



**DAYA ANTIBAKTERI INFUSA KISMIS (*Vitis vinifera* L.) KONSENTRASI
100%, 50%, DAN 25% TERHADAP PERTUMBUHAN *Streptococcus mutans***

SKRIPSI

Oleh

**Dian Fajariani
NIM 111610101061**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2015**



**DAYA ANTIBAKTERI INFUSA KISMIS (*Vitis vinifera* L.) KONSENTRASI
100%, 50%, DAN 25% TERHADAP PERTUMBUHAN *Streptococcus mutans***

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi syarat-syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Kedokteran Gigi (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran Gigi

Oleh

Dian Fajariani
NIM 111610101061

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS JEMBER

2015

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Orang tua tercinta, ibu Sri Ismiati dan bapak Edy Sutanto yang tidak pernah berhenti memberikan limpahan kasih sayang, doa, pengorbanan, serta dukungan dan semangat, semoga Allah SWT membalas segala pengorbanan beliau;
2. Kakak dan adikku tersayang, Muhammad Pambudi Istanto dan Dina Mardika Rini yang dengan tulus memberikan doa dan selalu menjadi penyemangat;
3. Guru-guruku sejak taman kanak-kanak hingga perguruan tinggi. Terima kasih telah memberikan saya begitu banyak ilmu dan bimbingan;
4. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

MOTTO

“Kebanyakan dari kita tidak mensyukuri apa yang sudah kita miliki, tetapi kita selalu menyesali apa yang belum kita capai.”*

(Schopenhauer)

*“The World is changed by your example not by your opinion.”***

(Paulo Coelho)

“Just keep moving forward and don’t give a shit about what anybody thinks.

*Do what you have to do for you.” ****

(Johnny Depp)

*) Eddy, M. 2011. *2500 Motivasi Sukses: I am What I Dream to Be*. Jakarta: JAL Publishing

**) Nguyen, Trung. 2015. *Naturalopy Precept 14: Wisdom*. US: EnCognitive

***) Petras, Kathryn & Petras, Ross. 2014. *"It Always Seems Impossible Until It's Done.": Motivation for Dreamers & Doers*. NewYork: Workman Publishing

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Dian Fajariani

NIM : 111610101061

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul : “Daya Antibakteri Infusa Kismis (*Vitis vinifera* L.) Konsentrasi 100%, 50%, dan 25% Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung.

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

Jember, 18 November 2015

Yang menyatakan,

Dian Fajariani

NIM 111610101061

SKRIPSI

**DAYA ANTIBAKTERI INFUSA KISMIS (*Vitis vinifera* L.) KONSENTRASI
100%, 50%, DAN 25% TERHADAP PERTUMBUHAN *Streptococcus mutans***

Oleh

Dian Fajarani

NIM 111610101061

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : drg. Achmad Gunadi, M.S., Ph. D

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

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Daya Antibakteri Infusa Kismis (*Vitis vinifera* L.) Konsentrasi 100%, 50%, dan 25% Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*”, telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada:

Hari, tanggal : Rabu, 18 November 2015

Tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Penguji Ketua

Penguji Anggota

drg. Sri Lestari, M.Kes
NIP 196608191996012001

drg. Dwi Warna Aju Fatmawati, M.Kes
NIP 197012191999032001

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping

drg. Achmad Gunadi, M.S., Ph. D
NIP 195606121983031002

drg. Melok Aris W., M.Kes., Sp.Perio
NIP 197104092005012002

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Kedokteran Gigi,
Universitas Jember,

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

RINGKASAN

Daya Antibakteri Infusa Kismis (*Vitis vinifera* L.) Konsentrasi 100%, 50%, dan 25% Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*; Dian Fajariani, 111610101061; 2015: 70 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Plak gigi merupakan salah satu faktor penyebab terjadinya karies gigi dan penyakit periodontal. Kontrol plak diperlukan sebagai salah satu upaya untuk memelihara kesehatan gigi dan mulut. Kontrol plak dapat dilakukan dengan cara pembersihan plak secara mekanis dan kimiawi. Pencegahan plak secara kimiawi yaitu dengan berkumur menggunakan obat kumur. Penggunaan obat kumur sintetik dapat memberikan beberapa efek samping, oleh karena itu alternatif penggunaan bahan alam sebagai pengganti obat kumur berbahan sintetik masih menjadi pilihan masyarakat

Kismis (*Vitis vinifera* L.) adalah makanan ringan yang berasal dari hasil pengeringan buah anggur. Kandungan gula kismis terdiri dari glukosa dan fruktosa tetapi tidak mengandung sukrosa. Kismis mengandung senyawa yang bersifat antibakteri yaitu senyawa flavonoid, tanin, dan triterpenoid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui besarnya daya antibakteri infusa kismis konsentrasi 25%, 50%, dan 100% serta konsentrasi infusa kismis yang efektif dalam menghambat pertumbuhan *S. mutans* bila dibandingkan dengan *chlorhexidine* 0,2%.

Penelitian menggunakan jenis penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *post test only control group design*. Pembuatan infusa dilakukan di Laboratorium Bioscience Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember dan pengujian daya antibakteri di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, pada bulan April - Juni 2015. Jumlah sampel dalam penelitian ini adalah 25 sampel. Sampel terbagi dalam 5 kelompok penelitian yaitu kelompok *chlorhexidine*

0,2% (K+), kelompok aquades steril (K-), kelompok infusa kismis konsentrasi 100% (K100), kelompok infusa kismis konsentrasi 50% (K50), dan kelompok infusa kismis konsentrasi 25% (K25). Uji daya antibakteri menggunakan metode difusi sumuran. Kelompok perlakuan dan kelompok kontrol dimasukkan ke dalam lubang sumuran berdiameter 5 mm sesuai dengan label keterangan pada *petridish*. Seluruh *petridish* telah terisi media BHI-A yang diinokulasi *S. mutans*. *Petridish* dimasukkan ke dalam desikator dan diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 18 - 24 jam, kemudian dilakukan pengukuran zona hambat menggunakan jangka sorong satuan milimeter. Setiap sampel diukur oleh tiga orang yang berbeda.

Data hasil penelitian kemudian ditabulasi dan dianalisis. Kelompok perlakuan K+ mempunyai rata-rata zona hambat paling besar yaitu 6,71 mm, kelompok infusa kismis terbesar adalah kelompok K100 yang mempunyai rata-rata diameter zona hambat sebesar 6,06 mm, kelompok K50 mempunyai rata-rata diameter zona hambat sebesar 3,66 mm dan kelompok K25 mempunyai rata-rata diameter zona hambat terkecil yaitu sebesar 2,01 mm. Uji statistik *Kruskal-Wallis* menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan antara seluruh kelompok perlakuan. Hasil uji *Mann-Whitney* menunjukkan perbedaan yang bermakna pada semua kelompok. Hasil dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa besar daya antibakteri infusa kismis terhadap pertumbuhan *S. mutans* berdasarkan konsentrasi yang digunakan yaitu berturut-turut kelompok konsentrasi 100%, 50%, kemudian 25% dan konsentrasi infusa kismis yang efektif dalam menghambat pertumbuhan *S. mutans* bila dibandingkan dengan *chlorhexidine* 0,2% dalam penelitian ini adalah konsentrasi 100%.

PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT, yang telah melimpahkan karunia dan hidayah-Nya sehingga skripsi yang berjudul “Daya Antibakteri Infusa Kismis (*Vitis vinifera* L.) Konsentrasi 100%, 50%, dan 25% Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*” dapat terselesaikan. Penulisan skripsi ini disusun dimaksudkan untuk memenuhi salah satu syarat meraih gelar sarjana strata satu pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari dukungan berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes, Sp. Pros selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
2. drg. Achmad Gunadi, M.S., Ph. D selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah meluangkan banyak waktu, pikiran, motivasi, perhatian serta kesabaran dalam penulisan skripsi ini, sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
3. drg. Melok Aris Wahyukundari, M.Kes., Sp.Perio selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang juga telah meluangkan banyak waktu dan pikiran serta mengajarkan kesabaran dan memberikan perhatian dalam penulisan skripsi ini;
4. drg. Sri Lestari, M.Kes selaku Penguji Ketua, dan drg. Dwi Warna Aju Fatmawati, M.Kes selaku Penguji Anggota yang telah banyak memberikan sumbangan pemikiran dan saran demi kesempurnaan skripsi ini;
5. Kedua orang-tuaku tersayang, ibu Sri Ismiati dan bapak Edy Sutanto yang tidak pernah berhenti memberikan limpahan kasih sayang, doa, pengorbanan, serta dukungan dan semangat,;
6. Kakak dan adikku tersayang, Muhammad Pambudi Istanto dan Dina Mardika Rini yang dengan tulus memberikan doa dan selalu menjadi penyemangat;

7. Keluarga kontrakan tercinta, Ita Kurniawati, Deasy Kusuma Ardiani, Anggi Faradiba dan Ziggy yang tak pernah lupa akan kebersamaan, saling mengingatkan satu sama lain, canda tawa, dukungan dan semangat;
8. Laksmi Pratiwi, Sheila Annisa, Yunita Anggraini, terima kasih sahabat-sahabatku tercinta yang selalu ada disaat susah maupun senang, semoga kesuksesan kita saling menular satu sama lain;
9. Staf Lab. Bioscience RSGM Universitas Jember, Mbak Azizah dan Mas Erwan dan Pak Pin sebagai Staf Lab. Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, yang telah membantu dalam penelitian;
10. Rekan skripsi, Ariska Cyntia, Amelia Kharismayanti, Fatimatuz Zahra, Fitria krisna, Rhanifda Amvitasari, Deo Augusta Rahman, Hany Maghfiroh dan Riria Hendarto yang telah memberikan banyak masukan dan informasi dalam menyelesaikan skripsi ini;
11. Teman-teman bermain yang selalu setia, Maharja Jathi dan Mohammad Harish, terima kasih sudah menjadi teman dalam berbagi suka dan duka;
12. Nindyta Nursaskia Putri, Odelia Syafira, Rusnia Junita, dan Faisal Muhammad, terimakasih teman-teman SMP cikal harapan yang hingga saat ini terus mendukung dan memberi semangat;
13. Teman-teman KKN Baratan, Anna Rizqi, Ika Novita, Feny Tria Yunita, Hendra Trinanda, dan Viandra Edo yang selalu memberikan canda tawa dan semangat;
14. UKM Kesenian LISMA, adik, kakak, teman seperjuangan, dan tak lupa juga sesepuh yang sudah menginspirasi dan memberikan pengalaman tentang banyak hal;
15. Seluruh teman-teman FKG 2011 dan juga semua pihak yang telah membantu kelancaran penyusunan skripsi ini, yang tidak bisa saya sebutkan satu-persatu;

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dan ketidaksempurnaan dalam penulisan skripsi ini. Untuk itu, kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan demi kesempurnaan karya penulis selanjutnya.

Jember, 18 November 2015

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBING	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Plak Gigi	5
2.1.1 Pengertian Plak	5
2.1.2 Mekanisme Pembentukan Plak.....	5
2.2 <i>Streptococcus mutans</i>	6
2.2.1 Taksonomi <i>S. mutans</i>	6
2.2.2 Morfologi <i>S. mutans</i>	7

2.2.3 Habitat <i>S. mutans</i>	7
2.2.4 Patogenitas <i>S. mutans</i>	7
2.2.5 Kurva Pertumbuhan Bakteri <i>S. mutans</i>	8
2.3 Kismis (<i>Vitis vinifera</i> L.).....	9
2.3.1 Kandungan Kismis	11
2.3.1.1 Kandungan Antibakteri Kismis	12
2.3.2 Manfaat Kismis	14
2.4 Chlorhexidine	15
2.5 Antibakteri	16
2.5.1 Pengujian Aktivitas Antibakteri	18
2.6 Sediaan Herbal	19
2.7 Kerangka Konsep	21
2.8 Hipotesis	21
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	22
3.1 Jenis Penelitian	22
3.2 Rancangan Penelitian	22
3.3 Tempat dan Waktu Penelitian	22
3.4 Variabel Penelitian	22
3.4.1 Variabel Bebas.....	22
3.4.2 Variabel Terikat.....	23
3.4.3 Variabel Terkendali	23
3.5 Definisi Operasional	23
3.5.1 Infusa Kismis.....	23
3.5.2 Daya antibakteri terhadap pertumbuhan <i>S. mutans</i>	23
3.6 Sampel Penelitian	23
3.7 Alat dan Bahan Penelitian	24
3.5.1 Alat Penelitian	24
3.5.2 Bahan Penelitian.....	25
3.8 Prosedur Penelitian	25

3.8.1 Tahap Persiapan.....	25
3.8.2 Tahap Perlakuan	32
3.8.3 Tahap Pengukuran Diameter Zona Hambat	34
3.9 Analisis Data	35
3.10 Alur Penelitian	36
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	37
4.1 Hasil Penelitian	37
4.2 Pembahasan	41
BAB 5. PENUTUP	46
5.1 Kesimpulan	46
5.2 Saran.....	46
DAFTAR PUSTAKA	47
LAMPIRAN.....	52

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Kandungan nutrisi kismis per 100 gram	12
4.1 Rata-rata diameter zona hambat terhadap pertumbuhan <i>S. mutans</i>	39
4.2 Hasil uji normalitas <i>Shapiro-Wilk</i>	40
4.3 Hasil uji normalitas <i>Levene</i>	40
4.4 Hasil uji beda <i>Kruskal-Wallis</i>	40
4.5 Hasil uji beda <i>Mann-Whitney</i>	41

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 <i>S. mutans</i> berbentuk kokus dan tersusun seperti rantai	7
2.2 Pola pertumbuhan <i>S. mutans</i> pada media <i>Nutrient Broth</i>	9
2.3 Kismis Thompson <i>seedless</i>	9
2.4 Struktur kimia tanin terkondensasi golongan prosianidin	13
3.1 Proses pembuatan infusa kismis	27
3.2 Suspensi <i>S. mutans</i> dan larutan standar <i>Mc Farland 0,5</i>	28
3.3 Pemberian label keterangan pada <i>petridish</i>	29
3.4 Persiapan pembuatan media BHI-A	29
3.5 Media BHI-A dipanaskan.....	30
3.6 Media BHI-A disterilisasi menggunakan <i>autoclave</i>	30
3.7 Media BHI-A dituangkan ke <i>petridish</i>	30
3.8 Inokulasi <i>S. mutans</i>	31
3.9 Pembuatan sumuran pada media BHI-A yang sudah padat	31
3.10 Pembuatan konsentrasi infusa	32
3.11 Pemberian infusa kismis, kontrol positif, dan kontrol negatif.....	33
3.12 Pengukuran zona hambat.....	34
4.1 Daya hambat infusa kismis terhadap pertumbuhan <i>S. mutans</i>	37
4.2 Pengukuran zona hambat menggunakan jangka sorong digital	38
4.3 Histogram rata-rata diameter zona hambat pertumbuhan <i>S. mutans</i>	39

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Perhitungan Jumlah Sampel Penelitian.....	52
B. Rumus Pengenceran.....	52
C. Hasil Pengukuran.....	53
D. Analisis Data Penelitian.....	54
D.1 Uji Normalitas Data Menggunakan Uji <i>Shapiro-Wilk</i>	54
D.2 Uji Homogenitas Menggunakan Uji <i>Levene</i>	54
D.3 Uji Non-Parametrik Menggunakan Uji <i>Kruskal-Wallis</i>	54
D.4 Uji Non-Parametrik Menggunakan Uji <i>Mann-Whitney</i>	55
E. Foto Hasil Penelitian.....	61
F. Foto Alat dan Bahan Penelitian.....	64
F.1 Foto Alat Penelitian.....	64
F.2 Foto Bahan Penelitian.....	67
G. Surat Keterangan.....	68
G.1 Surat Keterangan Pembuatan Infusa Kismis.....	68
G.2 Surat Keterangan Uji Identifikasi <i>S. mutans</i>	69
G.2.1 Sediaan <i>S. mutans</i> dengan pewarnaan Gram pembesaran 1000x..	70

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Plak gigi merupakan salah satu faktor penyebab terjadinya karies gigi dan penyakit periodontal (Toar *et al.*, 2013:163). Plak gigi adalah deposit lunak yang membentuk biofilm dan melekat baik pada permukaan gigi maupun permukaan restorasi (Newman *et al.*, 2012:241). Bakteri yang berperan dalam proses pembentukan dan peningkatan akumulasi plak salah satunya adalah *Streptococcus mutans*. *S. mutans* dapat menghasilkan enzim glukosiltransferase ekstraseluler yang dapat digunakan untuk mencerna sukrosa dan mensintesis glukukan, sehingga dapat membantu perlekatan bakteri lain untuk membentuk biofilm plak (Toar *et al.*, 2013:163, Forssten *et al.*, 2010:290). Selanjutnya plak yang tidak dibersihkan secara teratur akan mengalami pematangan. Patogenitas yang dihasilkan berbagai macam bakteri dapat menyebabkan karies, gingivitis, dan periodontitis. Oleh karena itu, pengontrolan plak diperlukan sebagai salah satu upaya untuk memelihara kesehatan gigi dan mulut (Toar *et al.*, 2013:163).

Kontrol plak dapat dilakukan dengan cara pembersihan plak secara mekanis dan kimiawi. Pembersihan plak secara mekanis dengan menyikat gigi secara teratur merupakan langkah awal untuk mengontrol karies dan penyakit periodontal. Kontrol plak secara kimiawi yaitu dengan berkumur menggunakan obat kumur. Dalam bidang kedokteran gigi, banyak jenis obat kumur yang dijual dipasaran, salah satunya adalah *chlorhexidine* (Balakrishnan *et al.*, 2000:236). *Chlorhexidine* 0,2% dapat digunakan sebagai agen preventif dan terapi dalam mencegah gingivitis dan menghambat pembentukan plak (Newman *et al.*, 2012:337,425). Penggunaan *chlorhexidine* dapat memberikan beberapa efek yang bersifat reversibel, seperti perubahan warna coklat pada gigi, lidah, dan margin restorasi, serta gangguan pengecap (Kidd, 2005: 84-

85). Alternatif penggunaan bahan alam sebagai pengganti obat kumur berbahan sintetik masih menjadi pilihan masyarakat karena harganya murah dan memiliki efek samping yang lebih sedikit jika dibandingkan dengan bahan sintetik (Cuellar dan Yunus, 2009:240)

Kismis (*Vitis vinifera* L.) adalah makanan yang berasal dari hasil pengeringan buah anggur. Kismis mengandung senyawa yang bermanfaat untuk kesehatan antara lain senyawa polifenol, mineral, zat besi, kalsium, potasium, dan vitamin B. Kandungan gula kismis terdiri dari glukosa dan fruktosa tetapi tidak mengandung sukrosa (Rivero *et al.*, 2008:151). Sukrosa memiliki kemampuan yang lebih efisien terhadap pertumbuhan mikroorganisme *acidogenic* dibandingkan karbohidrat lain. Sukrosa dapat dimetabolisme dengan cepat untuk menghasilkan zat asam (Pratiwi, 2009:25).

Kismis mengandung senyawa yang bersifat antibakteri yaitu senyawa flavonoid, tanin dan triterpenoid (Carughi *et al.*, 2012:6-7). Menurut Cushnie dan Lamb (2005:351), mekanisme antibakteri dari flavonoid ada tiga macam, yaitu dengan menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sitoplasma, dan menghambat metabolisme energi. Kemampuan tanin sebagai antibakteri dapat dilihat dari aksinya pada membran. Tanin dapat melewati membran sel karena tanin dapat berpresipitasi pada beberapa polisakarida dan protein (Vasconcelos *et al.*, 2006:224). Senyawa triterpenoid yang bersifat antibakteri terhadap *S. mutans* salah satunya adalah asam oleanolik. Asam oleanolik dapat menghambat proses glukosiltransferase dengan cara menghentikan upaya perlekatan bakteri pada permukaan gigi (Wu, 2009:1820).

Terdapat penelitian mengenai kismis diantaranya adalah penelitian Bower *et al.*, (2003:1488) membuktikan aktivitas antibakteri ekstrak kismis terhadap *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* dan *Escherichia coli* dengan konsentrasi sebesar 15%. Senyawa hasil fraksi n-heksana ekstrak metanol kismis Thompson juga terbukti dapat menghambat bakteri *S. mutans* dan *Porphyromonas gingivalis* dengan rentan konsentrasi 3,9-500 µg/ml (Rivero *et al.*, 2008:151). Kismis

juga terbukti tidak berkontribusi dalam menimbulkan suasana asam dalam rongga mulut dan dapat dengan cepat dibersihkan oleh saliva di rongga mulut (Wu, 2009:1820).

Peneliti melakukan penelitian pendahuluan yaitu menguji antibakteri infusa kismis terhadap pertumbuhan *S. mutans* dengan konsentrasi 10%, 20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%. Hasil dari penelitian pendahuluan data yang diperoleh pada masing-masing konsentrasi tidak terpaut jauh dan konsentrasi terendah dari infusa kismis yang masih memiliki daya antibakteri adalah konsentrasi 20%. Hal tersebut menjadi dasar peneliti untuk menggunakan infusa kismis konsentrasi 25%, 50%, dan 100% untuk melakukan penelitian daya antibakteri terhadap *S. mutans*.

Berdasarkan latar belakang diatas, peneliti ingin melihat besarnya daya antibakteri infusa kismis dengan berbagai konsentrasi dalam menghambat *S. mutans*. sehingga dilakukan penelitian tentang daya antibakteri infusa kismis (*Vitis vinifera* L.) konsentrasi 100%, 50%, dan 25% terhadap pertumbuhan *S. mutans*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, rumusan masalah dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Seberapa besar daya antibakteri infusa kismis konsentrasi 100%, 50%, dan 25% terhadap pertumbuhan *S. mutans*?
- b. Berapa konsentrasi infusa kismis yang efektif bila dibandingkan dengan *chlorhexidine* 0,2% dalam menghambat pertumbuhan *S. mutans*?

1.3 Tujuan Penelitian

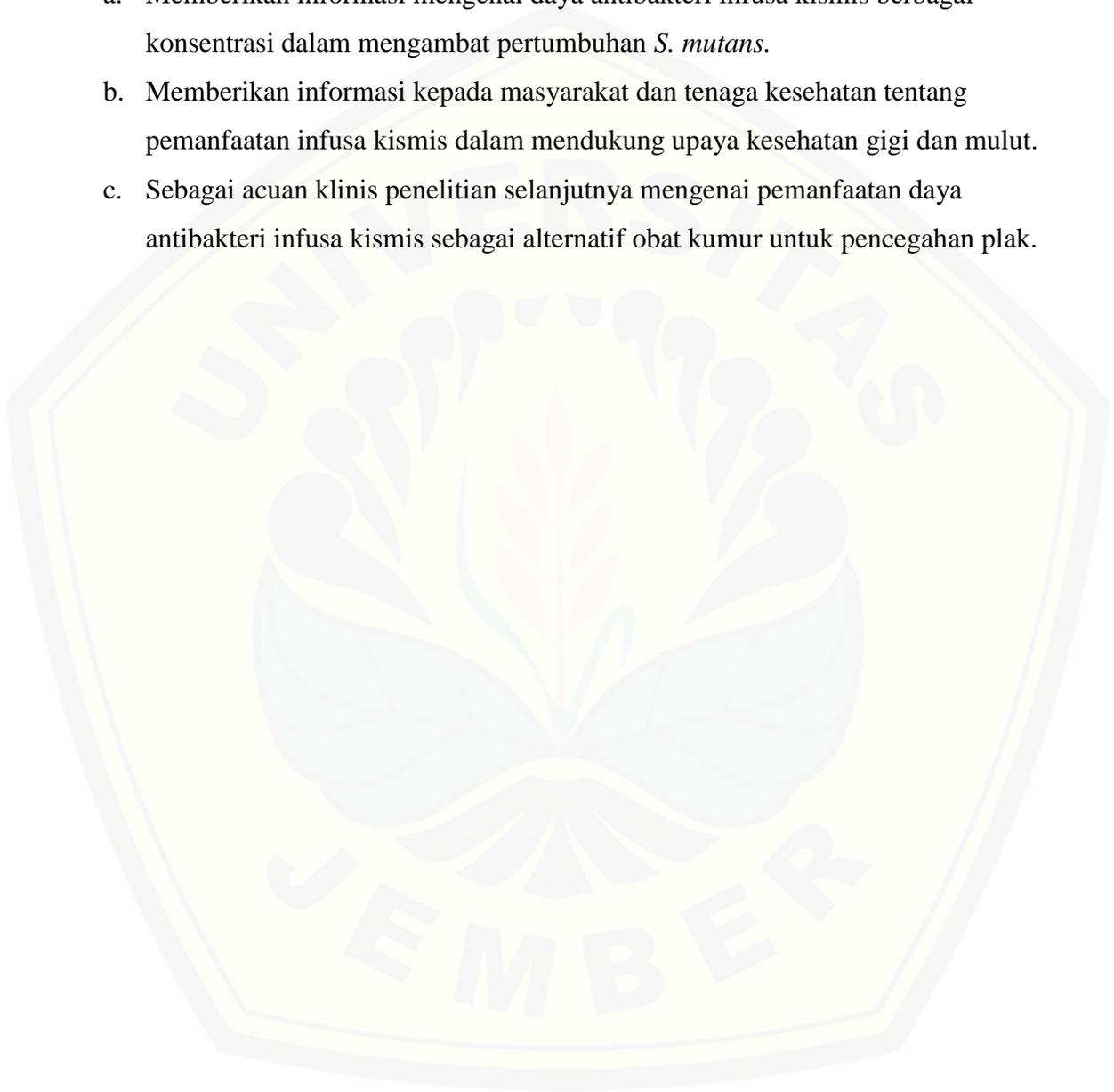
Tujuan dari penelitian yang dilakukan adalah sebagai berikut:

- a. Mengetahui besarnya daya antibakteri infusa kismis konsentrasi 100%, 50%, dan 25% terhadap pertumbuhan *S. mutans*.
- b. Mengetahui konsentrasi infusa kismis yang efektif bila dibandingkan dengan *chlorhexidine* 0,2% dalam menghambat pertumbuhan *S. mutans*.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Memberikan informasi mengenai daya antibakteri infusa kismis berbagai konsentrasi dalam mengambat pertumbuhan *S. mutans*.
- b. Memberikan informasi kepada masyarakat dan tenaga kesehatan tentang pemanfaatan infusa kismis dalam mendukung upaya kesehatan gigi dan mulut.
- c. Sebagai acuan klinis penelitian selanjutnya mengenai pemanfaatan daya antibakteri infusa kismis sebagai alternatif obat kumur untuk pencegahan plak.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Plak Gigi

2.1.1 Pengertian Plak

Plak gigi merupakan deposit lunak berupa lapisan biofilm yang melekat pada permukaan gigi dan permukaan keras di rongga mulut seperti restorasi lepasan ataupun cekat (Newman *et al.*, 2012:241). Plak gigi tidak dapat dibersihkan hanya dengan berkumur ataupun menggunakan semprotan air, tetapi dapat dibersihkan secara sempurna dengan cara mekanis. Plak gigi dapat terlihat jika diwarnai dengan *disclosing solution*. Plak yang menumpuk akan terlihat berwarna abu-abu, abu-abu kekuningan, dan kuning (Putri *et al.*, 2010:56).

2.1.2 Mekanisme Pembentukan Plak

Terdapat beberapa tahapan dari pembentukan plak, yaitu:

- a. Tahap pembentukan plak dimulai dari pembentukan dental pelikel yang disebut dengan *initial phase*. Semua permukaan rongga mulut, termasuk permukaan jaringan keras dan lunak dilapisi oleh lapisan organik yang disebut dengan pelikel. Pelikel merupakan lapisan protein dan glikoprotein yang berfungsi sebagai barier protektif, pelumasan, dan substrat tempat melekatnya bakteri (Newman *et al.*, 2012:243).
- b. *Initial colonization*, proses ini diawali dari koloni primer yang berikatan dengan reseptor pada pelikel melalui molekul spesifik *adhesin*. Kolonisasi bakteri primer yang melekat pada pelikel adalah predominan bakteri fakultatif anaerob Gram positif seperti *Actinomyces sp.* dan *Streptococcus* (Newman *et al.*, 2012:244).
- c. Tahap berikutnya adalah perlekatan koloni sekunder dan pematangan plak. Koloni sekunder merupakan mikroorganisme yang tidak mengkolonisasi

permukaan gigi yang bersih seperti *Prevotella intermedia*, *Prevotella loescheii*, *Capnocytophaga sp.*, *Fusobacterium nucleatum*, dan *Porphyromonas gingivalis*. Mikroorganisme tersebut melekat pada sel bakteri yang terdapat di massa plak. Karakteristik pada tahap ini yaitu koloni sekunder memiliki kemampuan untuk melekat pada mikroorganisme plak yang berbeda spesies satu sama lain yang dikenal dengan istilah *co-aggregation* (Newman *et al.*, 2012:245).

2.2 *Streptococcus mutans*

S. mutans adalah salah satu bakteri pada plak yang merupakan penyebab utama dari karies. Nama '*mutans*' diberikan karena dapat melakukan proses transisi bentuk dari bentuk kokus menjadi kokobasil. Sampai saat ini telah ditemukan tujuh buah spesies *S. mutans* pada manusia dan hewan. Sebanyak delapan buah serotipe (a-h) telah dikenali berdasarkan susunan antigen spesifik yang berada pada dinding sel bakteri *S. mutans*. Diantara semua serotipe *S. mutans* yang telah dikenali, hanya tiga buah serotipe *S. mutans* yang ditemukan pada manusia yaitu serotipe c, e, dan f (Samaranayake, 2012:124).

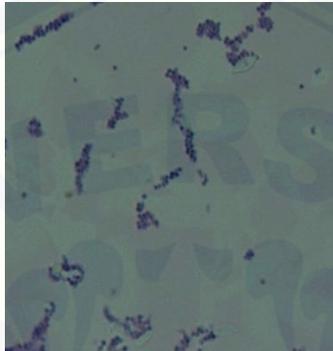
2.2.1 Taksonomi *S. mutans*

Taksonomi *S. mutans* menurut Samaranayake (2012:265) adalah sebagai berikut:

<i>Kingdom</i>	: <i>Monera</i>
<i>Phylum</i>	: <i>Firmicutes</i>
<i>Class</i>	: <i>Bacilli</i>
<i>Ordo</i>	: <i>Lactobacillales</i>
<i>Family</i>	: <i>Streptococcaceae</i>
<i>Genus</i>	: <i>Streptococcus</i>
<i>Species</i>	: <i>Streptococcus mutans</i>

2.2.2 Morfologi *S. mutans*

S. mutans adalah bakteri Gram positif dan non motil. *S. mutans* berbentuk kokus atau bulat yang tersusun seperti rantai panjang (Gambar 2.1) dan dihubungkan oleh *wall-band* (Lee *et al.*, 2006:65, 67).



Gambar 2.1 *S. mutans* berbentuk kokus dan tersusun seperti rantai

2.2.3 Habitat *S. mutans*

Habitat alami *S. mutans* adalah plak yang menempel pada gigi. Koloni *S. mutans* terbanyak ditemukan pada plak oklusal gigi molar bagian fisur. *S. mutans* hidup dalam suasana fakultatif anaerob. *S. mutans* bersifat asidogenik yaitu dapat menghasilkan asam dan asidurik yaitu mampu hidup pada lingkungan asam seperti pada pH rendah bahkan pada pH 4. (Balakrishnan *et al.*, 2000:237; Samaranayake, 2012:16,282).

2.2.4 Patogenitas *S. mutans*

S. mutans adalah agen utama penyebab karies, namun tanpa adanya faktor predisposisi seperti sukrosa, bakteri ini tidak dapat menyebabkan karies. *S. mutans* memiliki kemampuan untuk memproduksi sejumlah polisakarida ekstraseluler yang dihasilkan dari karbohidrat yang dikonsumsi (Samaranayake, 2012:123-124).

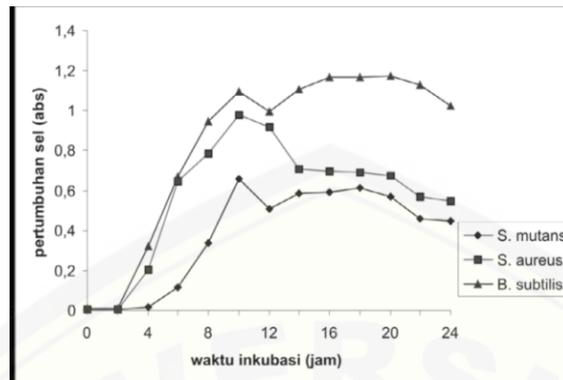
Salah satu sifat penting dari virulensi *S. mutans* adalah kemampuannya dalam membentuk lapisan biofilm yang dikenal dengan plak pada permukaan gigi (Yoshida dan Kuramitsu, 2002:6283). Pembentukan plak gigi diawali dengan terbentuknya

pelikel pada email gigi, kemudian terjadi interaksi bakteri dengan pelikel. *S. mutans* akan memproduksi enzim glukosiltransferase saat terdapat sukrosa. Enzim tersebut berfungsi untuk mempolimerisasi sukrosa dan bentuk senyawa karbohidrat lain menjadi glukosa alfa 1-6 dan glukosa alfa 1-3 (*polysaccharide*) yang berperan dalam proses perlekatan bakteri pada permukaan gigi, *interbacterial adhesion*, dan akumulasi biofilm (Forssten *et al.*, 2010:291).

S. mutans mengubah sukrosa dan karbohidrat pada makanan menjadi asam melalui proses fermentasi yang kemudian akan menurunkan pH plak menjadi 4,5-5,5 dalam waktu 1-3 menit. Asam yang di produksi bakteri akan dinetralkan oleh sistem *buffer* saliva yaitu dengan bertambahnya ion bikarbonat, sehingga pH kembali normal sekitar 7,0 dalam waktu 30-60 menit. Proses demineralisasi gigi dapat terjadi apabila terjadi penurunan pH secara terus menerus. Kondisi asam saat pH menurun sangat disukai oleh bakteri *S. mutans* dan *Lactobacillus sp.*, yang merupakan mikroorganisme utama penyebab terjadinya karies (Soesilo *et al.*, 2005:25-26).

2.2.5. Kurva Pertumbuhan Bakteri *S. mutans*

Dalam keadaan normal, pertumbuhan bakteri *S. mutans* pada media *Nutrient Broth* (NB) dapat dilihat pada Gambar 2.2. Pada masa pertumbuhan selama 24 jam (satu kali masa pertumbuhan), fase-fase pertumbuhannya dapat diketahui dengan jelas. Fase adaptasi dicapai sampai pada jam ke dua. Fase logaritmik atau fase eksponensial dicapai setelah waktu pertumbuhan 10-12 jam. Selanjutnya, fase stasioner dicapai pada saat pertumbuhan mencapai 12-20 jam, dan fase kematian dicapai setelah 20 jam (Rindit *et al.*, 2008:176).



Gambar 2.2 Pola pertumbuhan *S. mutans* pada media *Nutrient Broth*, inkubasi 37° C selama 24 jam (Sumber: Rindit *et al.*, 2008:176)

2.3 Kismis (*Vitis vinifera* L.)

Kismis adalah makanan yang terbuat dari buah anggur yang dikeringkan. Kismis diperkenalkan di Eropa oleh bangsa Mediterania pada abad ke-11 sebelum masehi. Sebagian besar kismis yang dihasilkan berasal dari varietas anggur Thompson *seedless*, anggur ini diperkenalkan di California pada tahun 1862 oleh William Thompson. Varietas anggur ini berwarna hijau dan tidak berbiji (Rivero *et al.*, 2008:151). Kismis yang berasal dari varietas Thompson *seedless* dapat dilihat pada Gambar 2.3. Varietas kismis bergantung pada tipe anggur yang digunakan. Varietas anggur yang digunakan untuk produksi kismis, diantaranya yaitu anggur Thompson *seedless* dan varietas *black corinth*. Varietas lain yang juga dikembangkan yaitu *flame seedless*, *red emperor*, *calmeria*, *ruby seedless*, *red globe*, dan *sugereon one* (Setiadi, 2007:10).



Gambar 2.3 Kismis Thompson *seedless* (Sumber: Setiadi, 2007:10)

Kismis tanpa biji yang merupakan bahan yang lebih banyak digunakan dibandingkan buah-buahan kering lain dalam industri *bakery*, coklat dan konfeksioneri. Untuk keperluan industri maupun skala rumah tangga, kismis harus bersih, bebas dari benda-benda asing, berkadar air 14% – 17%, bebas dari kristal gula, tidak berbau tengik, berwarna biru kehitaman, tidak berkerut, dan tidak berwarna merah karena kismis yang berwarna merah memiliki rasa asam (Koswara, 2006:6). Kismis yang baik dan sehat dikeringkan dengan panas matahari langsung dan tidak dicampur belerang, ciri-cirinya adalah berwarna lebih hitam pekat, lembap, dan tidak tahan disimpan lama karena akan cepat berjamur (Suryana, 2009:38).

Pembuatan kismis dapat dilakukan dengan dua metode pengeringan, yaitu pengeringan secara alami (*natural drying/sun drying*) dan buatan (*artificial drying*). Pengeringan secara alami dapat dilakukan dengan cara menjemur di bawah sinar matahari dalam jangka waktu 2 sampai 3 minggu, sedangkan pengeringan secara buatan dilakukan dengan menggunakan alat pengering mekanis yaitu mesin dehidrator selama 20 sampai 24 jam. Setelah proses pengeringan, kismis akan tampak berwarna coklat tua yang berasal dari akumulasi pigmen melanin coklat-hitam hasil aktivitas oksidasi polifenol dan reaksi non-enzimatik. Kismis yang berwarna kuning dan emas adalah anggur Thompson *seedless* yang telah dicelupkan ke dalam air panas kemudian diberikan sulfur dioksida untuk mencegah proses perubahan warna menjadi gelap (Christensen, 2000:214).

Sun-Maid salah satu merek kismis terkenal yang sudah menjadi *leader* dan menguasai hampir 80% pangsa pasar dunia. *Sun-Maid* sudah dikenal sejak tahun 50-an di Indonesia dengan berbagai varian kemasan. Proses produksi kismis *Sun-Maid* melalui proses panjang agar tercipta kismis yang berkualitas tinggi. Bahan baku *Sun-Maid* berasal dari 95% anggur Thompson *Seedless*. Dibutuhkan sekitar empat pon anggur untuk membuat satu pon kismis. *Sun-Maid* memproduksi kismis secara alami dengan menjemur di bawah sinar matahari langsung dan tidak menggunakan oven dalam proses pengeringannya. Kismis *Sun-Maid* mengalami 3 kali proses pencucian untuk menghindari adanya ranting kering, pasir, dan daun yang ikut terjemur. *Sun-*

Maid selalu menjaga kebersihan dan kualitas kismisnya. Setelah kering, dilakukan pemilahan kismis antara yang besar dan kecil. Kismis *Sun-Maid* bisa bertahan lebih dari satu tahun selama kemasannya tidak bocor, tidak kotor, dan tidak lembab (Kartikasari, 2010).

2.3.1 Kandungan Kismis

Sebagai makanan ringan yang populer, kismis mengandung polifenol, zat besi, mineral, kalium, kalsium, dan vitamin B yang bermanfaat bagi kesehatan secara keseluruhan. Kismis kaya akan senyawa antioksidan, memiliki kandungan serat yang tinggi, serta bebas dari kolesterol dan lemak bebas. Kismis terdiri dari kurang lebih 60% kandungan gula. Kandungan gula dalam kismis adalah glukosa fruktosa dan tidak mengandung sukrosa. Berbagai *phytochemical* dilaporkan dalam kismis yaitu senyawa triterpenoid (asam oleanolik, oleanolik aldehyd, betulin & asam betulinik), asam lemak, flavonoid, asam amino, *hydroxycinnamic acid*, *5-hydroxy-2-furaldehyde*, dan senyawa tanin (Rivero *et al.*, 2008:151; Breksa *et al.*, 2010:744). Kandungan nutrisi kismis per 100 gram berdasarkan USDA *National Nutrient Database for Standart reference* dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Komponen Gizi	Konsentrasi per 100 gram
Air (g)	15,43
Energi kcal (g)	299
Protein (g)	0,46
Lemak total (g)	0,46
Karbohidrat (g)	79,18
Serat total (g)	3,7
Gula total (g)	59,19
Kalsium (mg)	50
Besi (mg)	1,88
Magnesium (mg)	32
Fosfor (mg)	101
Potasium (mg)	749
Sodium (mg)	11
Vitamin C (mg)	2,3
Vitamin B6 (mg)	0.174
Folat (μ g)	5
Vitamin K (μ g)	3.5

Tabel 2.1 Kandungan nutrisi kismis per 100 gram (Sumber: USDA, 2014)

2.3.1.1 Kandungan Antibakteri Kismis

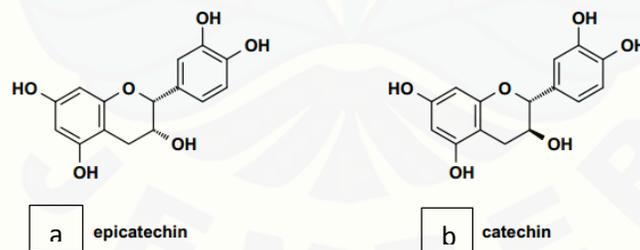
a. Flavonoid

Senyawa flavonoid adalah kelompok senyawa fenol terbesar yang ditemukan di alam. Senyawa-senyawa ini merupakan zat berwarna merah, ungu, biru, dan sebagian zat warna kuning yang ditemukan dalam tumbuh-tumbuhan. Flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon. Flavonoid merupakan senyawa polar sehingga pada umumnya flavonoid larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton, dan air (Kristanti *et al.*, 2008:19-20). Flavonoid memiliki kemampuan sebagai antijamur, antivirus, dan antibakteri (Cushnie dan Lamb., 2005:351). Mekanisme antibakteri dari flavonoid ada tiga macam, yaitu dengan cara menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sitoplasma, dan menghambat metabolisme energi.

b. Tanin

Tanin merupakan salah satu jenis senyawa yang termasuk ke dalam golongan polifenol. Senyawa tanin banyak dijumpai pada tumbuhan. Tanin memiliki sifat umum, yaitu memiliki gugus fenol dan bersifat koloid. Semua jenis tanin dapat larut dalam air. Kelarutannya besar dan akan bertambah besar apabila dilarutkan dalam air panas (Arianti, 2011:6).

Berdasarkan perbedaan struktur molekulnya tanin dibagi menjadi dua yaitu tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin terhidrolisis mudah dihidrolisis oleh asam lemah atau basa lemah yang menghasilkan karbohidrat dan asam fenolat. Terdapat dua macam tanin terhidrolisis yaitu gallatanin (asam galat) dan ellagatanin (asam elegat). Tanin terkondensasi tidak dapat dihidrolisis. Tanin jenis ini terdiri dari polimer flavonoid yang merupakan senyawa fenol. Nama lain dari tanin ini adalah *proantocianidin*. Terdapat dua macam tanin terkondensasi yaitu *procianidin* dan *prodelphinidin*. *Procianidin* terdiri dari *epicatechin* dan *catechin*. *Prodelphinidin* terdiri dari *epigallocatechin* dan *gallocatechin* (Hagerman, 2002). Tanin pada kismis termasuk tanin terkondensasi golongan *procianidin* yaitu *epicatechin* dan *catechin* (Gambar 2.4) (Breksa *et al.*, 2010:744).



Gambar 2.4 Struktur kimia tanin terkondensasi golongan proisianidin (a) *epicatechin*, (b) *catechin* (Sumber: Hagerman, 2002)

Tanin memiliki aktivitas antibakteri, secara garis besar mekanisme antibakteri tanin adalah toksisitas tanin yang dapat merusak membran sel bakteri. Tanin dapat melewati membran sel karena tanin dapat berpresipitasi pada beberapa polisakarida

dan protein. Tanin juga dapat menekan jumlah beberapa enzim seperti glukosiltransferase (Vasconcelos *et al.*, 2006:224).

c. Triterpenoid

Triterpenoid merupakan hasil metabolisme senyawa oligomer pirofosfat isopentenil dan diperkirakan lebih dari 20.000 senyawa triterpenoid berada di alam. Triterpenoid di biosintesis pada tumbuhan melalui proses siklikasi senyawa skualen, senyawa hidrokarbon dan prekursor senyawa steroid. Senyawa ini dikelompokkan menjadi beragam struktur seperti sikloartan, dammaran, eufan, friedelan, holostan, hopan, lanostan, limonoid, lupan, oleanan, protostan, ursan, dan senyawa lainnya. Triterpenoid digunakan untuk tujuan pengobatan seperti untuk obat antiinflamasi, analgesik, antipiretik, hepatoprotektif, kardiotonik, dan obat penenang. Penelitian terbaru menegaskan bahwa beberapa senyawa triterpenoid memiliki aktivitas biologis tambahan yaitu sebagai antioksidan, antimikroba, antivirus, antialergi, antiangiogenik, dan aktivitas spasmolitik (Bishayee *et al.*, 2011:982).

Penelitian Rivero *et al.*, (2008:151) menyatakan fraksi n-heksana ekstrak metanol kismis Thompson mengandung senyawa triterpenoid pentasiklik yaitu asam oleanolik, betulin, asam betulinik, oleanolik aldehid, dan β -sitosterol. Dalam hubungannya dengan *S. mutans*, asam oleanolik menghambat proses glukosiltransferase, yaitu proses perubahan sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa. Asam oleanolik akan menghentikan upaya perlekatan bakteri pada permukaan gigi, kemudian akan mencegah terbentuknya plak pada gigi (Wu, 2009:1820).

2.3.2 Manfaat Kismis

Dalam berbagai penelitian *in vitro* dan *in vivo*, terdapat banyak manfaat kismis.

a. Menurunkan kolesterol

Serat pangan pada kismis dapat mengikat asam empedu dan membuangnya keluar tubuh melalui proses buang air besar. Semakin banyak

asam empedu yang terbuang, maka semakin banyak juga kolesterol yang terurai untuk pembentukan kembali asam empedu. Mekanisme tersebut dengan sendirinya akan menurunkan kadar kolesterol secara perlahan-lahan (Camire dan Dougherty, 2003: 836).

b. Meningkatkan kesehatan kardiovaskular dan mencegah penyakit degeneratif

Konsumsi kismis setiap hari selama 4 minggu dapat meningkatkan kapasitas antioksidan plasma, yang dapat menurunkan laju oksidasi *low density lipoprotein* (LDL). Penghambatan laju oksidasi LDL berguna untuk meningkatkan kesehatan kardiovaskular dan mencegah penyakit degeneratif (Carughi *et al.*, 2012:40).

c. Mencegah osteoporosis dan artritis

Konsumsi kismis dapat membantu penyerapan kalsium dengan baik karena kismis mengandung boron. Boron adalah mineral yang penting untuk pertumbuhan dan pemeliharaan tulang. Boron yang terkandung dalam kismis dapat mencegah terjadinya osteoporosis dengan cara mencegah proses pengeroposan pada tulang dan memiliki peran dalam mencegah terjadinya artritis (Carughi *et al.*, 2012:16-18).

d. Sebagai bahan pengawet makanan

Kismis dapat digunakan sebagai bahan pengawet makanan alami. Hal ini dibuktikan oleh penelitian Bower yang menyatakan ekstrak kismis dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen perusak makanan, seperti *Lysteria monocytogenes*, *Escherichia coli*, dan *Staphylococcus aureus* (Bower *et al.*, 2003:1488).

2.4 Chlorhexidine

Chlorhexidine termasuk kelompok ikatan kimia yang dikenal sebagai bisbiguanida yang memiliki aktivitas antimikroba dengan spektrum luas. *Chlorhexidine* merupakan antiseptik dan disinfektan yang mempunyai efek bakterisidal dan bakteriostatik terhadap bakteri Gram (+) dan Gram (-) termasuk

bakteri aerob, anaerob, bakteri ragi dan fungi (Kidd, 2005:83). *Chlorhexidine* 0,2% dapat digunakan sebagai agen preventif dan terapi seperti dalam mencegah gingivitis dan menghambat pembentukan plak. Penelitian membuktikan bahwa penggunaan *chlorhexidine* dapat mengurangi plak 45% menjadi 61% dan mengurangi gingivitis dengan tingkat keparahan 27% menjadi 67% (Newman *et al.*, 2012:425).

Penggunaan *chlorhexidine* memberikan beberapa efek samping. Efek samping *chlorhexidine* yaitu timbulnya *stain* pada gigi, lidah, dan margin restorasi yang disebabkan oleh interaksi *chlorhexidine* dengan makanan yang dikonsumsi. *Chlorhexidine* juga dapat memberikan rasa pahit untuk beberapa menit sampai jam tergantung pada tiap individual, dapat menyebabkan ulser pada individu intoleran, serta penggunaan yang berkisar 2 tahun akan menurunkan sensitivitas bakteri (Kidd, 2005: 84-85).

Mekanisme *chlorhexidine* dalam menghambat terbentuknya plak yaitu dengan terjadinya ikatan antara *chlorhexidine* dan hidroksiapatit pada permukaan enamel, pelikel, plak bakteri, ekstraseluler polisakarida plak, serta membran mukus. *Chlorhexidine* mengabsorpsi hidroksiapatit sehingga dapat menghambat kolonisasi bakteri. Peranan *chlorhexidine* dalam menghambat terbentuknya plak juga dipengaruhi oleh konsentrasi dari medikasi, pH, temperatur, dan lamanya waktu kontak larutan dengan struktur rongga mulut (Harris dan Garcia, 2004:119).

2.5 Antibakteri

Antibakteri adalah zat yang dapat mengganggu pertumbuhan atau bahkan mematikan bakteri dengan cara mengganggu metabolisme mikroba yang merugikan manusia (Madigan dan Martinko, 2006:302). Mekanisme kerja antibakteri antara lain melalui inhibisi sintesis dinding sel, inhibisi fungsi membran sel, inhibisi sintesis protein, dan inhibisi sintesis asam nukleat (Brooks *et al.*, 2007:163).

a. Inhibisi sintesis dinding sel

Bakteri mempunyai lapisan luar yang kaku yaitu dinding sel. Dinding sel berfungsi untuk mempertahankan bentuk dan ukuran mikroorganisme yang

mempunyai tekanan osmotik internal tinggi. Kerusakan pada dinding sel karena inhibisi pada pembentukannya dapat menyebabkan sel menjadi lisis. Dinding sel mengandung polimer kompleks mukopeptida yaitu peptidoglikan yang terdiri dari polisakarida dan polipeptida. Polisakarida tersebut biasanya mengandung N-asetilglukosamin dan asam asetilmuramat. Lapisan peptidoglikan lebih tebal pada dinding sel bakteri Gram positif dari pada Gram negatif (Brooks *et al.*, 2007:164).

b. Inhibisi fungsi membran sel

Sitoplasma semua sel hidup diikat oleh membran sitoplasma yang bekerja sebagai barier permeabilitas selektif. Membran sitoplasma berfungsi sebagai transpor aktif, sehingga mengontrol komposisi internal sel. Integritas fungsional membran sitoplasma yang terganggu dapat menyebabkan keluarnya makromolekul dan ion dari dalam sel sehingga dapat mengakibatkan kerusakan atau kematian sel (Brooks *et al.*, 2007:165).

c. Inhibisi sintesis protein

Bakteri perlu mensintesis berbagai protein untuk hidup. Sintesis protein berlangsung di ribosom dengan bantuan mRNA dan tRNA. Organel ribosom pada bakteri terdiri dari dua sub unit yaitu ribosom 30S dan 50S. Selama sintesis protein kedua komponen ini bersatu pada pangkal rantai mRNA menjadi ribosom 70S. Apabila zat antibakteri berikatan dengan komponen ribosom 30S pada mRNA akan menyebabkan tRNA salah membaca kode tersebut sehingga akan terbentuk protein yang abnormal dan nonfungsional bagi sel bakteri. Obat yang bekerja dengan menghambat sintesis protein adalah kloramfenikol, golongan tetrasiklin, eritromisin, klindamisin, dan aminoglikosida (Brooks *et al.*, 2007:165).

d. Inhibisi sintesis asam nukleat

Asam nukleat merupakan bagian yang sangat vital bagi perkembangbiakan sel. Mekanisme kerjanya dengan cara berikatan dengan enzim *polymerase*-RNA (pada sub unit) sehingga menghambat sintesis RNA dan DNA.

Antibakteri yang tergolong kelompok ini adalah kuinolon, pirimetamin, rifampin, sulfanomid, trimetropim, dan trimetreksat (Brooks *et al.*, 2007:166).

2.5.1 Pengujian Aktivitas Antibakteri

Metode pengujian aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan dua metode yaitu metode difusi dan metode dilusi.

a. Metode difusi

Metode difusi agar sering disebut dengan metode Kirby-bauer. Pada teknik difusi, sebuah reservoir yang berisi senyawa uji pada konsentrasi tertentu dikontakkan dengan media yang sudah diinokulasikan bakteri dan diameter bening atau disebut dengan zona inhibisi di sekeliling reservoir diukur setelah media diinkubasi. Jenis reservoir yang dapat digunakan pada metode ini yaitu *filter paper disk (agar disk diffusion)*, sumuran pada media agar (*agar well diffusion*) dan silinder *stainless steel* yang ditempatkan pada permukaan media. Metode sumuran adalah salah satu metode difusi yang cocok untuk ekstrak cair. Metode difusi ini tidak sesuai untuk menguji sampel non-polar atau sampel yang tidak mudah berdifusi ke dalam agar. Potensi antimikroba dari sampel yang berbeda tidak selalu dapat dibandingkan karena perbedaan sifat fisik seperti kelarutan, volatilitas, dan karakteristik difusi dari agar (Cos *et al.*, 2006:295-296).

b. Metode dilusi

Pada metode dilusi, senyawa uji dicampurkan dengan media yang sudah diinokulasikan bakteri uji sebelumnya. Metode ini dapat dilakukan dalam bentuk padat maupun cair dan pertumbuhan mikroorganisme dapat diukur menggunakan beberapa cara. Pada metode dilusi agar, konsentrasi bunuh minimum (KBM) didefinisikan sebagai konsentrasi terkecil yang mampu menghambat semua pertumbuhan mikroba yang teramati secara visual, sedangkan pada metode dilusi cair diamati kekeruhan atau digunakan indikator redoks. Senyawa uji yang tidak larut sempurna dapat mempengaruhi pembacaan kekeruhan, sehingga diperlukan adanya kontrol negatif atau kontrol sterilitas. Metode dilusi cair juga

memungkinkan penentuan apakah senyawa uji bersifat bakterisidal atau bakteristatik. Metode dilusi sesuai untuk menguji senyawa polar dan non-polar, atau penentuan nilai KBM dan KHM (Cos *et al.*, 2006:296).

2.6 Sediaan Herbal

Sediaan Herbal adalah sediaan obat tradisional yang dibuat dengan cara sederhana seperti infusa, dekok dan sebagainya yang berasal dari simplisia. Simplisia adalah bahan alami berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman yang digunakan sebagai obat dan belum mengalami pengolahan atau mengalami pengolahan secara sederhana serta bukan merupakan zat murni kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan. Eksudat tanaman adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau isi sel yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tanamannya dan belum berupa zat kimia murni (BPOM RI, 2010:1).

Macam sediaan herbal menurut BPOM RI (2010) antara lain yaitu :

a. Infusa

Proses infusa digunakan untuk memperoleh zat kandungan aktif yang larut dalam air dari bahan-bahan nabati. Infusa adalah sediaan cair yang dibuat dengan cara mengekstraksi simplisia nabati dengan air pada suhu 90°C selama 15 menit. Pembuatan infusa merupakan cara yang paling sederhana untuk membuat sediaan herbal dari bahan lunak seperti daun dan bunga. Infusa dapat diminum panas atau dingin. Sediaan herbal yang mengandung minyak atsiri akan berkurang khasiatnya apabila tidak menggunakan penutup pada pembuatan infusa. Infusa disimpan dalam lemari pendingin atau pada tempat yang teduh dan dibuat segar setiap hari (24jam), karena untuk sediaan infusa hanya bertahan dalam waktu satu hari dan selebihnya dikhawatirkan sediaan sudah terkontaminasi dengan jamur atau benda-benda lain (BPOM RI, 2010:3).

b. Dekok (*Dekokta*)

Dekok adalah sediaan cair yang dibuat dengan mengekstraksi sediaan herbal berbahan keras dengan air pada suhu 90°C selama 30 menit (BPOM RI, 2010:4).

c. Teh

Pembuatan sediaan teh untuk tujuan pengobatan banyak dilakukan berdasarkan pengalaman seperti pada pembuatan infusa yang dilakukan pada teh hitam sebagai minuman (BPOM RI, 2010:5).

d. Obat kumur dan obat cuci mulut (*Gargarisma* dan *kolutorium*)

Obat kumur dan obat cuci mulut umumnya mengandung bahan tanaman yang berkhasiat sebagai astringen yang dapat mengencangkan atau melapisi selaput lendir dan tenggorokan. Obat tidak dimaksudkan sebagai pelindung selaput lendir. Obat kumur dan obat cuci mulut dibuat dari sediaan infusa, dekok atau tingtur yang diencerkan (BPOM RI, 2010:5).

e. Sirup

Sirup adalah sediaan berupa larutan dari atau yang mengandung sukrosa. Kecuali dinyatakan lain, kadar sukrosa tidak kurang dari 64,0% dan tidak lebih dari 66,0% (BPOM RI, 2010:6).

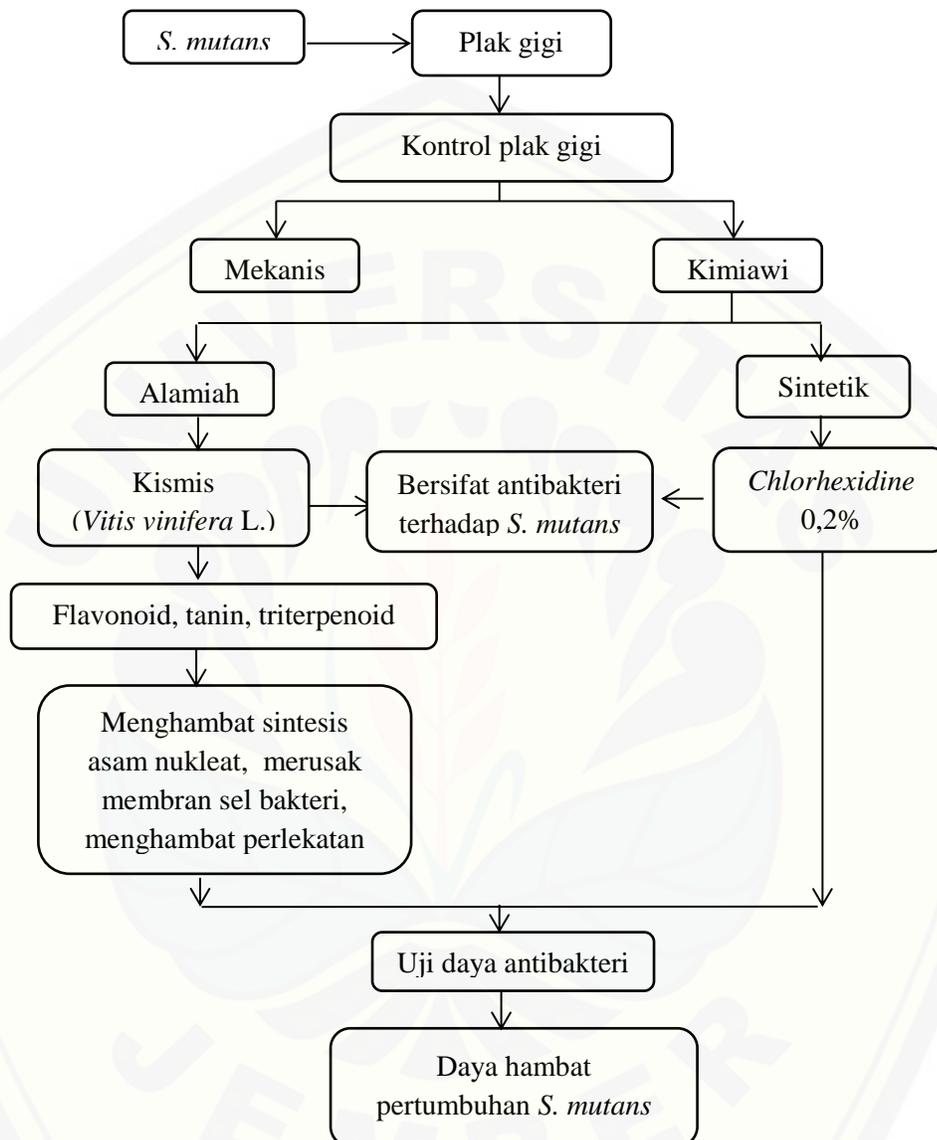
f. Tingtur (*Tinctura*)

Tingtur adalah sediaan cair yang dibuat dengan cara maserasi atau perkolasi simplisia dalam pelarut yang tertera pada masing-masing monografi. Kecuali dinyatakan lain, tingtur dibuat menggunakan 20% zat khasiat dan 10% untuk zat khasiat keras (BPOM RI, 2010:6).

g. Ekstrak (*Extracta*)

Ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair dibuat dengan penyari simplisia menurut cara yang cocok, di luar pengaruh cahaya matahari langsung. Ekstrak kering harus mudah digerus menjadi serbuk (BPOM RI, 2010:7).

2.7 Kerangka Konsep



2.8 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah infusa kismis konsentrasi 100% memiliki daya antibakteri yang lebih besar dalam menghambat pertumbuhan *S. mutans* dan konsentrasi infusa kismis yang efektif bila dibandingkan dengan *chlorhexidine* 0,2% dalam menghambat pertumbuhan *S. mutans* dalam penelitian ini adalah konsentrasi 100%.

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan dalam penelitian ini adalah eksperimental laboratoris, yaitu penelitian dengan melakukan percobaan (*experiment*) dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh yang timbul sebagai akibat adanya perlakuan terhadap variabel yang diteliti. Penelitian ini diteliti dan dilakukan di laboratorium (Notoatmodjo, 2005:59).

3.2 Rancangan penelitian

Rancangan penelitian ini menggunakan *the post test only control group design* yaitu dilakukan pengamatan dan pengukuran untuk mengetahui perbedaan yang signifikan antara kelompok yang telah diberi perlakuan dan kelompok kontrol (Notoatmodjo, 2005:59).

3.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Bagian Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember dan pembuatan infusa kismis dilakukan di Laboratorium Bioscience Rumah Sakit Gigi dan Mulut Universitas Jember. Penelitian dilakukan pada bulan April - Juni tahun 2015.

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah infusa kismis dengan konsentrasi 100%, 50%, dan 25%.

3.4.2 Variabel terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah pertumbuhan *S. mutans*.

3.4.3 Variabel terkontrol

Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah metode dan cara kerja, jenis kismis yang digunakan, media pertumbuhan bakteri *S. mutans*, suspensi *S. mutans*, waktu inkubasi, dan suhu inkubasi.

3.5 Definisi Operasional

3.5.1 Infusa kismis adalah sediaan yang diperoleh dari proses infusa, yaitu 50 gram kismis *Sun-Maid* yang dipotong halus dan dicampur dengan 50 ml aquades steril, dipanaskan menggunakan *waterbath* pada suhu 90°C selama 15 menit, diaduk, kemudian saring selagi hangat menggunakan kertas saring. Dari proses ini didapatkan konsentrasi 100% infusa kismis. Infusa kismis konsentrasi 100% tersebut kemudian dilakukan pengenceran dengan aquades steril untuk mendapatkan konsentrasi 50% dan 25%.

3.5.2 Daya antibakteri terhadap pertumbuhan *S. mutans* adalah kemampuan infusa kismis dalam menghambat pertumbuhan *S. mutans* yang ditandai dengan terbentuknya daerah bening disekitar lubang sumuran pada media padat yang telah diinokulasikan *S. mutans*. Pengukuran dilakukan dengan mengukur diameter daerah bening menggunakan jangka sorong digital satuan millimeter.

3.6 Sampel Penelitian

Besar sampel yang diperoleh dari rumus Federer (Supranto, 2000:87), yaitu sebesar minimal 5 untuk setiap kelompok penelitian (Lampiran A). Peneliti menggunakan 5 sampel untuk setiap kelompok penelitian, sehingga jumlah keseluruhan sampel penelitian yang digunakan adalah sebanyak 25 sampel.

Sampel dibagi menjadi 5 kelompok penelitian yaitu:

- a. Kelompok kontrol positif *chlorhexidine* 0,2% (K+),
- b. Kelompok kontrol negatif aquades steril (K-),

- c. Kelompok infusa kismis konsentrasi 100% (K100),
- d. Kelompok infusa kismis konsentrasi 50% (K50),
- e. Kelompok infusa kismis konsentrasi 25% (K25).

3.7 Alat dan Bahan Penelitian

3.7.1 Alat Penelitian

- a. Tabung *erlenmeyer* (Pyrex, *Japan*),
- b. *Petridish* tidak bersekat (Pyrex, *Japan*),
- c. Tabung reaksi (Pyrex, *Japan*),
- d. *Beaker glass* (Pyrex, *Japan*),
- e. Botol laboratorium (Schott duran, *Germany*),
- f. Gigaskrin,
- g. Ose,
- h. Bunsen (Pyrex, *Japan*),
- i. *Syringe* (One-Med, Indonesia),
- j. Mikropipet (Eppendorf, *Italy*),
- k. *Disposable tip*,
- l. Corong Bunchner (Herma 75 mm, *Germany*),
- m. Spatula kaca,
- n. Jangka sorong digital (Inoki, *Japan*),
- o. Neraca (Ohaus, 311, Indonesia),
- p. Timbangan digital (Boeco, BBL51, *Germany*)
- q. *Sterile cork borer*,
- r. Spektrofotometer (Milton Roy, Spectronic 20+, *Germany*),
- s. *Laminar flow* (Super Clean Bench, HF-100, Korea),
- t. *Thermolyne* (Maxi Mix II, Dubuque, Iowa, *USA*),
- u. Desikator (Vakumfest-Scott, *Germany*),
- v. Kompor gas (Maspion, Indonesia),
- w. *Autoclave* (Memert, D06059, *Germany*),

- x. Inkubator (Binder, 17053099003100, *Germany*),
- y. *Water bath* (Labtech, Korea),
- z. Kertas saring (Whatman, No. 40, *UK*),
- aa. Pisau
- bb. Spidol (Snowman, *Japan*).

3.7.2 Bahan Penelitian

- a. Bakteri *Streptococcus mutans* (Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember),
- b. California kismis (*Sun-Maid, California*),
- c. *Brain Heart Infusion Agar* (BHI-A) (Merck, *Germany*),
- d. *Brain Heart Infusion Broth* (BHI-B) (Merck, *Germany*),
- e. Aquades steril (Kimia Farma, Indonesia),
- f. Obat kumur *chlorhexidine* 0,2% (Minosep, Indonesia),
- g. Alkohol 70% (Kimia Farma, Indonesia).

3.8 Prosedur Penelitian

3.8.1 Tahap Persiapan

A. Sterilisasi Alat

Seluruh peralatan yang terbuat dari kaca dan logam dicuci bersih dengan air mengalir kemudian disterilkan di dalam *autoclave* selama 15 menit dengan suhu 121°C. Alat yang terbuat dari plastik dicuci bersih, dan dikeringkan kemudian diulas dengan alkohol 70%.

B. Pembuatan Infusa Kismis

Pembuatan infusa kismis berdasarkan pedoman BPOM RI (2010:3) adalah sebagai berikut:

- 1) Kismis dipotong kecil-kecil (Gambar 3.1.1), kemudian ditimbang sebanyak 50 gram menggunakan neraca digital (Gambar 3.1.2).

- 2) 50 gram kismis yang telah dipotong, dimasukkan ke dalam botol laboratorium volume 100 ml (Gambar 3.1.3).
- 3) Tahap selanjutnya tambahkan 50 ml aquades steril ke dalam botol laboratorium yang telah terisi kismis kemudian tutup rapat (Gambar 3.1.4).
- 4) Botol laboratorium yang telah berisi kismis dan aquades steril dimasukkan ke dalam *water bath*, kemudian panaskan hingga suhu 90°C. Saat suhu mencapai 90°C pertahankan infusa selama 15 menit (Gambar 3.1.5).
- 5) Setelah 15 menit hasil infusa kismis diaduk menggunakan spatula kaca (Gambar 3.1.6).
- 6) Saring hasil infusa ke dalam tabung *erlenmeyer* saat larutan dalam keadaan panas menggunakan corong kaca yang telah diberi dengan kertas saring. Setelah itu diamkan hasil infusa kismis hingga temperatur menurun (Gambar 3.1.7).
- 7) Hasil akhir didapatkan infusa kismis konsentrasi 100% sebanyak 25 ml dengan konsistensi cair dan berwarna coklat pekat (Gambar 3.1.8). Hasil infusa kismis dimasukkan ke dalam botol gelap dan ditutup rapat.



Gambar 3.1 Proses pembuatan infusa kismis

C. Mempersiapkan Media Bakteri *Brain Heart Infusion Broth* (BHI-B)

Pembuatan media BHI-B diawali dengan menimbang 3,7gram BHI-B menggunakan neraca dan mengukur aquades steril sebanyak 100 ml menggunakan gelas ukur. Kedua bahan dimasukkan kedalam tabung *erlenmeyer*, diaduk dengan spatula kaca, kemudian dipanaskan diatas kompor hingga mendidih dan homogen. Setelah itu tabung *erlenmeyer* disterilkan menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit (Neogen, 2010:1).

D. Mempersiapkan Suspensi *S. mutans*

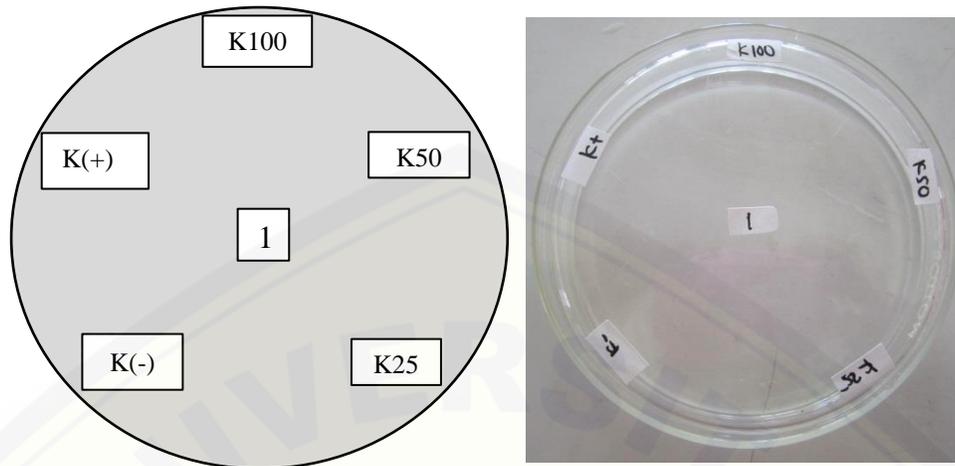
Pembuatan suspensi *S. mutans* yaitu dengan mencampurkan 2 ml larutan BHI-B steril dan 1 ose *S. mutans* yang diambil dari galur murni hasil pembiakan pada *petridish* berisi media agar. Kedua bahan dimasukkan ke dalam tabung reaksi dengan cara didekatkan pada bunsen menyala untuk menghindari kontaminasi. Tabung reaksi ditutup dengan kapas, dimasukkan ke dalam desikator dan diinkubasi menggunakan inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam (Rahim dan Khan, 2006: 118). Pertumbuhan *S. mutans* ditandai dengan kekeruhan pada media. Suspensi *S. mutans* diambil dari inkubator setelah 24 jam, divibrasi hingga homogen menggunakan *thermolyne* dan dilakukan pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometer. Kekeruhan suspensi *S. mutans* disesuaikan dengan larutan standar *Mc Farland* 0,5 (3×10^6 CFU/ml) dan panjang gelombang diatur menjadi 560 nm (Gambar 3.2) (Denyer *et al.*, 2004:197). Pengukuran ini dilakukan untuk menghomogenkan jumlah bakteri yang terambil per millimeter.



Gambar 3.2 Suspensi *S. mutans* dan larutan standar *Mc Farland* 0,5

E. Mempersiapkan *Petridish*

Menyiapkan *petridish* bersih dan steril sebanyak 5 buah di dalam *laminar flow*. Pada bagian bawah masing-masing *petridish* diberi kertas label yang telah ditandai menggunakan spidol. Setiap *petridish* diberi kertas label nomerurut *petridish* 1 sampai 5 dan diberi label keterangan perlakuan yaitu K100 untuk infusa kismis konsentrasi 100%, K50 untuk infusa kismis konsentrasi 50%, K25 untuk infusa kismis konsentrasi 25%, K(+) untuk kontrol positif (*chlorhexidine* 0,2%), dan K(-) untuk kontrol negatif (aquades steril) (Gambar 3.3).



Keterangan:

1 : Nomor urut *petridish*

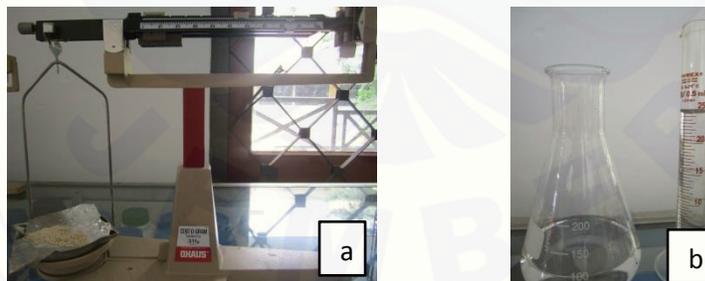
K100 : Kode sumuran

Gambar 3.3 Pemberian label keterangan pada *petridish*

F. Pembuatan Media BHI-A dan Inokulum *S. mutans*

Pembuatan inokulum dilakukan di dalam *laminar flow* dengan teknik *poured plate*.

- 1) Hal pertama yaitu mempersiapkan media BHI-A dengan cara menimbang 6,5 gram bubuk BHI-A menggunakan neraca dan mengukur aquades steril sebanyak 125 ml menggunakan gelas ukur (Gambar 3.4).



Gambar 3.4 Persiapan pembuatan media BHI-A (a) Menimbang bubuk BHI-A, (b) Mengukur aquades steril.

- 2) Bubuk BHI-A dan aquades steril dimasukkan kedalam tabung *erlenmeyer*, diaduk dengan spatula kaca, kemudian dipanaskan diatas kompor hingga mendidih dan homogen (Gambar 3.5).



Gambar 3.5 Media BHI-A dipanaskan

- 3) Tabung *erlenmeyer* ditutup kapas dan disterilkan menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit (Gambar 3.6).



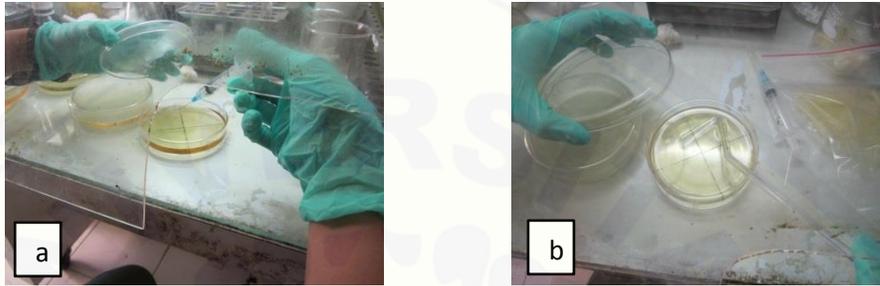
Gambar 3.6 Media BHI-A disterilisasi menggunakan *autoclave*

- 4) Media BHI-A hangat yaitu dengan suhu 40°-50°C dituangkan ke dalam 5 *petridish* steril masing-masing sebanyak 25 ml dengan ketebalan 6 mm (Papagianni *et al.*, 2006: 10) (Gambar 3.7).



Gambar 3.7 Media BHI-A dituangkan ke *petridish*

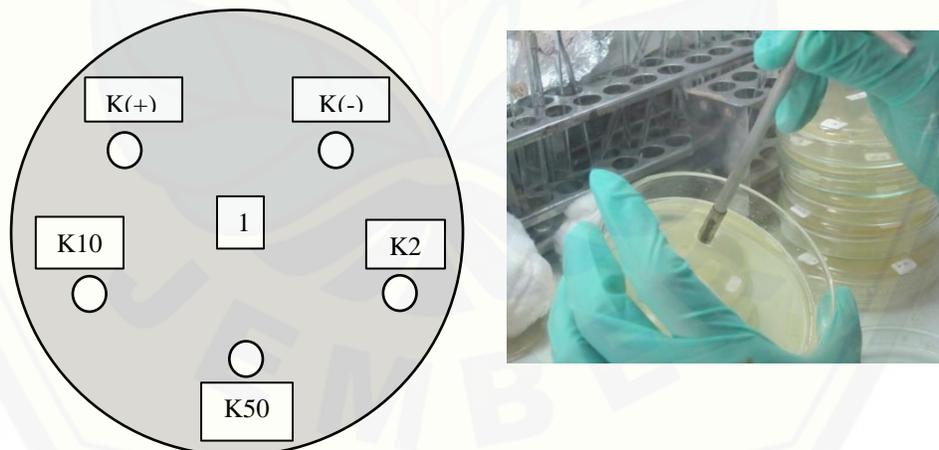
- 5) Langkah selanjutnya inokulasi 0,5 ml suspensi bakteri *S. mutans* menggunakan *syringe* pada *petridish* yang berisi media BHI-A hangat yaitu dengan suhu 40°-50°, kemudian diratakan menggunakan *gigaskrin* dan didiamkan hingga media memadat (Gambar 3.8).



Gambar 3.8 Inokulasi *S. mutans* (a) Inokulasi *S. mutans* pada media BHI-A, (b) Penggunaan *gigaskrin*

G. Pembuatan Sumuran pada Media

Sumuran dibuat menggunakan *sterile cork borer* diameter 5 mm pada media BHI-A padat yang telah diinokulasi *S. mutans* (Gambar 3.9).



Gambar 3.9 Pembuatan sumuran pada media BHI-A yang telah padat

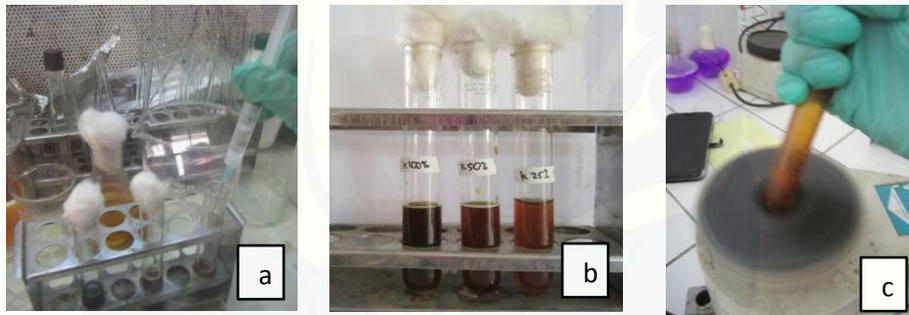
H. Pembuatan Konsentrasi Infusa Kismis

Konsentrasi infusa kismis yang digunakan adalah 25%, 50%, dan 100%. Pengenceran dilakukan di dalam *laminar flow* menggunakan *syringe*. Hasil

pengenceran infusa kismis dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian dihomogenkan menggunakan *thermolyne* (Gambar 3.10).

Pengenceran infusa kismis berdasarkan rumus pengenceran $M1 \times V1 = M2 \times V2$ (Gunawan dan Roeswati, 2004:23) (Lampiran B) adalah sebagai berikut :

- 1) Konsentrasi 100% diambil dari infusa kismis langsung sebanyak 4 ml
- 2) Konsentrasi 50% infusa kismis sebanyak 4 ml diperoleh dari 2 ml infusa kismis 100% ditambah dengan aquades steril sebanyak 2 ml lalu dihomogenkan menggunakan *thermolyne*.
- 3) Konsentrasi 25% infusa kismis sebanyak 4 ml diperoleh dari 1 ml infusa kismis 100% ditambah dengan aquades steril sebanyak 3 ml lalu dihomogenkan menggunakan *thermolyne*.



Gambar 3.10 Pembuatan konsentrasi infusa kismis (a) Pengenceran menggunakan *syringe*, (b) Hasil pengenceran infusa kismis, (c) Infusa kismis dihomogenkan menggunakan *thermolyne*,

3.8.2 Tahap Perlakuan

Semua perlakuan dilakukan di dalam *laminar flow* untuk mencegah kontaminasi dengan lingkungan luar. Penelitian uji daya antibakteri ini menggunakan metode difusi sumuran (*well diffusion method*).

- a. Hal pertama yang dilakukan adalah menyiapkan 5 buah *petridish* berisi media BHI-A yang telah diinokulasikan *S. mutans* dan telah dibuat lubang sumuran menggunakan *sterile cork borer*.
- b. Dilanjutkan dengan pemberian infusa kismis konsentrasi 25%, 50%, 100%, kontrol positif, dan kontrol negatif pada masing-masing sumuran (Gambar 3.11).

- 1) Sumuran dengan keterangan label K100 diisi dengan infusa kismis konsentrasi 100% sebanyak 10 μ l menggunakan mikropipet tip 1 (Sudha *et al.*, 2013: 394). Hal yang sama dilakukan pada *petridish* nomor 2 hingga nomor 5 menggunakan tip 1.
- 2) Sumuran dengan keterangan label K50 diisi dengan infusa kismis konsentrasi 50% sebanyak 10 μ l menggunakan mikropipet tip 2. Hal yang sama dilakukan pada *petridish* nomor 2 hingga nomor 5 menggunakan tip 2.
- 3) Sumuran dengan keterangan label K25 diisi dengan infusa kismis konsentrasi 25% sebanyak 10 μ l menggunakan mikropipet tip 3. Hal yang sama dilakukan pada *petridish* nomor 2 hingga nomor 5 menggunakan tip 3.
- 4) Sumuran dengan keterangan label K+ diisi dengan *chlorhexidine* sebanyak 10 μ l menggunakan mikropipet tip 4. Hal yang sama dilakukan pada *petridish* nomor 2 hingga nomor 5 menggunakan tip 4.
- 5) Sumuran dengan keterangan label K- diisi dengan aquades steril sebanyak 10 μ l menggunakan mikropipet tip 5. Hal yang sama dilakukan pada *petridish* nomor 2 hingga nomor 5 menggunakan tip 5.

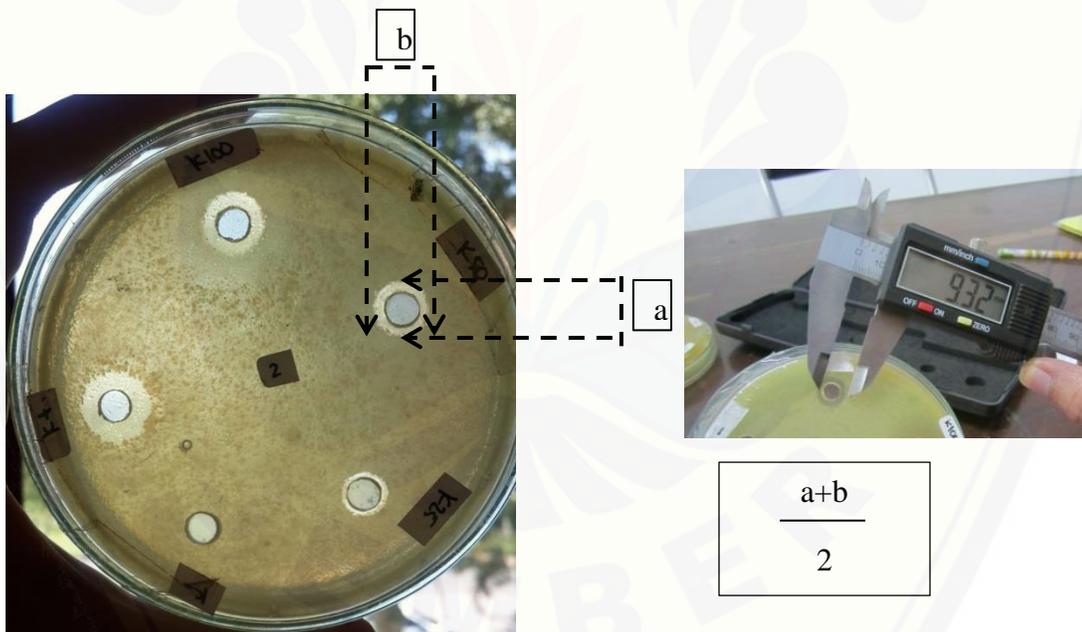


Gambar 3.11 Pemberian infusa kismis, kontrol positif, dan kontrol negatif

- c. Setelah diberi perlakuan, seluruh *petridish* dimasukkan ke dalam desikator untuk mendapatkan suasana fakultatif anaerob. *Petridish* ditaruh dalam keadaan terbalik untuk mencegah terjadinya tetesan air pada permukaan media agar dari hasil kondensasi uap air. *Petridish* di inkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 18 - 24 jam.

3.8.3 Tahap Pengukuran Diameter Zona Hambat

Petridish dikeluarkan dari inkubator kemudian dilakukan pengamatan dan pengukuran dengan cara membalik *petridish*. Pengukuran diameter zona hambat menggunakan jangka sorong digital dengan ketelitian 0,01 mm. Pengukuran diameter zona hambat dilakukan pada daerah bening yang mengelilingi lubang sumuran, apabila terdapat diameter zona hambat yang pendek (a mm) dan panjang (b mm) maka keduanya dijumlah kemudian dibagi dua. Setelah diperoleh diameter zona hambat, kemudian dikurangi diameter sumuran sebesar 5 mm. Cara pengukuran dapat dilihat pada Gambar 3.12. Pengukuran dilakukan sebanyak 3 kali oleh 3 orang pengamat yang berbeda yang telah dilakukan persamaan persepsi dan hasil pengukuran diambil rata-rata (Gomes *et al.*, 2002:759).



Gambar 3.12 Pengukuran zona hambat

Keterangan :

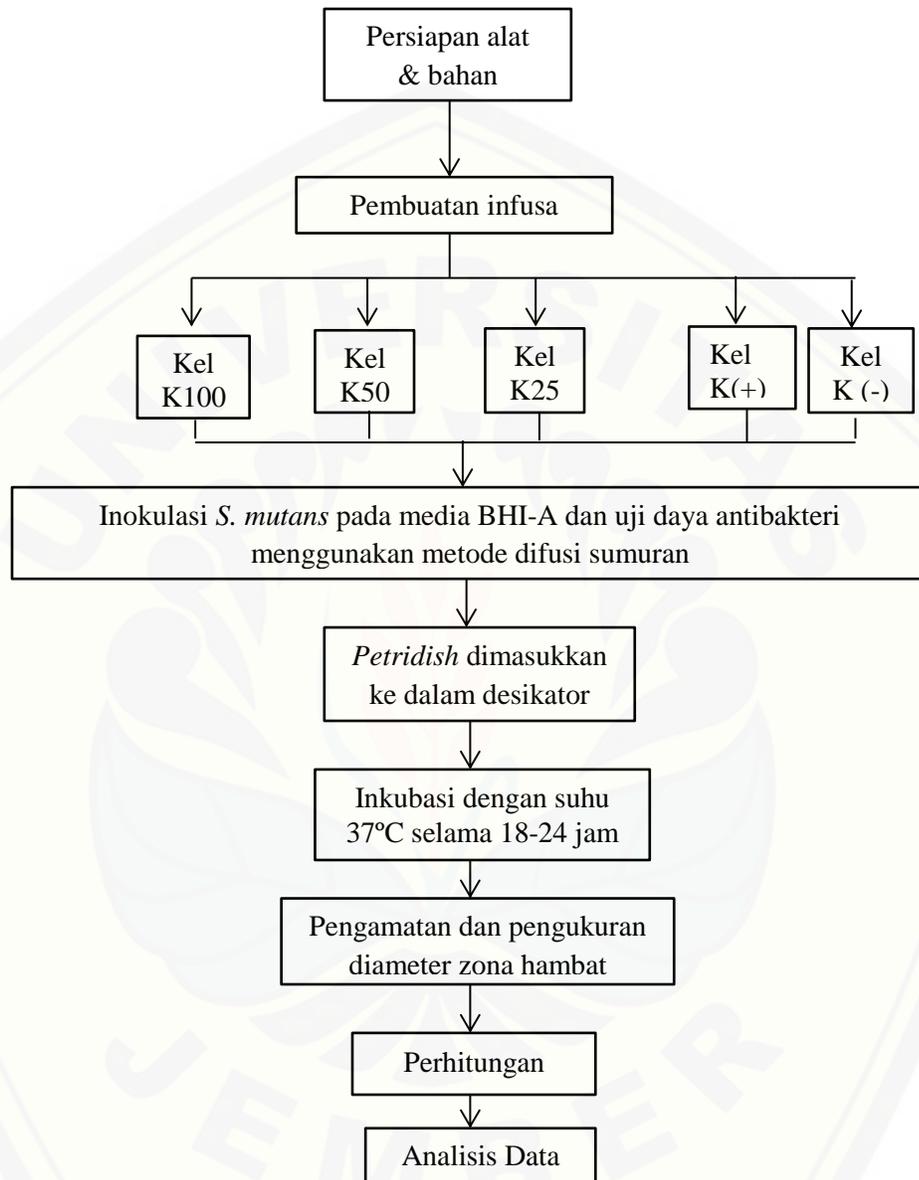
- a = diameter zona hambat yang pendek;
- b = diameter zona hambat yang panjang;
- = *Paper disk*;
- = zona hambat.

3.9 Analisis Data

Data hasil penelitian dianalisis menggunakan uji *Shapiro-Wilk* untuk mengetahui normalitas data dan uji *Levene* untuk mengetahui homogenitas data. Data yang diperoleh kemudian diuji dengan uji statistik non parametrik *Kruskal-Wallis* untuk mengetahui adanya perbedaan antar kelompok dan dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui besarnya perbedaan antara masing-masing kelompok.



3.10 Alur penelitian



Keterangan :

K100 : Infusa kismis konsentrasi 100%;

K50 : Infusa kismis konsentrasi 50%;

K25 : Infusa kismis konsentrasi 25%;

K(+) : Kontrol positif (*Chlorhexidine* 0,2%);

K(-) : Kontrol negatif (Aquadess steril)