., 2018).

## 2.8 Antibakteri

### 2.8.1 Mekanisme Kerja Antibakteri

Antibakteri merupakan senyawa kimia yang mempunyai karakteristik membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri. Antibakteri idealnya mempunyai sifat toksisitas selektif, artinya hanya menimbulkan efek toksik bagi mikroorganisme patogen tetapi aman untuk *host*. Berdasarkan spektrum kerjanya, antibakteri dibedakan menjadi spektrum sempit (*narrow spectrum*) dan spektrum luas (*broad spectrum*). Selain itu, antibakteri juga dibedakan menjadi antibakteri yang dapat membunuh bakteri (bakterisid), dan antibakteri yang hanya dapat menghambat pertumbuhan bakteri (bakteriostatik) (Wang dkk., 2015).

Kerja antibakteri dibedakan menjadi empat mekanisme, diantaranya :

a. Menghambat pembentukan dinding sel

Pada mekanisme ini, antibakteri bekerja dengan target dinding sel bakteri. Dinding sel mengandung polimer kompleks peptidoglikan yang khas secara kimiawi berisi polisakarida dan campuran rantai polipeptida yang tinggi. Dinding sel berfungsi melindungi sel dan mempertahankan bentuk bakteri. Dinding sel mempunyai tekanan osmotik internal yang tinggi. Gangguan pada proses pembentukan dinding sel ini dapat mengakibatkan dinding sel tidak terbentuk sempurna sehingga merubah tekanan osmotik dan mengakibatkan lisisnya sel bakteri (Nafees dkk., 2018).

b. Merubah permeabilitas membran sel

Sitoplasma yang terkandung pada sel hidup dibatasi oleh membran sitoplasma yang bersifat selektif permeabel, dan berfungsi sebagai transportasi aktif sehingga mengontrol komposisi internal sel. Apabila terdapat gangguan fungsional pada membran sitoplasma, maka akan terjadi kebocoran yang mengakibatkan makromolekul dan ion keluar dari sel sehingga menyebabkan kerusakan bahkan kematian sel (Nafees dkk., 2018).

c. Menghambat sintesis protein

Protein memegang peranan penting dalam proses kehidupan sel. Pada mekanisme ini antibakteri akan menghambat translasi atau sintesis protein dengan cara menghambat terikatnya mRNA pada ribosom. Gangguan ini mengakibatkan terganggunya kelangsungan hidup bakteri, sebab protein yang terbentuk tidak sesuai kode (Nafees dkk., 2018).

d. Menghambat sintesis asam nukleat

Mekanisme antibakteri menghambat sintesis asam nukleat yakni dengan cara mengganggu proses sintesis dari DNA-*polymerase* (*deoxyribonucleid acid polymerase*) dan DNA *helicase* atau RNA-*polymerase* (*ribonucleid acid polymerase*) sehingga menghalangi proses replikasi dari bakteri (Nafees dkk., 2018).

### 2.8.2 Metode Uji Daya Hambat Antibakteri

Uji daya hambat dilakukan untuk mengetahui aktivitas zat antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri dengan metode yang sudah terstandarisasi (Nafees dkk., 2018) Beberapa metode uji daya hambat antibakteri adalah sebagai berikut :

#### a. Metode dilusi

Metode dilusi ini dibedakan menjadi dua jenis, yakni:

##### 1) Metode dilusi cair

Metode dilusi cair dilakukan dengan melakukan pengisian bakteri yang akan diuji ke dalam tabung reaksi. Zat antibakteri diencerkan sesuai dengan serial dalam media cair, lalu diinokulasikan dengan bakteri didalam tabung reaksi dan diinkubasi pada suhu dan waktu yang telah ditentukan. Konsentrasi terendah yang masih menunjukkan adanya hambatan pertumbuhan bakteri baik secara visual atau alat disebut sebagai konsentrasi hambat minimum (KHM) atau *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) (Soleha, 2015).

##### 2) Metode dilusi padat

Serupa dengan metode dilusi cair, namun metode ini dilakukan dengan pengenceran zat antibakteri pada media agar padat lalu dituangkan ke dalam cawan petri. Setelah media agar membeku, bakteri diinokulasikan lalu diinkubasi pada suhu dan waktu yang telah ditentukan. Konsentrasi terendah dari antibakteri yang masih bisa menghambat pertumbuhan bakteri dijadikan sebagai konsentrasi hambat minimum (KHM) atau *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) (Soleha, 2015).

#### b. Metode difusi

Metode difusi dibedakan menjadi dua, yakni metode *disk diffusion* dan metode *ring plate*.

##### 1) Metode *disk diffusion*

Metode uji daya hambat antibakteri *disk diffusion* Kirby-Bauer ini dengan menggunakan kertas cakram yang telah dicelupkan kedalam zat antibakteri kemudian diletakkan kedalam media agar. Selanjutnya, bakteri yang akan diteliti diinokulasikan disekitar cakram lalu diinkubasi sesuai suhu dan waktu yang telah



ditentukan. Apabila terbentuk zona bening disekitar kertas cakram, hal tersebut menunjukkan adanya hambatan zat antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri, oleh karena bakteri tersebut memiliki sensitifitas terhadap zat antibakteri (Soleha, 2015).

## 2) Metode *ring plate*

Metode *ring plate* ini mirip dengan metode *disk diffusion* yakni menggunakan media agar yang telah diinokulasikan bakteri, tetapi pada metode ini dibuat bentuk *ring* atau lubang sumuran. Zat antibakteri yang akan diteliti dimasukan ke dalam setiap lubang sumuran lalu diinkubasikan sesuai suhu dan waktu yang telah ditentukan. Apabila terbentuk zona bening disekitar lubang sumuran, hal tersebut menunjukkan adanya hambatan zat antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri (Retnaningsih dkk., 2019).

## 2.9 *Metronidazole*

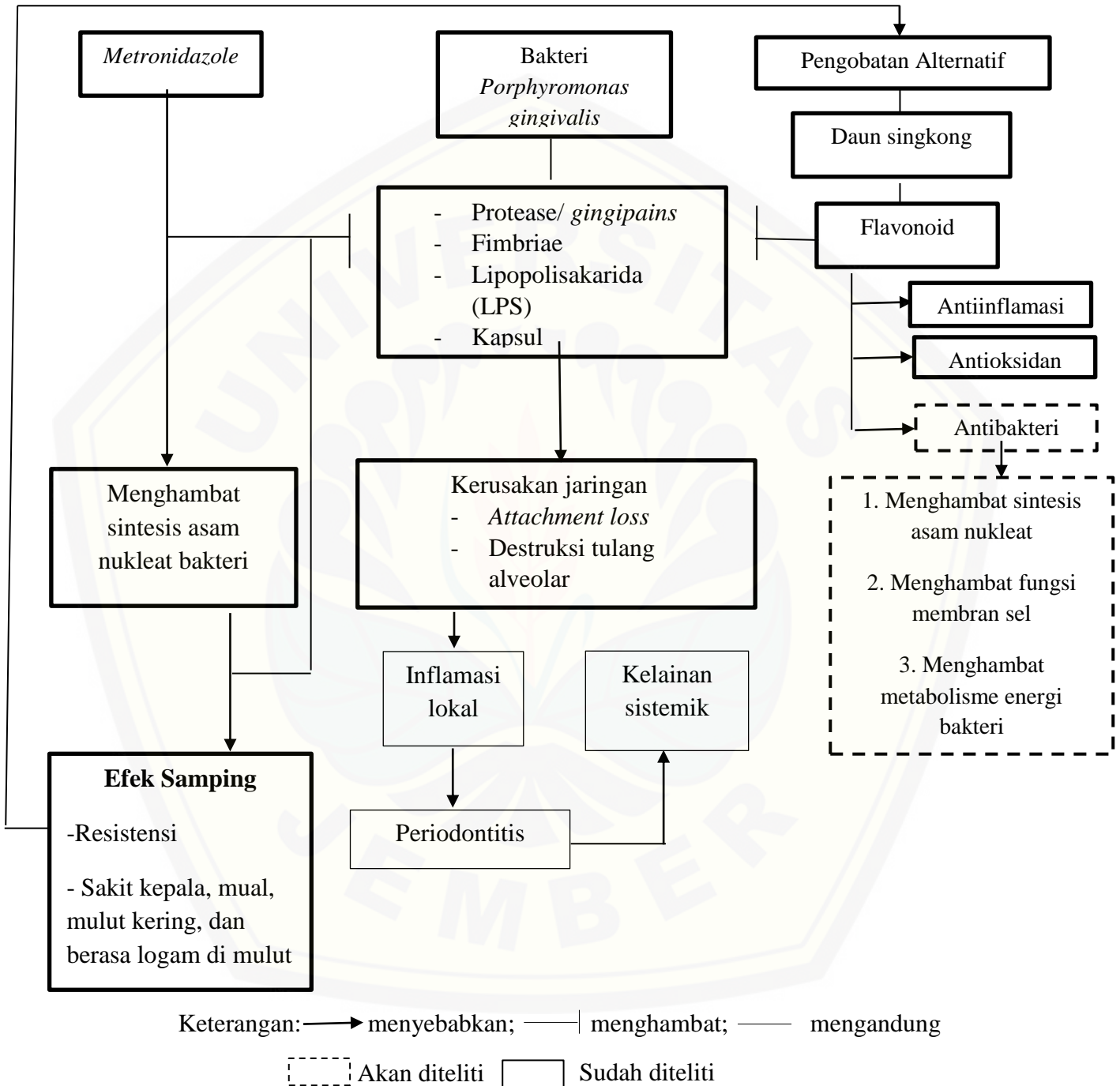
*Metronidazole* merupakan antibiotik sintetis turunan *imidazole* yang dikembangkan untuk mengatasi infeksi protozoa. *Metronidazole* sering digunakan untuk terapi penunjang perawatan penyakit periodontal sebab efektif untuk bakteri anaerob, seperti *P.gingivalis* dan *Prevotella intermedia* (Newman dkk., 2015). *Metronidazole* bersifat bakterisid yang juga efektif terhadap mikroorganisme yang terlibat dalam infeksi *acute necrotizing ulcerative gingivitis*. Penggunaan *metronidazole* dalam perawatan periodontal sering digunakan dalam bentuk topikal gel (Wijayanto dkk., 2014).

Mekanisme kerja *metronidazole* sebagai antibakteri dengan cara masuk ke dalam sel bakteri dan bereduksi menjadi produk polar yang menghasilkan 2-*hydroxymethyl metronidazole* yang akan berikatan dengan DNA bakteri dan mengganggu struktur heliksnya, lalu menghambat sintesis asam nukleat dan mengakibatkan kematian sel bakteri (Tani dkk., 2017). Namun, penggunaan gel *metronidazole* yang kurang tepat dan berlebihan dapat menimbulkan resistensi (Ardila dkk., 2010). Pemakaian secara sistemik *metronidazole* jangka panjang juga menimbulkan efek samping seperti sakit kepala, mual, mulut kering, dan berasa logam di mulut (Tedjasulaksana, 2016).



**2.10 Kerangka Konsep**

Kerangka konsep dalam penelitian ini dapat dilihat pada (Gambar 2.9) berikut :



**Gambar 2.9** Kerangka konsep

### 2.11 Penjelasan Kerangka Konsep

Bakteri yang terkandung dalam plak merupakan penyebab utama yang memicu proses terjadinya inflamasi pada jaringan periodontal. Salah satu bakteri yang menimbulkan penyakit periodontal adalah *P.gingivalis*. Faktor virulensi yang dimiliki *P.gingivalis* adalah protease/ *gingipains*, fimbriae lipopolisakarida (LPS), dan kapsul. Respon inflamasi ini dapat menyebabkan gambaran klinis berupa hilangnya perlekatan pada ligamen periodontal (*attachment loss*) dan destruksi tulang alveolar. Gambaran klinis dari inflamasi lokal pada jaringan periodontal tersebut disebut dengan periodontitis, apabila periodontitis yang terjadi terus dibiarkan dapat menimbulkan inflamasi sistemik. Oleh karena itu, untuk mencegah timbulnya penyakit periodontal, pertumbuhan bakteri harus dihambat dengan zat antibakteri.

Antibakteri merupakan senyawa kimia yang berfungsi untuk menghambat atau membunuh pertumbuhan bakteri. Antibakteri bisa didapat dari bahan sintetis maupun bahan alami. Antibakteri sintesis yang sering digunakan untuk mengobati penyakit periodontal adalah *metronidazol*, bekerja dengan cara menghambat sintesis asam nukleat dari bakteri. Namun, pengobatan ini memiliki beberapa efek samping yang ditimbulkan misalnya resistensi dan sakit kepala, mual, mulut kering, serta berasa logam di mulut, sehingga perlu adanya pengobatan alternatif dengan memanfaatkan bahan alam misalnya daun singkong. Kandungan senyawa kimia utama pada daun singkong adalah flavonoid, yang diduga mempunyai sifat antiinflamasi, antioksidan dan antibakteri. Cara kerja antibakteri flavonoid adalah dengan menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel dan menghambat metabolisme energi bakteri.

### 2.12 Hipotesis

Hipotesis pada penelitian ini adalah ekstrak flavonoid daun singkong (*Manihot esculenta*) mempunyai efek antibakteri terhadap *P.gingivalis*.

## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris (Sumantri, 2015).

### 3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *the post test only control group design* untuk mengetahui perbedaan signifikan antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol (Sugiono, 2017).

### 3.3 Tempat Penelitian dan Waktu Penelitian

#### 3.3.1 Tempat Penelitian

Tempat yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

- a. Sekretariat Komite Penelitian Kesehatan, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada sebagai tempat pembuatan kode etik penelitian (*ethical clearance*).
- b. Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi, Pasuruan, Jawa Timur sebagai tempat identifikasi tanaman singkong.
- c. Laboratorium Teknik Kimia, Politeknik Negeri Malang sebagai tempat pembuatan ekstrak flavonoid daun singkong (*Manihot esculenta*).
- d. Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga sebagai tempat penelitian daya antibakteri ekstrak flavonoid daun singkong (*Manihot esculenta*) terhadap *P.gingivalis*.

#### 3.3.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan September- Desember 2020.

### 3.4 Variabel Penelitian

#### 3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak flavonoid daun singkong (*Manihot esculenta*) dosis 6,25 µg/ml, 12,5 µg/ml, 25 µg/ml, 50 µg /ml, 100 µg/ml, 200 µg/ml.

#### 3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah daya antibakteri ekstrak flavonoid daun singkong (*Manihot esculenta*) terhadap pertumbuhan *P.gingivalis*.

#### 3.4.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah suspensi *P.gingivalis* (0,5 Mc Farland), strain *P.gingivalis* ATCC 33277, media biakan *P.gingivalis* (MHA/*Mueller Hinton Agar*), suhu dan waktu inkubasi, kriteria daun singkong (*Manihot esculenta*), dan prosedur kerja

### 3.5 Definisi Operasional

#### 3.5.1 Ekstrak Flavonoid Daun Singkong(*Manihot esculenta*)

Ekstrak flavonoid daun singkong adalah flavonoid dari daun singkong yang diperoleh dengan metode maserasi dilanjutkan dengan metode refluks. Ekstrak flavonoid yang didapat tersebut digunakan sebagai ekstrak flavonoid konsentrasi 100% dibuat dalam dosis 6,25 µg/ml, 12,5 µg/ml, 25 µg/ml, 50 µg /ml, 100 µg/ml, dan 200 µg/ml.

#### 3.5.2 *Porphyromonas gingivalis*

*P.gingivalis* merupakan bakteri anaerob gram negatif berbentuk *cocobasil* dengan panjang 0.5-2 µm. Pewarnaan gram pada kultur *P.gingivalis* menunjukkan hasil warna merah.

### 3.5.3 Daya Antibakteri Ekstrak Flavonoid Daun Singkong (*Manihot esculenta*)

Daya antibakteri ekstrak flavonoid daun singkong (*Manihot esculenta*) merupakan kemampuan ekstrak flavonoid daun singkong dalam menghambat pertumbuhan *P.gingivalis*. Hambatan pertumbuhan diuji menggunakan metode *disk diffusion* (Kirby-Bauer), hasil hambatan pertumbuhan *P.gingivalis* pada metode ini ditandai dengan terbentuknya zona hambat yaitu daerah jernih pada daerah sekitar kertas cakram. Zona hambat yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong dari tepi (*break point*) ke tepi (*break point*) yang berseberangan melewati pusat kertas cakram.

## 3.6 Sampel Penelitian

### 3.6.1 Pembagian Kelompok Sampel Penelitian

Sampel penelitian dibagi menjadi 8 kelompok perlakuan yaitu:

- a. Kelompok kontrol negatif (K-) : *propylene glycol*
- b. Kelompok kontrol positif (K+) : bubuk *metronidazole analog*
- c. Kelompok ekstrak flavonoid daun singkong dosis 6,25 µg/ml (6,25)
- d. Kelompok ekstrak flavonoid daun singkong dosis 12,5 µg/ml (12,5)
- e. Kelompok ekstrak flavonoid daun singkong dosis 25 µg/ml (25)
- f. Kelompok ekstrak flavonoid daun singkong dosis 50 µg/ml (50)
- g. Kelompok ekstrak flavonoid daun singkong dosis 100 µg/ml (100)
- h. Kelompok ekstrak flavonoid daun singkong dosis 200 µg/ml (200)

### 3.6.2 Jumlah Sampel Penelitian

Jumlah sampel yang digunakan pada penelitian ini dihitung menggunakan rumus perhitungan jumlah sampel menurut Federer (Wahyuningrum dan Probosari, 2012) adalah sebagai berikut :

$$(n-1) \times (t-1) \geq 15$$

Keterangan :

n : jumlah pengulangan

t : jumlah perlakuan

15 : konstanta



Perhitungan jumlah pengulangan minimal yang dilakukan pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

$$(n - 1) \times (t-1) \geq 15$$

$$(n - 1) \times (8 - 1) \geq 15$$

$$(n - 1) \times 7 \geq 15$$

$$7n - 7 \geq 15$$

$$7n \geq 22$$

$$n \geq 3,14$$

Berdasarkan hasil perhitungan diatas, jumlah sampel minimum (pengulangan) yang didapat yaitu 3,14 dapat dibulatkan menjadi 4 kali untuk setiap kelompok. Dalam penelitian ini peneliti menggunakan pengulangan sebanyak 5 kali, sehingga total sampel dari 8 kelompok adalah 40 sampel.

### 3.6.3 Kriteria Daun Singkong

Daun singkong yang digunakan adalah daun singkong yang diperoleh langsung dari petani di Desa Kreongan, Kelurahan Bintoro, Kecamatan Patrang, Jember, Jawa Timur dan telah dilakukan identifikasi. Daun yang dipilih adalah daun yang masih hijau, utuh dan berada di tengah untuk menghindari kandungan sianida yang berlebih (Meilawaty, 2013). Daun singkong dipetik pada tangkai keempat atau kelima dari pucuk. Daun tua yang dipetik di pagi hari memiliki kandungan sianida yang paling sedikit (Kurnia dan Marwatoen, 2013).

## 3.7 Alat dan Bahan Penelitian

### 3.7.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah : *blender* (Miyako, Indonesia), *oven* (Binder, Germany), *petridish* tidak bersekat, ose (Nikrom, Indonesia), bunsen (Pyrex, Japan), tabung reaksi (Pyrex, Japan), jangka sorong (Inoki, Japan), *thermolyne* (Maxi Mix II, Dubuque, IOWA, USA), mikropipet (Eppendorf, Germany), *syringe* (One Med, Indonesia), inkubator (Labtech,

Indonesia), *laminar flow* (Tipe HF-100, Korea), *autoclave* (Mettler Germany), *object glass*, *deck glass*, *desicator* (Kartell, Italy), *vortex*, *beaker glass*, *spreader*, *pinset*, *rak tabung reaksi*, *spektrofotometer* (Milton roy, Spectronic 20+, Germany), *timbangan digital* (BS600H), alat untuk ekstraksi berupa *hot plate*, *pengaduk ultrasonik*, *pompa vacum*, *rotary evaporator*, *toples maserasi*, *ayakan*, dan *sentrifuge*.

### 3.7.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah : daun singkong, kultur murni *P.gingivalis*, bubuk *metronidazole analog* (Merck, Germany), *dimetil sulfoksida* (DMSO) 50%, *Brain Heart Infusion broth* (BHI-B) (Merck, Germany), *Mueller Hinton Agar*(MHA) (Merck, Germany), *etanol 96%*,  $H_3PO_4$  5%, *petroleum eter*, *propylene glycol*, *kertas cakram*, *alkohol 70%*, *kertas label*, *spidol*, *kertas saring*, *larutan saline*, *cotton swab*, *tip*, *masker*, dan *sarung tangan* (One Med, Indonesia).

## 3.8 Prosedur Penelitian

### 3.8.1 Tahap Persiapan

#### a. Ethical Clearance

Pembuatan kode etik penelitian (*ethical clearance*) dilakukan di Sekretariat Komite Penelitian Kesehatan, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada (Lampiran B).

#### b. Identifikasi Daun Singkong

Daun singkong yang didapat dari petani di Kelurahan Bintoro, Kecamatan Patrang, Jember, Jawa Timur dibawa ke Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi, Pasuruan, Jawa Timur untuk dilakukan identifikasi (Lampiran C).

c. Sterilisasi Alat

Semua alat yang terbuat dari kaca disterilkan menggunakan oven selama 120 menit pada suhu 160°C, sedangkan untuk alat yang terbuat dari plastik dicuci bersih dan dikeringkan lalu diulas menggunakan alkohol 70%.

d. Pembuatan Suspensi *P.gingivalis*

Pembuatan suspensi sesuai standar *NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards)*, yaitu dimulai dengan menyiapkan tabung reaksi dan memasukan 2 ml BHI-B ke dalam tabung reaksi. Masukan satu ose biakan bakteri, dan celupkan ke dalam BHI-B. Selanjutnya, masukkan tabung reaksi ke dalam desikator untuk mendapatkan suasana fakultatif anaerob. Desikator dimasukan ke dalam inkubator, lalu diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam. Pertumbuhan *P.gingivalis* ditandai dengan adanya kekeruhan pada media. Setelah dikeluarkan dari inkubator, suspensi divibrasi menggunakan *thermolyne* agar homogen. Ukur tingkat absorbansinya menggunakan spektrofotometer.

Siapkan tabung reaksi yang sudah diisi larutan *saline* sebanyak 4 ml, masukan beberapa tetes suspensi bakteri. sesuaikan kekeruhan suspensinya hingga sesuai standar McFarland 0,5 yang ekuivalen dengan suspensi sel bakteri dengan konsentrasi  $1,5 \times 10^8$  CFU/mL yang kekeruhannya digunakan sebagai standar suspensi bakteri uji. Apabila suspensi terlalu keruh, tambahkan larutan *saline*. Namun apabila suspensi terlalu jernih maka tambahkan beberapa tetes suspensi bakteri kembali.

e. Pembuatan Kontrol Positif

Kontrol positif yang digunakan pada penelitian ini adalah bubuk *metronidazole analog* dengan dosis 125µg/ml Pembuatan kontrol positif ini dilakukan dengan mencampurkan 125 µg bubuk *metronidazole analog* dengan DMSO 50% (*dimetil sulfoksida*) pada tabung reaksi hingga volumenya mencapai 1 ml kemudian di vortex hingga larutan menjadi homogen.

f. Pembuatan Kontrol Negatif

Kontrol negatif yang digunakan pada penelitian ini adalah *propylene glycol*. Pada penelitian sebelumnya digunakan *propylene glycol* sebagai kontrol negatif, karena tidak menunjukkan adanya aktivitas antibakteri (Hamzah dkk., 2019). *Propylene glycol* berwujud cairan bening (hampir tidak berwarna), kental dan hampir tidak berbau.

g. Pembuatan Ekstrak Flavonoid Daun Singkong (*Manihot esculenta*)

Tahapan pembuatan ekstrak flavonoid daun singkong pada penelitian ini diawali dengan pengambilan daun singkong (*Manihot esculenta*) dari petani di Kelurahan Bintoro, Kecamatan Patrang, Jember, Jawa Timur. Daun dipetik pada daun ke-5 dari pucuk sebanyak 500 gram, dicuci bersih, dipotong kecil-kecil dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan selama 3 hari pada suhu ruang (Widyaningsih dkk., 2017). Daun tersebut kemudian di oven selama 24 jam pada suhu 40°C lalu dihaluskan dan diayak hingga mendapatkan sebanyak 357,73 gram bubuk halus. Setelah itu, dilakukan maserasi dengan menempatkan simplisia pada wadah atau bejana yang berisi larutan etanol 96% (Docheva dkk., 2014). Perbandingan bubuk daun singkong dengan etanol 96% adalah 1:5. Bejana ditutup rapat kemudian diaduk berulang-ulang selama 3 hari, sehingga memungkinkan pelarut masuk ke seluruh permukaan simplisia. Selanjutnya larutan yang dihasilkan dipekatkan menggunakan rotavapor (*rotary evaporator*) dengan suhu 50°C dan putaran 90 rpm selama 5 jam dan dihasilkan ekstrak daun singkong semi solid 43,44 gram pada konsentrasi 100%.

Langkah berikutnya dilakukan pengambilan ekstrak flavonoid dengan cara menambahkan pelarut yang sama yaitu 100 ml etanol 96%, kemudian diproses secara ultrasonik selama 10 menit. Tambahkan dengan 10 ml H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 5% dan lakukan metode reflux pada suhu 80°C selama 30 menit kemudian didiamkan selama 8 jam. Metode reflux merupakan metode ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut yang relatif konstan dengan dilengkapi pendingin balik (Hasrianti dkk., 2016). Lapisan atas yang terbentuk diambil, dan dilakukan filtrasi vakum. Lakukan pengestrakan kembali pada hasil filtrat dengan ditambahkan 10 ml petroleum eter dan diulang 3

kali. Hasil ekstrak dipanaskan pada suhu 60° C, untuk mengurangi jumlah etanol dapat ditambahkan air (Jimenez dkk., 2020). Tambahkan 20 ml asetonitril untuk membersihkan dari zat organik seperti sisa gula yang masih menempel (Shao dkk., 2017).

Dilanjutkan dengan proses sonikasi selama 5 menit. Sonikasi merupakan metode yang dapat memisahkan penggumpalan partikel (*agglomeration*) dan terjadi dispersi/penguraian dengan sempurna (Delmifiana dan Astuti, 2013). Selanjutnya disentrifugasi pada putaran 4000 rpm selama 5 menit. Lapisan atas yang terbentuk diambil dan dikeringkan untuk selanjutnya dilakukan pengujian menggunakan metode kromatografi cair-tandem spektrometri massa (LC-MS / MS) untuk menentukan tingkat flavonoid (Muhammad dkk., 2013). Proses ekstraksi selesai dan didapatkan ekstrak flavonoid daun singkong (*Manihot esculenta*).

h. Pembuatan Dosis Ekstrak Flavonoid Daun Singkong (*Manihot esculenta*)

Ekstrak flavonoid dengan konsentrasi 100% yang didapat dari hasil ekstraksi digunakan dalam dosis 6,25 µg/ml, 12,5 µg/ml, 25 µg/ml, 50 µg /ml, 100 µg/ml, dan 200 µg/ml.

1. Pembuatan dosis 6,25 µg/ml dilakukan dengan mencampurkan 6,25 µg ekstrak flavonoid daun singkong konsentrasi 100% dengan *propylene glycol* ke dalam tabung reaksi hingga volumenya mencapai 1 ml, kemudian di vortex agar larutan menjadi homogen.
2. Pembuatan dosis 12,5 µg/ml dilakukan dengan mencampurkan 12,5 µg ekstrak flavonoid daun singkong konsentrasi 100% dengan *propylene glycol* ke dalam tabung reaksi hingga volumenya mencapai 1 ml, kemudian di vortex agar larutan menjadi homogen.
3. Pembuatan dosis 25 µg/ml dilakukan dengan mencampurkan 25 µg ekstrak flavonoid daun singkong konsentrasi 100% dengan *propylene glycol* ke dalam tabung reaksi hingga volumenya mencapai 1 ml, kemudian di vortex agar larutan menjadi homogen.
4. Pembuatan dosis 50 µg/ml dilakukan dengan mencampurkan 50 µg ekstrak flavonoid daun singkong konsentrasi 100% dengan *propylene glycol* ke dalam



tabung reaksi hingga volumenya mencapai 1 ml, kemudian di vortex agar larutan menjadi homogen.

5. Pembuatan dosis 100 µg/ml dilakukan dengan mencampurkan 100 µg ekstrak flavonoid daun singkong konsentrasi 100% dengan *propylene glycol* ke dalam tabung reaksi hingga volumenya mencapai 1 ml, kemudian di vortex agar larutan menjadi homogen.
6. Pembuatan dosis 200 µg/ml dilakukan dengan mencampurkan 200 µg ekstrak flavonoid daun singkong konsentrasi 100% dengan *propylene glycol* ke dalam tabung reaksi hingga volumenya mencapai 1 ml, kemudian di vortex agar larutan menjadi homogen.

i. Pemberian Label

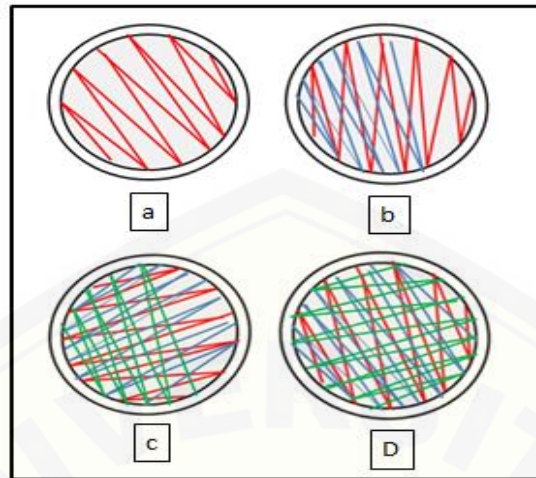
Sebanyak 15 *petridish* berisi media MHA disiapkan untuk 5 kali pengulangan. Pada setiap pengulangan terdiri dari 3 *petridish* yang masing-masing diberikan label sebagai berikut:

1. Petridish 1 : dibagi menjadi dua daerah sama besar dan diberi label K-, dan K+.
2. Petridish 2 : dibagi menjadi tiga daerah sama besar dan diberi label 6,25; 12,5; dan 25.
3. Petridish 3 : dibagi menjadi tiga daerah sama besar dan diberi label 50; 100; dan 200.

### 3.8.2 Prosedur *disk diffusion*

Uji daya hambat menggunakan metode *disk diffusion* menggunakan media MHA dilakukan sesuai prosedur sesuai standar *NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards)* dimulai dengan menyiapkan petridish yang sudah berisi media MHA dan diberi label. Kemudian teteskan suspensi *P.gingivalis* dari tabung reaksi menggunakan syringe sebanyak 1 ml pada swab steril perlahan dan merata. Bakteri diinokulasikan dengan gerakan *streaking* di seluruh permukaan

media plate. Dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali gerakan *streaking* dan *petridish* diputar 60° pada setiap pengulangan (Gambar 3.1)



**Gambar 3.1** Gambaran gerakan *streaking* (a) gerakan pertama (b) gerakan kedua dan diputar 60° (c) gerakan ketiga dan diputar 60° kembali (d) hasil gerakan *streaking*

Tunggu hingga permukaan media mengering. Tutup petridish dapat tetap dibuka selama 3-5 menit. Selanjutnya lakukan perlakuan pada kertas cakram sebagai berikut:

1. Tetesi kertas cakram dengan menggunakan *metronidazole analog* sebanyak 10  $\mu$ l menggunakan mikropipet. Apabila sudah tidak ada cairan yang menetes, kertas cakram diletakan pada media MHA yang sudah diinokulasikan *P.gingivalis* di daerah yang berlabel K+ dengan bantuan pinset steril dan sedikit penekanan agar kertas cakram menempel.
2. Tetesi kertas cakram dengan menggunakan *propylene glycol* sebanyak 10  $\mu$ l menggunakan mikropipet. Apabila sudah tidak ada cairan yang menetes, kertas cakram diletakan pada media MHA yang sudah diinokulasikan *P.gingivalis* di daerah yang berlabel K- dengan bantuan pinset steril dan sedikit penekanan agar kertas cakram menempel.
3. Tetesi kertas cakram dengan menggunakan ekstrak flavonoid daun singkong dosis 6,25  $\mu$ g/ml sebanyak 10  $\mu$ l menggunakan mikropipet. Apabila sudah tidak ada cairan yang menetes, kertas cakram diletakan pada media MHA

yang sudah diinokulasikan *P.gingivalis* di daerah yang berlabel 6,25 dengan bantuan pinset steril dan sedikit penekanan agar kertas cakram menempel.

4. Tetesi kertas cakram dengan menggunakan ekstrak flavonoid daun singkong dosis 12,5 µg/ml sebanyak 10 µl menggunakan mikropipet. Apabila sudah tidak ada cairan yang menetes, kertas cakram diletakan pada media MHA yang sudah diinokulasikan *P.gingivalis* di daerah yang berlabel 12,5 dengan bantuan pinset steril dan sedikit penekanan agar kertas cakram menempel.
5. Tetesi kertas cakram dengan menggunakan ekstrak flavonoid daun singkong dosis 25 µg/ml sebanyak 10 µl menggunakan mikropipet. Apabila sudah tidak ada cairan yang menetes, kertas cakram diletakan pada media MHA yang sudah diinokulasikan *P.gingivalis* di daerah yang berlabel 25 dengan bantuan pinset steril dan sedikit penekanan agar kertas cakram menempel.
6. Tetesi kertas cakram dengan menggunakan ekstrak flavonoid daun singkong dosis 50 µg/ml sebanyak 10 µl menggunakan mikropipet. Apabila sudah tidak ada cairan yang menetes, kertas cakram diletakan pada media MHA yang sudah diinokulasikan *P.gingivalis* di daerah yang berlabel 50 dengan bantuan pinset steril dan sedikit penekanan agar kertas cakram menempel.
7. Tetesi kertas cakram dengan menggunakan ekstrak flavonoid daun singkong dosis 100 µg/ml sebanyak 10 µl menggunakan mikropipet. Apabila sudah tidak ada cairan yang menetes, kertas cakram diletakan pada media MHA yang sudah diinokulasikan *P.gingivalis* di daerah yang berlabel 100 dengan bantuan pinset steril dan sedikit penekanan agar kertas cakram menempel.
8. Tetesi kertas cakram dengan menggunakan ekstrak flavonoid daun singkong dosis 200 µg/ml sebanyak 10 µl menggunakan mikropipet. Apabila sudah tidak ada cairan yang menetes, kertas cakram diletakan pada media MHA yang sudah diinokulasikan *P.gingivalis* di daerah yang berlabel 200 dengan bantuan pinset steril dan sedikit penekanan agar kertas cakram menempel.

Seluruh kertas cakram diletakkan tidak lebih dekat dari 24 mm dari pusat cakram ke pusat cakram lainnya. Petridish kemudian ditutup dan dimasukkan ke dalam desicator dengan posisi terbalik untuk meminimalisir jatuhnya uap air ke media sehingga mengganggu pertumbuhan bakteri. Desicator dimasukkan kedalam

inkubator pada suhu 37°C dan dilakukan pengamatan pada jam ke-24, pengamatan dilakukan oleh tiga orang. Lakukan pengukuran diameter zona hambat yang terbentuk.

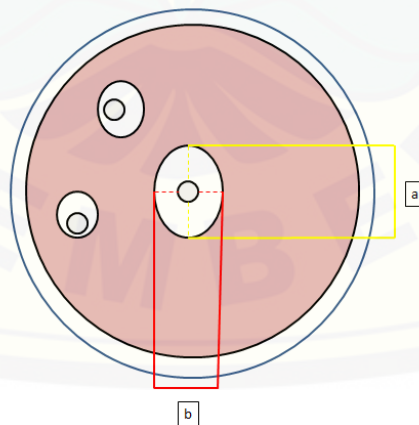
### 3.8.3 Tahap Pengukuran Diameter Zona Hambat

Perhitungan zona hambat hasil uji antibakteri ekstrak flavonoid daun singkong terhadap pertumbuhan *P.gingivalis* dapat dilakukan dengan mengukur diameter zona hambat pada bagian jernih sekitar cakram dari belakang bagian *petridish*. Pengukuran dilakukan dengan menggunakan jangka sorong dari sisi satu ke sisi lain yang berseberangan melewati pusat cakram (Gambar 3.2). Pengukuran diameter zona hambat dapat menggunakan rumus sebagai berikut (Majidah dkk., 2014):



$$\Theta = \frac{a+b}{2}$$

Keterangan :

- ø = Diameter zona hambat
- a = Diameter zona hambat paling panjang
- b = Diameter zona hambat paling pendek



Keterangan :

-  = Zona hambat
-  = Kertas cakram
- a = Diameter zona hambat paling panjang
- b = Diameter zona hambat paling pendek

**Gambar 3.2** Ilustrasi pengukuran diameter zona hambat

### 3.9 Analisis Data

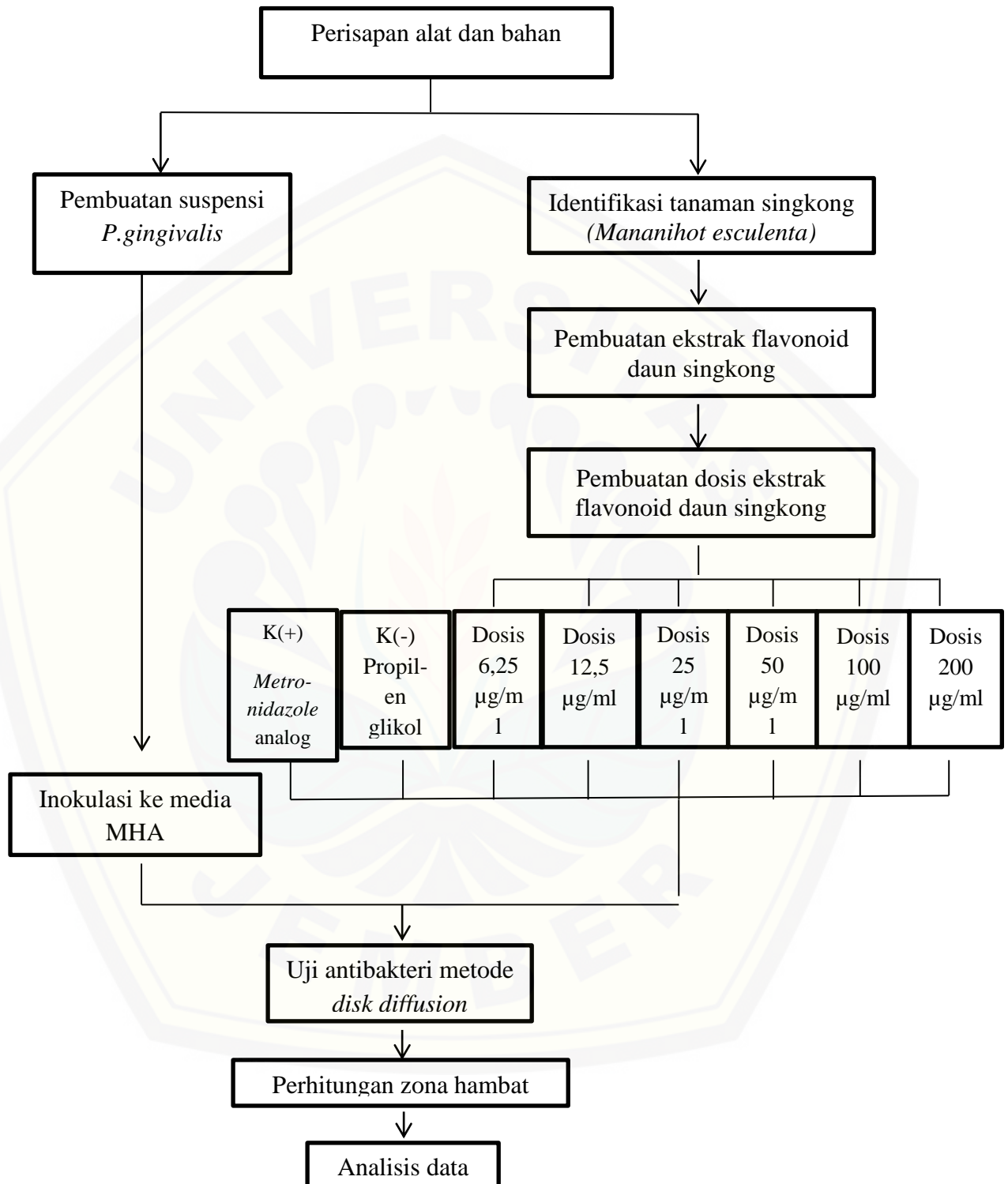
Data yang terkumpul kemudian dianalisis menggunakan program *Statistic and Public Service Solutions* (SPSS). Data hasil penelitian diuji normalitasnya menggunakan uji *Shapiro Wilk* dan uji homogenitas data menggunakan uji *Levene Test*. Selanjutnya dilanjutkan dengan uji statistik non parametrik menggunakan uji *Kruskal Wallis* ( $p < 0,05$ ) dan uji *Mann Whitney U* ( $p < 0,05$ ) untuk mengetahui besar perbedaan antar kelompok. Tingkat kepercayaan yang digunakan pada penelitian ini adalah 95%.





### 3.10 Alur Penelitian

Alur dalam penelitian ini dapat dilihat pada (Gambar 3.3) berikut :



Gambar 3.3 Alur Penelitian

## BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Hasil Penelitian

Berdasarkan hasil pengamatan dan pengukuran didapatkan hasil rata-rata diameter zona hambat dan standar deviasi masing-masing kelompok penelitian dapat dilihat pada tabel 4.1.

**Tabel 4.1** Rata-rata diameter zona hambat (mm) dan standar deviasi ekstrak flavonoid daun singkong (*Manihot esculenta*) terhadap *P.gingivalis*

Kelompok Penelitian	N	Zona Hambat (mm) $\pm$ SD
K+	5	16,58 $\pm$ 0,20
K-	5	0
200	5	14,32 $\pm$ 0,17
100	5	11,84 $\pm$ 0,32
50	5	8,92 $\pm$ 0,23
25	5	0
12,5	5	0
6,25	5	0

- N = Jumlah sampel  
 K+ = Kontrol positif  
 K- = Kontrol negatif  
 200 = Ekstrak flavonoid daun singkong dosis 200  $\mu$ g/ml  
 100 = Ekstrak flavonoid daun singkong dosis 100  $\mu$ g/ml  
 50 = Ekstrak flavonoid daun singkong dosis 50  $\mu$ g/ml  
 25 = Ekstrak flavonoid daun singkong dosis 25  $\mu$ g/ml  
 12,5 = Ekstrak flavonoid daun singkong dosis 12,5  $\mu$ g/ml  
 6,25 = Ekstrak flavonoid daun singkong dosis 6,25  $\mu$ g/ml

Tabel 4.1 merupakan hasil presentasi data rata-rata dan simpangan baku. Semakin tinggi dosis menghasilkan zona hambat yang semakin besar. Nilai rata-rata diameter zona hambat berturut-turut mulai dari yang terbesar adalah pada

kontrol positif sebesar 16,58 mm, ekstrak flavonoid daun singkong dosis 200 µg/ml sebesar 14,32 mm, ekstrak flavonoid daun singkong dosis 100 µg/ml sebesar 11,84 mm, dan ekstrak flavonoid daun singkong dosis 50 µg/ml sebesar 8,92 mm. Sedangkan pada ekstrak flavonoid daun singkong dosis 25 µg/ml, 12,5 µg/ml, 6,25 µg/ml, dan kontrol negatif tidak memiliki daya hambat sebab tidak ditemukan zona jernih pada daerah sekitar kertas cakram.

#### 4.2 Analisis Data

Hasil uji normalitas menunjukkan bahwa nilai signifikansi yang didapat pada kelompok kontrol positif, ekstrak flavonoid daun singkong dosis 200 µg/ml, 100 µg/ml, dan 50 µg/ml lebih besar dari 0,05 ( $p > 0,05$ ) atau data berdistribusi normal (Lampiran I). Hasil uji homogenitas menunjukkan bahwa nilai  $p < 0,05$ , sehingga dapat disimpulkan bahwa data ini tidak homogen (Lampiran I). Berdasarkan hasil analisis yang didapat, menunjukkan data berdistribusi normal namun tidak homogen, sehingga analisis selanjutnya menggunakan uji statistik non parametrik yaitu *Kruskal Wallis*.

Hasil uji *Kruskal Wallis* menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,000 atau nilai  $p < 0,05$  (Lampiran I). Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan kemampuan pada masing-masing kelompok penelitian dalam menghambat *P.gingivalis*. Uji statistik dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney U*. Rangkuman hasil uji statistik antar kelompok dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil uji statistik antar kelompok

Kelompok penelitian	K+	K-	200	100	50	25	12,5	6,25
K+	-	0,005*	0,009*	0,009*	0,009*	0,005*	0,005*	0,005*
K-		-	0,005*	0,005*	0,005*	1,000	1,000	1,000
200			-	0,009*	0,009*	0,005*	0,005*	0,005*
100				-	0,009*	0,005*	0,005*	0,005*
50					-	0,005*	0,005*	0,005*
25						-	1,000	1,000
12,5							-	1,000
6,25								-
K+	= Kontrol positif							
K-	= Kontrol negatif							
200	= Ekstrak flavonoid daun singkong dosis 200 µg/ml							
100	= Ekstrak flavonoid daun singkong dosis 100 µg/ml							
50	= Ekstrak flavonoid daun singkong dosis 50 µg/ml							
25	= Ekstrak flavonoid daun singkong dosis 25 µg/ml							
12,5	= Ekstrak flavonoid daun singkong dosis 12,5 µg/ml							
6,25	= Ekstrak flavonoid daun singkong dosis 6,25 µg/ml							
*	= Nilai signifikansi							

Hasil uji statistik antar kelompok menunjukkan perbedaan yang signifikan antara kelompok penelitian kontrol positif dengan kelompok ekstrak flavonoid daun singkong dosis 200µg/ml, 100µg/ml, 50µg/ml, 25µg /ml, 12,5µg/ml, dan 6,25µg/ml. Selain itu perbedaan yang signifikan juga terlihat antara kelompok kontrol negatif dengan ekstrak flavonoid daun singkong dosis 200µg/ml, 100µg/ml, 50µg/ml. Antar kelompok ekstrak flavonoid daun singkong dosis 200µg/ml, 100µg/ml, 50µg/ml juga menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan. Sedangkan hasil tidak signifikan ditunjukkan pada kelompok kontrol negatif dengan 25µg /ml, 12,5µg/ml, dan 6,25µg/ml, dan antara kelompok 25µg /ml, 12,5µg/ml, dan 6,25µg/ml. Hal tersebut menunjukkan bahwa pada kelompok kontrol negatif, dan ekstrak flavonoid daun singkong dosis 25 µg/ml, 12,5 µg/ml, dan 6,25 µg/ml memiliki kekuatan daya hambat yang sama dalam menghambat pertumbuhan *P.gingivalis*.

## BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak flavonoid daun singkong (*Manihot esculenta*) mempunyai efek antibakteri terhadap *P.gingivalis* pada dosis 50 µg /ml, 100 µg/ml, dan 200 µg/ml.

### 5.2 Saran

Saran yang dapat peneliti sampaikan untuk penelitian selanjutnya, antara lain :

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menentukan *Minimum Inhibitory Concentration* dan *Minimum Bakterisidal Concentration* ekstrak flavonoid daun singkong terhadap pertumbuhan *P.gingivalis*.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai ekstrak flavonoid daun singkong sebagai antibakteri di tingkat in vivo, preklinis, dan klinis.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai toksisitas ekstrak flavonoid daun singkong.
4. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai biokompatibilitas ekstrak flavonoid daun singkong terhadap jaringan rongga mulut khususnya jaringan periodontal.



## DAFTAR PUSTAKA

- Alghazeer, R., A. Elmansori, M. Sidati, F. Gammoudi, S. Azwai, H. Naas, A. Garbaj, dan I. Eldaghayes. 2017. *In vitro* antibacterial activity of flavonoid extracts of two selected libyan algae against multi-drug resistant bacteria isolated from food products. *Journal of Biosciences and Medicines*. 05(01):26–48.
- Alrawaiq, N. 2014. A review of flavonoid quercetin: metabolism, bioactivity and antioxidant properties. *International Journal of PharmTech Research*. 6(3):933–941.
- Amanda, E. A., B. W. Oktiani, dan F. U. A. Panjaitan. 2019. Efektivitas antibakteri ekstrak flavonoid propolis trigona sp (trigona thorasica) terhadap pertumbuhan bakteri porphyromonas gingivalis. *Dentin Jurnal Kedokteran Gigi*. 3(1):23–28.
- Ardila, C. M., M. A. López, dan I. C. Guzmán. 2010. High resistance against clindamycin, metronidazole and amoxicillin in porphyromonas gingivalis and aggregatibacter actinomycetemcomitans isolates of periodontal disease. *Medicina Oral, Patologia Oral y Cirugia Bucal*. 15(6):947–951.
- Arifin, B. dan S. Ibrahim. 2018. Struktur, bioaktivitas dan antioksidan flavonoid. *Jurnal Zarah*. 6(1):21–29.
- Aryantini, D., F. Sari, dan Juleha. 2018. Uji aktivitas antibakteri fraksi aktif terstandar flavonoid dari daun belimbing wuluh (averrhoa bilimbi l.). *Jurnal Wiyata Penelitian Sains Dan Kesehatan*. 4(2):143–150.
- Bahekar, S. dan R. Kale. 2013. Phytopharmacological aspect of manihot esculenta crantz (cassava) – a review. *Mintage Journal of Pharmaceutical & Medical Sciences*. 2(1):4–5.
- Delmifiana, B. dan Astuti. 2013. Pengaruh sonikasi terhadap struktur dan morfologi nanopartikel magnetik yang disintesis dengan metode kopresipitasi. *Jurnal Fisika Unand*. 2(3):186–189.
- Dingsdag, S. A. dan N. Hunter. 2018. Metronidazole: an update on metabolism, structure-cytotoxicity and resistance mechanisms. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 73(2):265–279.
- Docheva, M., S. Dagnon, dan S. Statkova-Abeghe. 2014. Flavonoid content and radical scavenging potential of extracts prepared from tobacco cultivars and waste. *Natural Product Research*. 28(17):1328–1334.
- Ekaputri, S. dan S. L. C. Masulili. 2010. Cairan sulkus gingiva sebagai indikator keadaan jaringan periodontal. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*. 17(1):74–78.
- Fitriyana, N., Y. M. Arina, H. Harmono, dan I. Susilawati. 2013. Pemaparan bakteri porphyromonas gingivalis mempengaruhi produksi superoksida

netrofil the effect of porphyromonas gingivalis induction on neutrophil's superoxide production. *Journal of Dentomaxillofacial Science*. 12(3):152–158.

Haghgoo, R., M. Mehran, E. Afshari, dan M. Zadeh, Hamide Farajian Ahmadvand. 2017. Antibacterial effects of different concentrations of althaea officinalis root extract versus 0.2% chlorhexidine and penicillin on streptococcus mutans and lactobacillus (in vitro). *Journal of International Society of Preventive Community Dent*. 7(4):180–185.

Hajishengallis, G., R. P. Darveau, dan M. A. Curtis. 2012. The keystone-pathogen hypothesis. *Nature Reviews Microbiology*. 10(10):717–725.

Hamzah, Z., Z. Meilawaty, A. W. S. Dharmayanti, dan M. Novita. 2019. Analisis Fitokimia, Fitoestrogen, Dan Antioksidan Ekstrak Flavonoid Daun Singkong Pada Early Menopause Yang Diindukasi Bakteri Porphyromonas Gingivalis. *Laporan Penelitian Hibah Pendukung IDB*. 2019. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Hasanah, M., F. Tasriyanti, dan D. Darwis. 2015. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun benalu sawo (*helixanthere* sp) hasil ekstraksi soxhletasi dan perkolasi. *Prosiding SNaPP*. 1(1):189–194.

Hasim, S. Falah, dan L. K. Dewi. 2016. Effect of boiled cassava leaves ( *manihot esculenta crantz*) on total phenolic, flavonoid and its antioxidant activity. *Current Biochemistry*. 3(3):116–127.

Hasrianti, Nururrahmah, dan Nurasia. 2016. Pemanfaatan ekstrak bawang merah dan asam asetat sebagai pengawet alami. *Dinamika*. 7(1):9–30.

How, K. Y., K. P. Song, dan K. G. Chan. 2016. Porphyromonas gingivalis: an overview of periodontopathic pathogen below the gum line. *Frontiers in Microbiology*. 7(2):1–14.

Jimenez, V. A., N. A. R. Walter, T. A. Shnitko, N. Newman, K. Diem, L. Vanderhooft, H. Hunt, dan K. A. Grant. 2020. Mifepristone decreases chronic voluntary ethanol consumption in rhesus macaques. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 375(2):258–267.

Kariu, T., R. Nakao, T. Ikeda, K. Nakashima, J. Potempa, dan T. Imamura. 2017. Inhibition of gingipains and porphyromonas gingivalis growth and biofilm formation by prenyl flavonoids. *Journal of Periodontal Research*. 52(1):89–96.

Kimura, S., Y. Ohara-Nemoto, Y. Shimoyama, T. Ishikawa, dan M. Sasaki. 2012. Pathogenic factors of p. gingivalis and the host defense mechanisms. *Pathogenesis and Treatment of Periodontitis*. pp 3-12.

Kurnia, N. dan F. Marwatoen. 2013. Penentuan kadar sianida daun singkong dengan variasi umur dan waktu pemetikan. *Ilmiah Pendidikan Kimia "Hydrogen"*. 1(2):117–121.

- Kusumawardani, B., P. Pujiastuti, dan S. Sari. 2010. Uji biokimiawi sistem api 20 a mendeteksi porphyromonas gingivalis isolat klinik dari plak subgingiva pasien periodontitis kronis. *Jurnal PDGI*. 59(3):110–114.
- Leba, M. A. U. 2017. *Buku Ajar Ekstraksi Dan Real Kromatografi*. Yogyakarta: Penerbit Deepublish.
- Lee, So Yeon dan Si Young Lee. 2019. Effects of sub-minimal inhibitory concentrations of antibiotics on the morphology and surface hydrophobicity of periodontopathic anaerobes. *Anaerobe*. 55:107–111.
- M. Calderon-Montano, J., E. Burgos-Moron, C. Perez-Guerrero, dan M. Lopez-Lazaro. 2011. A review on the dietary flavonoid kaempferol. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*. 11(4):298–344.
- Mai-Prochnow, A., M. Clauson, J. Hong, dan A. B. Murphy. 2016. Gram positive and gram negative bacteria differ in their sensitivity to cold plasma. *Scientific Reports*. 6(November):1–11.
- Majidah, D., D. W. A. Fatmawati, dan A. Gunadi. 2014. Daya Antibakteri Ekstrak Daun Seledri ( *Apium Graveolens L.* ) Terhadap Pertumbuhan Streptococcus Mutans Sebagai Alternatif Obat Kumur. *Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa*. 2014. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
- Mawaddah, N., K. Arbianti, dan N. R. W. 2017. Perbedaan indeks kebutuhan perawatan periodontal (cpitn) anak normal dan anak tunarungu. *Odonto : Dental Journal*. 4(1):44–49.
- Meilawaty, Z. 2013. Efek ekstrak daun singkong (manihot utilissima) terhadap ekspresi cox-2 pada monosit yang dipapar lps e.coli (the effect of manihot utilissima extracts on cox-2 expression of monocytes induced by lps e. coli). *Dental Journal (Majalah Kedokteran Gigi)*. 46(4):196–201.
- Muhammad, A. A., N. A. S. Pauzi, P. Arulsevan, F. Abas, dan S. Fakurazi. 2013. In vitro wound healing potential and identification of bioactive compounds from moringa oleifera lam. *BioMed Research International*. 2013:1–11.
- Nafees, A., J. A. Alspaugh, W. . Drew, M. Lagunoff, P. Pottinger, L. B. Reller, M. . Reller, C. R. Sterling, dan S. Weissman. 2018. *Sherris Medical Microbiology-McGraw-Hill Education (2018)*. United States: McGraw-Hill Education.
- Nakayama, K. 2015. Porphyromonas gingivalis and related bacteria: from colonial pigmentation to the type ix secretion system and gliding motility. *J Periodont Rest*. 50:1–8.
- Newman, M. G., H. H. Takei, P. R. Klokkevold, dan F. A. Carranza. 2015. *Clinical Periodontology*. Edisi twelfth. Canada: Elsevier.
- Nomer, N. M. G. R., A. S. Duniaji, dan K. A. Nocianitri. 2019. KANDUNGAN senyawa flavonoid dan antosianin ekstrak kayu secang (caesalpinia sappan l.) serta aktivitas antibakteri terhadap vibrio cholerae. *Jurnal Ilmu Dan*

*Teknologi Pangan (ITEPA)*. 8(2):216.

- Ogbuji, C. A. dan N. P. David-Chukwu. 2016. Phytochemical, antinutrient and mineral compositions of leaf extracts of some cassava varieties. *Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology*, 10(1), 5–8. 10(1):5–8.
- Parwata, O. I. M. 2016. *Diktat Bahan Ajar Kimia Organik Bahan Alam Flavonoid*. Denpasar: Universitas Udayana.
- Pratiwi, E. W., D. Praharani, Y. Mahdiyah, dan D. Arina. 2015. Daya hambat ekstrak daun pepaya ( carica papaya l .) terhadap adhesi bakteri porphyromonas gingivalis pada neutrofil. *E-Jurnal Pustaka Kesehatan*. 3(2):196–197.
- Putri, N. H. S., D. Nurdiwiyati, S. Lestari, B. Ramdhan, M. Efendi, dan N. Nurhidayat. 2019. Aktivitas antibakteri ekstrak tangkai dan daun begonia multangula blume terhadap porphyromonas gingivalis. *Jurnal Biologi UNAND*. 7(1):51–58.
- Retnaningsih, A., A. Primadhamanti, dan I. Marisa. 2019. Uji daya hambat ekstrak etanol biji pepaya terhadap bakteri escherichia coli dan shigella dysenteriae dengan metode difusi sumuran. *Jurnal Analisis Farmasi*. 4(2):122–129.
- Samaranayake, L. 2018. *Essential Microbiology For Dentistry*. Edisi Five. Churchill Livingstone: Elsevier Limited.
- Sapara, T. U., O. Waworuntu, dan Juliatri. 2016. Efektivitas antibakteri ekstrak daun pacar air ( impatiens balsamina l .) terhadap pertumbuhan porphyromonas gingivalis. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 5(4):10–17.
- Shao, G., J. Agar, dan R. W. Giese. 2017. Cold-induced aqueous acetonitrile phase separation: a salt-free way to begin quick, easy, cheap, effective, rugged, safe. *Journal of Chromatography A*. 1506:128–133.
- Singh, A., T. Wyant, C. Anaya-Bergman, J. Aduse-Opoku, J. Brunner, M. L. Laine, M. A. Curtis, dan J. P. Lewis. 2011. The capsule of porphyromonas gingivalis leads to a reduction in the host inflammatory response, evasion of phagocytosis, and increase in virulence. *Infection and Immunity*. 79(11):4533–4542.
- Soleha, T. U. 2015. Uji kepekaan terhadap antibiotik. *Juke Unila*. 5(9):120.
- Subeki, I. P. Asih, S. Setyani, dan F. Nurainy. 2013. KAJIAN formulasi daun singkong (manihot esculenta) dan rumput laut (eucheuma cottonii) terhadap sifat sensori dan kimia nori. *Journal of Chemical Information and Modeling*. 53(9):1689–1699.
- Sugiono. 2017. *Metode Penelitian Kuantitatif Kualitatif Dan R&D*. Edisi 3. Bandung: Alfabeta.



- Sumantri, A. 2015. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Edisi 3. Jakarta: Kencana Prenada Media Group.
- Suryadinata, R. V. 2018. Pengaruh radikal bebas terhadap proses inflamasi pada penyakit paru obstruktif kronis ( ppok ) effect of free radicals on inflammatory process in chronic obstructive pulmonary disease ( copd ). *Amerta Nutr.* 317–324.
- Susanty, S. dan F. Bachmid. 2016. PERBANDINGAN metode ekstraksi maserasi dan refluks terhadap kadar fenolik dari ekstrak tongkol jagung (zea mays l.). *Jurnal Konversi.* 5(2):87–93.
- Tani, G. P., P. M. Worwor, dan J. A. Khoman. 2017. Uji daya hambat daging buah sirsak (annona muricata l.) terhadap pertumbuhan bakteri porphyromonas gingivalis. *PHARMACON Jurnal Ilmiah Farmasi-UNSRAT.* 6(3):99–104.
- Tanuwijaya, F. 2013. Kebijakan Pengelolaan Tanaman Singkong Dalam Meningkatkan Kesejahteraan Petani Singkong Di Kabupaten Jember JEMBER. *Executive Summary.* 13(3). 2013. 1–12.
- Taufiq, A., N. Saleh, Y. Widodo, T. Sundari, D. Gusyana, R. P. Rajagukguk, dan S. A. Suseno. 2016. *Pedoman Budi Daya Ubi Kayu Di Indonesia*. IAARD Press.
- Tedjasulaksana, R. 2016. Metronidasol sebagai salah satu obat pilihan untuk periodontitis marginalis. *Jurnal Kesehatan Gigi.* 4(1):19–23.
- Triprisila, L., S. Suharjono, A. Christianto, dan F. Fatchiyah. 2016. The comparing of antimicrobial activity of csn1s2 protein of fresh milk and yoghurt goat breed ethawah inhibited the pathogenic bacteria. *Materia Socio Medica.* 28(4):244.
- Utama, Y. A. K. dan M. Rukismono. 2018. *SINGKONG-MAN VS GADUNG-MAN*. Mimika Baru: Penerbit Aseni.
- Wahyuningrum, M. dan E. Probosari. 2012. Pengaruh pemberian buah pepaya (carica papaya l.) terhadap kadar trigliserida pada tikus sprague dawley dengan hiperkolesterolemia. *Journal of Nutrition College.* 1(1):192–198.
- Wang, N., Q. Yang, Y. Tan, L. Lin, Q. Huang, dan K. Wu. 2015. Bacterial spectrum and antibiotic resistance patterns of ocular infection: differences between external and intraocular diseases. *Journal of Ophthalmology.* 2015:1–8.
- Wang, S., J. Yao, B. Zhou, J. Yang, M. T. Chaudry, M. Wang, F. Xiao, Y. Li, dan W. Yin. 2018. Bacteriostatic effect of quercetin as an antibiotic alternative in vivo and its antibacterial mechanism in vitro. *Journal of Food Protection.* 81(1):68–78.
- Warditiani, C., L. P. . Larasanty, dan I. Damanik. 2015. Pengaruh pemberian ekstrak etanol 70% daun singkong (manihot utilissima pohl) terhadap kadar



- gula darah mencit jantan galur balb/c yang diinduksi aloksan. *Jurnal Farmasi Udayana*. 4(1):61–64.
- Wei, L., M. Yang, L. Huang, dan J. Lin Li. 2019. Antibacterial and antioxidant flavonoid derivatives from the fruits of *metaplexis japonica*. *Food Chemistry*. 289(March):308–312.
- Widyaningsih, I., Inawati, dan T. L. 2017. KANDUNGAN xanton dalam ekstrak kulit manggis dengan pelarut etanol absolut. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Eksakta*. 3(2):225–234.
- Wijaksana, I. K. E. 2019. PERIODONTAL chart dan periodontal risk assessment sebagai bahan evaluasi dan edukasi pasien dengan penyakit periodontal. *Jurnal Kesehatan Gigi*. 6:45–50.
- Wijayanto, R., D. Herawati, dan Sudibyo. 2014. Perbedaan efektivitas topikal gel asam hialuronat dan gel metronidazol terhadap penyembuhan jaringan periodontal setelah kuretase pada periodontitis kronis. *Jurnal Kedokteran Gigi*. 5(3):307–311.
- Zakaryan, H., E. Arabyan, A. Oo, dan K. Zandi. 2017. Flavonoids: promising natural compounds against viral infections. *Archives of Virology*. 162(9):2539–2551.
- Zhang, W., J. Wang, Y. Chen, H. Zheng, B. Xie, dan Z. Sun. 2020. Flavonoid compounds and antibacterial mechanisms of different parts of white guava (*psidium guajava* l. cv. pearl). *Natural Product Research*. 34(11):1621–1625.

## LAMPIRAN

## LAMPIRAN A. Surat Izin Penelitian

	KEMENTERIAN PENDIDIKAN, DAN KEBUDAYAAN <b>UNIVERSITAS JEMBER</b> <b>FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI</b> Jalan Kalimantan 37, Kampus Tegal Boto Kotak Pos 159 Jember 68121 Telepon (0331) 333536, 331743 Faksimili (0331) 331991 Laman : <a href="http://fg.unej.ac.id">fg.unej.ac.id</a>	
Nomor	: <del>2746</del> UN25.8/PG/2020	02 OCT 2020
Perihal	: Ijin Penelitian	
<b>Kepada Yth.</b>		
<b>Kepala UPT Balai Konservasi Tumbuhan</b>		
<b>Kebun Raya Purwodadi - LIPI</b>		
Di -		
<b>Purwodadi - Pasuruan</b>		
Dalam rangka penelitian maka, dengan hormat kami mohon bantuan dan kesediannya untuk memberikan Ijin Penelitian bagi Mahasiswa kami:		
1	Nama	: Miladatus Syafiyah
2	NIM	: 171610101108
3	Semester/Tahun Akademik	: 7 (2020/2021)
4	Fakultas	: Fakultas Kedokteran Gigi
5	Alamat	: Jl. Baturaden 1 no. 6, Sumpalsari, Jember
6	Judul Penelitian	: Efek Antibakteri Ekstrak Flavonoid Daun Singkong ( <i>Manihot esculenta</i> ) terhadap <i>Porphyromonas gingivalis</i>
7	Lokasi Penelitian	: UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi - LIPI
8	Data/alat yg di pinjam	: -
9	Waktu	: Oktober 2020
10	Tujuan Penelitian	: Identifikasi Tanaman Singkong
11	Dosen Pembimbing	: drg. Zahara Meilawaty, M.Kes : drg. Agustin Wulan Suci D., MDSc.
Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih		
  <b>Dr. drg. Masniari Novita, M.Kes., Sp.OF (K)</b> <b>NIP.196811251999032001</b>		

LAMPIRAN B. *Ethical Clearance***SURAT KETERANGAN**

No.00503/KKEP/FKG-UGM/EC/2020

Setelah Tim Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada mempelajari dengan seksama rancangan penelitian yang diusulkan:

Judul : **EFEK ANTIBAKTERI EKSTRAK FLAVONOID DAUN SINGKONG (*Manihot esculenta*) TERHADAP *Porphyromonas gingivalis* ( IN VITRO)**

Peneliti Utama : Miladatus Syafiyah

Penanggung Jawab Medis : drg. Zahara Meilawaty M.Kes

Unit/Lembaga : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Lokasi Penelitian : 1. Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi, Pasuruan, Jawa Timur  
 2. Laboratorium Teknik Kimia, Politeknik Negeri Malang  
 3. Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga

Maka dengan ini menyatakan bahwa proposal penelitian tersebut telah memenuhi syarat atau laik etik. Akan tetapi mengingat saat ini baru kondisi pandemi COVID-19, maka surat laik etik akan kami terbitkan setelah kondisi dinyatakan aman oleh Pemerintah.

Yogyakarta, 9 September 2020

Wakil Dekan Bidang Penelitian, Pengabdian  
Kepada Masyarakat dan Kerjasama

Ketua Komisi Etik Penelitian FKG UGM



drg. Trianna Wahyu Utami, MDSc., Ph.D

Prof. Dr.drg. Pinandi Sri Pudyani, SU., Sp.Ort(K)

## LAMPIRAN C. Surat Keterangan Identifikasi Tanaman Singkong



**LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA**  
**(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)**  
**BALAI KONSERVASI TUMBUHAN**  
**KEBUN RAYA PURWODADI**  
**(PURWODADI BOTANIC GARDEN)**

Jl. Raya Surabaya - Malang Km. 65 Purwodadi, Pasuruan, Jawa Timur, Indonesia 67163  
 Telp. 0341 - 426046, WhatsApp +62 8118612374  
 E-mail: krpurwodadi@mail.lipi.go.id, http://www.krpurwodadi.lipi.go.id

**SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TUMBUHAN**

**No: B-379/IPH.6/KS.02/XI/2020**

Kepala Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi LIPI dengan ini menerangkan bahwa material tumbuhan yang dibawa oleh:

Nama : Miladatus Syafiyah  
 NIM : 171610101108  
 Instansi : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember  
 Tanggal material diterima : 27 Oktober 2020

Telah diidentifikasi/determinasi berdasarkan koleksi herbarium dan koleksi kebun serta referensi ilmiah, dengan hasil sebagai berikut:

Kingdom : Plantae  
 Division : Magnoliophyta  
 Class : Magnoliopsida  
 Subclass : Rosidae  
 Ordo : Euphorbiales  
 Family : Euphorbiaceae  
 Genus : Manihot  
 Species : *Manihot esculenta* Crantz

Referensi:

1. Backer CA & Bakhuizen van den Brink RC. 1963. Flora of Java Vol.II. NVP Noordhoff, Groningen, The Netherlands. Hal. 496.
2. Cronquist A. 1981. An Integrated System of Classification of Flowering Plants. Columbia University Press, New York, USA. Hal. XV.
3. M. Flach dan F. Rumawas. 1996 (esd) PROSEA ( Plants Resources of South-East Asia ) No 9; Plants yielding non-seed carbohydrates Hal.109.

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Purwodadi, 9 November 2020  
 a.n. Kepala,  
 Kepala Seksi Eksplorasi dan Koleksi Tumbuhan

TT ELEKTRONIK

**Rony Irawanto, S.Si., M.T.**



Dokumen ini ditandatangani secara elektronik menggunakan sertifikat dari BSRÉ, silahkan lakukan verifikasi pada dokumen elektronik yang dapat diunduh dengan melakukan scan QR Code



LAMPIRAN D. Sertifikat *P.gingivalis***Thermo**  
SCIENTIFIC

## Certificate of Quality

**Product Name:** *P. gingivalis* ATCC 33277 PK/5  
**Lot Number:** 779573**Product Number:** R4609008  
**Expiration Date:** 2021-06-30  
(YYYY-MM-DD)

This product has been manufactured, processed and packaged in accordance with Quality Systems Regulation, 21 CFR Part 820. Representative samples were tested per Remel Quality Control specifications and were found to meet performance criteria for this product.

**Purity:**

Standardized aliquots of the rehydrated product are inoculated onto nonselective media and examined for pure growth following the appropriate incubation. Selective and Differential media are also tested where applicable.

**Viability And Quantification:**

Each organism is recovered from the preserved state within the required time frame and at an acceptable level. Passage number is stated as the current preserved state.

**Macroscopic And Microscopic Morphology:**

Colony morphology is consistent with documented referenced description. Traditional staining is performed.

**Biochemical Analysis:**

Organism exhibits characteristic biochemical and/or enzymatic reactions. Automated and/or conventional testing was performed and results were within established limits. Antimicrobial testing performed where applicable. Results within expected ranges.

CFU/loop: &gt;10(4)

Passage: 3

Gram Reaction: Gram Negative Rod

Biochemical Profile: Remel RapID ANA II

Appearance: Preserved Gel Matrix suspended in inoculating loop

pH: N/A

Signed



Product Performance Technologist



**LAMPIRAN E. Alat dan Bahan Penelitian**

**E.1 Alat Penelitian**



*Rotary evaporator*



*Timbangan digital*



*Toples maserasi*



*Inkubator*



*Hotplate*



*sentrifuge*



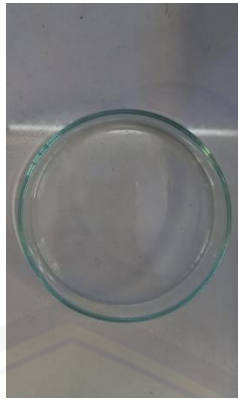
*Laminar flow*



*Mikropipet*



Spektrofotometer



Petridish



Tabung reaksi



Thermolyne



Bunsen



ose

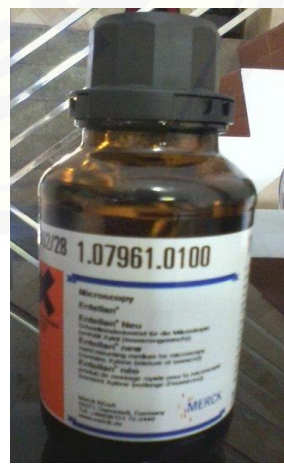
## E.2 Bahan Penelitian



Daun singkong

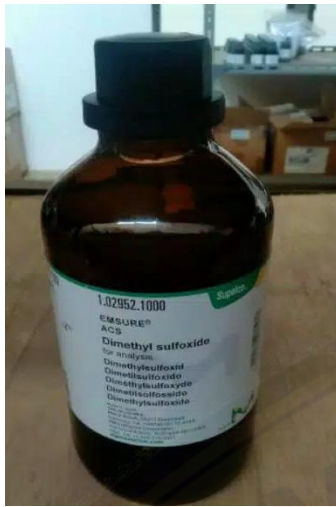


propylene glycol



metronidazole analog

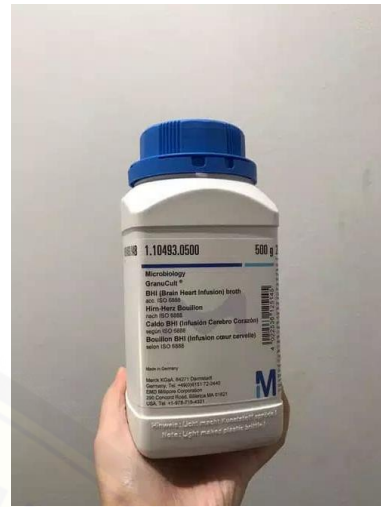




dimetil sulfoksida (DMSO)



Mueller Hinton Agar(MHA)



BHI-b



BHI-a



Etanol 96%



Masker



Sarung tangan



Aquadest



Kertas label

**LAMPIRAN F. Prosedur Penelitian****F.1 Pembuatan Ekstrak Flavonoid Daun Singkong**

Daun singkong 500g dari petani



Daun singkong setelah dikeringkan dan di haluskan serta di ayak, total berat 357,72 gram.



Maserasi dengan etanol 96% (1:5)



Pengadukan selama 10 menit



Penyaringan menggunakan kertas saring dan vakum filter



Pemadatan larutan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C di bagian *water bath* dan kecepatan 90 rpm selama 5 jam. Di bagian ember diberi es batu untuk menurunkan suhu, sehingga etanol 96% yang menguap menjadi larutan dan masuk ke dalam *round bottom flask*.





Ekstrak dimasukkan dalam oven suhu 50°C



Ekstrak daun singkong semi solid konsentrasi 100% berat 43,44 gram



## F.2 Tahap Perlakuan



Inokulasi *P.gingivalis*

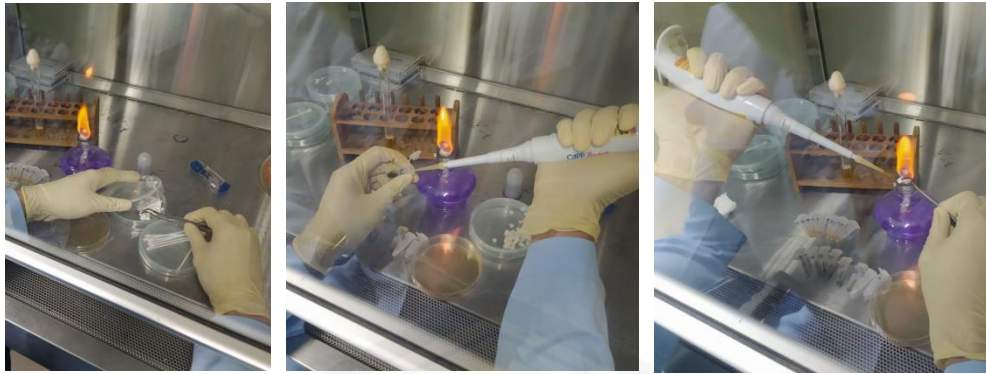


Pembuatan suspensi *P.gingivalis* standar McFarland 0,5

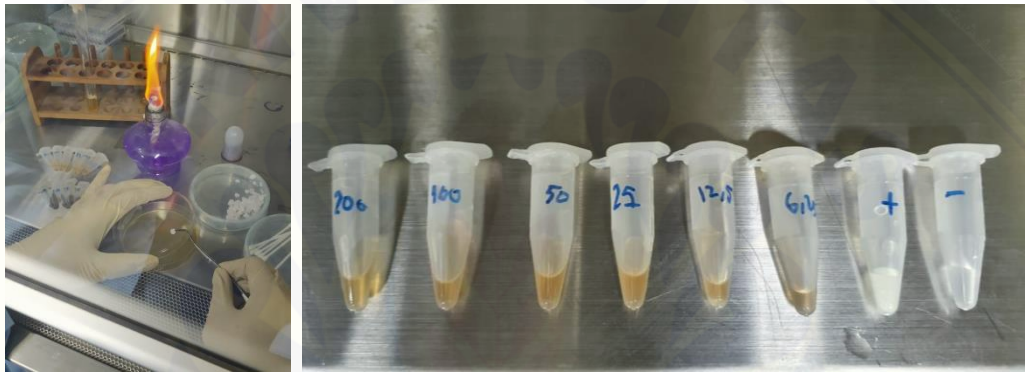


Penanaman *P.gingivalis* ke dalam media agar (MHA) dengan gerakan *streaking*





Kertas cakram ditetesi dengan sampel ekstrak flavonoid daun singkong dosis 6,25  $\mu\text{g/ml}$ , 12,5  $\mu\text{g/ml}$ , 25  $\mu\text{g/ml}$ , 50  $\mu\text{g/ml}$ , 100  $\mu\text{g/ml}$ , dan 200  $\mu\text{g/ml}$ , serta kontrol positif dan kontrol negatif sebanyak 10  $\mu\text{l}$  menggunakan mikropipet

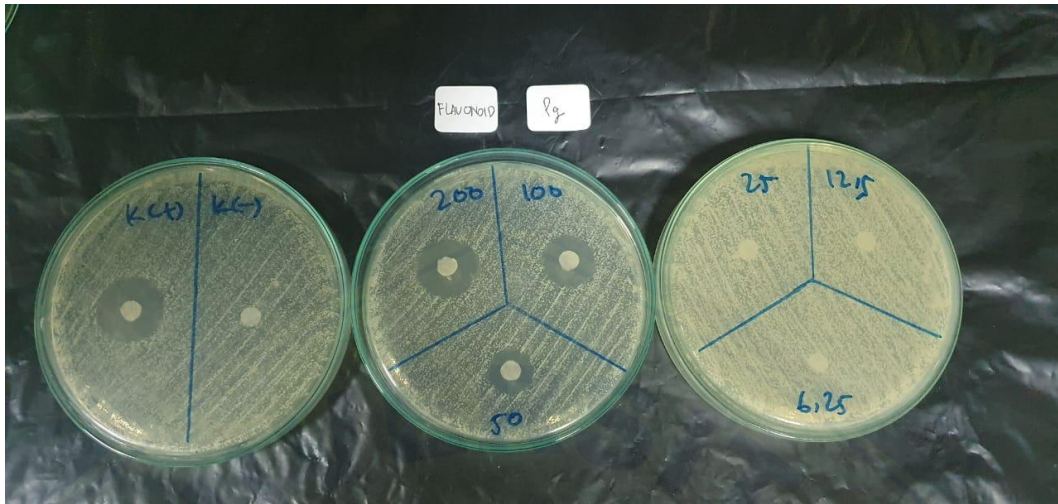


Meletakkan kertas cakram ke dalam media agar (MHA)

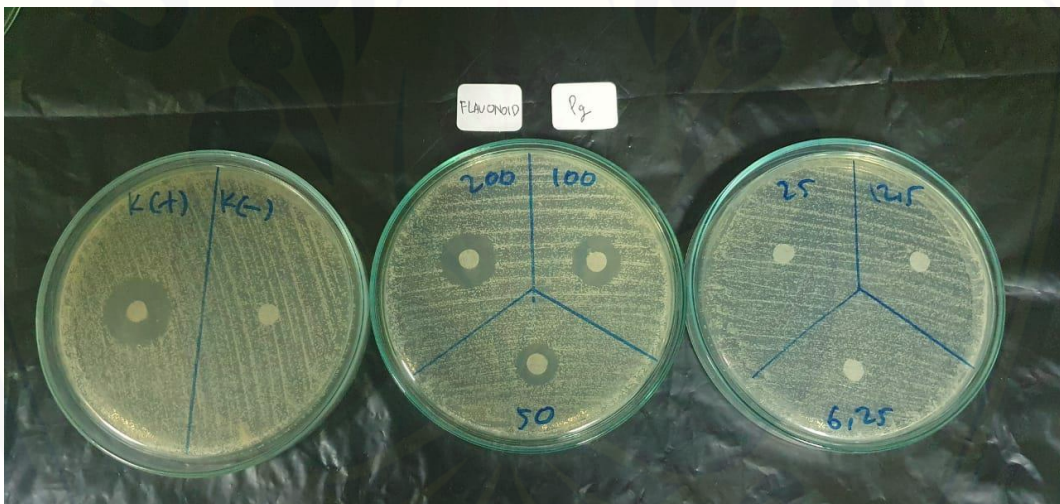
Sampel ekstrak flavonoid daun singkong dosis 6,25  $\mu\text{g/ml}$ , 12,5  $\mu\text{g/ml}$ , 25  $\mu\text{g/ml}$ , 50  $\mu\text{g/ml}$ , 100  $\mu\text{g/ml}$ , dan 200  $\mu\text{g/ml}$ , serta kontrol positif dan kontrol negatif

LAMPIRAN G. Hasil Penelitian

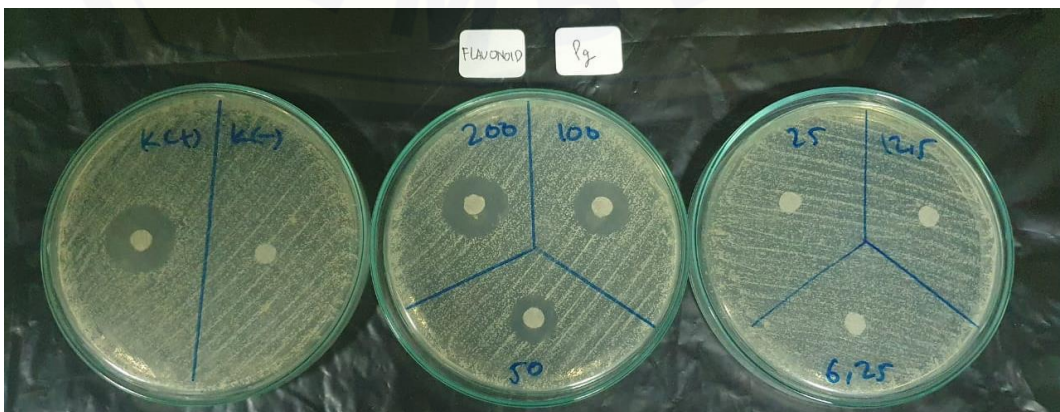
Pengulangan ke-1



Pengulangan ke-2



Pengulangan ke-3

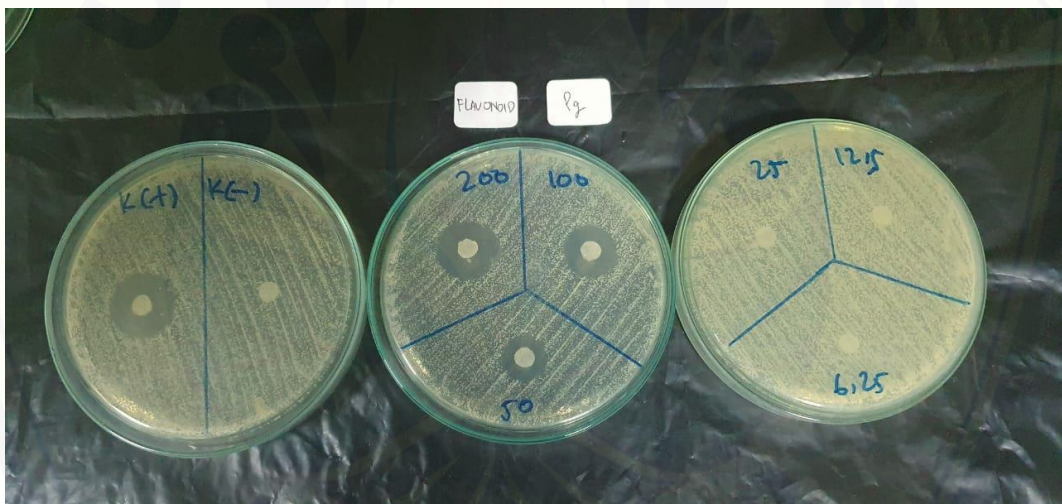




Pengulangan ke-4



Pengulangan ke-5



**LAMPIRAN H. Data Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat (mm)**

Pengulangan ke-	K+	K-	200	100	50	25	12,5	6,25
1	16,75	-	14,60	11,60	9,05	-	-	-
2	16,80	-	14,35	12,00	9,20	-	-	-
3	16,40	-	14,20	11,40	8,80	-	-	-
4	16,35	-	14,15	12,15	8,95	-	-	-
5	16,60	-	14,20	12,05	8,60	-	-	-

K+ = Kontrol positif

K- = Kontrol negatif

200 = Ekstrak flavonoid daun singkong dosis 200 µg/ml

100 = Ekstrak flavonoid daun singkong dosis 100 µg/ml

50 = Ekstrak flavonoid daun singkong dosis 50 µg/ml

25 = Ekstrak flavonoid daun singkong dosis 25 µg/ml

12,5 = Ekstrak flavonoid daun singkong dosis 12,5 µg/ml

6,25 = Ekstrak flavonoid daun singkong dosis 6,25 µg/ml

**LAMPIRAN I. Analisis Data**

**I.1 Hasil Uji Normalitas (*Shapiro Wilk*)**

**Tests of Normality<sup>c,d,e,f</sup>**

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Positif	.214	5	.200*	.903	5	.424
flavo200	.314	5	.121	.776	5	.051
flavo100	.290	5	.197	.884	5	.327
flavo50	.152	5	.200*	.990	5	.978

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

a. Lilliefors Significance Correction

c. negatif is constant. It has been omitted.

d. flavo25 is constant. It has been omitted.

e. flavo12.5 is constant. It has been omitted.

f. flavo6.25 is constant. It has been omitted.

**I.2 Hasil Uji Homogenitas (*Levene Test*)**

**Test of Homogeneity of Variances**

zona hambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
10.813	7	32	.000

**I.3 Hasil Uji Non-parametrik (*Kruskal Wallis*)**

**Ranks**

	kelompok	N	Mean Rank
zona hambat	200	5	33.00
	100	5	28.00
	50	5	23.00
	25	5	10.50
	12.5	5	10.50
	6.25	5	10.50
	kontrol positif	5	38.00
	kontrol negatif	5	10.50



Total	40
-------	----

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

	zona hambat
Chi-Square	38.666
Df	7
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:  
kelompok

I.4 Hasil Uji *Mann Whitney U* (beda antar kelompok perlakuan)

- a. Antara kelompok ekstrak flavonoid daun singkong dosis 200 µg/ml dan dosis 100 µg/ml

**Ranks**

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona hambat	200	5	8.00	40.00
	100	5	3.00	15.00
	Total	10		

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

	zona hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: kelompok

b. Not corrected for ties.

- b. Antara kelompok ekstrak flavonoid daun singkong dosis 200 µg/ml dan dosis 50 µg/ml

**Ranks**

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona hambat	200	5	8.00	40.00
	50	5	3.00	15.00
	Total	10		

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

	zona hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: kelompok

b. Not corrected for ties.

- c. Antara kelompok ekstrak flavonoid daun singkong dosis 200 µg/ml dan dosis 25 µg/ml

**Ranks**

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona hambat	200	5	8.00	40.00
	25	5	3.00	15.00
	Total	10		

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

	zona hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.785
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: kelompok

b. Not corrected for ties.

- d. Antara kelompok ekstrak flavonoid daun singkong dosis 200 µg/ml dan dosis 12,5 µg/ml

**Ranks**

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona hambat	200	5	8.00	40.00
	12.5	5	3.00	15.00
	Total	10		

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

	zona hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.785
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: kelompok

b. Not corrected for ties.

- e. Antara kelompok ekstrak flavonoid daun singkong dosis 200 µg/ml dan dosis 6,25 µg/ml

**Ranks**

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona hambat	200	5	8.00	40.00
	6.25	5	3.00	15.00
	Total	10		

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

	zona hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.785
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: kelompok

b. Not corrected for ties.

- f. Antara kelompok ekstrak flavonoid daun singkong dosis 200 µg/ml dan kontrol positif

**Ranks**

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona hambat	200	5	3.00	15.00
	kontrol positif	5	8.00	40.00
	Total	10		

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

	zona hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: kelompok

b. Not corrected for ties.

- g. Antara kelompok ekstrak flavonoid daun singkong dosis 200 µg/ml dan kontrol negatif

**Ranks**

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona hambat	200	5	8.00	40.00
	kontrol negatif	5	3.00	15.00
	Total	10		

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

	zona hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.785
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: kelompok

b. Not corrected for ties.

- h. Antara kelompok ekstrak flavonoid daun singkong dosis 100 µg/ml dan dosis 50 µg/ml

**Ranks**

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona hambat	100	5	8.00	40.00
	50	5	3.00	15.00
	Total	10		

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

	zona hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: kelompok

b. Not corrected for ties.

- i. Antara kelompok ekstrak flavonoid daun singkong dosis 100 µg/ml dan dosis 25 µg/ml

**Ranks**

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona hambat	100	5	8.00	40.00
	25	5	3.00	15.00
	Total	10		

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

	zona hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.785
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: kelompok

b. Not corrected for ties.

- j. Antara kelompok ekstrak flavonoid daun singkong dosis 100 µg/ml dan dosis 12,5 µg/ml

**Ranks**



	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona hambat	100	5	8.00	40.00
	12.5	5	3.00	15.00
	Total	10		

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

	zona hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.785
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: kelompok

b. Not corrected for ties.

- k. Antara kelompok ekstrak flavonoid daun singkong dosis 100 µg/ml dan dosis 6,25 µg/ml

**Ranks**

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona hambat	100	5	8.00	40.00
	6.25	5	3.00	15.00
	Total	10		

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

	zona hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.785
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: kelompok

b. Not corrected for ties.

- l. Antara kelompok ekstrak flavonoid daun singkong dosis 100 µg/ml dan kontrol positif

**Ranks**

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona hambat	100	5	3.00	15.00
	kontrol positif	5	8.00	40.00
	Total	10		

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

	zona hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: kelompok

b. Not corrected for ties.

- m. Antara kelompok ekstrak flavonoid daun singkong dosis 100 µg/ml dan kontrol negatif

**Ranks**

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona hambat	100	5	8.00	40.00
	kontrol negatif	5	3.00	15.00
	Total	10		

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

	zona hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.785
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: kelompok

b. Not corrected for ties.

- n. Antara kelompok ekstrak flavonoid daun singkong dosis 50 µg/ml dan dosis 25 µg/ml

**Ranks**

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona hambat	50	5	8.00	40.00
	25	5	3.00	15.00
	Total	10		

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

	zona hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.785
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: kelompok

b. Not corrected for ties.

- o. Antara kelompok ekstrak flavonoid daun singkong dosis 50 µg/ml dan dosis 12,5 µg/ml

**Ranks**

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona hambat	50	5	8.00	40.00
	12.5	5	3.00	15.00
	Total	10		

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

	zona hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.785
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: kelompok

b. Not corrected for ties.

- p. Antara kelompok ekstrak flavonoid daun singkong dosis 50 µg/ml dan dosis 6,25 µg/ml

**Ranks**

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona hambat	50	5	8.00	40.00
	6.25	5	3.00	15.00
	Total	10		

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

	zona hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.785
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: kelompok

b. Not corrected for ties.

- q. Antara kelompok ekstrak flavonoid daun singkong dosis 50 µg/ml dan kontrol positif

**Ranks**

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona hambat	50	5	3.00	15.00
	kontrol positif	5	8.00	40.00
	Total	10		

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

	zona hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: kelompok

b. Not corrected for ties.

- r. Antara kelompok ekstrak flavonoid daun singkong dosis 50 µg/ml dan kontrol negatif

**Ranks**

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona hambat	50	5	8.00	40.00
	kontrol negatif	5	3.00	15.00
Total		10		

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

	zona hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.785
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: kelompok

b. Not corrected for ties.

- s. Antara kelompok ekstrak flavonoid daun singkong dosis 25 µg/ml dan dosis 12,5 µg/ml

**Ranks**

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona hambat	25	5	5.50	27.50
	12.5	5	5.50	27.50
Total		10		

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

	zona hambat
Mann-Whitney U	12.500
Wilcoxon W	27.500
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: kelompok

b. Not corrected for ties.

- t. Antara kelompok ekstrak flavonoid daun singkong dosis 25 µg/ml dan dosis 6,25 µg/ml

**Ranks**



	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona hambat	25	5	5.50	27.50
	6.25	5	5.50	27.50
	Total	10		

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

	zona hambat
Mann-Whitney U	12.500
Wilcoxon W	27.500
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: kelompok

b. Not corrected for ties.

- u. Antara kelompok ekstrak flavonoid daun singkong dosis 25 µg/ml dan kontrol positif

**Ranks**

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona hambat	25	5	3.00	15.00
	kontrol positif	5	8.00	40.00
	Total	10		

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

	zona hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.785
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: kelompok

b. Not corrected for ties.

- v. Antara kelompok ekstrak flavonoid daun singkong dosis 25 µg/ml dan kontrol negatif

**Ranks**

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
--	----------	---	-----------	--------------

zona hambat	25	5	5.50	27.50
kontrol negatif		5	5.50	27.50
Total		10		

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

	zona hambat
Mann-Whitney U	12.500
Wilcoxon W	27.500
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: kelompok

b. Not corrected for ties.

- w. Antara kelompok ekstrak flavonoid daun singkong dosis 12,5 µg/ml dan dosis 6,25 µg/ml

**Ranks**

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona hambat	12.5	5	5.50	27.50
	6.25	5	5.50	27.50
Total		10		

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

	zona hambat
Mann-Whitney U	12.500
Wilcoxon W	27.500
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: kelompok

b. Not corrected for ties.

- x. Antara kelompok ekstrak flavonoid daun singkong dosis 12,5 µg/ml dan kontrol positif

**Ranks**

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
--	----------	---	-----------	--------------

zona hambat	12.5	5	3.00	15.00
	kontrol positif	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics<sup>a</sup>

	zona hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.785
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: kelompok

b. Not corrected for ties.

- y. Antara kelompok ekstrak flavonoid daun singkong dosis 12,5 µg/ml dan kontrol negatif

Ranks

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona hambat	12.5	5	5.50	27.50
	kontrol negatif	5	5.50	27.50
	Total	10		

Test Statistics<sup>a</sup>

	zona hambat
Mann-Whitney U	12.500
Wilcoxon W	27.500
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: kelompok

b. Not corrected for ties.

- z. Antara kelompok ekstrak flavonoid daun singkong dosis 6,25 µg/ml dan kontrol positif

Ranks

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
--	----------	---	-----------	--------------

zona hambat	6.25	5	3.00	15.00
kontrol positif		5	8.00	40.00
Total		10		

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

	zona hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.785
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: kelompok

b. Not corrected for ties.

aa. Antara kelompok ekstrak flavonoid daun singkong dosis 6,25 µg/ml dan kontrol negatif

**Ranks**

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona hambat	6.25	5	5.50	27.50
	kontrol negatif	5	5.50	27.50
Total		10		

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

	zona hambat
Mann-Whitney U	12.500
Wilcoxon W	27.500
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: kelompok

b. Not corrected for ties.

bb. Antara kelompok kontrol positif dan kontrol negatif

**Ranks**

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
--	----------	---	-----------	--------------

zona hambat	kontrol positif	5	8.00	40.00
	kontrol negatif	5	3.00	15.00
	Total	10		

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

	zona hambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.785
Asymp. Sig. (2-tailed)	.005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 <sup>b</sup>

a. Grouping Variable: kelompok

b. Not corrected for ties.

