



POTENSI EKSTRAK BUAH DELIMA MERAH (*Punica granatum Linn*) TERHADAP PENURUNAN JUMLAH KOLONI BAKTERI *Streptococcus mutans*

SKRIPSI

Oleh

Kholisa
NIM 141610101054

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2018



POTENSI EKSTRAK BUAH DELIMA MERAH (*Punica granatum Linn*) TERHADAP PENURUNAN JUMLAH KOLONI BAKTERI *Streptococcus mutans*

SKRIPSI

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

Oleh

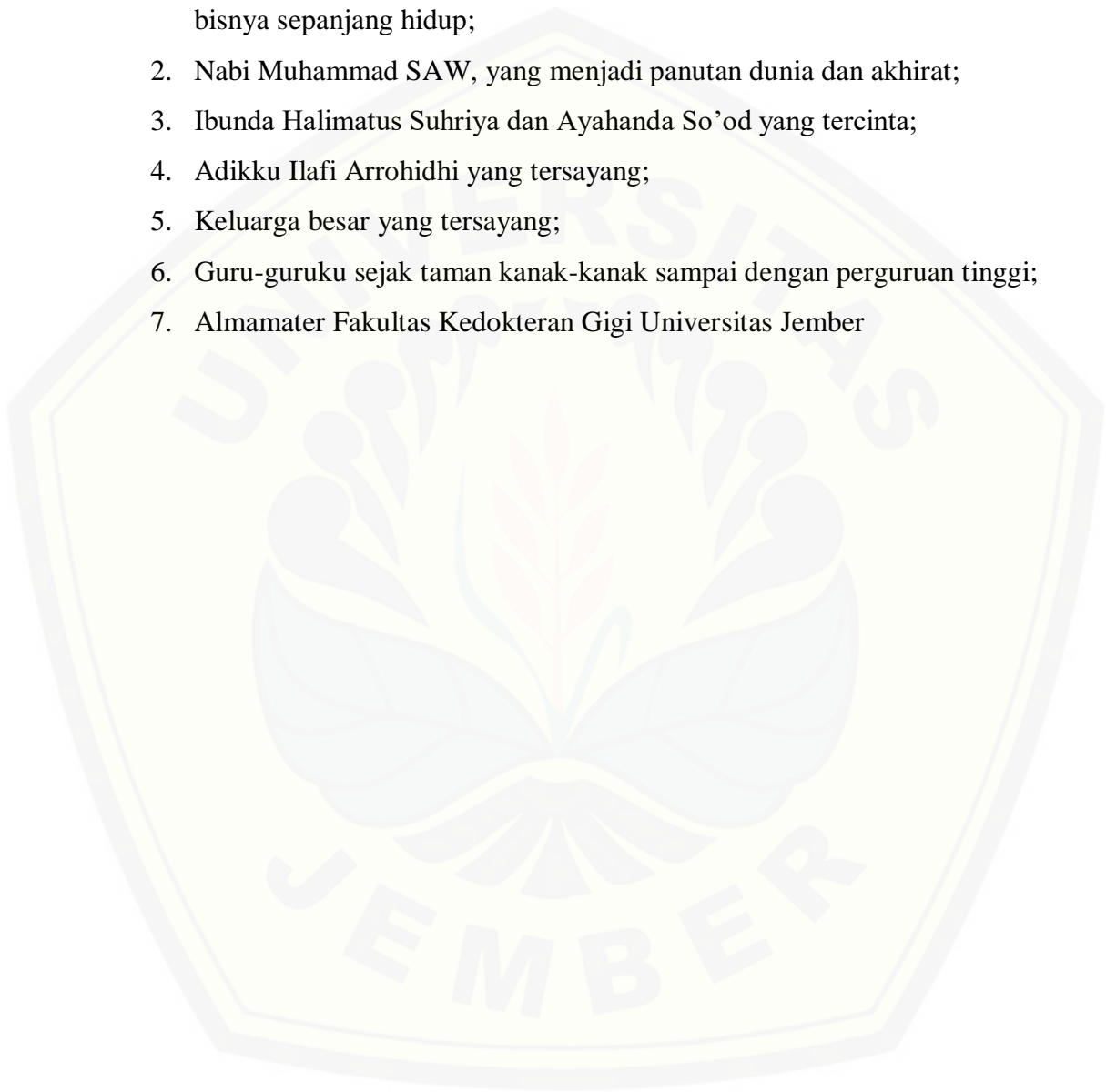
Kholisa
NIM 141610101054

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2018

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT atas kemudahan, rahmat, dan berkah yang senantiasa tiada habisnya sepanjang hidup;
2. Nabi Muhammad SAW, yang menjadi panutan dunia dan akhirat;
3. Ibunda Halimatus Suhriya dan Ayahanda So'od yang tercinta;
4. Adikku Ilafi Arrohidhi yang tersayang;
5. Keluarga besar yang tersayang;
6. Guru-guruku sejak taman kanak-kanak sampai dengan perguruan tinggi;
7. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember



MOTTO

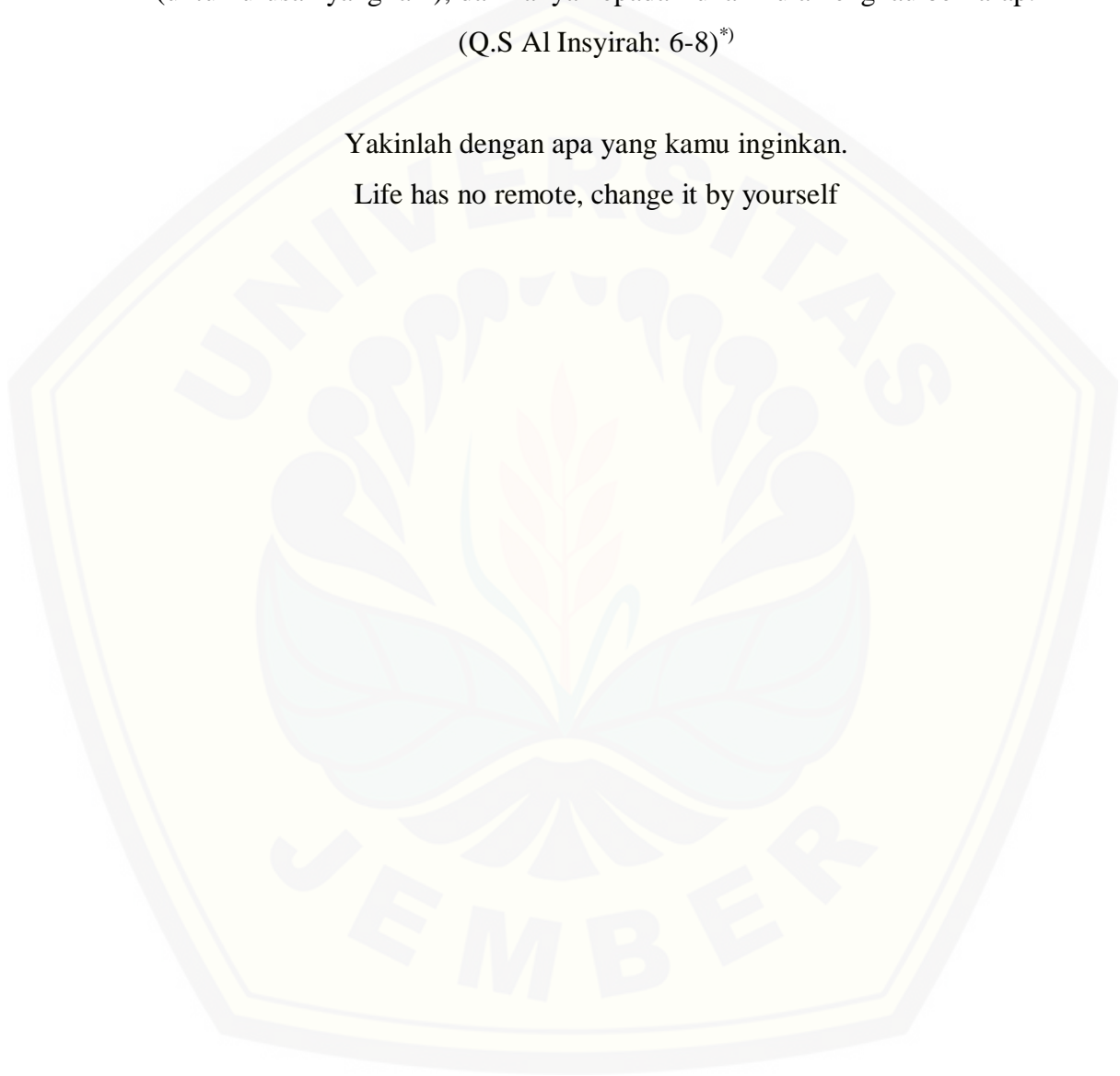
Sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan.

Maka apabila engkau telah selesai (dari suatu urusan), tetaplah bekerja keras (untuk urusan yang lain), dan hanya kepada Tuhanmulah engkau berharap.

(Q.S Al Insyirah: 6-8)^{*)}

Yakinlah dengan apa yang kamu inginkan.

Life has no remote, change it by yourself



^{*)} Departemen Agama Republik Indonesia. 2005. *Al-Qur'an dan Terjemahannya*. Bandung: PT. Syaamil Cipta Media

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Kholisa

NIM : 141610101054

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul "Potensi Ekstrak Buah Delima Merah (*Punica granatum Linn*) terhadap Penurunan Jumlah Koloni Bakteri *Streptococcus mutans*" adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, 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.

Jember, 15 Maret 2018

Yang menyatakan,

Kholisa

NIM 141610101054

SKRIPSI

**POTENSI EKSTRAK BUAH DELIMA MERAH (*Punica granatum Linn*)
TERHADAP PENURUNAN JUMLAH KOLONI
BAKTERI *Streptococcus mutans***

Oleh

Kholisa

141610101054

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS EMBER
2018**

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama : Dr. drg. Purwanto, M.Kes.

Dosen Pembimbing Pendamping : Dr. drg. Sri Hernawati, M.Kes.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Potensi Ekstrak Buah Delima Merah (*Punica granatum Linn*) terhadap Penurunan Jumlah Koloni Bakteri *Streptococcus mutans*” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada:

hari, tanggal : Kamis, 15 Maret 2018

tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Penguji Ketua,

Penguji Anggota,

drg. Izzata Barid, M.Kes.
NIP. 196805171997022001

drg. Pujiana Endah Lestari, M.Kes.
NIP. 197608092005012002

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping

Dr. drg. Purwanto, M.Kes.
NIP. 195710241986031002

Dr. drg. Sri Hernawati, M.Kes.
NIP. 197007052003122001

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Jember,

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

RINGKASAN

Potensi Ekstrak Buah Delima Merah (*Punica granatum Linn*) terhadap Penurunan Jumlah Koloni Bakteri *Streptococcus mutans*; Kholisa, 141610101054; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Streptococcus mutans merupakan suatu bakteri yang memulai terjadinya pembentukan plak pada permukaan gigi. *S. mutans* bekerja dengan cara memfermentasikan karbohidrat untuk menghasilkan suasana asam sehingga pH plak jadi rendah, keadaan ini dapat menyebabkan terjadinya demineralisasi mineral email dan dentin yang diikuti oleh disintegrasi bagian organiknya yang biasa disebut dengan karies. Proses karies hanya akan terjadi jika terdapat empat hal utama yang berpengaruh yaitu permukaan gigi (*host*), karbohidrat, waktu dan bakteri kariogenik. Terdapat berbagai cara untuk menghambat pertumbuhan *S. mutans*, salah satunya dengan cara memanfaatkan tanaman obat yang memiliki efek samping minimal. Salah satu tanaman tersebut adalah buah delima merah (*Punica granatum L.*). Delima merah mengandung *polifenol* (*flavonoid, antosianin, tannin*) dan *alkaloid* yang diduga berfungsi sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya daya hambat ekstrak buah delima merah terhadap pertumbuhan *S. mutans*.

Penelitian ini merupakan jenis penelitian *experimental laboratories* dengan rancangan penelitian *the post-test only control group design*. Pembuatan ekstrak buah delima merah dengan cara sebagai berikut: kulit dan daging buah delima merah dipisahkan, kulit buah delima merah dioven selama 3 hari dan daging buah dioven selama 6 hari. Setelah itu digiling sampai halus kemudian diayak. Serbuk yang diperoleh ditimbang sesuai kebutuhan masukkan ke dalam toples, dicampur dengan etanol dan diaduk sampai homogen. Selanjutnya dilakukan maserasi 3 kali 24 jam kemudian disaring dengan kertas saring menggunakan corong *buncher*. Filtrat hasil saringan diuapkan dengan *rotary evaporator* selama 8 jam sampai diperoleh ekstrak buah delima merah murni. Kemudian ekstrak murni tersebut diencerkan menggunakan pelarut aquades steril sampai didapatkan konsentrasi 25%, 50%, dan 75%. Sampel berjumlah 4 untuk setiap kelompok penelitian.

Terdapat 6 kelompok penelitian, yaitu ekstrak buah delima merah konsentrasi 100%, 75%, 50%, 25%, *chlorhexidine* 0,2% (kontrol positif), dan aquades steril (kontrol negatif). Masing-masing kelompok diberi suspensi *S. mutans*. Semua *petridish* dimasukkan ke dalam desikator dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, kemudian dilakukan penghitungan jumlah koloni bakteri *S. mutans* dengan menggunakan alat *colony counter*.

Hasil penelitian menunjukkan semakin besar konsentrasi ekstrak buah delima merah semakin menurun jumlah koloni *S. mutans* dan semakin kecil konsentrasi ekstrak buah delima merah semakin meningkat jumlah koloni *S. mutans*. Kontrol positif memiliki kemampuan yang lebih besar dibandingkan dengan ekstrak buah delima merah konsentrasi 100% dalam menghambat pertumbuhan *S. mutans*.

Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak buah delima merah (*Punica granatum L.*) memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan *S. mutans*. konsentrasi ekstrak buah delima merah yang memiliki daya hambat terbesar terhadap pertumbuhan *S. mutans*, yaitu konsentrasi 100%.

PRAKATA

Puji syukur Alhamdulillah kehadirat Allah SWT karena atas rahmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul "Potensi Ekstrak Buah Delima Merah (*Punica granatum Linn*) terhadap Penurunan Jumlah Koloni Bakteri *Streptococcus mutans* " sebagai persyaratan menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

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

1. Orang tua tercinta, Ibu Halimatus Suhriya dan Bapak So'od yang tidak pernah berhenti memberikan saya kasih sayang, doa, motivasi, dukungan, dan semangat;
2. Adik tersayang, Ilafi Arrohidhi yang dengan tulus memberikan semangat, hiburan, dan doa dalam setiap langkah kakaknya;
3. drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes, Sp.Pros., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
4. Dr. drg. IDA Susilawati, M.Kes., selaku Wakil Dekan I Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
5. Dr. drg. Purwanto, M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah meluangkan waktu dalam memberikan bimbingan sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
6. Dr. drg. Sri Hernawati, M.Kes., selaku Wakil Dekan II sekaligus Dosen Pembimbing Pendamping yang telah meluangkan waktu untuk membimbing, memberikan saran dan mendorong saya supaya penelitian cepat selesai;
7. drg. Izzata Barid, M. Kes., selaku Wakil Dekan III sekaligus Dosen Penguji Ketua yang sudah meluangkan waktu untuk mengkritik, membaca dan memberikan bimbingan demi kesempurnaan skripsi ini;
8. drg. Pujiana Endah Lestari, M.Kes., selaku Dosen Penguji Anggota yang sudah meluangkan waktu untuk mengkritik, dan memberikan bimbingan mengenai penelitian yang saya lakukan;

9. drg. Nuzulul Hikmah, M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan bimbingan dan motivasi dalam perjalanan studi selama penulis menjadi mahasiswa;
10. Staf Laboratorium Bioscience Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
11. Staf Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember;
12. Staf Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi, Pasuruan;
13. Teman-teman kos dan juga sahabat tersayang Lintang, Wiwik, Najla, Septi, Irsa, Narita, Prisca, Dina yang selalu memberikan dukungan semangat dalam mengerjakan skripsi ini;
14. Teman-teman seperjuangan skripsi Erlita dan Dhila, terimakasih atas dukungan dan kerjasamanya;
15. Keluarga LISMA Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember yang telah memberikan semangat dan dukungannya;
16. Seluruh teman-teman FKG 2014 (LECI). Terimakasih atas motivasi, kerja sama, persaudaraan, dan kekompakannya selama ini;
17. Teman-teman KKN REGULER 84 yang selalu mendukung dan memberi saya semangat dalam pengerjaan skripsi ini;
18. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu per satu.

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

Jember, 15 Maret 2018

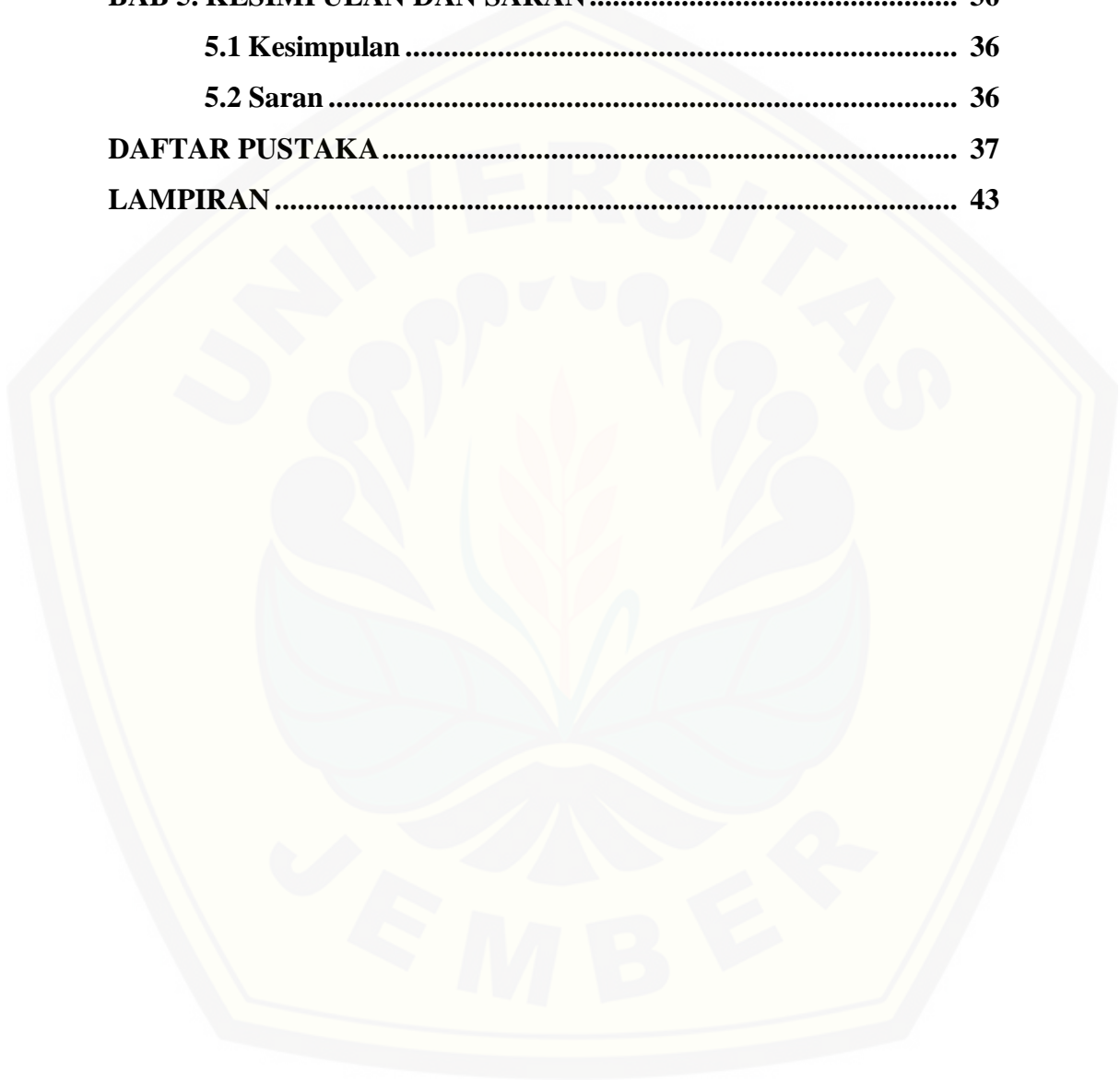
Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	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	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Tanaman Delima	5
2.1.1 Karakteristik Delima Merah	5
2.1.2 Klasifikasi Ilmiah Buah Delima Merah	6
2.1.3 Kandungan Buah Delima Merah	7
2.1.4 Manfaat Buah Delima Merah	9
2.2 Obat Kumur	9
2.3 Karies	10
2.3.1 Definisi Karies	10
2.3.2 Epidemiologi Karies	11
2.3.3 Etiologi Karies	11

2.3.4 Patogenesis Karies	13
2.4 Streptococcus mutans	14
2.4.1 Klasifikasi <i>S. mutans</i>	14
2.4.2 Morfologi <i>S. mutans</i>	14
2.4.3 Sifat <i>S. mutans</i>	15
2.5 Kerangka Konsep	18
2.6 Penjelasan Kerangka Konsep	19
2.7 Hipotesis	19
BAB 3. METODE PENELITIAN	20
3.1 Jenis Penelitian	20
3.2 Tempat Penelitian	20
3.3 Waktu Penelitian	20
3.4 Identifikasi Variabel	20
3.4.2 Variabel Terikat	20
3.4.3 Variabel Kendali/Terkendali	20
3.5 Definisi Operasional	20
3.5.1 Ekstrak Buah Delima Merah	20
3.5.2 <i>Streptococcus mutans</i>	21
3.5.3 Daya Hambat	21
3.6 Sampel Penelitian	21
3.6.1 Besar Sampel Penelitian	21
3.6.2 Pembagian Kelompok Sampel	22
3.6.3 Kriteria Sampel Penelitian	22
3.7 Alat dan Bahan	22
3.7.1 Alat	22
3.7.2 Bahan	23
3.8 Prosedur Penelitian	23
3.8.1 Tahap Persiapan	23
3.8.2 Tahap Perlakuan	27
3.8.3 Tahap Pengamatan	28
3.9 Analisis Data	28

3.10 Alur Penelitian	29
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	30
4.1 Hasil	30
4.2 Pembahasan	33
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	36
5.1 Kesimpulan	36
5.2 Saran	36
DAFTAR PUSTAKA.....	37
LAMPIRAN.....	43



DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 4.1 Nilai rata-rata jumlah koloni <i>S. mutans</i> dan standar deviasi pada seluruh kelompok	31



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Buah delima merah.....	6
Gambar 2.2 Empat lingkaran faktor penyebab karies	11
Gambar 2.3 Morfologi <i>S. mutans</i> dilihat dengan mikroskop cahaya perbesaran 1000 X.....	15
Gambar 2.4 Mekanisme pertahanan TCS <i>S. mutans</i> terhadap <i>human</i> <i>antimicrobial agent</i>	16
Gambar 2.5 Mekanisme pertahanan TCS <i>S. mutans</i> terhadap <i>Bacteriocin</i>	17
Gambar 2.6 Kerangka konsep.....	18
Gambar 3.1 Diagram alur penelitian	29
Gambar 4.1 Hasil penelitian	30

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Surat Ijin Melaksanakan Penelitian.....	43
B. Surat Ijin Peminjaman Alat <i>Colony Counter</i>	44
C. Surat Keterangan Identifikasi Bakteri <i>Streptococcus mutans</i>	45
D. Surat Keterangan Identifikasi Buah Delima Merah	46
E. Surat Izin Pembelian Media MHA.....	47
F. Foto Hasil Identifikasi Bakteri <i>Streptococcus mutans</i>	48
G. Alat Penelitian.....	49
H. Bahan Penelitian.....	50
I. Penghitungan Pengenceran Ekstrak Buah Delima Merah.....	52
J. Penghitungan Pembuatan Ekstrak Buah Delima Merah	53
K. Penghitungan Rendemen Ekstrak Buah Delima Merah	54
L. Dokumentasi Penelitian	55
M. Hasil Penghitungan Koloni dari Ekstrak Buah Delima Merah terhadap Pertumbuhan <i>Streptococcus mutans</i>	58
N. Foto Hasil Penelitian	59
O. Hasil Uji Statistik	60
O.1 Hasil Uji Normalitas Data (<i>Shapiro-Wilk</i>).....	60
O.2 Hasil Uji Homogenitas Data (<i>Levene-Test</i>)	60
O.3 Hasil Uji Beda (<i>Kruskal-Wallis Test</i>).....	60
O.4 Hasil Uji Beda Antar Kelompok Perlakuan (<i>Mann-Whitney Test</i>)	61

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Karies gigi merupakan masalah kesehatan gigi dan mulut yang masih perlu mendapat perhatian besar di Indonesia. Hasil Rikesdas tahun 2007 menunjukkan bahwa prevalensi karies di Indonesia masih tinggi. Prevalensi karies aktif di Indonesia adalah 43,4% dengan indeks *Decay Missing Filled-Teeth* (DMF-T) secara nasional sebesar 4,85. Hal ini berarti rata-rata kerusakan gigi penduduk Indonesia adalah 5 buah gigi per orang. Hasil Survey Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) tahun 2009 juga menunjukkan peningkatan, dimana penduduk Indonesia yang menderita karies gigi sebesar 73%. Prevalensi karies yang tinggi di Indonesia mendorong suatu tindakan pencegahan yang merupakan upaya utama dalam menekan angka prevalensi terjadinya karies gigi (Bidarisugma dkk., 2012).

Proses karies akan terjadi jika terdapat empat hal utama yang berpengaruh yaitu permukaan gigi, karbohidrat, waktu dan bakteri kariogenik (bakteri dominan penyebab karies) (Pintauli dan Hamada, 2010). *Streptococcus mutans* merupakan bakteri yang memulai terjadinya pembentukan plak pada permukaan gigi (Arezoo 2010). Dari beberapa penelitian terhadap bakteri yang terdapat pada plak gigi, ternyata hanya *S. mutans* saja yang mempunyai korelasi positif dengan adanya karies pada permukaan gigi (Nugraha, 2008). Keadaan ini disebabkan karena kemampuan spesifik yang dimiliki oleh bakteri *S. mutans* menggunakan sukrosa untuk menghasilkan suatu produk ekstraseluler yang lengket disebut *dextran*, sedangkan untuk menghasilkan asam laktat, *S. mutans* bersama-sama dengan *Streptococcus sobrinus* dan *Lactobacillus*, memainkan peran yang sangat penting melalui enzim glukosiltransferase yang dihasilkan oleh bakteri-bakteri tersebut. Asam yang dihasilkan melalui pemecahan substrat yang terjadi secara terus menerus, akan merubah lingkungan rongga mulut menjadi lebih asam (pH 5,2 – 5,5), sehingga dapat menyebabkan email dan dentin mengalami demineralisasi. Demineralisasi ini akan berlanjut menjadi karies (Brooks dkk., 2007).

Karies dapat dicegah dengan berbagai cara, salah satunya dengan kontrol plak. Kontrol plak dapat dilakukan secara mekanis dengan penyikatan gigi dan penggunaan alat-alat bantu lain seperti *dental floss*, serta secara kimiawi yaitu dengan menggunakan senyawa-senyawa antibakteri (Putri dkk., 2010). Sesuai dengan teori yang dikemukakan oleh Pintauli dan Hamada (2010) bahwa kontrol plak secara mekanis yang berupa penyikatan gigi dan *flossing* harus disertai dengan upaya tambahan seperti penggunaan obat kumur untuk memberikan efektivitas pembersihan rongga mulut. Secara umum obat kumur merupakan larutan atau cairan yang digunakan untuk membilas rongga mulut dengan tujuan untuk membersihkan sisa makanan yang dapat menyebabkan plak yang tidak terjangkau ketika menyikat gigi, menghilangkan bau tak sedap, mempunyai efek terapi serta dapat mencegah karies gigi (Khoiriah 2012).

Salah satu bahan antibakteri yang terkandung dalam obat kumur adalah klorheksidin. Klorheksidin merupakan salah satu golongan bisguanida yang dikenal sebagai obat kumur antibakteri paling efektif saat ini (Batista dkk., 2014). Obat kumur ini bersifat antimikroba dengan spektrum luas yang efektif terhadap bakteri Gram positif maupun Gram negatif dan lebih efektif terhadap bakteri Gram positif (Tarigan, 2012). Penggunaan klorheksidin dalam jangka waktu yang lama dapat menimbulkan beberapa efek samping yang merugikan yaitu menimbulkan pewarnaan pada gigi, restorasi ataupun pada lidah, juga dapat mengganggu rasa kecap setelah pemakaian meskipun tidak bersifat permanen (Peterson, 2011). Hal tersebut juga didukung oleh hasil penelitian Charles (2004) yang menyebutkan bahwa setelah digunakan klorheksidin 3-6 bulan maka akan lebih banyak dijumpai stein ekstrinsik. Menurut Nuniek dkk. (2012), penggunaan obat kumur yang terus menerus dapat mengganggu keseimbangan flora normal dalam rongga mulut. Oleh karena itu diperlukan obat kumur dengan bahan dasar dari alam yang diyakini mempunyai khasiat antibakteri dengan efek samping minimal.

Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai alternatif untuk mengurangi penggunaan bahan kimia adalah buah delima merah (*Punica granatum Linn*). Potensi buah delima merah sebagai pengobatan dan pencegahan penyakit sangat luas dan sudah dikenal sejak zaman dahulu, di antaranya untuk terapi pencegahan

kanker, penyakit kardiovaskuler, penyakit gigi dan mulut, dan proteksi terhadap radiasi sinar UV. Delima merah mengandung *polifenol* (*flavonoid*, *antosianin* dan *tannin*) dan *alkaloid* yang diduga berfungsi sebagai antibakteri (Jurenka, 2008). Kandungan *flavonoid* pada buah delima merah mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan menghambat proses sintesis protein pada tahap transkripsi maupun translasi. *Quercetin* (salah satu *flavonoid* pada buah delima merah) membunuh bakteri dengan cara meningkatkan permeabilitas dari membran di dalam bakteri dan merusak potensial membran. Kandungan polifenol pada delima merah dapat berperan sebagai antibakteri dengan cara mendenaturasi enzim. Polifenol dapat terserap dinding sel sehingga menyebabkan gangguan pada struktur dan fungsi membran sel (Parseh dkk., 2012).

Saat ini telah banyak penelitian mengenai manfaat buah delima merah untuk kesehatan terutama kesehatan gigi serta rongga mulut. Pada penelitian yang telah dilakukan oleh Pristyhari (2017) dan Susetyo (2017) mengenai daya hambat ekstrak buah delima merah terhadap perumbuhan *Fusobacterium nucleatum* dan *Porphyromonas gingivalis* yang dilakukan pada konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25% menunjukkan bahwa besarnya daya hambat pada kedua bakteri tersebut tidaklah sama, pada bakteri *F. nucleatum* dengan konsentrasi 100% menghasilkan diameter zona hambat sebesar 16,46 mm sedangkan pada bakteri *P. gingivalis* dengan konsentrasi 100% menghasilkan diameter zona hambat 19,10 mm. Berdasarkan latar belakang tersebut penulis bermaksud melakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui bagaimana daya hambat ekstrak buah delima merah konsentrasi 100%, 75%, 50%, 25% terhadap pertumbuhan *S. mutans* dengan menggunakan metode hitung koloni bakteri.

1.2 Rumusan Masalah

- 1.2.1 Apakah ekstrak buah delima merah memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *S. mutans*?
- 1.2.2 Pada konsentrasi berapakah ekstrak buah delima merah yang dapat menyebabkan pertumbuhan koloni bakteri *S. mutans* terkecil ?

1.3 Tujuan Penelitian

- 1.3.1 Mengetahui daya hambat ekstrak buah delima merah terhadap pertumbuhan *S. mutans*.
- 1.3.2 Mengetahui konsentrasi ekstrak buah delima merah yang dapat menyebabkan pertumbuhan koloni bakteri *S. mutans* terkecil.

1.4 Manfaat Penelitian

- 1.4.1 Dapat menambah informasi dan literatur mengenai keilmuan mikrobiologi di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember dengan mempublikasikan penelitian ini.
- 1.4.2 Dapat memberikan informasi mengenai daya hambat ekstrak buah delima merah (*Punica granatum L.*) terhadap pertumbuhan *S. mutans*.
- 1.4.3 Dapat dijadikan sebagai data dan informasi untuk melakukan penelitian lanjut tentang daya hambat ekstrak buah delima merah (*Punica granatum L.*) terhadap pertumbuhan *S. mutans*.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Delima

2.1.1 Karakteristik Delima Merah (*Punica Granatum Linn*)

Secara morfologi, tumbuhan buah delima merah merupakan tanaman semak atau perdu meranggas yang dapat tumbuh tinggi mencapai 5-8 meter. Tanaman ini berasal dari Persia dan daerah Himalaya yang terletak di selatan India. Tanaman buah delima tersebar mulai dari daerah subtropik hingga tropik, dari dataran rendah hingga ketinggian di bawah 1000 mdpl. Tanaman ini sangat cocok untuk ditanam di tanah yang gembur dan tidak terendam oleh air (Madhawati, 2012).

Tanaman delima merupakan tanaman tahunan yang mempunyai sistem akar tunggang dan sistem perakaran yang cukup dalam. Batang tanaman berkayu keras, tegak lurus, dan dapat tumbuh setinggi 2m - 4m atau lebih. Tanaman delima ini memiliki banyak percabangan dan ditumbuhi duri-duri yang besar. Tanaman delima dapat berbunga dan berbuah sepanjang tahun. Bunga delima berwarna putih, merah, dan oranye tergantung jenisnya (Rukmana, 2003). Saat masih muda, warnanya coklat, dan berubah menjadi hijau kotor setelah tua. Daunnya tunggal dengan tangkai yang pendek dan letaknya berkelompok. Daun delima memiliki bentuk yang lonjong dengan pangkal yang lancip, ujung tumpul, tepi rata, pertulangan menyirip, dan permukaan mengkilap. Panjang daun bisa mencapai 1-9 cm dengan lebar 0,5-2,5 cm (Savitri, 2008).

Menurut Primarizky dkk. (2016), delima merah memiliki kulit buah yang tebal dan warnanya beragam seperti hijau keunguan, putih, coklat kemerahan atau ungu kehitaman. Buahnya berbentuk bulat dengan diameter 5-12 cm, beratnya kurang lebih 100-300 gram, terdiri dari biji-biji kecil, tersusun tidak beraturan, berwarna putih sampai kemerahan.

2.1.2 Klasifikasi Ilmiah Buah Delima Merah (*Punica granatum L.*)

Adapun klasifikasi ilmiah buah delima (*Punica granatum L.*) adalah sebagai berikut: (Primarizky, 2016)

<i>Kingdom</i>	: <i>Plantae</i>
<i>Divisio</i>	: <i>Magnoliophyta</i>
<i>Class</i>	: <i>Magnoliopsida</i>
<i>Subclass</i>	: <i>Rosidae</i>
<i>Ordo</i>	: <i>Myrtales</i>
<i>Family</i>	: <i>Punicaceae</i>
<i>Genus</i>	: <i>Punica</i>
<i>Species</i>	: <i>Punica granatum L.</i>

Di Indonesia, buah delima dikelompokkan sesuai dengan warnanya, yaitu delima merah, putih dan ungu. Di antara ketiganya, buah delima merah adalah yang paling terkenal dan mudah ditemui. Buahnya berbentuk bulat dengan diameter 5-12 cm. Terdapat bercak-bercak yang agak menonjol dan berwarna lebih tua pada buah tersebut (Gambar 2.1). Buah ini dikenali dengan adanya *calyx* atau mahkota yang menjadi ciri khasnya (Madhawati, 2012).



Gambar 2.1 Buah delima merah terdiri dari kulit, daging, dan biji (Hiwale, 2009)

2.1.3 Kandungan Buah Delima Merah (*Punica granatum L.*)

Delima merah terkenal memiliki banyak kandungan zat aktif pada beberapa bagian tanamannya, antara lain pada bagian akar, buah, bunga, kulit batang dan kulit buahnya. Bagian-bagian tersebut memiliki kandungan kimia yang berbeda-beda pada setiap bagian-bagiannya. Kandungan kimia kulit buah delima merah adalah *alkaloid pelletierene*, *granatin*, *betulic acid*, *ursolic acid*, *isoquercitrin*, *elligatanin*, resin, *triterpenoid*, kalsium oksalat dan pati. Kulit akar dan kulit kayu mengandung sekitar 20% *elligatannin* dan 0,5-1% senyawa *alkaloid*, di antaranya *alkaloid pelletierene*, *Pseudopelletierine*, dan *metilpelletierene*. Senyawa *alkaloid pelletierine* sangat toksik sehingga menyebabkan kelumpuhan cacing pita, cacing gelang dan cacing kremi. Daun buah delima merah mengandung *alkaloid*, *tanin*, kalsium oksalat, lemak, *sulfur peroksidase* (Savitri, 2008).

Menurut Sugianto dan Lidyawati (2011), di dalam buah delima merah yang sudah matang terdapat butiran-butiran biji berwarna putih yang dibungkus oleh daging buah. Daging buah delima merah mengandung banyak air, serta memiliki rasa manis yang menyegarkan. Selain dapat dikonsumsi secara langsung, buah delima merah dapat dijadikan jus, ekstrak maupun sari buah. Jus segar dari buah delima merah mengandung 85% air, 10% gula dan 1,5 % pektin, asam askorbat, dan *flavonoid*.

Flavonoid memiliki khasiat antioksidan dengan cara menstabilkan senyawa oksigen reaktif yang dapat mengurangi kerusakan akibat radikal bebas. Salah satu komponen *flavonoid* dari tumbuhan yang dapat berfungsi sebagai antioksidan adalah zat warna alami yang disebut antosianin. Warna merah pada delima disebabkan oleh kandungan antosianin yang tinggi pada buah delima. Antosianin yang dapat diidentifikasi pada buah delima merah antara lain *delphinidin 3-glucoside* dan *3,5 diglucoside*, *cyanidin 3-glucoside* dan *3,5-diglucoside*, *pelargonidin 3-glucoside* dan *3,5 diglucoside*. Rasa kesat pada buah delima disebabkan kandungan *flavonoid* (polifenol) yang tinggi (Nijveldt dkk., 2001).

Kandungan polifenol dalam buah delima merah tergantung dari jenis dan varietasnya yang sebagian besar terdiri dari antosianin, katekin, *ellagic tannins*, *gallic*, dan *ellagic acid*. Polifenol kompleks yang bersifat sebagai antioksidan

dapat diserap dalam tubuh manusia. Selain polifenol, jus buah delima merah juga mengandung vitamin C yang bersifat antioksidan (Sugianto dan Lidyawati, 2011). Jus buah delima merah mengandung asam sitrat, asam malat, glukosa, fruktosa, maltosa, vitamin (A, C), mineral (kalsium, fosfor, zat besi, magnesium, natrium, kalium) serta *tannin* (Savitri, 2008). Buah delima juga berperan sebagai pengobatan alternatif penyakit inflamasi kronis (Lansky dan Newman, 2007).

Kemampuan dan aktivitas antioksidan dan anti-inflamasi yang dimiliki delima diduga disebabkan karena kandungan polifenolnya yang sangat tinggi, seperti *ellagic acid* (EA) dalam bentuk bebas maupun terikat, *gallotannis* dan *antocyanins* dan *flavonoid* lainnya. Polifenol memiliki antioksidan yang cukup kuat, terdapat dalam jumlah cukup banyak pada buah yang telah masak. Ekstrak delima merah diduga memiliki efek yang lebih baik, karena merupakan gabungan dari beberapa zat aktif yang membentuk suatu formulasi yang saling sinergis, sehingga membentuk efek yang lebih baik dibandingkan dengan pemberian satu bahan aktifnya saja (Hernawati, 2015).

Daya hambat ekstrak buah delima merah telah diteliti sebelumnya oleh Pristyhari (2017), hasil penelitian yang dilakukan terhadap bakteri *Fusobacterium nucleatum* ditemukan bahwa pada ekstrak buah delima merah dengan konsentrasi 100% menghasilkan daya hambat yang paling besar yaitu 16,46 mm. Konsentrasi adalah jumlah zat terlarut di dalam sejumlah larutan tertentu. Berbagai macam satuan konsentrasi larutan dapat digunakan untuk menjelaskan secara kuantitatif jumlah relatif dari zat terlarut dan pelarut. Semakin besar konsentrasi ekstrak buah delima merah maka semakin besar pula diameter zona hambatnya dikarenakan semakin tinggi konsentrasi, semakin banyak zat terlarut (polifenol dan *alkaloid*) yang terkandung dalam ekstrak buah delima merah. Konsentrasi yang lebih rendah menandakan semakin sedikit jumlah zat terlarut dan semakin banyak jumlah zat pelarut dalam larutan tersebut (Chang, 2007). Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Al-Zoreky (2009), membuktikan bahwa ekstrak delima memiliki aktivitas antibakterial melawan bakteri, termasuk *Escherichia coli*. Burapadaja (1995) menemukan bahwa kulit buah delima merah memiliki aktivitas antimikrobia terhadap *Pseudomonas aeruginosa* (Kusumo, 2013).

2.1.4 Manfaat Buah Delima Merah (*Punica granatum L.*)

Manfaat terbaik dari buah delima merah dalam perawatan gigi adalah buah delima merah memiliki bahan antibakteri dan antivirus yang dapat membantu untuk mengurangi efek plak pada gigi (Madhawati, 2012). Sifat antibakteri yang dimiliki buah delima merah merupakan *true antibiotics*, manfaat yang penting adalah adanya sifat bakterisid dan bakteriostatik pada bakteri patogen yang telah resisten terhadap antibiotik sintetis (Khan dan Hane, 2011).

Buah delima merah (*Punica granatum L.*) memiliki kandungan antioksidan 3 kali lebih banyak dibandingkan wine dan teh hijau dengan kandungan *flavonoid* yang berperan penting dalam mencegah radikal bebas dalam tubuh, sekaligus memperbaiki sel-sel tubuh yang rusak serta memberikan perlindungan pada kulit. Sehingga tidak jarang buah delima menjadi salah satu bahan utama dalam berbagai macam produk perawatan kulit. Antioksidan yang terkandung dalam buah delima juga membantu mencegah oksidasi LDL yang menyebabkan penyumbatan pembuluh darah (Madhawati, 2012).

Buah delima merah mengandung zat *tannin* yang tinggi, yaitu salah satu senyawa yang terdapat dalam tanaman yang merupakan salah satu komponen *astringent* dengan kemampuan mengikat dan mengendapkan protein sehingga bisa diaplikasikan dalam pengobatan perdarahan (*hemostatic*), ulkus peptikum, wasir dan diare dengan cara menyusutkan selaput lendir usus sehingga cairan diare berkurang (Madhawati, 2012).

2.2 Obat Kumur

Pemakaian obat kumur bertujuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri karena berfungsi sebagai antiseptik yang mempunyai sifat sebagai antibakteri. Antiseptik adalah suatu senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan atau perkembangan bakteri. Obat kumur berdasarkan manfaatnya dibagi menjadi 2 macam, yaitu: sebagai kosmetik yang memberikan kesegaran pada mulut dan nafas, membersihkan, penghilang bau mulut dan sebagai pengobatan untuk perawatan penyakit pada mukosa atau gingiva, pencegahan karies gigi, perawatan gigi dan mulut dan penyakit periodontal (Pintauli dan Hamada, 2010). Manfaat obat

kumur yang lain adalah dapat menjangkau daerah yang paling sulit dibersihkan dengan sikat gigi sehingga menggunakan sikat gigi saja tidak cukup untuk membersihkan rongga mulut dengan sempurna. Beberapa jenis obat kumur dikelompokkan atas beberapa golongan yaitu bisguanida, senyawa *amonium kuarterner*, campuran fenol minyak esensial, *povidone-iodine*, *heksidine* (Wiley, 2014).

Chlorhexidine termasuk kelompok ikatan kimia bisguanida yang bersifat fungisid dan bakterisid. *Chlorhexidine* bersifat spektrum luas, efektif terhadap gram positif dan gram negatif. *Chlorhexidine* sangat efektif mengurangi radang gingiva dan akumulasi plak. (Staf Pengajar Departemen Fakmakologi FK Universitas Sriwijaya, 2008). Namun, *chlorhexidine* juga mempunyai beberapa efek samping di antaranya dapat menimbulkan warna coklat pada gigi dan mempengaruhi rasa. Obat kumur ini juga dapat mengacaukan keseimbangan alamiah dalam rongga mulut, dimana bakteri baik maupun buruk akan mati. Efek samping lainnya dapat menyebabkan keringnya rongga mulut (Tjay dan Kirana, 2007).

2.3 Karies

2.3.1 Definisi Karies

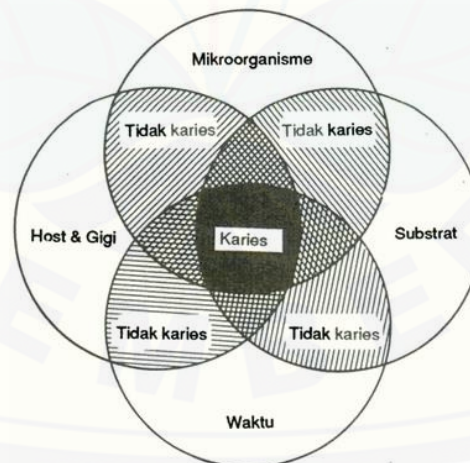
Karies gigi adalah salah satu gangguan kesehatan gigi. Karies gigi terbentuk karena ada sisa makanan yang menempel pada gigi, yang pada akhirnya menyebabkan pengapuran gigi. Dampaknya, gigi menjadi keropos, berlubang, bahkan patah (Sinaga, 2013). Karies gigi merupakan suatu penyakit mengenai jaringan keras gigi, yaitu enamel, dentin dan sementum, berupa daerah yang membusuk pada gigi, terjadi akibat proses secara bertahap melarutkan mineral permukaan gigi dan terus berkembang ke bagian dalam gigi. Proses ini terjadi karena aktivitas jasad renik dalam karbohidrat yang dapat diragikan. Proses ini ditandai dengan dimineralisasi jaringan keras dan diikuti kerusakan zat organiknya, sehingga dapat terjadi invasi bakteri lebih jauh ke bagian dalam gigi, yaitu lapisan dentin serta dapat mencapai pulpa (Kumala, 2006).

2.3.2 Epidemiologi Karies

Sebanyak 98% dari penduduk dunia pernah mengalami karies. Kerusakan ini dapat ditemukan pada semua golongan umur. Di Indonesia karies gigi masih menjadi masalah yang paling sering terjadi pada rongga mulut. Angka kejadian karies di Indonesia berkisar 90,05% berdasarkan SKRT (Survei Kesehatan Rumah Tangga) tahun 2004 (Yusuf M, 2011). Data menurut Riset Kesehatan Dasar tahun 2007 menunjukkan bahwa prevalensi karies di Sulawesi Utara menempati peringkat kedua tertinggi di Indonesia dengan persentase sebesar 57,2%.

2.3.3 Etiologi Karies

Beberapa jenis karbohidrat makanan misalnya sukrosa dan glukosa, dapat diragikan oleh bakteri tertentu dan membentuk suasana asam sehingga pH plak akan menurun sampai di bawah 5 dalam tempo 1-3 menit. Penurunan pH yang berulang-ulang dalam waktu tertentu akan mengakibatkan demineralisasi permukaan gigi yang rentan. Paduan keempat faktor penyebab tersebut digambarkan sebagai empat lingkaran yang bersitumpang (Gambar 2.2). Karies baru bisa terjadi jika keempat faktor tersebut di atas ada (Kidd dan Fejerskov, 2008).



Gambar 2.2 Empat lingkaran faktor penyebab karies (Kidd dan Fejerskov, 2008).

a. Mikroorganisme

Plak merupakan lengketan yang berisi bakteri beserta produk-produknya, yang terbentuk pada semua permukaan gigi. Akumulasi bakteri ini terbentuk melalui serangkaian tahapan. Email yang bersih terpapar di rongga mulut akan

ditutupi oleh lapisan organik yang disebut pelikel. Pelikel ini terdiri atas glikoprotein yang diendapkan dari saliva dan terbentuk segera setelah penyikatan gigi. Sifatnya sangat lengket dan mampu membantu melekatkan bakteri-bakteri tertentu pada permukaan gigi. Bakteri yang mula-mula menghuni pelikel terutama yang berbentuk kokus. Yang paling banyak adalah *Streptococcus*. Organisme tersebut tumbuh, berkembang biak dan mengeluarkan gel ekstrasel yang lengket dan akan menjerat berbagai bentuk bakteri yang lain. Dalam beberapa hari plak ini akan bertambah tebal dan terdiri dari berbagai macam mikroorganisme. Flora plak yang tadinya didominasi oleh bentuk kokus berubah menjadi flora campuran yang terdiri atas kokus, batang dan filamen (Kidd dan Fejerskov, 2008).

b. Karbohidrat

Karbohidrat ini menyediakan substrat untuk pembuatan asam bagi bakteri dan sintesa polisakarida ekstra sel. Walaupun demikian, tidak semua karbohidrat sama derajat kariogeniknya. Karbohidrat yang kompleks misalnya pati relatif tidak berbahaya karena tidak dicerna secara sempurna di dalam mulut, sedangkan karbohidrat dengan berat molekul yang rendah seperti gula akan segera meresap ke dalam plak dan dimetabolisme dengan cepat oleh bakteri. Dengan demikian, makanan dan minuman yang mengandung gula akan menurunkan pH plak dengan cepat sampai pada level yang dapat menyebabkan demineralisasi email. Plak akan tetap bersifat asam selama beberapa waktu. Untuk kembali ke pH normal sekitar 7, dibutuhkan waktu 30-60 menit. Oleh karena itu, konsumsi gula yang sering dan berulang-ulang akan tetap menahan pH plak di bawah normal dan menyebabkan demineralisasi email. Sintesa polisakarida ekstra sel dari sukrosa lebih cepat ketimbang glukosa, fruktosa, dan laktosa. Oleh karena itu, sukrosa merupakan gula yang paling kariogenik, walaupun gula lainnya tetap berbahaya. Sukrosa merupakan penyebab karies yang utama, karena sukrosa merupakan gula yang paling banyak dikonsumsi (Kidd dan Fejerskov, 2008).

c. Permukaan Gigi

Kawasan gigi yang memudahkan perlekatan plak sangat mungkin terserang karies. Kawasan-kawasan yang mudah diserang karies tersebut adalah pit dan fisur pada permukaan oklusal molar dan premolar, pit bukal molar dan pit palatal

insisiv, permukaan halus di daerah aproksimal sedikit di bawah titik kontak, email pada tepian di daerah servikal gigi sedikit di atas tepi gingiva, permukaan akar yang terbuka, tepi tumpatan yang tidak baik, serta permukaan gigi yang berdekatan dengan gigi tiruan dan jembatan (Kidd dan Fejerskov, 2008).

d. Waktu

Plak dan karbohidrat yang menempel pada gigi membutuhkan waktu minimum tertentu untuk membentuk asam dan mampu mengakibatkan demineralisasi email. Adanya kemampuan saliva untuk mendepositkan kembali mineral selama berlangsungnya proses karies, menandakan bahwa proses karies tersebut terdiri atas periode perusakan dan perbaikan yang silih berganti. Oleh karena itu apabila saliva ada di dalam lingkungan gigi, maka karies tidak akan menghancurkan gigi dalam hitungan hari atau minggu, melainkan dalam bulan atau tahun (Kidd dan Fejerskov, 2008).

2.3.4 Patogenesis Karies

Terjadinya karies dimulai dari pembentukan plak. Plak dapat terbentuk oleh karena adanya deposit glikoprotein pada saliva yang menempel pada permukaan gigi dan membentuk pelikel. Kemudian bakteri *S. mutans* menempel pada permukaan gigi tersebut. *S. mutans* akan berkembang biak dan mengeluarkan gel ekstrasel (glukan) yang lengket kemudian akan menjerat mikroorganisme lain dan akhirnya membentuk plak dan akan berkembang menjadi lebih tebal dan terdiri dari macam-macam mikroorganisme (Kidd dan Fejerskov, 2008).

Etiologi yang penting adalah berhubungan dengan frekuensi konsumsi karbohidrat. Karbohidrat yang tertahan dalam waktu lebih lama di mulut dapat menjadi lebih kariogenik dari pada produk makanan yang tertahan dalam waktu singkat. Karbohidrat yang kompleks relatif tidak berbahaya karena tidak dicerna utuh dalam mulut. Setelah proses pembentukan plak berlangsung, *S. mutans* akan memfermentasikan beberapa jenis karbohidrat makanan misalnya sukrosa dan glukosa membentuk asam sehingga pH plak akan menurun sampai dibawah 5,5 dalam tempo 1-3 menit. Penurunan pH berulang tersebut dapat mengakibatkan demineralisasi email dan proses kariespun dimulai (Kidd dan Fejerskov, 2008).

2.4 *Streptococcus mutans*

2.4.1 Klasifikasi *S. mutans*

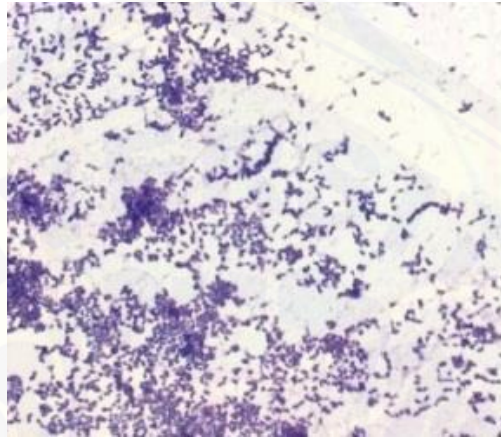
Streptococcus mutans merupakan anggota flora normal rongga mulut tetapi dapat berubah menjadi patogen jika keseimbangan flora normalnya terganggu (Jawetz dkk., 2005). *S. mutans* adalah bakteri yang paling kondusif menyebabkan karies (Nugraha, 2008). Berikut adalah klasifikasi *S. mutans* menurut Marsh dan Martin (2009):

<i>Kingdom</i>	: <i>Monera</i>
<i>Divisio</i>	: <i>Firmicutes</i>
<i>Class</i>	: <i>Bacilli</i>
<i>Order</i>	: <i>Lactobacilalles</i>
<i>Family</i>	: <i>Streptococcaceae</i>
<i>Genus</i>	: <i>Streptococcus</i>
<i>Species</i>	: <i>Streptococcus mutans</i>

Bakteri ini diisolasi pertama kali dari plak gigi oleh Clark pada tahun 1924. Istilah *S. mutans* diambil berdasarkan hasil pemeriksaan mikrobiologi dengan pengecatan gram. Bakteri ini berebentuk oval dan lain dari bentuk spesies *Streptococcus* yang lain, sehingga disebut sebagai mutan dari *Streptococcus*. Terdapat 9 serotipe yang telah diakui dari *S. mutans* berdasarkan serologik spesifik dari antigen karbohidrat yang berada di dinding sel bakteri (Marsh dan Martin, 2009). Saat ini diketahui terdapat 7 spesies dari kelompok *Mutans streptococci*, yaitu *S. mutans* (serotipe c, e, dan f), *S. sorbinus* (serotipe d dan g), *S. cricetus* (serotipe a), *S. ferus* (serotipe c), *S. rattus* (serotipe b), *S. macacae* (serotipe c), dan *S. downei* (serotipe h). *S. mutans* dan *S. sarbinus* merupakan jenis yang paling berhubungan erat dengan penyakit manusia, sedangkan jenis yang lain biasanya lebih ditemukan pada hewan (Lamont dan Jenkinson, 2010).

2.4.2 Morfologi *S. mutans*

Bakteri *S. mutans* berbentuk *coccus* atau bulat dan berdiameter 0,5 - 2,0 μm serta berderet memanjang seperti rantai terjadi karena divisi seluler di sepanjang sumbu tunggal (Gambar 2.3). bakteri ini biasanya ditemukan fibril pada bagian permukaan dengan sesekali berkapsul (Reyes dkk., 2014).



Gambar 2.3 Morfologi *S. mutans* dilihat dengan mikroskop cahaya perbesaran 1000 X

2.4.3 Sifat *S. mutans*

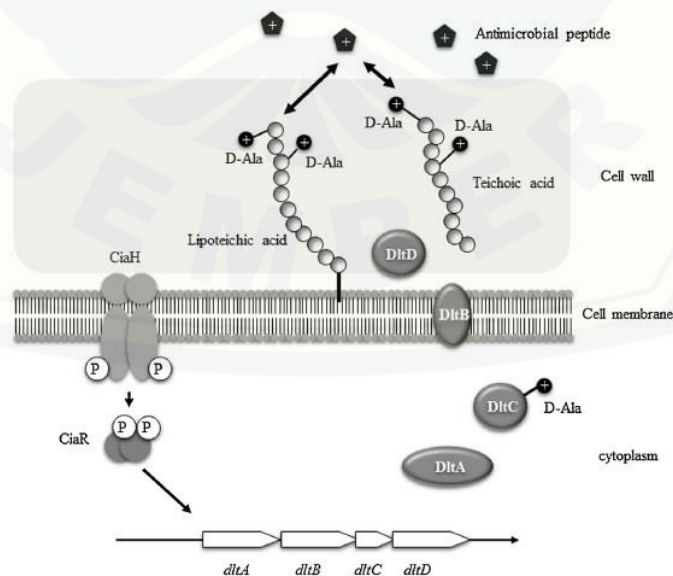
S. mutans merupakan bakteri gram positif, bersifat non motil (tidak bergerak). *S. mutans* termasuk dalam bakteri fakultatif anaerob, artinya dapat hidup dalam keadaan tidak adanya oksigen ataupun adanya oksigen untuk menghasilkan energi melalui respirasi ketika terdapat oksigen dan melalui jalur fermentasi jika ketiadaan oksigen yang cukup. Tumbuh secara optimal pada suhu sekitar 18° - 40°C (Samaranayake, 2012).

S. mutans dikenal dengan kemampuannya untuk mensintesis polisakarida ekstraseluler dari sukrosa, mengalami agregasi sel ke sel ketika bercampur dengan sukrosa atau dextran. *S. mutans* bersifat asidogenik yaitu menghasilkan asam dan bersifat asidurik yaitu mampu hidup pada lingkungan asam. *S. mutans* menghasilkan dua enzim yaitu *glucosyltransferase* (GTF) dan *fruktosyltransferase* (FTF). Enzim-enzim ini bersifat mengubah substrat sukrosa menjadi polisakarida yang digunakan untuk sintesa glukon (dekstran) dan fruktan (levan) (Todara, 2008).

S. mutans memiliki suatu mekanisme resistensi yang disebut TCS (*Two Component System*) meliputi *Histidine Kinase* (HK) dan *Response Regulator*

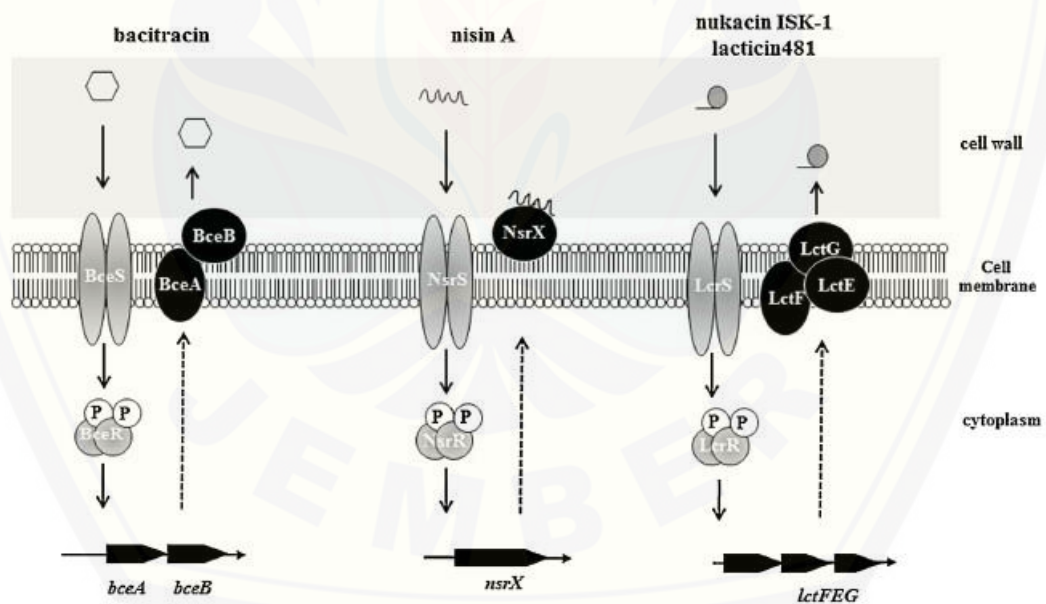
(RR). TCS ini terlibat dalam mekanisme *S. mutans* untuk terhindar dari agen-agen antimikroba baik yang terdapat pada manusia maupun bakteri lain di rongga mulut. agen antimikroba yang terdapat pada manusia di antaranya *defensins* (*alpha-*, *beta-* dan *theta-defensins*), *cathelicidins* (LL37), dan *histatins*. Agen antimikroba yang dimiliki oleh bakteri disebut *bacteriocins* (*bacitracin*, *nisin A*, *nukacin ISK-1*, dan *lacticin481*). TCS terlibat dalam proses adaptasi bakteri terhadap lingkungan sekitar, seperti tekanan osmotik, pH, dan temperatur (Matsuo dan Komatsuzawa, 2017).

S. mutans memiliki 15 set TCS, namun beberapa TCS masih belum diketahui fungsinya. *ciaRH* merupakan salah satu TCS *S. mutans* yang berperan dalam proses perlawanan terhadap agen antimikroba yang terdapat pada manusia (LL37 dan β -*defensins*). Dinding sel bakteri bermuatan negatif sedangkan agen-agen antimikroba bermuatan positif, sehingga perbedaan muatan ini akan mudah menyebabkan agen antimikroba berikatan dengan dinding sel bakteri. Adanya *ciaRH* mampu merangsang terbentuknya *dltA*, *dltB*, *dltC*, dan *dltD* sehingga menyebabkan terjadinya proses *alanylation*. Proses ini menyebabkan dinding sel yang awalnya bermuatan negatif berubah menjadi bermuatan positif, sehingga agen antimikroba tidak dapat berikatan dengan dinding sel bakteri *S. mutans* (Gambar 2.4) (Matsuo dan Komatsuzawa, 2017).



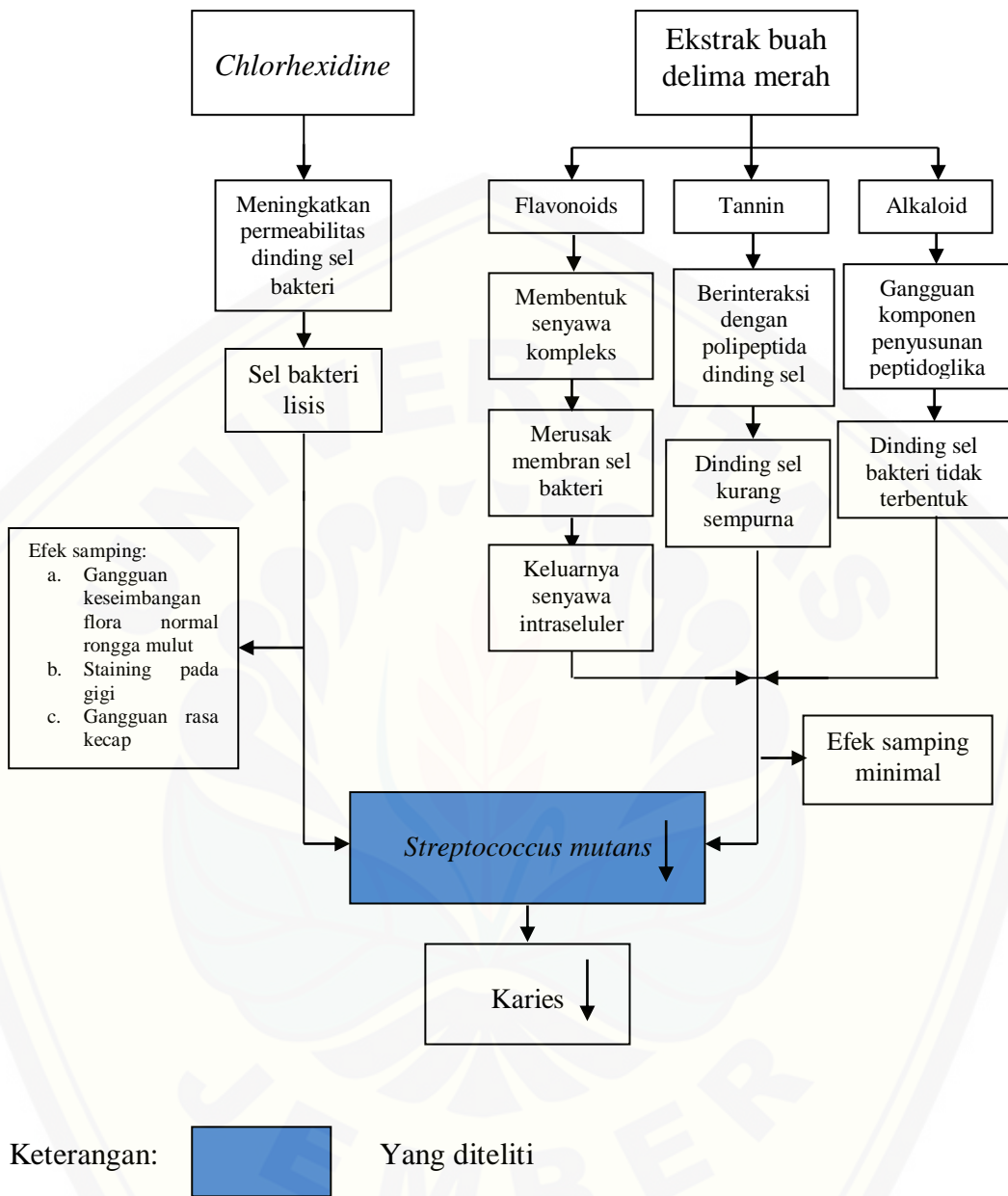
Gambar 2.4 Mekanisme pertahanan TCS *S. mutans* terhadap *human antimicrobial agent* (Matsuo dan Komatsuzawa, 2017).

Mekanisme resistensi *S. mutans* terhadap agen antimikroba yang terdapat pada bakteri lain diperankan BceRS, NsrRS, dan LcrRS. BceRS berperan dalam mekanisme resistensi *S. mutans* terhadap *bacitracin* dengan meregulasi BceAB transporter. BceAB yang semula berada di dalam sitoplasma bermigrasi menuju dinding sel melewati membran sel. BceAB di dalam dinding sel akan mengikat *bacitracin* untuk menghambat perlekatan *bacitracin* tersebut ke sel bakteri. Mekanisme yang sama juga terjadi pada LcrRS, dimana TCS ini akan mengikat *nukacin ISK-1* dan *lacticin481* yang merupakan *bacteriocins* dari bakteri lain. Mekanisme yang sedikit berbeda terjadi pada NsrRS, dimana TCS ini akan bermigrasi dari sitoplasma hanya sampai membran sel. NsrRS memiliki kecenderungan untuk melakukan ikatan dengan nisin A, yang menyebabkan nisin A terjebak di antara NsrRS yang melekat pada membran sel. Perlekatan tersebut akan menghambat nisin A melakukan invasi lebih dalam lagi terhadap bakteri (Gambar 2.5) (Matsuo dan Komatsuzawa, 2017).



Gambar 2.5 Mekanisme pertahanan TCS *S. mutans* terhadap *bacteriocin* (Matsuo dan Komatsuzawa, 2017).

2.5 Kerangka Konsep



Gambar 2.6 Kerangka konsep

2.6 Penjelasan Kerangka Konsep

Karies merupakan gangguan pada jaringan keras gigi yang menyebabkan gigi berlubang. *S. mutans* merupakan bakteri utama penyebab karies. *S. mutans* memiliki kemampuan dalam memfermentasikan karbohidrat untuk menghasilkan suasana asam sehingga menyebabkan terjadinya demineralisasi mineral email dan dentin. Salah satu pencegahan karies yang efektif saat ini adalah obat kumur *chlorhexidine*. *Chlorhexidine* dapat membunuh bakteri dengan cara menambah permeabilitas membran sel bakteri dan berinteraksi dengan fosfolipid dinding sel bakteri sehingga terjadi lisis pada sel bakteri. Efek samping *chlorhexidine* cukup banyak yaitu, menyebabkan gangguan keseimbangan flora normal rongga mulut, menimbulkan *staining* pada gigi, serta mengakibatkan gangguan rasa kecap.

Ekstrak buah delima memiliki kemampuan antibakteri karena memiliki komponen bioaktif di antaranya yaitu *flavonoids*, *tannin* dan *alkaloid*. Mekanisme kerja *flavonoid* sebagai antibakteri adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga dapat merusak membran sel bakteri dan diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler (Nuria dkk., 2009). *Tannin* mempunyai target pada polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel kurang sempurna. Hal ini menyebabkan sel bakteri menjadi lisis karena tekanan osmotik maupun fisik sehingga sel bakteri akan mati (Sari, 2011). *Alkaloid* memiliki kemampuan sebagai antimikroba, mekanisme yang diduga adalah dengan cara mengganggu komponen penyusunan peptidoglikan pada sel, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel (Ariadi, 2013). Hal ini menyebabkan populasi *S. mutans* di dalam rongga mulut menurun sehingga pH menjadi normal. Keadaan ini menyebabkan karies menurun.

2.7 Hipotesis

- a. Ekstrak buah delima merah (*Punica granatum L.*) memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan *S. mutans*.
- b. Ekstrak buah delima merah (*Punica granatum L.*) konsentrasi 100% menyebabkan pertumbuhan koloni bakteri *S. mutans* paling kecil.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan merupakan *experimental laboratories* dengan menggunakan rancangan *the post test only control group design*.

3.2 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium *Bioscience* Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

3.3 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2017 - Januari 2018

3.4 Identifikasi Variabel

3.4.1 Variabel Bebas

Konsentrasi ekstrak buah delima merah (*Punica granatum Linn*) 100%, 75%, 50%, dan 25% (Al-hassnawi, 2017)

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah jumlah koloni bakteri *Streptococcus mutans* (*S. mutans*).

3.4.3 Variabel Kendali/Terkendali

- a. Ketebalan media *Mueller Hinton Agar* (MHA) dalam petridish
- b. Suhu dan durasi inkubasi

3.5 Definisi Operasional

3.5.1 Ekstrak Buah Delima Merah konsentrasi 100%, 75%, 50%, dan 25%.

Ekstrak buah delima merah (*Punica granatum L.*) adalah ekstrak yang diperoleh dari proses ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. Perbandingan simplisia dan etanol 1 : 3. Setelah dimaserasi selama 3

hari dan disaring kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator*. Didapatkan hasil ekstrak dengan rendemen 22,52% (b/b). Hasil tersebut pada penelitian ini dipakai sebagai ekstrak buah delima merah konsentrasi 100% dan kemudian dilakukan pengenceran sehingga didapatkan konsentrasi 75%, 50%, dan 25%.

3.5.2 Jumlah Koloni Bakteri *S. mutans*

Jumlah koloni bakteri *S. mutans* adalah jumlah koloni yang tumbuh di atas media MHA yang sebelumnya telah dilakukan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C kemudian diukur jumlah koloninya menggunakan alat *colony counter*.

3.5.3 Ketebalan Media MHA dalam Petridish

Ketebalan media MHA dalam petridish adalah ketebalan media yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri. Media biakan yang digunakan dalam penelitian ini adalah dalam bentuk padat dengan ketebalan media yaitu 4 mm.

3.5.4 Suhu dan Durasi Inkubasi

Suhu dan durasi inkubasi merupakan temperatur dan lamanya waktu yang digunakan untuk menumbuhkan *S. mutans*. Suhu dan durasi inkubasi yang digunakan pada penelitian ini adalah 37°C selama 24 jam.

3.6 Sampel Penelitian

3.6.1 Besar Sampel Penelitian

Besar sampel yang digunakan dalam penelitian ini didapat dari rumus sebagai berikut (Federer, 1967)

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

$$(n-1)(6-1) \geq 15$$

$$n-1 \geq 15/5$$

$$n-1 \geq 3$$

$$n \geq 4$$

Keterangan:

t = Jumlah perlakuan

n = Jumlah sampel

Jumlah sampel (pengulangan) didapatkan dari perhitungan rumus berjumlah minimal 4 sampel untuk setiap kelompok penelitian. Peneliti menggunakan 4 sampel untuk setiap kelompok, kelompok yang digunakan adalah sebanyak 6 kelompok.

3.6.2 Pembagian Kelompok Sampel

Sampel dibagi menjadi 6 kelompok perlakuan, yaitu:

- a. Kelompok M100: ekstrak buah delima merah dengan konsentrasi 100%
- b. Kelompok M75: ekstrak buah delima merah dengan konsentrasi 75%
- c. Kelompok M50: ekstrak buah delima merah dengan konsentrasi 50%
- d. Kelompok M25: ekstrak buah delima merah dengan konsentrasi 25%
- e. Kelompok K(+): kontrol positif obat kumur *chlorhexidine* 0,2%
- f. Kelompok K(-): kontrol negatif aquades steril

3.6.3 Kriteria Sampel Penelitian

Sampel buah delima merah yang digunakan pada penelitian ini adalah keseluruhan bagian buah delima merah yaitu, kulit, daging, dan biji. Buah delima merah dipetik dalam keadaan menguning dari pekarangan rumah warga di daerah lereng gunung muria, Kecamatan Dawe, Kabupaten Kudus. Lokasi tersebut secara geografis berada pada ketinggian 1.600 m di atas permukaan laut.

3.7 Alat dan Bahan

3.7.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah: Timbangan (BOECO, Germany), tabung *eppendorf*, *Centrifuge* (HUMAX SK, Human) *Laminar flow* (Dwyer Mark II), inkubator (Labtech), *autoclave* (ALP), *syring filter*, oven (BINDER), *cotton swab*, korek api, mikroskop (OLYMPUS), *micropipet* (Huma Pette Human), *petridish* tidak bersekat (STERIPLAN), bunsen (Pyrex, Japan), ose, tabung vakum, botol *autoclave*, gunting, *beaker glass* (IWAKI PYREX), label, gelas ukur (IWAKI PYREX), *colony counter*, *object glass*, *deck glass*, *phenotype*, *optilab*, aluminium foil, alat uji kekeruhan *McFarland* (Densi CHEK

Biomerieux Plus), vortex (LABINCO L46), tissue, *hotplate stirrer* (Labtech), *water bath* (GFL), *roller* (Huma Roller Human), masker (DIAPRO), *hand scunt* (Latex Examination Gloves), kulkas (Ruey Shing).

3.7.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah: Media MHA (Merck, Jerman), media MHB (*Mueller Hinton Broth*) (Merck, Jerman), aquades steril (PT. Ikapharmindo Putramas), kultur murni *S. mutans* (Laboratorium Mikrobiologi FMIPA UNEJ), simplisia buah delima merah, ekstrak etanol *Punica granatum L.*, obat kumur dengan kandungan klorheksidin 0,2% (MINOSEP), etanol 70%, larutan PZ, alkohol 70%.

3.8 Prosedur Penelitian

3.8.1 Tahap Persiapan

a. Uji Identifikasi Tanaman

Buah delima merah yang diambil dari pekarangan rumah warga di daerah lereng gunung Muria dilakukan uji identifikasi di Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi, Kabupaten Pasuruan, Jawa Timur sebelum di ekstrak.

b. Sterilisasi Alat

Sterilisator yang digunakan adalah uap tekanan tinggi (autoklaf). Sterilisasi uap tekanan tinggi adalah metode sterilisasi yang efektif. Alat yang akan digunakan dalam penelitian seperti tabung *ependorf*, *cotton swab*, *petridish*, *yellow tip* dimasukkan dalam autoklaf selama 20 menit pada suhu 121°C.

c. Ekstraksi Buah Delima Merah

Pembuatan ekstrak buah delima merah (*Punica granatum L.*) dilakukan di laboratorium *Bioscience* Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Buah delima terdiri dari kulit, daging, dan biji. Pada penelitian ini yang digunakan adalah ketiganya. Daging dan biji buah delima merah dioven pada suhu 50°C selama 6 hari, kulit buah delima merah dioven pada suhu 50°C selama 3 hari. Setelah sampel kering, dilakukan penggilingan hingga terbentuk serbuk halus agar zat aktif mudah terekstraksi (Apriliana, 2010). Dengan mengacu pada buku

Farmakope Indonesia edisi ke V, bubuk simplisia sebanyak 333 gr direndam pada 1 L etanol 70% dengan perbandingan 1:3 selama 72 jam dalam toples tertutup dan diaduk secara manual sampai homogen setiap 24 jam. Hasil rendaman disaring dengan menggunakan kertas saring. Etanol diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* selama 8 jam dan dioven pada suhu 50°C selama 12 jam. Hasil akhir didapatkan sediaan ekstrak buah delima merah konsentrasi 100% yang berwarna hitam kekuningan. Ekstrak disimpan dalam kulkas bersuhu 2°C sampai digunakan. Setelah itu, dilakukan pengenceran dengan menggunakan aquades steril untuk mendapatkan konsentrasi 75%, 50%, dan 25% dari ekstrak buah delima merah konsentrasi 100%. Pengenceran konsentrasi ekstrak buah delima merah ini dilakukan di dalam *laminar flow* dan hasil pengenceran tersebut dimasukkan pada tabung *ependorf*. Rumus pengenceran yang digunakan untuk mengencerkan ekstrak buah delima merah menggunakan rumus pengenceran adalah (Chang, 2007):

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

Keterangan:

- V_1 : Volume pertama (volume larutan ekstrak konsentrasi 100%)
 V_2 : Volume kedua (volume larutan ekstrak yang akan dibuat)
 M_1 : Konsentrasi awal (konsentrasi larutan ekstrak 100%)
 M_2 : Konsentrasi akhir (konsentrasi larutan ekstrak yang akan dibuat)

Dari rumus pengenceran tersebut, maka dilakukan pengenceran, yakni:

- 1) Ekstrak buah delima merah konsentrasi 75% diperoleh dari 0,75 ml ekstrak buah delima merah 100% ditambah dengan 0,25 ml aquadest lalu dihomogenkan dengan *vortex*.
- 2) Ekstrak buah delima merah konsentrasi 50% diperoleh dari 0,5 ml ekstrak buah delima merah 100% ditambah dengan 0,5 ml aquades lalu dihomogenkan dengan menggunakan *vortex*.

3) Ekstrak buah delima merah konsentrasi 25% diperoleh dari 0,25 ml ekstrak buah delima merah 100% ditambah dengan 0,75 ml aquades steril lalu dihomogenkan dengan menggunakan *vortex*.

d. Pembuatan Media MHA

Pembuatan MHA dilakukan dengan mencampurkan 38 gram bubuk MHA dan 1 liter akuades steril dalam botol kaca. Lalu dihomogenkan dengan alat *hotplate stirrer* dan dimasukkan dalam *waterbath* sampai homogen. Media MHA disterilkan dalam *autoclave* dengan suhu 121°C selama 20 menit, kemudian dituang pada 24 *petridish* dengan ketebalan media 4 mm. Media MHA yang sudah disterilkan dilakukan uji sterilisasi dengan cara diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam untuk memastikan media tidak terkontaminasi. Media MHA ini akan digunakan sebagai media biakan bakteri untuk menghitung jumlah koloninya.

e. Pembuatan Stok Bakteri *S. mutans*

Pembuatan stok bakteri dilakukan untuk meremajakan dan memperbanyak bakteri yang akan digunakan dalam penelitian. Mengambil 1 ose biakan murni bakteri *S. mutans* dari media agar miring yang didapatkan dari laboratorium Mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember, kemudian dilakukan *streaking* pada media MHA, lalu dimasukkan ke dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam.

f. Uji Identifikasi Bakteri

Uji identifikasi bakteri dilakukan di laboratorium Mikrobiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember untuk memastikan bakteri tersebut benar *S. mutans*, tidak terkontaminasi dan siap digunakan untuk penelitian. Tahap identifikasi dimulai dengan memanaskan *object glass* di atas api bunsen untuk menghilangkan sisa lemak dan kotoran. Meletakkan 1 ose biakan bakteri pada *object glass* yang sudah ditetesi 1-2 tetes larutan PZ, kemudian mencampur biakan dengan gerakan memutar dan sediaan difiksasi di atas api bunsen. Sediaan ditetesi *Crystal Violet* selama 60 detik lalu dibilas menggunakan air mengalir selama 5 detik. Sediaan ditetesi dengan cairan *Iodine* selama 60 detik, selanjutnya dibilas dengan air mengalir selama 5 detik. Sediaan ditetesi *Decolorizer Solution* sampai warna biru-violet tidak lagi terlihat pada sediaan,

selanjutnya sediaan dibilas lagi dengan air mengalir selama 5 detik. Terakhir sediaan diwarnai dengan *safranin* selama 60 detik, lalu sediaan dibilas dengan air mengalir selama 5 detik. Selipkan kertas penyerap agar sisa air pada *object glass* terbuang. *Object glass* yang sudah kering kemudian ditutup dengan *deck glass*. Sediaan ditetesi minyak imersi untuk bisa diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000X (Engelkirk dkk., 2012).

g. Mempersiapkan Media Cair MHB

Mueller Hinton Broth merupakan media penyubur dalam bentuk cair untuk pertumbuhan bakteri yang digunakan dalam pembuatan suspensi. MHB sebanyak 21 gr ditimbang menggunakan neraca dan mengukur akuades steril sebanyak 1 L dengan gelas ukur. Akuades steril dan MHB dimasukkan dalam botol kaca, dipanaskan dalam *waterbath* hingga mendidih dan homogen. Media MHB disterilkan dalam *autoclave* dengan suhu 121°C selama 20 menit. Media MHB yang sudah disterilkan dilakukan uji sterilisasi dengan cara diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam untuk memastikan media tidak terkontaminasi. Media MHB ini akan digunakan untuk pembuatan suspensi bakteri *S. mutans*.

h. Persiapan Suspensi Bakteri *S. mutans*

Pembuatan suspensi dilakukan di dalam *sterile bench laminar flow*. Suspensi dibuat dengan cara menambahkan 1 ose *S. mutans* ke dalam tabung reaksi yang berisi 2 ml MHB. Kemudian tabung reaksi tersebut ditutup dengan kapas lalu dimasukkan ke dalam *desicator* dan diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam (Rahim dan Khan, 2006). Pertumbuhan *S. mutans* ditandai dengan adanya kekeruhan pada media. Setelah 24 jam suspensi *S. mutans* dikocok dengan *thermolyne*. Setelah itu, dilakukan pengukuran absorbansinya dengan standar 0,5 *Mc Farland*. Pembuatan suspensi sesuai protokol standar NCCLS (*National Committee for Clinical Laboratory Standards*)

i. Pengenceran dari Suspensi *S. mutans*

Hasil *trial* yang dilakukan dengan menggunakan standar *Mc Farland* 0,5, kemudian diencerkan menjadi 10^{-1} dan 10^{-2} menunjukkan jumlah pertumbuhan koloni yang masih padat, sehingga konsentrasi bakteri yang digunakan adalah pengenceran 10^{-3} . Pada pengenceran tersebut jumlah koloni *S. mutans* sudah tidak

terlalu padat sehingga dapat dihitung dengan jelas. Suspensi bakteri diencerkan dengan pengenceran seri untuk mendapatkan pengenceran 10^{-3} . Pengenceran dilakukan dengan menyiapkan tabung *eppendorf* sebanyak 3 buah di mana tiap tabungnya telah diisi akuades steril sebanyak 0,9 ml. Untuk tabung 1 ditambahkan suspensi *S. mutans* sebanyak 0,1 ml maka didapatkan pengenceran 10^{-1} . Kemudian tabung dihomogenkan dengan *vortex*. Selanjutnya, pada tabung 2 diambil 0,1 ml dari tabung 1 maka didapatkan pengenceran 10^{-2} . Kemudian tabung dihomogenkan dengan *vortex*. Selanjutnya, pada tabung 3 diambil 0,1 ml dari tabung 2 maka didapatkan pengenceran 10^{-3} . Kemudian tabung dihomogenkan dengan *vortex*.

3.8.2 Tahap Perlakuan

- a. Disediakan 6 tabung *eppendorf* yang diletakkan di dalam *laminar flow*.
- b. Tabung tersebut masing-masing diberi nomor urut 1-6. Tabung nomor 1 diberi bahan uji ekstrak buah delima merah dengan konsentrasi 100% sebanyak 1 ml, tabung nomor 2 diberi bahan uji ekstrak buah delima merah dengan konsentrasi 75% sebanyak 1 ml, tabung nomor 3 diberi bahan uji ekstrak buah delima merah 50% sebanyak 1 ml, tabung nomor 4 diberi bahan uji ekstrak buah delima merah dengan konsentrasi 25% sebanyak 1 ml, tabung nomor 5 diberi klorheksidin sebanyak 1 ml sebagai kontrol positif dan tabung nomor 6 diberi akuades steril sebanyak 1 ml sebagai kontrol negatif.
- c. Tabung nomor 1-6 selanjutnya ditambahkan suspensi bakteri *S. mutans* sebanyak 100 μ l yang telah dilakukan pengenceran 10^{-3} . Seluruh tabung dihomogenkan dengan alat *vortex*.
- d. Penelitian dilanjutkan dengan menyediakan 6 cawan petri berisi media MHA, selanjutnya pengambilan larutan dari masing-masing tabung *eppendorf* sebanyak 200 μ l menggunakan *micropipet* dan *yellow tip*. Larutan diteteskan pada masing-masing cawan petri, lalu diratakan dengan *cotton swab*.
- e. Seluruh cawan petri diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C (Ivan dkk., 2014).

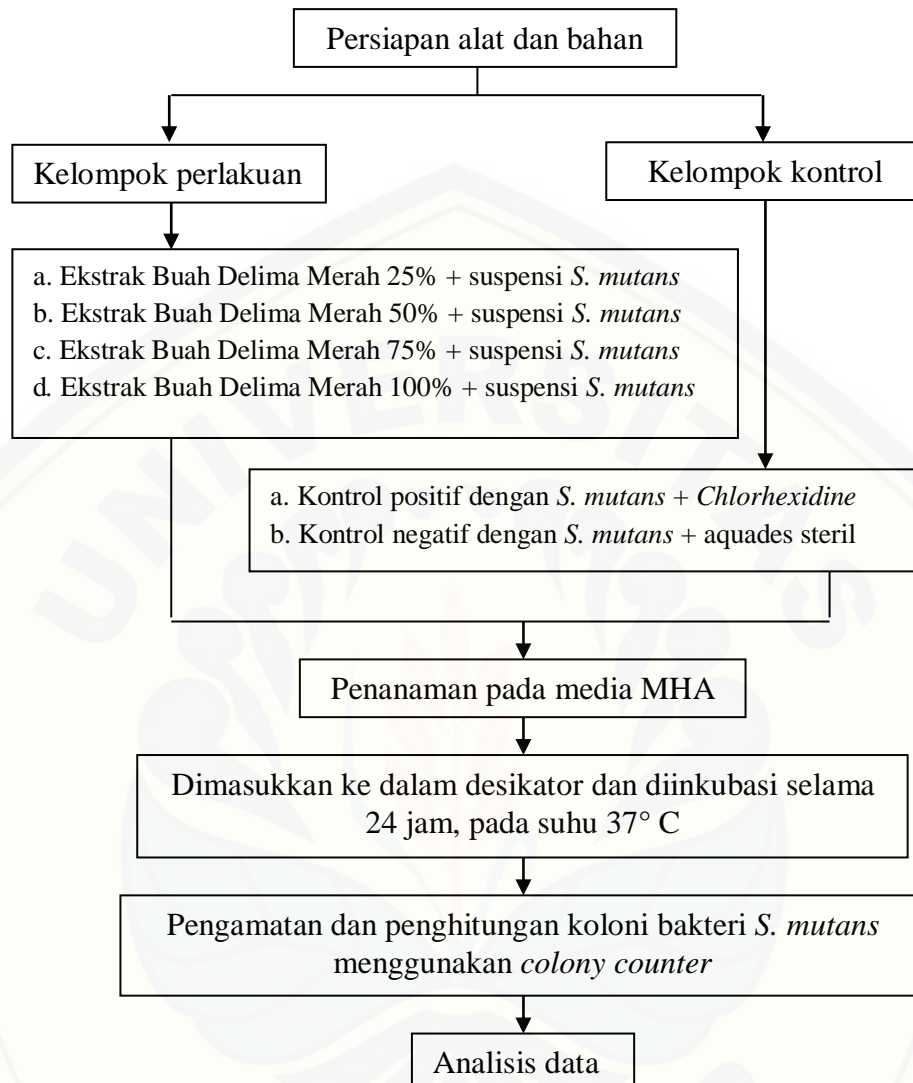
3.8.3 Tahap Pengamatan

Pengamatan dilakukan dengan cara menghitung jumlah koloni bakteri pada masing-masing *petridish* menggunakan alat *colony counter*. Pengamatan dilakukan oleh 3 orang pengamat. *Petridish* dengan media agar yang sudah terdapat pertumbuhan bakteri diletakkan di dalam alat tersebut dengan transmisi cahaya dan digunakan kaca pembesar supaya koloni dapat dihitung dengan cepat. Pada alat tersebut terdapat kotak-kotak kuadran yang terdiri dari 64 kotak, tetapi yang diambil hanya 30 kotak secara acak, tiap kuadran diambil sebanyak 7-8 kotak secara random. Pada kotak yang bernomor dilakukan penghitungan jumlah koloni bakteri secara valid dengan batasan 30-300 koloni setiap *petridish* (Sumono dan Dharmayanti, 2009). Jumlah koloni ditunjukkan dengan hitungan tombol untuk pengukuran operator sehingga operator dapat secara tepat meneliti sejumlah besar pertumbuhan koloni dalam waktu pendek dan kesalahan dapat ditekan sangat kecil (Setyorini dan Probosari, 2012).

3.9 Analisis Data

Data yang telah terkumpul dan disusun dalam bentuk tabel, selanjutnya dilakukan analisis data menggunakan program SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*). Data yang diperoleh dilakukan uji normalitas menggunakan uji *Shapiro-Wilk Test* dan uji homogenitas data menggunakan *Levene Test*. Hasil uji homogenitas menunjukkan data tidak homogen, maka dilanjutkan dengan uji statistik non parametrik, yaitu *Kruskal-Wallis Test*, selanjutnya uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna antar kelompok penelitian.

3.10 Alur Penelitian



Gambar 3.1 Diagram alur penelitian

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan:

- a. Ekstrak buah delima merah (*Punica granatum Linn*) mampu menghambat pertumbuhan dari *Streptococcus mutans*.
- b. Kemampuan menghambat terbesar adalah ekstrak buah delima merah (*Punica granatum L.*) konsentrasi 100%.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat diberikan saran sebagai berikut:

- a. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai daya hambat ekstrak buah delima merah terhadap mikroflora lain pada rongga mulut.
- b. Perlu penelitian lebih lanjut tentang senyawa aktif secara spesifik (*Flavonoid, Tannin, Alkaloid*) yang terkandung dalam buah delima merah yang dapat menghambat *S. mutans*.
- c. Perlu adanya penelitian lebih lanjut tentang daya hambat ekstrak buah delima merah terhadap *S. mutans* secara *in vivo*.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Hassnawi, A. A. R. A. 2017. Evaluation of Antibacterial Activity of Aqueous and Methanolic Extracts of Pomegranate Peels (*Punica Granatum* Lin.) Against some Bacteria. *World Journal of Pharmaceutical Research*. 6(8): 2426-2436.
- Al-Zoreky, N. S. 2009. Antimicrobial Activity of Pomegranate (*Punica granatum* L.) Fruit Peels. *International Journal of Food Microbiology*. 134. 244-248.
- Apriliana, D. 2010. Aktivitas Hepatoproteksiekstrak Polifenol Buah Delima (*Punica granatum* L.) terhadap Tikus Putih yang Diinduksi Parasetamol. *Skripsi*. Departemen Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pemgetahuan Alam Institut Pertanian Bogor
- Arezoo Tahmourepour, K. K. Rooha, R. Salehi, G. P. Nafiseh. 2010. Biofilm formation potential of oral *streptococci* in related to some carbohydrate subtates. *African Journal of Microbiology Research*. 4(11): 1051-1058.
- Ariadi, K. S. 2013. Uji Efektifitas Antijamur Dekokta Kulit Buah Delima Putih (*Granati fractus cortex*) terhadap *Candida albicans*. *Skripsi*. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Balakrishnan, M., Simmonds, R. S., dan Taggt J. R. 2000. Dental Caries Is A Preventable Infectious Disease. *Aust. Dent. J.* 45(4): 235-245
- Batista, A. L. A., Ruthineia D. A. U. L., Renata de S. C., Danielle do N. Barbosa, Nayara M. Belem, Frayni J. A. Celestino. 2014. Clinical efficacy analysis of the mouth rinsing with pomegranate and chamomile plant extracts in the gingival bleeding reduction. *Complementary Therapies in Clinical Practice*.
- Bidarisugma, B., Timur S.P., dan Purnamasari R. 2012. Antibodi Monoklonal *Streptococcus mutans* 1 (c) 67 kDa sebagai Imunisasi Pasif dalam Alternatif Pencegahan Karies Gigi secara Topikal. *BIMKGI*. 1(1): 1-7.
- Brooks, G. F., J. S. Butel S. A. Morse. 2007. *Mikrobiologi Kedokteran Jawetz, Melnick and Adelberg*. Edisi 23. Jakarta: EGC
- Burapadaja, S. dan A. Bunchoo. 1995. *Antimicrobial activity of tannins from Terminalia citrine*. *Planta Medica*. 61: 365
- Chang, Raymond. 2007. *Chemistry Ninth Edition*. New York: Mc Graw Hill.
- Charles, C. H., Mostler K. M., Bartels L. L., Mankodi S. M. 2004. Comparative antiplaque and antigingivitis effectiveness of a chlorhexidine and an

- essential oil mouthrinse: 6-month clinical trial. *J Clin Periodontol.* 31(10): 878-84.
- Depkes RI. 2014. *Farmakope Indonesia* edisi V. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Engelkirk, P. G., J. L. Duben, G. R. W. Burton. 2011. *Microbiology for the Health Sciences*. New York: Wolters Kluwer
- Federer, W. T. 1967. *Experimental design, theory and application*. New Delhi: Mac Millan.
- Georgieva, R., Stefanov D., Fichorova R., Dimitrova E. 1995. Effects of the whole extract and the chromatographic fractions of the pig placenta on lymphocyte proliferation and humoral immune response. *Therioqrmology.* 44(4): 539.
- Gunawan, I. W. A. 2009. Potensi Buah Pare (*Momordica charantia L*) Sebagai Antibakteri Salmonella Typhimurium. *Skripsi*. Universitas Mahasaraswati, Denpasar
- Hendra, R., S. Ahmad, A. Sukari, dan M. Y. Shukor. 2011. Oskoueian E. Flavonoid Analyses and Antimicrobial Activity of Various Parts of *Phaleria Macrocarpa* (Scheff.) Boerl Fruit. *Int J Mol Sci.* 12: 3422-3431.
- Hernawati, Sri. 2015. Ekstrak Buah Delima sebagai Alternatif Terapi *Recurrent Aphthous Stomatitis* (RAS). *Stomatognatic (J. K. G Unej).* 12(1): 20-25.
- Hiwale, S. S. 2009. *The Pomegranate*. Ne Delhi. Sumit Pal Jain.
- Hudzicki, J. 2009. Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol. *American Society for Microbiology.* www.asmscience.org
- Ismarani, D., Liza P., Indri K. 2014. Formulasi Gel Pacar Air (*Impatiens balsamina* Linn.) terhadap *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*. *Pharm Sci Res.* 1(1): 30-45
- Ivan, K. D. P., I. Arundina, dan Istiati. 2014. Potensi Antjamur Ekstrak Bunga Kembang Sepatu Terhadap *Candida albicans*. *Jurnal Kedokteran Gigi* 8(2): 98-106.
- Jawetz. E., J. Melnick, L. Adelberg, E. A. 2005. *Microbiologi untuk Profesi Kesehatan*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Jurenka, Julie. 2008. Therapeutic Applications of pomegranate (*Punica granatum L.*): A Review. *Alternative Medicine Review Vol 13*. Thorne Research, Inc.

- Karou, D., Aly S., Antonella C., Saydou Y., Carla M., Jacques S., Vittorio C., dan Alfred S.T. 2005. Antibacterial Activity of Alkaloids from *Sida acuta*. *African Journal of Biotechnology*. 4(12): 1452-1457
- Khan, Jahir A. dan S. Hanee. 2011. Antibacterial Properties of *Punica Granatum* Peels. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*. 2(3): 23-27
- Khoiriah, T. 2012. Haruskah Kita Menggunakan Obat Kumur Setelah Menggosok Gigi?, [Online], Available: tutikhoi.wordpress.com/2012/05/13/peranan-obat-kumur—bagi-kesehatan-mulut-dan-gigi/. html [14 Januari 2018]
- Kidd, E. A. M. dan O. Fejerskov. 2008. *Dental Caries: The Disease and Its Clinical Management*. Second Edition. Oxford: Blackwell Munksgaard
- Kumala, P. 2006. *Kamus Saku Kedokteran Dorland*. Jakarta; EGC.
- Kurniati, Enda. 2017. Uji Repelensi dari Serbuk Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb) terhadap Kutu Beras (*Sitophilus oryzae* L) dan Sumbangsihnya pada Materi Hama dan Penyakit pada Tanaman di Kelas VIII SMP/MTs. *Skripsi*. Fakultas Ilmu Tarbiyah dan Keguruan Universitas Islam Negeri Raden Fatah Palembang
- Kusumo, D. A. 2013. Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM) Ekstrak Buah Delima Merah (*Punica granatum linn*) terhadap *Enterococcus faecallis*. *Skripsi*. Surabaya : Universitas Airlangga.
- Lamont, R. J. Dan H. F. Jenkinson. 2010. *Oral Microbiology at A Glance*. Oxford: Willey Blackwell
- Lansky E. P. dan Newman R. A. 2007. *Punica granatum* (pomegranate) and its potential for preventif and treatment of inflammation and cancer. *Journal Ethnopharmaceol*. 109(2): 177-206.
- Lenny, S. 2006. Senyawa Flavonoida, Fenilpropanoida dan Alkaloida. Tidak Diterbitkan. *Karya Ilmiah*. Departemen Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sumatera Utara. Medan: USU Repository
- Litbangkes Depkes RI. 2008. *Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) 2007*. Jakarta: Depkes RI
- Madhawati, R. 2012. *Si Cantik Delima (Punica granatum) Dengan Sejuta Manfaat Antioksidan sebagai bahan Alternatif Alami Tampil Sehat dan Awet Muda*. Universitas Negeri Malang. Malang.

- Marsh, P. D. dan M. V. Martin. 2009. *Oral Microbiology*. Fifth Edition. Oxford: Elsevier
- Matsuo, M. K. dan H. Komatsuzawa. 2017. Role of *Streptococcus mutans* Two-Component Systems in Antimicrobial Peptide Resistance in the Oral Cavity. *Japanese Dental Science Review*. 53: 86-94.
- Ngajow, M., J. Abidjulu, dan V. S. Kamu. 2013. Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara In vitro. *Jurnal MIPA Unsrat*. 2 (2): 128-132.
- Nijveldt R. J., Nood E., Hoorn D. E., Boelens P. G., Norren K., dan Leeuwen P. A. 2001. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am J Clin Nutr*. 74(4): 418-25
- Nugraha, A. W. 2008. *Streptococcus mutans* Plak dimana-mana. Yogyakarta: Fakultas farmasi. [serial online]. Tersedia dalam: URL: http://mikrobia.files.wordpress.com/2008/05/streptococcusmutans_31.pdf. [diakses 14 Juni 2017].
- Nuniek, N. F., Nurachmah E., dan Gayatri D. 2012. Efektifitas Tindakan Oral hygiene Antara Povidone Iodine 1% dan Air Rebusan Daun Sirih di Pekalongan. *Jurnal Ilmiah Kesehatan*. 4(1): 1-11.
- Nuria, M. C., A. Faizatun., dan Sumantri. 2009. Uji Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *Salmonella typhi* ATCC 1408. *Jurnal Ilmu –ilmu Pertanian*. 5: 26 –37.
- Panichayupakarant, P., Tewtrakul, S., dan Yeunyongsawad, S. 2010. Antibacterial, Anti-inflammatory and anti-allergic activities of standarized pomegranate rind extract. *Food Chemistry*. 123(2): 400-403.
- Parseh, H., Shahin H., Zahra E., Alireza S. L. 2012. *Antimicrobial Properties of Pomegranate (Punica granatum L.) as a Tannin Rich Fruit: a Review*, the 1st International and the 4th National Congress on Recycling of Organic Waste in Agriculture.
- Patel, J. B. 2016. *M100S Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*: 26th Edition. Clinical and Laboratory Standards Institute
- Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 27 Tahun 2017. *Pedoman Pencegahan dan Pengendalian Infeksi di Fasilitas Pelayanan Kesehatan*. 12 Mei 2017. Berita Negara Republik Indonesia Tahun 2017 Nomor 857. Jakarta.

- Peterson, D. 2011. *Family Gentle Dental Care*. Article. (Serial Online). Available from: <http://www.dentalgentlccarc.htm>. [diakses pada 10 November 2017]
- Pintauli, S. dan Hamada T. 2010. *Menuju Gigi dan Mulut Sehat. Departemen Ilmu Kedokteran Gigi Pencegahan Kesehatan Gigi Masyarakat*. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Sumatera Utara.
- Prihantoro, Teguh, R. Indra, Sumarno. 2006. Efek Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Delima (*Punica Granatum*) terhadap *Shigella dysenteriae* secara In Vitro. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. 22(3): 101-106.
- Primarizky, H., M. Y. Wiwik, dan S. L. Bambang. 2016. Benefits of Pomegranate (*Punica granatum Linn*) Fruit Extracts to Weight Changes, Total Protein, and Uric Acid in White Rats (*Rattus norvegicus*) as an Animal Model of Acute Renal Failure. *Veterinary World*. 9(11): 1269–1274.
- Pristyhari, Aditya. 2017. Daya Hambat Ekstrak Buah Delima Merah (*Punica granatum Linn.*) terhadap Pertumbuhan *Fusobacterium nucleatum*. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
- Putri, M. H., H. Eliza, N. Neneng. 2010. *Ilmu Pencegahan Penyakit Jaringan Keras dan Jaringan Pendukung Gigi*. Jakarta: EGC
- Rahim, Z. H dan Khan H. B. S. G. 2006. Comparative Studies on The Effect of Crude Aqueous (CA) and Solvent (CM) Extract of Clove on the Cariogenic Properties of *Streptococcus mutans*. *J Oral Sci*. 48: 117-123
- Reyes, A., Miller, S. Haidaris, Lemos, Abranches. 2014. Cnm is a major virulence factor of invasive *Streptococcus mutans* and part of a conserved three-gene locus. *Molecular oral microbiology*. 29(1):11-23.
- Roslizawaty. 2013. Aktivitas Antibakterial Ekstrak Etanol dan Rebusan Sarang Semut (*Myrmecodya sp.*) terhadap bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Medika Veterania*. 7(2): 91-94
- Rukmana, Rahmat. 2003. *Tabulampot Delima*. Yogyakarta. Kanisius
- Sa`adah, Hayatus, Henny N. 2015. Perbandingan Pelarut Etanol dan Air pada Pembuatan Ekstrak Umbi Bawang Tiwai (*Eleutherine americana Merr*) Menggunakan Metode Maserasi. *Jurnal Ilmiah Manuntung*. 1(2): 149-153
- Samaranayake, L. P. 2012. *Essential Microbiology for Dentistry*. Fourth Edition. Oxford: Elsevier

- Sari, F. P., dan S. M. Sari. 2011. Ekstraksi Zat Aktif Antimikroba dari Tanaman Yodium (*Jatropha multifida* Linn) sebagai Bahan Baku Alternatif Antibiotik Alami. *Skripsi*. Fakultas Teknik Universitas Diponegoro. Semarang.
- Savitri, E. S. 2008. *Rahasia Tumbuhan Berkhasiat Obat Perspektif Islam*. UIN Press. Malang.
- Setyorini, D., dan N. Probosari. 2012. Efektifitas Mengonsumsi Jus Stroberi dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri Rongga Mulut. *Jurnal Stomatognatic (J.K.G. Unej)*. 9(3): 117-121.
- Sinaga A. 2013. Faktor-faktor yang Berhubungan dengan perilaku Ibu dalam Mencegah Karies Gigi Anak Usia 1–5 Tahun di Puskesmas Babakan Sari Bandung. *Jurnal Darma Agung*. 21(13): 141.
- Staf Pengajar Departemen Farmakologi FK Universitas Sriwijaya. 2008. *Kumpulan Kuliah Farmakologi. Edisi 2*. Jakarta: EGC
- Sugianto dan Lidyawati, N. 2011. Pemberian Jus Delima Merah (*Punica granatum*) dapat Meningkatkan Kadar Glutation Peroksidase Darah pada Mencit (*Mus musculus*) dengan Aktivitas Fisik Maksimal. *Tesis*: Program Magister, Program Studi ilmu Biomedik. Denpasar : Universitas Udayana.
- Sumono, A., W. S. A. Dharmayanti. 2009. Kemampuan Air Rebusan Daun Salam (*Eugenia polyantha* W) dalam Menurunkan Jumlah Koloni Bakteri *Streptococcus* sp. *Majalah Farmasi Indonesia* 20 (3): 112-117.
- Susetyo, Alvin A. 2017. Daya Hambat Ekstrak Buah Delima Merah (*Punica granatum* Linn.) terhadap Pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
- Tarigan, R. 2012. *Karies Gigi* Edisi 2. Medan: Penerbit Buku kedokteran EGC
- Tjay, T. H. dan Kirana Rahardja. 2007. *Obat-Obat Penting. Khasiat, Penggunaan, dan Efek-Efek Sampingnya*. Jakarta: PT Elex Media Komputindo
- Todar, Kenneth. *Microbes and Dental Disease*. University of Wisconsin-Madison Department of Bacteriology. 2008. Diakses pada 19 Maret 2018. <http://www.textbookofbacteriology.net/themicrobialworld/dental.html>.
- Wiley, Sons John. 2014. Osseointegration and Dental Implants. *Medical Dentistry*. 24(2): 265-271
- Yusuf, M. 2011. Hubungan Pengetahuan Kesehatan Gigi dan Mulut dengan Status Karies dan Ohis pada Anak SMP. *Skripsi*. FKG USU: Medan

LAMPIRAN

A. Surat Izin Melaksanakan Penelitian



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

Nomor : 3749/UN25.8.TL/2017
Perihal : Ijin Penelitian

12 OCT 2017

Kepada Yth
Direktur RSGM Universitas Jember
Di
Jember

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

- 1 Nama : Kholisa
- 2 NIM : 141610101054
- 3 Semester/Tahun : 2017/2018
- 4 Fakultas : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
- 5 Alamat : Jln. Mastrip Gang III No.33 , Jember
- 6 Judul Penelitian : Daya Hambat Ekstrak Buah Delima Merah (Punica Granatum Linn) Terhadap Pertumbuhan Streptococcus Mutans
- 7 Lokasi Penelitian : Laboratorium Biosience RSGM Universitas Jember
- 8 Data/alat yang dipinjam : Autoclave, inkubator, petridish, jangka sorong,dll
- 9 Waktu : Oktober 2017 s/d Selesai
- 10 Tujuan Penelitian : Untuk Mengetahui Daya Hambat Ekstrak Buah Delima Merah (Punica Granatum Linn) Terhadap Pertumbuhan Streptococcus Mutans
- 11 Dosen Pembimbing : 1. Dr. drg. Purwanto, M.Kes
2. Dr. drg. Sri Hernawati, M.Kes

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih

an. Dekan
Kedokteran I.



Susilawati, M.Kes
09031986022001

B. Surat Izin Peminjaman Alat *Colony Counter*

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

Nomor : 0046 /UN25.8/TL/2018
Perihal : Peminjaman Alat

04 JAN 2018

Kepada Yth
Dekan Fakultas MIPA Universitas Jember
Di
Jember

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

- | | | |
|----|-------------------------|---|
| 1 | Nama | : Kholisa |
| 2 | NIM | : 1416101054 |
| 3 | Semester/Tahun | : 2017/2018 |
| 4 | Fakultas | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember |
| 5 | Alamat | : Jl. Mastrip 3 No. 33 Jember |
| 6 | Judul Penelitian | : Daya Hambat Ekstrak Buah Delima Merah (Punica Gratatum Linn) Terhadap Pertumbuhan Streptococcus Mutans |
| 7 | Lokasi Penelitian | : Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Jember |
| 8 | Data/alat yang dipinjam | : Colony Counter |
| 9 | Waktu | : Desember 2017 s/d Selesai |
| 10 | Tujuan Penelitian | : Untuk Mengetahui Daya Hambat Ekstrak Buah Delima Merah (Punica Gratatum Linn) Terhadap Pertumbuhan Streptococcus Mutans |
| 11 | Dosen Pembimbing | : 1. Dr. drg. Purwanto, M.Kes
2. Dr. drg. Sri Hernawati, M.Kes |

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih

an. Dekan
Wakil Dekan I,



Dr. drg. IDA Susilawati, M.Kes
NIP. 196109031986022001

Tembusan :

1. Ketua Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Jember
2. Kepala Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Jember

C. Surat Keterangan Identifikasi Bakteri *Streptococcus mutans*

KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN
JURUSAN BIOLOGI
Jalan Kalimantan III No. 23 FMIPA, Universitas Jember, Jawa Timur 68123

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI BAKTERI

Berdasarkan hasil identifikasi dengan pengecatan Gram pada bakteri yang digunakan
Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Jember oleh:

Nama : Kholisa
NIM : 141610101054
Jurusan/Fakultas : Kedokteran Gigi
PT : Universitas Jember

Maka dapat disampaikan hasilnya, bahwa bakteri tersebut adalah:

Streptococcus mutans

Demikian, mudah-mudahan bermanfaat.

Jember, 06 November 2017
Kalab Mikrobiologi

Drs. Rudju Winarsa, M.Kes
NIP. 196008161989021001

D. Surat Keterangan Identifikasi Buah Delima Merah



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)
BALAI KONSERVASI TUMBUHAN
KEBUN RAYA PURWODADI
Jl. Raya Surabaya - Malang Km. 65 Purwodadi - Pasuruan 67163
Telp. (+62 343) 615033, Faks. (+62 341) 426046
website : <http://www.krpurwodadi.lipi.go.id>

**SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TUMBUHAN**

No: 1610 /IPH.06/HM/XI/2017

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

Nama : Kholisa
NIM : 141610101054
Instansi : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
Tanggal material diterima : 20 Nopember 20017

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 : Myrtales
Family : Punicaceae
Genus : Punica
Species : *Punica granatum* L.

Referensi:

1. Backer CA & Bakhuizen van den Brink RC. 1963. Flora of Java Vol.I. NVP No ordhoff, Groningen, The Netherlands. Hal. 259
2. Cronquist A. 1981. An Integrated System of Classification of Flowering Plants. Columbia University Press, New York, USA. Hal. XVI
3. E.W.M.Verheij dan R.E. Coronel, tahun 1992 PROSEA (Plants Resources of South-East Asia) No 2; Edible fruits and nuts, Hal.270

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Purwodadi, 27 Nopember 2017



Kepala Balai Konservasi Tumbuhan

Sugeng Budiharta, M.Sc, P.hD

E. Surat Izin Pembelian Media MHA

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

Nomor : 5007UN25.8/TL/2017
Perihal : Pembelian Media

19 DEC 2017

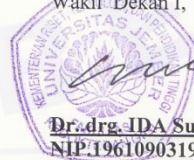
Kepada Yth
Kepala Laboratorium Biologi Farmasi
Fakultas Farmasi Universitas Jember
Di
Jember

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

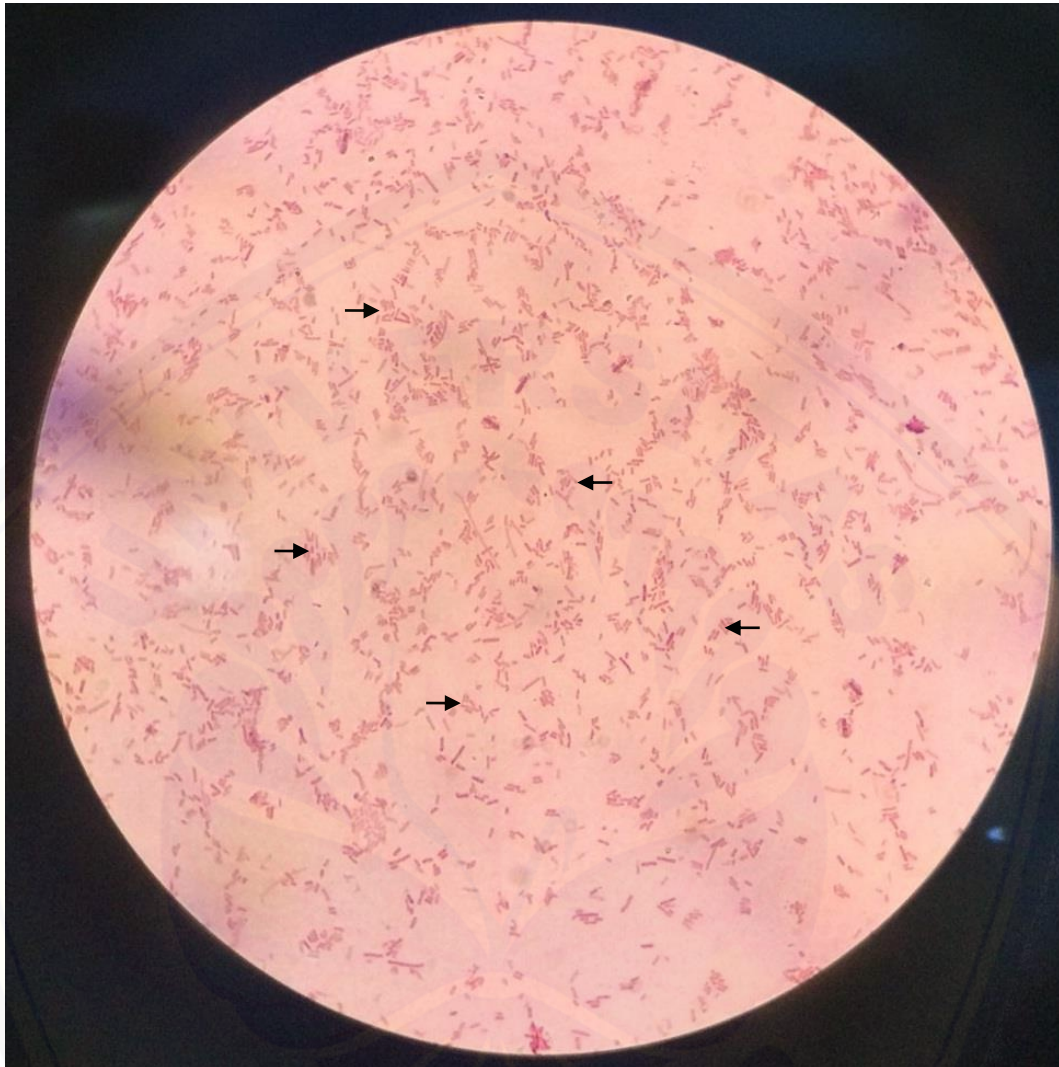
- | | | |
|----|-------------------------|---|
| 1 | Nama | : Kholisa |
| 2 | NIM | : 1416101054 |
| 3 | Semester/Tahun | : 2017/2018 |
| 4 | Fakultas | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember |
| 5 | Alamat | : Jl. Mastrip 3 No. 33 Jember |
| 6 | Judul Penelitian | : Daya Hambat Ekstrak Buah Delima Merah (Punica Gratanum Linn) Terhadap Pertumbuhan Streptococcus Mutans |
| 7 | Lokasi Penelitian | : Laboratorium Bioscience RSGM Universitas Jember |
| 8 | Data/alat yang dipinjam | : Pembelian Media MHA (Muller Hilton Agar) |
| 9 | Waktu | : Desember 2017 s/d Selesai |
| 10 | Tujuan Penelitian | : Untuk Mengetahui Daya Hambat Ekstrak Buah Delima Merah (Punica Gratanum Linn) Terhadap Pertumbuhan Streptococcus Mutans |
| 11 | Dosen Pembimbing | : 1. Dr. drg. Purwanto, M.Kes
2. Dr. drg. Sri Hernawati, M.Kes |

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih

an. Dekan
Wakil Dekan I,



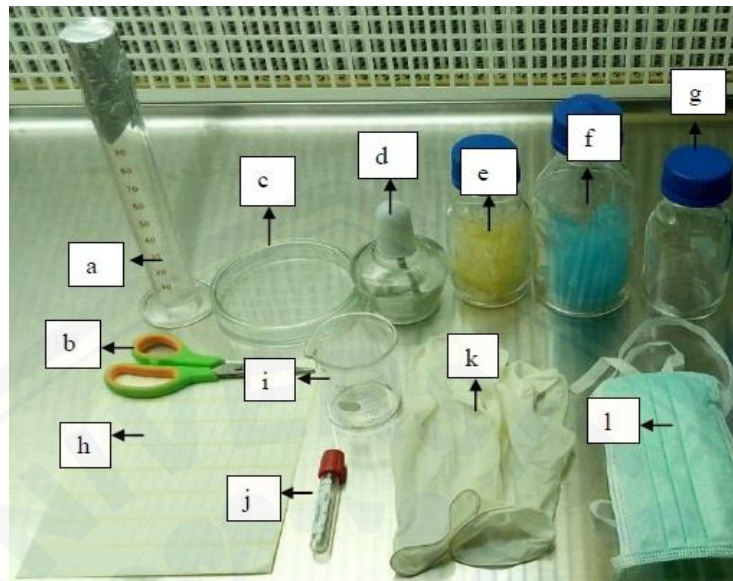
Dr. drg. IDA Susilawati, M.Kes
NIP.196109031986022001

F. Foto Hasil Identifikasi Bakteri *Streptococcus mutans*

Keterangan:

Gambaran mikroskopis dengan pewarnaan Gram bakteri *S. mutans* menggunakan mikroskop cahaya pada perbesaran 1000X tampak sel berwarna merah, berbentuk coccus dan tersusun seperti rantai.

G. Alat Penelitian



- a. Gelas ukur
- b. Gunting
- c. Petridish tidak bersekat
- d. Bunsen
- e. *Yellow tip*
- f. *Blue tip*
- g. Botol *autoclave*
- h. Label
- i. *Beaker glass*
- j. Tabung vakum
- k. Hand scoon
- l. Masker



Korek Api



Alumunium foil



Mikropipet



Tissue



Vortex



ose



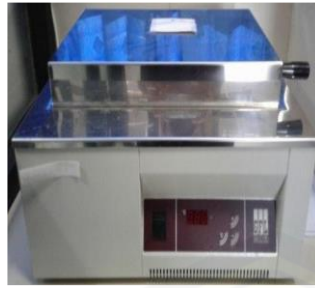
Inkubator



Tabung *ependorf*



Tabung reaksi



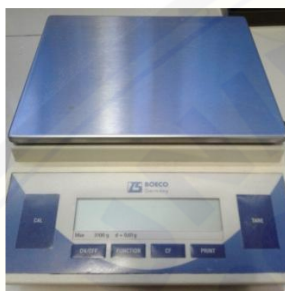
Water bath



Autoclave



rotary evaporator



Timbangan digital



Kulkas



cotton swab



Desicator



DensiCHEK



Hotplate Stirrer



Toples



Blender



Oven



Laminar flow

H. Bahan Penelitian



Delima Merah



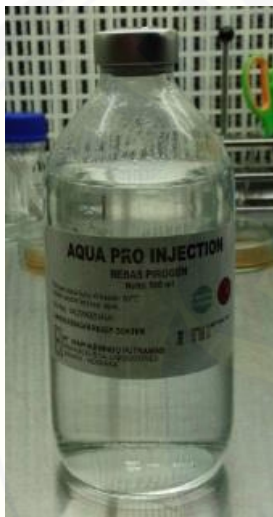
MHA



Hasil ekstrak
buah delima merah



MHB



Aquadest steril



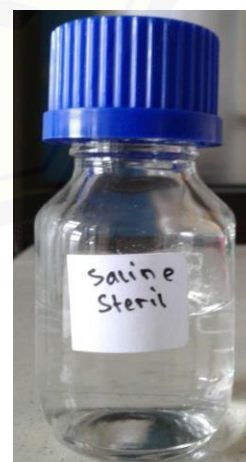
Chlorhexidine



Etanol 70%



Simplisia Punica granatum Linn



Salin steril

I. Penghitungan Pengenceran Ekstrak Buah Delima Merah

Rumus pengenceran yang digunakan untuk pengenceran ekstrak buah delima merah adalah:

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

Keterangan:

V_1 : Volume pertama (volume larutan ekstrak konsentrasi 100%)

V_2 : Volume kedua (volume larutan ekstrak yang akan dibuat)

M_1 : Konsentrasi awal (konsentrasi larutan ekstrak 100%)

M_2 : Konsentrasi akhir (konsentrasi larutan ekstrak yang akan dibuat)

Cara pengenceran ekstrak buah delima merah yaitu:

1. Untuk memperoleh ekstrak buah delima merah dengan konsentrasi 75% sebanyak 1000 μl :

$$100\% \times V_1 = 75\% \times 1000 \mu\text{l}$$

$$V_1 = \frac{75\% \times 1000 \mu\text{l}}{100\%}$$

$$V_1 = 750 \mu\text{l}$$

Volume pelarut yang ditambahkan adalah:

$$V_2 - V_1 = 1000 \mu\text{l} - 750 \mu\text{l}$$

$$= 250 \mu\text{l aquades}$$

Maka, untuk mendapatkan ekstrak buah delima merah konsentrasi 75% diperoleh dengan cara menambahkan larutan aquades sebanyak 250 μl ke dalam 750 μl ekstrak buah delima merah konsentrasi 100%.

2. Untuk memperoleh ekstrak buah delima merah dengan konsentrasi 50% sebanyak 1000 μl :

$$100\% \times V_1 = 50\% \times 1000 \mu\text{l}$$

$$V_1 = \frac{50\% \times 1000 \mu\text{l}}{100\%}$$

$$V_1 = 500 \mu\text{l}$$

Volume pelarut yang ditambahkan adalah:

$$V_2 - V_1 = 1000 \mu\text{l} - 500 \mu\text{l}$$

$$= 500 \mu\text{l aquades}$$

Maka, untuk mendapatkan ekstrak buah delima merah konsentrasi 50% diperoleh dengan cara menambahkan larutan aquades sebanyak 500 μl ke dalam 500 μl ekstrak buah delima merah konsentrasi 100%.

3. Untuk memperoleh ekstrak buah delima merah dengan konsentrasi 25% sebanyak 1000 μl :

$$100\% \times V_1 = 25\% \times 1000 \mu\text{l}$$

$$V_1 = \frac{25\% \times 1000 \mu\text{l}}{100\%}$$

$$V_1 = 250 \mu\text{l}$$

Volume pelarut yang ditambahkan adalah:

$$\begin{aligned} V_2 - V_1 &= 1000 \mu\text{l} - 250 \mu\text{l} \\ &= 750 \mu\text{l aquades} \end{aligned}$$

Maka, untuk mendapatkan ekstrak buah delima merah konsentrasi 25% diperoleh dengan cara menambahkan larutan aquades sebanyak 750 μl ke dalam 250 μl ekstrak buah delima merah konsentrasi 100%.

J. Penghitungan Pembuatan Ekstrak Buah Delima Merah

Penghitungan ekstrak buah delima merah (*Punica granatum Linn*) sebagai berikut:

$$\text{Buah delima} = 2 \text{ kg}$$

$$\text{Serbuk simplisia} = 370 \text{ gr}$$

$$\text{Ekstrak kental} = 83,33 \text{ g}$$

K. Penghitungan Rendemen Ekstrak Buah Delima Merah

Rendemen ekstrak dihitung dengan rumus sebagai berikut (Sa'adah dkk, 2015):







$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat Ekstrak Kental (g)}}{\text{Berat Simplisia Awal (g)}} \times 100\%$$


$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{83,33}{370} \times 100\% \\ &= 22,52 \% \end{aligned}$$

Jadi hasil rendemen ekstrak buah delima merah sebesar 22,52 % (b/b)


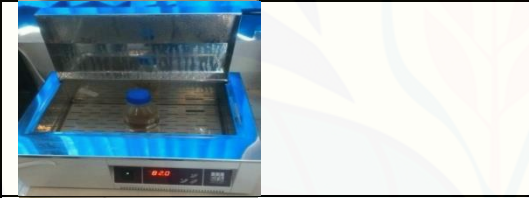


L. Dokumentasi Penelitian

1. Pembuatan Ekstrak Buah Delima Merah



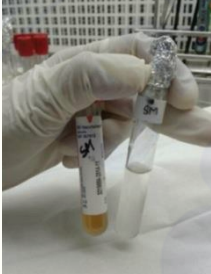
Gambar	Keterangan
	<ul style="list-style-type: none"> - Buah delima merah sebanyak 2 kg dicuci bersih dengan air mengalir
	<ul style="list-style-type: none"> - Kulit buah delima merah dioven selama 3 hari - Daging dan biji buah delima merah dioven selama 6 hari
	<ul style="list-style-type: none"> - Kulit, daging, dan biji buah delima merah yang sudah kering kemudian dihaluskan menggunakan <i>blender</i>
	<ul style="list-style-type: none"> - Buah delima merah yang sudah dihaluskan, kemudian di-ayak
	<ul style="list-style-type: none"> - Bubuk halus dicampur dengan etanol 70% selama 72 jam dan diaduk secara manual sampai homogen setiap 24 jam
	<ul style="list-style-type: none"> - Hasil maserasi disaring dengan menggunakan kertas saring

	<ul style="list-style-type: none"> - Etanol diuapkan dengan menggunakan <i>rotary evaporator</i> selama 8 jam
---	--


2. Pembuatan MHB (*Mueller Hinton Broth*)



Gambar	Keterangan
	<ul style="list-style-type: none"> - 2,1 gram bubuk MHB dicampur dengan 100 ml aquades kemudian diaduk menggunakan <i>hotplate stirrer</i>.
	<ul style="list-style-type: none"> - Media dipanaskan dalam <i>waterbath</i> sampai homogen
	<ul style="list-style-type: none"> - Media MHB disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit.
	<ul style="list-style-type: none"> - Media MHB dilakukan uji sterilisasi dengan cara dimasukkan ke dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam

3. Pembuatan Suspensi Bakteri *Streptococcus mutans*

Gambar	Keterangan
	- Media MHB dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 2 ml menggunakan <i>micropipet</i>
	- Mengambil 1 ose biakan bakteri <i>Streptococcus mutans</i> , lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang sudah berisi media MHB
	- Suspensi bakteri <i>Streptococcus mutans</i> setelah diukur tingkat kekeruhannya sesuai standar 0,5 <i>Mc Farland</i>

4. Pembuatan Media MHA (*Mueller Hinton Agar*)

Gambar	Keterangan
	- 3,8 gram bubuk MHA dicampur dengan 100 ml aquades kemudian diaduk menggunakan <i>hotplate stirrer</i> .
	- Media dipanaskan dalam <i>waterbath</i> sampai homogen
	- Media dimasukkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit.

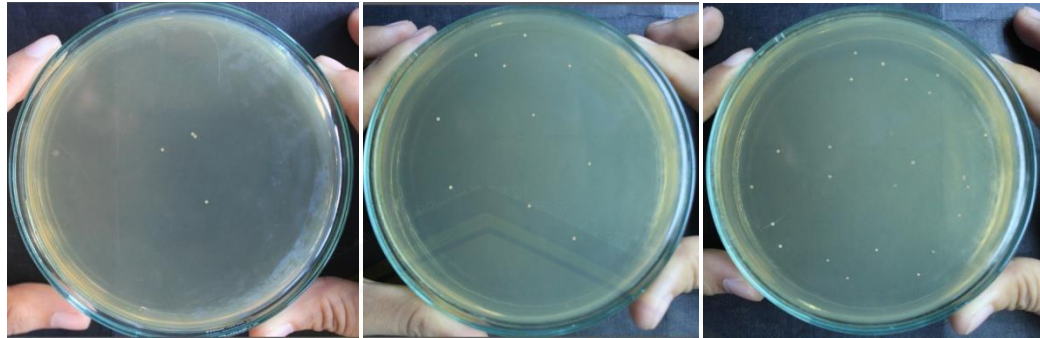
		<ul style="list-style-type: none"> - Agar dituang pada petridish dengan ketebalan 4 mm dan dibiarkan hingga padat pada suhu kamar
		<ul style="list-style-type: none"> - Media MHA dilakukan uji sterilisasi dengan cara dimasukkan ke dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam

5. Tahap Perlakuan dan Pengamatan

Gambar	Keterangan
	<ul style="list-style-type: none"> - Meneteskan larutan (suspensi bakteri + ekstrak buah delima merah) pada <i>cotton swab</i> sebanyak 100 μl
	<ul style="list-style-type: none"> - <i>streaking</i> dari ujung ke ujung petridish menggunakan <i>cotton swab</i>
	<ul style="list-style-type: none"> - Petridish dimasukkan dalam <i>desicator</i> dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C
	<ul style="list-style-type: none"> - Jumlah koloni bakteri dihitung pada tiap-tiap petridish menggunakan <i>colony counter</i>

M. Hasil Penghitungan Koloni dari Ekstrak Buah Delima Merah (*Punica granatum Linn*) terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*

pengulangan	Pengamat	Jumlah Koloni Bakteri <i>S. mutans</i>					
		M100	M75	M50	M25	K(+)	K(-)
1	1	4	10	21	40	0	254
	2	4	10	21	42	0	243
	3	4	10	21	40	0	249
Rata-rata		4	10	21	40,67	0	248,67
2	1	6	15	35	55	0	260
	2	6	15	33	49	0	272
	3	6	15	35	52	0	265
Rata-rata		6	15	34,3	52	0	265,67
3	1	4	12	30	35	0	251
	2	4	12	30	35	0	256
	3	4	12	30	37	0	260
Rata-rata		4	12	30	35,67	0	255,67
4	1	5	17	23	47	0	269
	2	5	17	23	49	0	273
	3	5	17	23	46	0	277
Rata-rata		5	17	23	47,3	0	273

N. Foto Hasil Penelitian

(1)

(2)

(3)



(4)

(5)

(6)

Keterangan:

1. Konsentrasi ekstrak buah delima merah 100%
2. Konsentrasi ekstrak buah delima merah 75%
3. Konsentrasi ekstrak buah delima merah 50%
4. Konsentrasi ekstrak buah delima merah 25%
5. Kontrol positif menggunakan *clorhexidine*
6. Kontrol negatif menggunakan aquades steril

O. Hasil Uji Statistik

O.1 Hasil Uji Normalitas Data (*Shapiro-Wilk*)

Tests of Normality^b

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Jumlah koloni						
Konsentrasi 100%	,283	4	.	,863	4	,272
Konsentrasi 75%	,185	4	.	,972	4	,855
Konsentrasi 50%	,245	4	.	,929	4	,590
Konsentrasi 25%	,181	4	.	,978	4	,891
Kontrol negatif	,182	4	.	,977	4	,883

a. Lilliefors Significance Correction

b. Hasil is constant when Kelompok = Kontrol positif. It has been omitted.

O.2 Hasil Uji Homogenitas Data (*Levene-Test*)

Test of Homogeneity of Variances

Jumlah koloni

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
8,528	5	18	,000

O.3 Hasil Uji Beda (*Kruskal-Wallis Test*)

Ranks

Kelompok	N	Mean Rank
Jumlah koloni		
Konsentrasi 100%	4	6,50
Konsentrasi 75%	4	10,50
Konsentrasi 50%	4	14,50
Konsentrasi 25%	4	18,50
Kontrol positif	4	2,50
Kontrol negatif	4	22,50
Total	24	

Test Statistics^{a,b}

	Jumlah koloni
Chi-Square	22,508
df	5
Asymp. Sig.	,000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: kelompok

O.4 Hasil Uji Beda Antar Kelompok Perlakuan (*Mann-Whitney Test*)

- 1) Kelompok Ekstrak Buah Delima Merah Konsentrasi 100% dengan Ekstrak Buah Delima Merah Konsentrasi 75%

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah koloni	Konsentrasi 100%	4	2,50	10,00
	Konsentrasi 75%	4	6,50	26,00
	Total	8		

Test Statistics^a

	Jumlah koloni
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,323
Asymp. Sig. (2-tailed)	,020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

- 2) Kelompok Ekstrak Buah Delima Merah Konsentrasi 100% dengan Ekstrak Buah Delima Merah Konsentrasi 50%

Ranks

Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah koloni			
Konsentrasi 100%	4	2,50	10,00
Konsentrasi 50%	4	6,50	26,00
Total	8		

Test Statistics^a

	Jumlah koloni
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,323
Asymp. Sig. (2-tailed)	,020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

- 3) Kelompok Ekstrak Buah Delima Merah Konsentrasi 100% dengan Ekstrak Buah Delima Merah Konsentrasi 25%

Ranks

Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah koloni			
Konsentrasi 100%	4	2,50	10,00
Konsentrasi 25%	4	6,50	26,00
Total	8		

Test Statistics^a

	Jumlah koloni
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,323
Asymp. Sig. (2-tailed)	,020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

4) Kelompok Ekstrak Buah Delima Merah Konsentrasi 100% dengan Kontrol Positif

Ranks

Kelompok		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah koloni	Konsentrasi 100%	4	6,50	26,00
	Kontrol positif	4	2,50	10,00
Total		8		

Test Statistics^a

	Jumlah koloni
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,477
Asymp. Sig. (2-tailed)	,013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

5) Kelompok Ekstrak Buah Delima Merah Konsentrasi 100% dengan Kontrol Negatif

Ranks

Kelompok		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah koloni	Konsentrasi 100%	4	2,50	10,00
	Kontrol negatif	4	6,50	26,00
Total		8		

Test Statistics^a

	Jumlah koloni
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,323
Asymp. Sig. (2-tailed)	,020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

- 6) Kelompok Ekstrak Buah Delima Merah Konsentrasi 75% dengan Ekstrak Buah Delima Merah Konsentrasi 50%

Ranks

Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah koloni Konsentrasi 75%	4	2,50	10,00
Konsentrasi 50%	4	6,50	26,00
Total	8		

Test Statistics^a

	Jumlah koloni
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

- 7) Kelompok Ekstrak Buah Delima Merah Konsentrasi 75% dengan Ekstrak Buah Delima Merah Konsentrasi 25%

Ranks

Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah koloni Konsentrasi 75%	4	2,50	10,00
Konsentrasi 25%	4	6,50	26,00
Total	8		

Test Statistics^a

	Jumlah koloni
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

8) Kelompok Ekstrak Buah Delima Merah Konsentrasi 75% dengan Kontrol Positif

Ranks

Kelompok		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah koloni	Konsentrasi 75%	4	6,50	26,00
	Kontrol positif	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics^a

	Jumlah koloni
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,460
Asymp. Sig. (2-tailed)	,014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

9) Kelompok Ekstrak Buah Delima Merah Konsentrasi 75% dengan Kontrol Negatif

Ranks

Kelompok		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah koloni	Konsentrasi 75%	4	2,50	10,00
	Kontrol negatif	4	6,50	26,00
	Total	8		

Test Statistics^a

	Jumlah koloni
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

- 10) Kelompok Ekstrak Buah Delima Merah Konsentrasi 50% dengan Ekstrak Buah Delima Merah Konsentrasi 25%

Ranks

Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah koloni Konsentrasi 50%	4	2,50	10,00
Konsentrasi 25%	4	6,50	26,00
Total	8		

Test Statistics^a

	Jumlah koloni
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

- 11) Kelompok Ekstrak Buah Delima Merah Konsentrasi 50% dengan Kontrol Positif

Ranks

Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah koloni Konsentrasi 50%	4	6,50	26,00
Kontrol Positif	4	2,50	10,00
Total	8		

Test Statistics^a

	Jumlah koloni
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,460
Asymp. Sig. (2-tailed)	,014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

12) Kelompok Ekstrak Buah Delima Merah Konsentrasi 50% dengan Kontrol Negatif

Ranks

Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah koloni Konsentrasi 50%	4	2,50	10,00
Kontrol negatif	4	6,50	26,00
Total	8		

Test Statistics^a

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

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

13) Kelompok Ekstrak Buah Delima Merah Konsentrasi 25% dengan Kontrol Positif

Ranks

Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah koloni Konsentrasi 25%	4	6,50	26,00
Kontrol Positif	4	2,50	10,00
Total	8		

Test Statistics^a

	Jumlah koloni
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,460
Asymp. Sig. (2-tailed)	,014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

14) Kelompok Ekstrak Buah Delima Merah Konsentrasi 25% dengan Kontrol Negatif

Ranks

Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah koloni Konsentrasi 25%	4	2,50	10,00
Kontrol negatif	4	6,50	26,00
Total	8		

Test Statistics^a

	Jumlah koloni
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

15) Kelompok Kontrol Positif dengan Kontrol Negatif

Ranks

Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah koloni Kontrol positif	4	2,50	10,00
Kontrol negatif	4	6,50	26,00
Total	8		

Test Statistics^a

	Jumlah koloni
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,460
Asymp. Sig. (2-tailed)	,014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.