



**EFEKTIVITAS OBAT KUMUR EKSTRAK BUAH DELIMA
PUTIH (*Punica granatum L*) TERHADAP JUMLAH
KOLONI BAKTERI RONGGA MULUT**

SKRIPSI

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

Oleh

Nurul 'Aini Fajrin

NIM 101610101006

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

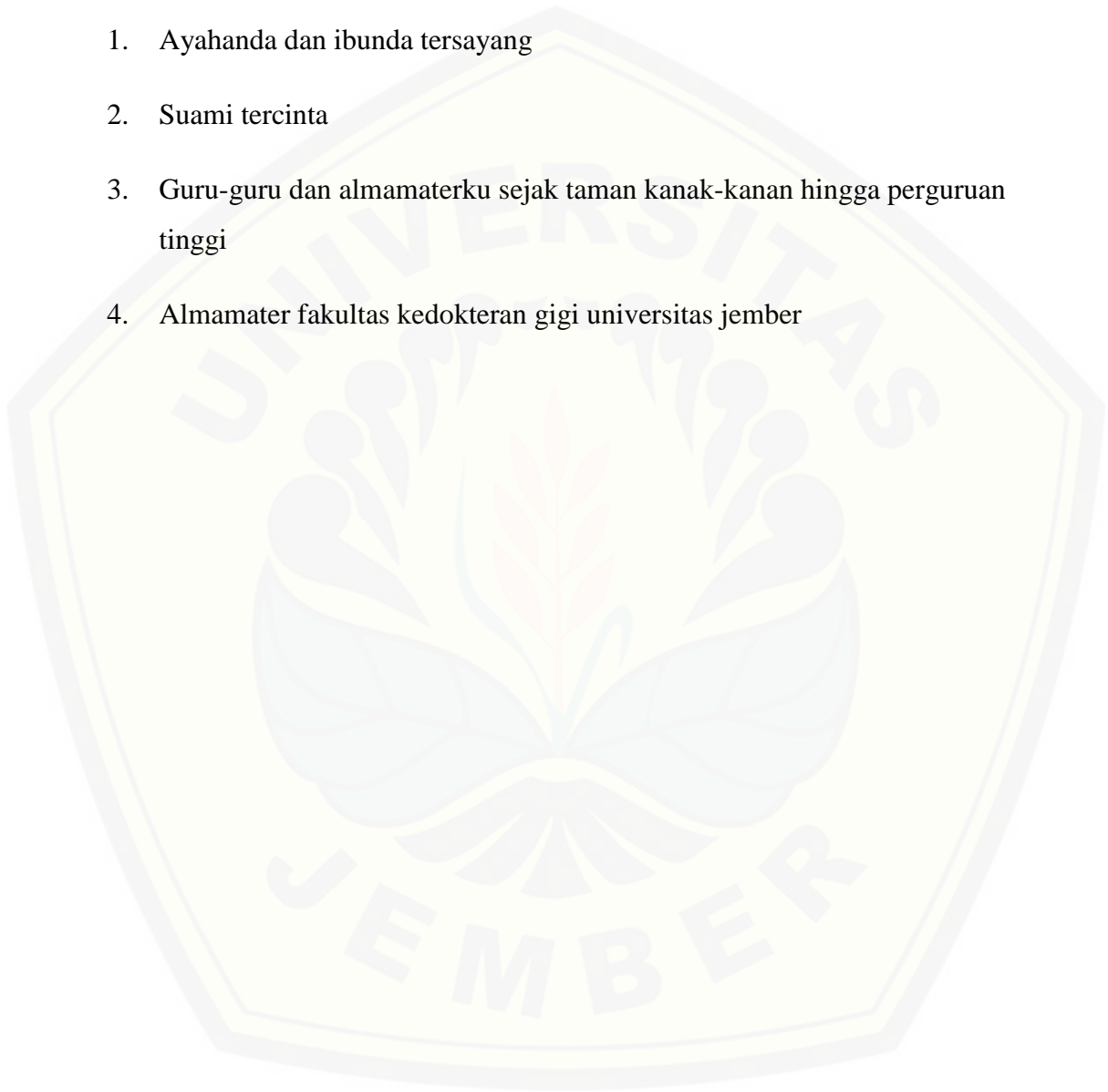
UNIVERSITAS JEMBER

2019

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

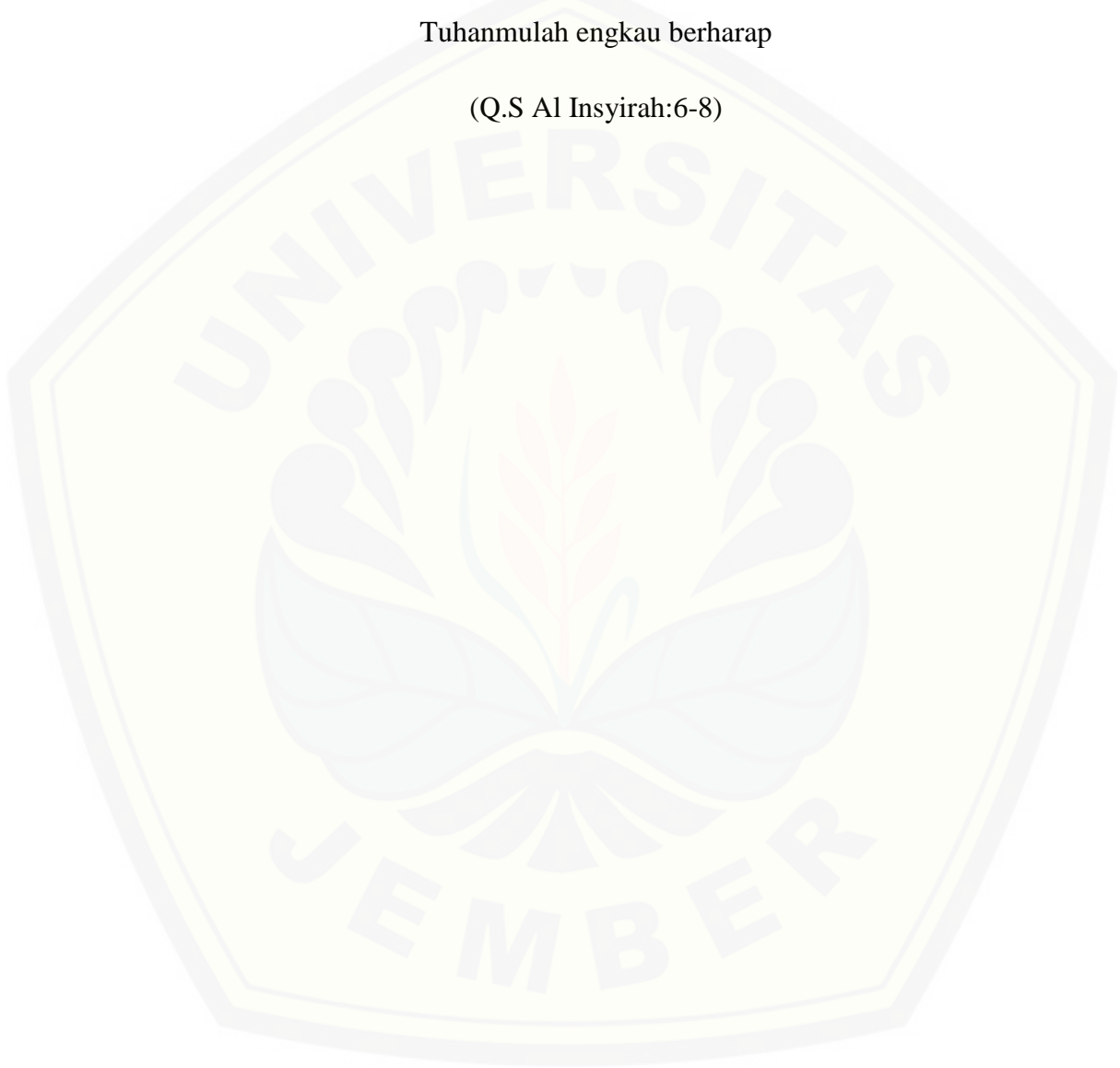
1. Ayahanda dan ibunda tersayang
2. Suami tercinta
3. Guru-guru dan almamaterku sejak taman kanak-kanan hingga perguruan tinggi
4. Almamater fakultas kedokteran gigi universitas jember



MOTO

Sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan, maka apabila telah selesai (dari suatu urusan), tetaplah bekerja keras (untuk urusan lain), dan hanya kepada Tuhanmulah engkau berharap

(Q.S Al Insyirah:6-8)



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Nurul Aini Fajrin

NIM :101610101006

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul "Efektivitas Obat Kumur Ekstrak Buah Delima Putih (*Punica granatum L*) terhadap Jumlah Koloni Bakteri Rongga Mulut" 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 serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, Oktober 2017

Yang menyatakan,

Nurul 'Aini Fajrin

PENGESAHAN

Skripsi berjudul "Efektivitas Obat Kumur Ekstrak Buah Delima Putih (*Punica granatum L*) terhadap Jumlah Koloni Bakteri Rongga Mulut" karya Nurul Aini Fajrin telah diuji dan disahkan pada:

Hari,tanggal : Selasa,10 Oktober 2017

Tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Tim Penguji

Penguji Ketua

Penguji pendamping

Drg. Pudji Astuti, M.kes

drg. Zahara Meilawaty, M.kes

NIP 196810201996012001

NIP 19800527200812200

Pembimbing utama

Pembimbing pendamping

Dr.drg. Atik Kurniawati, M.kes

Dr.drg. Sri Hernawati, M.kes

NIP 1971020041998022002

197007052003122002

Mengesahkan

Dekan

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

NIP 196901121996011001

RINGKASAN

Efektivitas Obat Kumur Ekstrak Buah Delima Putih (*Punica granatum L*) terhadap Jumlah Koloni Bakteri Rongga Mulut; Nurul Aini Fajrin; 101610101006;2017; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Sebagian besar penyakit gigi dan mulut didominasi oleh karies dan penyakit jaringan penyangga gigi yang disebabkan oleh meningkatnya jumlah bakteri rongga mulut. Salah satu upaya untuk mengurangi jumlah koloni bakteri rongga mulut yaitu dengan obat kumur. *Chlorhexidine* adalah obat kumur yang menjadi *gold standard* namun memiliki beberapa kekurangan seperti resisten, timbul lesi deskuamasi, rasa yang tidak enak, dan gangguan pengecapan sehingga dibutuhkan bahan alternatif pengganti obat kumur yaitu buah delima putih (*Punica granatum L*). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas obat kumur ekstrak buah delima putih (*Punica granatum L*) terhadap jumlah koloni bakteri rongga mulut.

Penelitian ini menggunakan *pre and post test only control group design* dengan sampel berjumlah 30 orang. Sampel diminta untuk menampung saliva sebelum berkumur dan sesudah berkumur dengan cairan kumur yang telah disediakan kemudian dilakukan pengenceran sebanyak 10^{-5} dan ditanam pada media BHIA. Selanjutnya sampel diinkubasi selama 24 jam kemudian dihitung jumlah koloni bakteri dengan menggunakan *colony counter*. Data penelitian diuji dengan menggunakan uji *wilcoxon* untuk menguji dua sampel berpasangan dan uji *Kruskal Wallis* untuk mengetahui apakah ada beda pada 3 kelompok bebas dan uji *Mann Whitney* untuk mengetahui beda pada 2 kelompok bebas. Hasil penelitian menunjukkan obat kumur ekstrak buah delima putih memiliki efektivitas yang setara dengan *chlorhexidine* dalam menurunkan jumlah koloni bakteri rongga mulut.

PRAKATA

Assalamu'alaikum Warahmatullahi wabarakatuh

Alhamdulillah puji dan syukur ke hadirat Allah SWT Yang Maha Bijaksana yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi yang berjudul “Efektivitas Obat Kumur Ekstrak Buah Delima Putih (*Punica granatum L*) terhadap Jumlah Koloni Bakteri Rongga Mulut” yang disusun sebagai salah satu syarat untuk mencapai derajat Sarjana Kedokteran Gigi (S.kg) pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Dalam penulisan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak dan pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan terimakasih kepada :

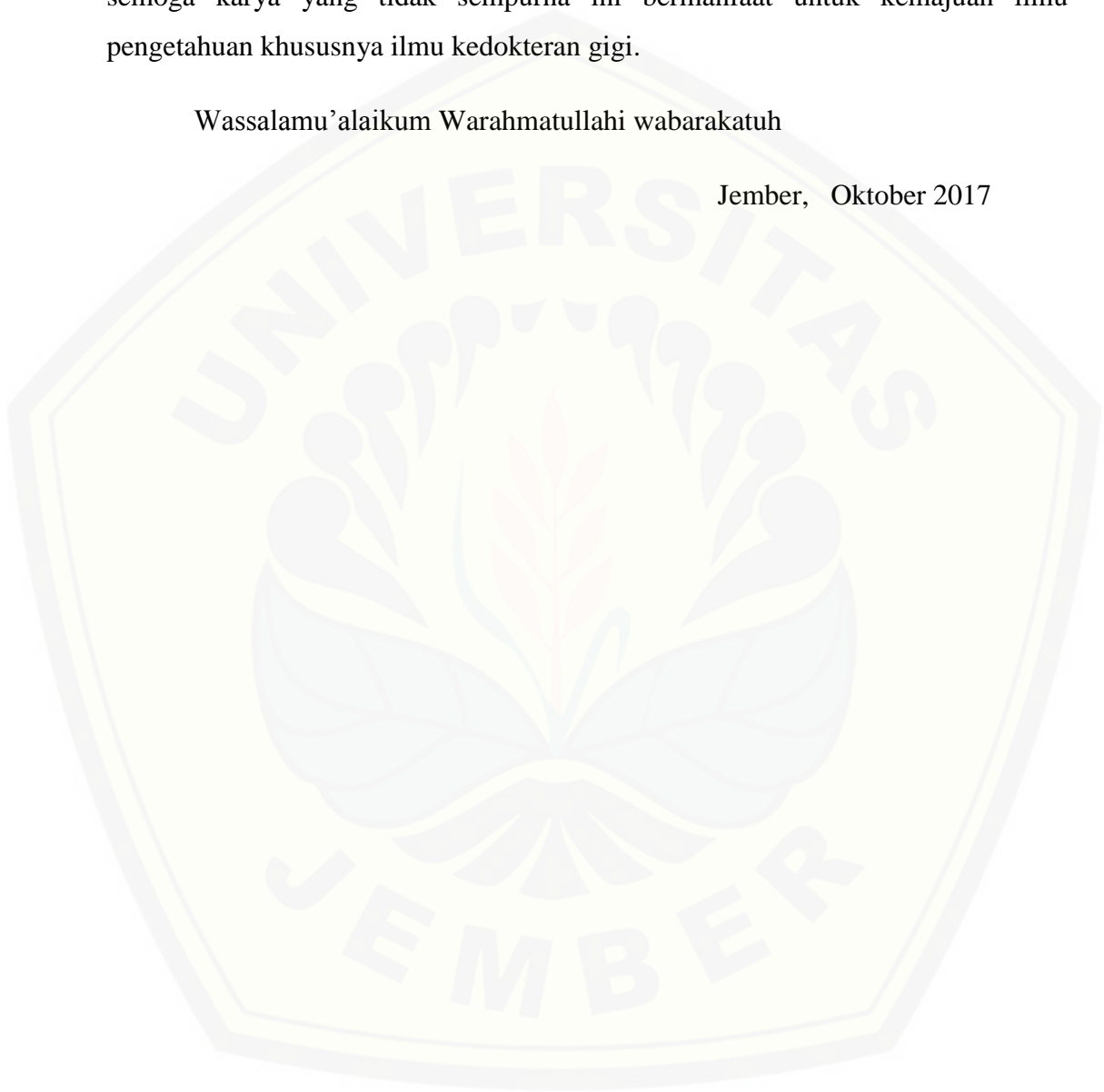
1. drg. R Rahardyan Parnaadji M.Kes.Sp.Pros., selaku dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
2. Dr.drg.Atik Kurniawati, M.kes, selaku pembimbing utama skripsi dan pembimbing akademik serta Dr.drg. Sri Hernawati, Mkes, selaku pembimbing pendamping pendamping skripsi yang telah meluangkan waktu
3. drg. Pudji Astuti, M.kes selaku penguji utama dan drg. Zahara Meilawaty, M.kes selaku penguji anggota yang telah meluangkan waktu dalam menyelesaikan tugas ini
4. Orang tua yang telah memberikan kasih sayang, motivasi, doa dukungan
5. Suami yang telah banyak memberikan waktu,dukungan, dan bantuan dalam menyelesaikan tugas akhir ini.
6. Untuk keluarga yang telah memberi doa dan dukungan
7. Teman-teman seperjuangan yang telah memberikan dukungan dan semangat

8. pihak-pihak lain yang telah membantu dalam proses penyelesaian skripsi

Penulis sangat menyadari bahwa skripsi ini jauh dari sempurna sehingga kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan. Besar harapan penulis semoga karya yang tidak sempurna ini bermanfaat untuk kemajuan ilmu pengetahuan khususnya ilmu kedokteran gigi.

Wassalamu'alaikum Warahmatullahi wabarakatuh

Jember, Oktober 2017

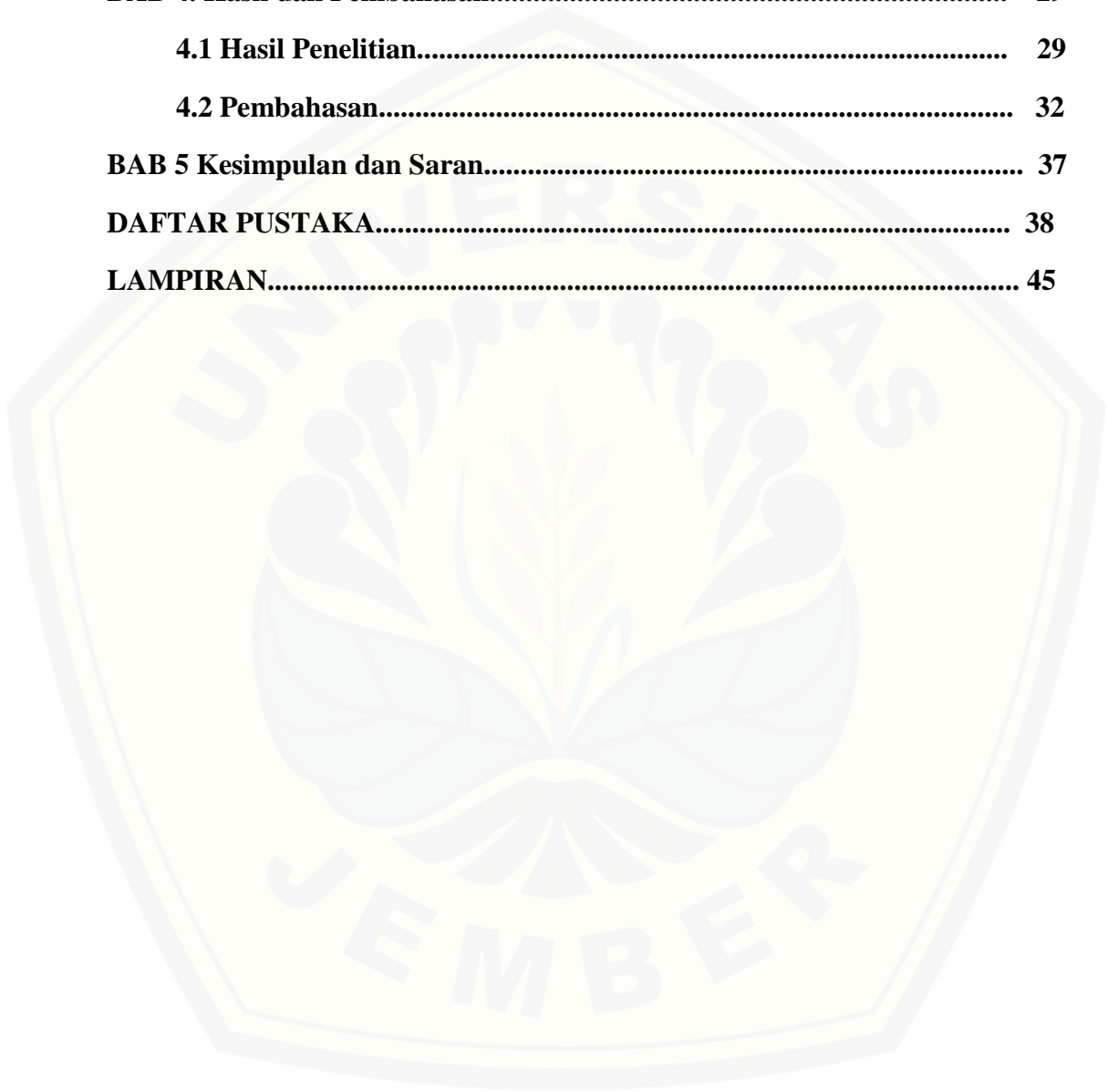


DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	ii
HALAMAN MOTO.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
HALAMAN PENGESAHAN.....	v
RINGKASAN.....	vi
PRAKATA.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan	4
1.4 Manfaat	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Buah Delima.....	5
2.1.1 Deskripsi Delima.....	5
2.1.2 Klasifikasi Buah Delima.....	6
2.1.3 Kandungan Buah Delima.....	6
2.1.4 Manfaat Delima.....	10
2.2 Bakteri Rongga Mulut.....	12
2.3 Mekanisme Antimikroba.....	13
2.4 Obat Kumur.....	15

2.5 Chlorhexidine.....	15
2.5.1 Farmakologi.....	16
2.5.2 Metabolisme dan toksikologi.....	16
2.5.3 Efek Samping.....	17
2.6 Hipotesis.....	17
2.7 Kerangka Konsep.....	18
2.7.1 Penjelasan.....	19
BAB 3 Metode Penelitian	
3.1.1 Jenis Penelitian.....	20
3.1.2 Rancangan Penelitian.....	20
3.1.3 Waktu dan Tempat Penelitian.....	20
3.1.4 Variabel Penelitian.....	20
3.4.1 Variabel Bebas.....	20
3.4.2 Variabel Terikat.....	20
3.4.2 Variabel Terkendali.....	20
3.5 Populasi dan Sampel.....	21
3.5.1 Besar Sampel.....	21
3.5.2 Sampel Penelitian.....	21
3.6 Definisi Operasional.....	22
3.7 Alat dan Bahan.....	23
3.7.1 Alat Penelitian.....	23
3.7.2 Bahan Penelitian.....	23
3.8 Prosedur Penelitian.....	24
3.8.1 Tahap Persiapan.....	24
3.8.2 Tahap Pelaksanaan.....	24

3.9 Analisis Data.....	26
3.10 Rancangan Penelitian.....	27
3.11 Alur Penelitian.....	28
BAB 4. Hasil dan Pembahasan.....	29
4.1 Hasil Penelitian.....	29
4.2 Pembahasan.....	32
BAB 5 Kesimpulan dan Saran.....	37
DAFTAR PUSTAKA.....	38
LAMPIRAN.....	45



DAFTAR TABEL

2.2 Komposisi gizi buah delima.....	7
2.3 Komposisi bahan fitokimia delima.....	8
2.4 Identifikasi spesies bakteri rongga mulut.....	12
4.1 Jumlah Koloni Bakteri <i>pre</i> dan <i>post</i> Berkumur Aquades, Obat Kumur Ekstrak Buah Delima Putih dan <i>chlorhexidine</i>	29
4.2 Hasil uji normalitas data penurunan jumlah koloni bakteri rongga mulut antara <i>pre</i> dan <i>post</i> Berkumur Aquades, Obat Kumur Ekstrak Buah Delima Putih dan <i>Chlorhexidine</i>	31
4.3 Hasil uji <i>wilcoxon</i> penurunan jumlah koloni bakteri rongga mulut antara <i>pre</i> dan <i>post</i> Berkumur Aquades, Obat Kumur Ekstrak Buah Delima Putih dan <i>Chlorhexidine</i>	32
4.4 Hasil uji <i>Kruskal Wallis</i> penurunan jumlah koloni bakteri rongga mulut antara <i>pre</i> dan <i>post</i> Berkumur Aquades, Obat Kumur Ekstrak Buah Delima Putih dan <i>Chlorhexidine</i>	33
4.5 Hasil uji <i>Mann Whitney</i> penurunan jumlah koloni bakteri rongga mulut antara <i>pre</i> dan <i>post</i> Berkumur Aquades, Obat Kumur Ekstrak Buah Delima Putih dan <i>Chlorhexidine</i>	33

DAFTAR GAMBAR

2.1 Tumbuhan Delima.....	5
2.2 Kerangka Konsep.....	18
3.1 Kotak-kotak penghitungan pada <i>colony counter</i>	26
3.2 Alur penelitian.....	28
4.1 Diagram batang rata-rata jumlah koloni bakteri rongga mulut <i>pre</i> dan <i>post</i> berkumur dengan aquades, obat kumur ekstrak buah delima putih dan <i>chlorhexidine</i>	30



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tingginya angka penyakit gigi dan mulut menunjukkan bahwa kesehatan gigi dan mulut masih perlu mendapat perhatian lebih serius dari semua pihak, terutama oleh tenaga kesehatan. Data yang dikutip dari *WHO* pada April 2012, sebanyak 60 – 90% anak usia sekolah dan hampir semua orang dewasa di seluruh dunia memiliki permasalahan gigi, sementara data Riskesdas Depkes (2013) menunjukkan bahwa sebesar 25,9% penduduk Indonesia mengalami permasalahan gigi. Permasalahan gigi didominasi oleh karies gigi dan penyakit jaringan penyangga gigi yakni sekitar 80% yang merupakan penyakit dengan bakteri sebagai etiologi utama (Bahar, 2011; Depkes RI, 2013).

Rongga mulut manusia mengandung kurang lebih 150 miliar organisme permilimeter saliva yang tidak terstimulasi atau sekitar 100 juta bakteri per gram pada debris basah dalam krevikular gingival. Bakteri dalam rongga mulut dapat bersifat patogen oportunistik, yang berarti bakteri yang semula bersifat komensal dapat berubah menjadi patogen karena faktor-faktor tertentu. Bakteri patogen tidak hanya dapat menyebabkan infeksi lokal pada rongga mulut namun juga mampu menyebar menjadi infeksi pada jaringan lain (Barid *et al*, 2007). Berbagai penelitian menyebutkan bahwa ada korelasi positif antara jumlah bakteri dengan prevalensi suatu penyakit, oleh karena itu salah satu upaya untuk menekan angka penyakit gigi dan mulut yaitu dengan menekan jumlah koloni bakteri rongga mulut (Sabir, 2005).

Obat kumur adalah larutan yang digunakan untuk berkumur dengan berbagai tujuan, antara lain untuk membunuh bakteri, menyegarkan nafas, mempunyai efek terapi dan mencegah karies (Akande *et al*, 2004). Penggunaan obat kumur merupakan salah satu upaya tambahan untuk memberikan efektivitas pembersihan rongga mulut yang maksimal karena upaya pencegahan karies hanya dengan cara mekanis seperti penggunaan sikat gigi dan *dental floss* tidak menjamin mampu menghilangkan semua plak penyebab karies, terutama di

daerah yang sulit dijangkau. Penggunaan obat kumur, selain mampu lebih banyak menjangkau lebih banyak permukaan gigi, juga dapat membunuh bakteri pada saliva dan jaringan lunak di rongga mulut yang memungkinkan menyebar ke permukaan gigi (Louis *et al.*, 2007; Sari, *et al.* 2014).

Chlorhexidine adalah obat kumur yang menjadi *gold standar* karena dinilai paling efektif menurunkan jumlah koloni bakteri rongga mulut. Selayaknya bahan sintesis, efek samping berupa resistensi bakteri pada *chlorhexidine* sangat mungkin terjadi (Jothika, 2015). Kekurangan lain *chlorhexidine* juga terletak pada rasanya yang pahit dan efek samping pemakaian jangka panjang berupa noda kuning sampai coklat, perubahan keseimbangan flora rongga mulut, gangguan persepsi rasa lidah, pembengkakan kelenjar parotis, dan lesi deskuamasi (Parwani, 2013). Kaur (2015) telah meneliti efek samping berkumur dengan *chlorhexidine* sebesar 0,2% dan 0,12% selama 7 hari menimbulkan efek samping berupa gangguan pengecap, sensasi terbakar pada rongga mulut dan perubahan warna. Melihat besarnya risiko yang ditimbulkan oleh *chlorhexidine*, maka perlu dicari alternatif lain untuk menurunkan jumlah koloni bakteri rongga mulut sebagai upaya peningkatan kesehatan gigi dan mulut masyarakat.

Peningkatan bakteri resisten antibiotik serta timbulnya efek samping yang besar akibat penggunaan obat sintesis, membuat obat bahan sintesis mulai tergeser oleh bahan-bahan herbal. Bahan herbal mengandung metabolit sekunder yang berperan sebagai bahan fitokimia untuk pengobatan. Hal ini telah dibuktikan sejak jaman dahulu bahwa masyarakat telah menggunakan bahan-bahan herbal untuk mengobati berbagai macam penyakit. Alasan lain penggunaan bahan herbal yaitu bahan herbal mudah didapat dan memiliki harga yang terjangkau (Shie, 2014).

Buah delima putih merupakan salah satu bahan herbal yang mengandung banyak bahan fitokimia yang mampu berperan sebagai antibakteri, antara lain polifenol dalam bentuk flavonoid (flavonols dan antosianin), *hydrolyzable tannins* (*ellagitannins* dan *gallotannins*) dan *condensed tannins* (*proanthocyanidins*), steroid, triterpenoid, alkaloid (Lansky, 2007; Bhandary, 2012). Beragam bahan fitokimia ini bekerja sebagai antibakteri melalui berbagai mekanisme, yaitu merusak dinding sel, mengganggu permeabilitas membran,

mengganggu sintesis protein, dan mengganggu sintesis asam nukleat (Brooks *et al*, 2007).

Buah delima putih adalah jenis buah delima yang banyak digunakan untuk pengobatan. Secara signifikan buah delima putih memiliki kandungan *quercetin*, *katekin*, *kaempferol* dan turunannya dalam jumlah tinggi dibandingkan buah delima merah (Simhon, 2014). Efek ekstrak buah delima putih sebagai obat telah diteliti dalam berbagai penelitian sebelumnya yang menunjukkan buah delima putih mampu berperan sebagai antibakteri, antiinflamasi, antigingivitis, dan mencegah halitosis. Sebagai antibakteri, buah delima dikenal dengan sebutan *true antibiotics* karena mampu melawan bakteri resisten antibiotik. Bakteri membutuhkan waktu hingga beberapa dekade untuk bermutasi dan resisten terhadap buah delima (Bhandary *et al*, 2011; Lalwani *et al*, 2014 dan Prasad, 2014). Uji antibakteri ekstrak buah delima pada bakteri rongga mulut telah dilakukan sebelumnya secara *in vitro* oleh de Oliviera (2013) yang menyimpulkan bahwa KBM ekstrak buah delima pada *Streptococcus mutans* adalah sebesar 12,5 mg/ml sehingga pada penelitian ini menggunakan obat kumur ekstrak buah delima putih dengan konsentrasi 12,5 mg/ml.

Ekstrak buah delima putih (*Punica granatum L*) pada penelitian ini adalah ekstrak yang diambil dari seluruh bagian buah delima putih (*Punica granatum L*). Pemanfaatan seluruh bagian buah delima putih bertujuan untuk mengambil berbagai ragam bahan fitokimia pada masing-masing bagian. Berbagai ragam kandungan buah delima ini memungkinkan untuk bekerja sinergis sehingga mampu menghasilkan efek yang lebih baik, mencegah resistensi, dan mengurangi efek samping (Hernani, 2011). Hal ini telah diteliti oleh Nikfallah (2014) yang menyebutkan bahwa kombinasi antara kulit dan biji delima memiliki efek yang lebih besar dalam menghambat bakteri. Berdasarkan uraian tersebut, maka peneliti ingin meneliti efektivitas obat kumur ekstrak buah delima putih (*Punica granatum L*) dalam mengurangi jumlah koloni bakteri rongga mulut.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka didapatkan rumusan masalah yaitu, bagaimana efektivitas obat kumur ekstrak buah delima putih (*Punica granatum L*) terhadap jumlah koloni bakteri rongga mulut

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui efektivitas obat kumur ekstrak buah delima putih (*Punica granatum L*) terhadap jumlah koloni bakteri rongga mulut

1.4 Manfaat

- a. Memberikan informasi kepada masyarakat, dokter gigi serta staf lainnya mengenai efek ekstrak buah delima sebagai obat kumur.
- b. Dapat digunakan sebagai dasar penelitian lebih lanjut

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Buah Delima (*Punica Granatum*)

2.1.1 Deskripsi Delima

Delima (*Punica granatum*) merupakan tanaman semak yang dapat tumbuh hingga mencapai 5-8 meter. Tanaman ini berasal dari daerah himalaya di sekitar India selatan sampai Iran namun banyak dibudidayakan di daerah mediterania. Delima juga mudah ditemui di daerah Asia tenggara, Afrika yang beriklim tropis hingga di daerah yang lebih kering seperti California dan Arizona. Tanaman ini mampu bertahan lama hingga ratusan tahun. Tanaman ini sangat cocok untuk ditanam di tanah yang gembur dan tidak terendam oleh air (Madhawati, 2012).

Batang tanaman delima berbentuk kayu ranting yang bersegi, dan percabangan banyak tetapi lemah. Pada ketiak daunnya, terdapat duri. Saat masih muda, warnanya cokelat, 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).



Gambar 2.1 Tumbuhan Delima (*Punica granatum L*)

Delima dapat berbunga sepanjang tahun, bunganya tunggal dengan tangkai pendek, serta keluar di ujung ranting atau ketiak daun yang paling atas. Bunga delima biasanya 1-5 kuntum berada di ujung ranting, berlilin, panjang dan lebarnya masing-masing 4-5 cm, daun kelopak dan penyangganya sama-sama 2-3 cm panjangnya. Bunga delima biasanya berwarna merah, putih dan ungu. Warna bunga dapat menentukan warna daging buah delima di dalamnya (Madhawati 2012).

Buah delima berbentuk bulat dengan diameter 5-12 cm dengan berat kurang lebih 100-300 gram. Buahnya terdiri dari biji-biji kecil yang tidak beraturan, berwarna putih sampai kemerahan. Delima merah memiliki kulit buah yang tebal dan warnanya beragam seperti hijau keunguan, putih, coklat kemerahan atau ungu kehitaman. (Desmond,2007).

2.1.2 Klasifikasi Buah Delima

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Ordo	: <i>Myrtales</i>
Famili	: <i>Lythraceae</i>
Genus	: <i>Punica</i>
Spesies	: <i>P.granatum</i>

2.1.3 Kandungan Buah Delima

Delima (*Punica granatum*) merupakan tanaman yang hampir semua bagiannya dapat dimanfaatkan, mulai dari buah, kulit buah, akar, daun dan batangnya. Delima mempunyai kandungan gizi dan non gizi (fitokimia). Kandungan gizi dalam delima dimanfaatkan oleh tubuh untuk membangun jaringan, menyediakan energi dan mengatur fungsi tubuh. Sementara kandungan fitokimia dimanfaatkan untuk terapeitik penyembuhan penyakit (Jaelani, 2007).

Komposisi gizi per 100 gram bagian yang dapat dimakan dari buah delima adalah energi 68 kkal, air 81 gr, protein 0,95 gr. Tabel komposisi gizi buah delima dapat dilihat pada tabel 2.2.

Tabel 2.2 Tabel Komposisi Gizi Buah Delima

Komponen Gizi	Kadar
Air (g)	80,97
Energi (kkal)	68
Protein (gr)	0,95
Karbohidrat (gr)	17,17
Serat (gr)	0,6
Kalsium (mg)	3
Besi (mg)	0,3
Magnesium (mg)	3
Fosfor (mg)	8
Kalium (mg)	259
Natrium (mg)	3
Seng (mg)	0,12
Tembaga (mg)	0,07
Selenium (mkg)	0,6
Vitamin C (mg)	6,1
Thiamin (mg)	0,03
Riboflavin (mg)	0,03
Niasin (mg)	0,596
Asam pantotenat (mg)	0,105
Vitamin B6 (mg)	0,105
Asam folat (mkg)	6
Fitosterol (mg)	17
lemak	0,3

Kandungan lainnya adalah gula inversi 20% (5-10%) di antaranya berupa glukosa), asam sitrat (0,5-3,5%), asam borat, dan asam malat. Kombinasi tersebut menyebabkan buah delima mempunyai rasa manis-asam (Astawan, 2008)

Selain kandungan gizi, delima memiliki komposisi fitokimia yang berbeda-beda pada setiap bagiannya. Komposisi fitokimia delima dapat dilihat pada tabel 2.3

Tabel 2.3 Komposisi Bahan Fitokimia Delima

Bagian Buah Delima	Bahan Fitokimia
Buah delima	glukosa, asam askorbat, <i>ellagic acid</i> , <i>gallic acid</i> , <i>caffeic acid</i> , katekin, <i>quercetin</i> , rutin; mineral, besi, asam amino, alkaloid, saponin, flavonoid
Biji delima	95% <i>punicic acid</i> ; kandungan lain termasuk <i>ellagic acid</i> ; asam lemak; sterols, alkaloid, saponin, flavonoid
Kulit delima	<i>Phenolic punicalagins</i> ; <i>gallic acid</i> asam lemak; katekin, <i>quercetin</i> , <i>rutin</i> , <i>flavonols</i> , <i>flavones</i> , <i>flavonones</i> , <i>anthocyanidins</i> , <i>steroid</i> , <i>flavonoid</i>
Daun delima	Tannins (<i>punicalin</i> , <i>punicafolin</i>); <i>flavone glycosides</i> , luteolin apigenin
Bunga delima	<i>gallic acid</i> , <i>ursolic acid</i> , <i>triterpenoids</i> ,
Akar delima	<i>ellagitannins</i> , <i>punicalin</i> , <i>punicagin</i> , <i>piperidine</i> , <i>alkaloids</i>

Buah delima memiliki kandungan utama berupa polifenol dalam bentuk flavonoid (flavonols dan antosianin), *hydrolyzable tannins* (*ellagitannins* dan *gallotannins*) dan *condensed tannins* (*proanthocyanidins*) (Lansky, 2007). Polifenol bersifat bakteriostatik pada 0,01%-1% dan pada kadar 1,6% mampu bersifat bakteriosidal. Fenol bekerja dengan cara mengendapkan protein dan menambah permeabilitas membran sel. Pengendapan protein dapat mengakibatkan terganggunya metabolisme dan aktivitas pembentukan sel bakteri yang berujung pada kerusakan sel bakteri. Kerusakan sel bakteri yang terjadi

dapat menghambat pertumbuhan bakteri atau dapat membunuh bakteri (Kurniawati, 2003; Isnawati dan Soediro, 2003; Tayoh, 2006).

Flavonoid merupakan golongan terbesar fenol. Cara kerja flavonoid sebagai antibakteri dibagi menjadi 3 yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel dan menghambat metabolisme energi. Penghambatan sintesis asam nukleat dengan cara menumpuk basa asam nukleat melalui dihidroksilasi ikatan hidrogen yang menghambat pembentukan DNA dan RNA. Letak gugus hidroksil di posisi 2', 4' atau 2' 6' dihidroksilasi pada cincin B dan 5,7 dihidroksilasi pada cincin A merupakan aktivitas penting pada antibakteri flavonoid. Interaksi antara flavonoid dan DNA bakteri dapat merusak permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom dan lisosom (Cushnie *et al*, 2005). Dalam fungsinya menghambat fungsi membran sel, flavonoid membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut sehingga membran menjadi rusak dan senyawa intraseluler keluar (Nuria *et al*, 2009). Dalam penelitian lain disebutkan bahwa mekanisme flavonoid menghambat membran sel dengan mengganggu permeabilitas membran dan menghambat ikatan enzim seperti ATPase dan fosfolipase (Cushnie *et al*, 2005). Flavonoid menghambat metabolisme energi dengan menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri. Flavonoid menghambat pada sitokrom C reduktase sehingga pembentukan metabolisme terhambat (Li *et al*, 2003).

Tanin termasuk dalam golongan polifenol dalam buah delima juga memiliki peran sebagai antibakteri, yaitu dengan memprepitasi protein, berikatan dengan membran sel, inaktivasi enzim dan inaktivasi fungsi materi genetik., menginaktifkan adhesin sel mikroba, dan mengganggu transport protein pada lapisan dalam sel. Tanin dapat mempengaruhi polipeptida dinding sel sehingga pembentukan dinding sel menjadi kurang sempurna yang mengakibatkan lisis karena terjadinya tekanan osmotik maupun fisik. Selain itu, tanin juga mampu menghambat enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase sehingga sel bakteri tidak dapat terbentuk (Hashem dan El Kiey, 2002; Ajizah, 2004)

Saponin memiliki zat aktif permukaannya mirip detergen yang mengakibatkan turunnya tegangan permukaan dinding sel bakteri dan merusak

permeabilitas membran. Saponin berdifusi melalui membran luar dan dinding sel dan mengikat membran sitoplasma sehingga mengganggu kestabilan membran sel (Cavalieri *et al*, 2005; Nuria *et al*, 2009). Dua mekanisme antibakteri alkaloid yaitu mengganggu komponen penyusun peptidoglikan yang mengakibatkan lapisan dinding sel tidak terbentuk utuh dan dengan menghambat enzim topoisomerase bakteri (Cowan, 1999; Karou *et al*, 2005). Mekanisme antibakteri steroid yaitu dengan menghambat dengan cara berinteraksi dengan membran sel sehingga menyebabkan kebocoran pada liposom (penyusun dinding sel bakteri) (Shihabudeen, 2010)

2.1.4 Manfaat Delima (*Punica granatum L*)

Punica granatum atau yang lebih dikenal dengan nama delima merupakan salah satu tanaman yang digunakan sebagai obat oleh masyarakat. Secara tradisional buah yang ditumbuk dan diseduh dengan air berkhasiat mengobati diare, sementara air rebusan buah dan kulit buah delima biasa digunakan sebagai obat kumur dan untuk mengatasi keputihan (Soemiati dan Berna, 2002).

Beberapa penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa delima berperan penting dalam kesehatan gigi dan mulut. Obat kumur yang mengandung delima mampu menghambat timbulnya plak dan kalkulus dengan cara menghambat aktivitas mikroorganisme penyebab plak. Ekstrak delima mampu mencegah perlekatan antara mikroorganisme dan permukaan gigi dengan cara mencegah *Streptococcus* memproduksi polisakarida ekstra sel yang lengket sehingga bakteri tidak dapat menempel satu sama lain dan tidak mampu menempel pada permukaan gigi (Kukreja, 2012).

Kandungan flavonoid polifenol dalam delima mampu mencegah gingivitis dengan menurunkan stres oksidatif, sebagai antioksidan, antinflamasi dan antibakteri. Pada pasien periodontitis kronis, ekstrak delima efektif mengurangi tanda-tanda inflamasi dan menghambat tiga bakteri utama penyebab periodontitis, yaitu *P. Intermedia*, *P. Gingivalis* dan *A. Actinomycetemcomians* serta meningkatkan kadar antioksidan dalam tubuh (Tanushree *et al*, 2014, Carranza, 2002).

Ekstrak delima diketahui mempercepat penyembuhan luka. Kandungan tannin dan polifenolnya meningkatkan proliferasi dan migrasi fibroblast, pembentukan kolagen serta angiogenesis (Prasad, 2014). Efek anestetik juga ditemukan dalam ekstrak delima. Ekstrak kulit delima 80% menurunkan releks muntah pada tonsil sebanyak 92,5% dan palatum lunak sebanyak 88%. Pada pemberian gel ekstrak delima 10% efisien untuk menurunkan nyeri *reccurent aphaltous stomatitis* (Prasad, 2014)

Studi epidemiologi menunjukkan bahwa delima merupakan “*true antibiotics*”. Alasan paling penting delima dianggap sebagai “*true antibiotics*” adalah ekstrak delima mampu membunuh bakteri resisten antibiotik karena dibutuhkan beberapa dekade bagi bakteri untuk bermutasi dan resisten terhadap ekstrak delima (Lalwani et al, 2014). Selain biaya yang murah, delima tidak mempunyai efek samping (Lalwani et al, 2014). Penelitian pada hewan coba dengan dosis yang biasa dikonsumsi masyarakat tidak menunjukkan efek toksik. Pemberian tablet ekstrak delima hingga 1420 mg/hari juga tidak berpengaruh pada fungsi hati maupun ginjal manusia (Prasad, 2014).

2.1.5 Buah Delima Putih (*Punica granatum L*)

Buah delima putih (*Punica granatum L*) memiliki karakteristik fenotip berupa bunga berwarna putih kekuningan. Warna kulit buah bervariasi dari hijau menjadi berwarna kekuningan selama masa perkembangan, sementara warna biji delima tetap berwarna putih. Biji yang telah matang penuh berwarna putih dengan kulit yang berwarna putih kecoklatan akibat terbakar sinar matahari ringan. Daun buah delima putih berwarna hijau, berbeda dengan buah delima merah yang memiliki bercak kemerahan pada daunnya. Semua fenotip yang ada pada buah delima putih menunjukkan bahwa buah delima putih tidak memiliki antosianin sebagai zat yang memberi warna pada tanaman. Ketidakhadiran zat pigmen antosianin pada buah delima putih disebabkan karena ada mutasi gen pada biosintesis antosianin. Ketidakhadiran antosianin pada buah delima putih tidak lantas membuat buah delima putih disebut albino karena buah delima putih masih memiliki zat pigmen lain seperti klorofil, karotenoid dan beberapa flavonoid.

Buah delima putih meski tidak memiliki kandungan antosianin namun kandungan kulit buah delima putih memiliki kaempferol, kuersetin, katekin dan turunannya dalam jumlah yang lebih tinggi dibandingkan buah delima merah (Simhon *et al*, 2015)

2.2 Bakteri Rongga Mulut

Rongga mulut manusia mengandung kurang lebih 150 miliar organisme permilimeter dari saliva yang tidak terstimulasi atau sekitar 100 juta bakteri per gram pada debris basah dalam krevikular gingival. Beragam dan banyaknya jumlah bakteri yang menghuni rongga mulut disebabkan karena dua hal yakni masuknya bakteri yang berasal dari udara, air, makanan dan lingkungan lain secara terus menerus melalui mulut serta karena anatomi rongga mulut yang unik yang memungkinkan bakteri untuk tumbuh dan berkembang (Barid *et al*, 2007).

Berikut data distribusi bakteri pada rongga mulut yang disajikan dalam persentase pada tabel 2.4.

Tabel 2.4 Identifikasi Spesies Bakteri Rongga Mulut

Jenis Bakteri	Saliva	Mukosa bukal	dorsal lidah	plak koronal	Krevikular gingival
<i>Streptococcus mutans</i>	<1	<1	<1	0-50	-
<i>Streptococcus salivarius</i>	20	11	20	<0,5	<0,5
<i>Streptococcus sanguis</i>	8	11	4	15	8
<i>Gram positive filaments</i>	15	-	20	42	35
<i>Lactobacillus sp</i>	10	1	12	2	10
<i>Veilonella sp</i>	<1	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5
<i>Neisseria sp</i>	-	-	4	5	5
<i>Bacteroides oralis</i>	<1	<1	<1	<1	<6
<i>Bacteroides melanogenicus</i>	-	<0,5	<0,5	1	5
<i>Vibrio sputorum</i>	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	2
<i>Sphirochetes fusobacterium</i>	<1	-	1	4	3

Sumber: Barid, 2007

Keragaman bakteri dalam rongga mulut biasanya bersifat patogen oportunistik yang artinya bakteri semula bersifat tidak patogen, namun dapat berubah menjadi patogen apabila mekanisme pertahanan host yang tidak mumpuni.

2.3 Mekanisme Antimikroba

Antimikroba adalah agen yang digunakan untuk membunuh atau menekan pertumbuhan mikroorganisme (Dorland, 2010). Obat yang digunakan sebagai antimikroba harus memiliki sifat toksisitas selektif setinggi mungkin, yang berarti obat tersebut toksik untuk mikroba namun aman untuk host (Brooks *et al*, 2007).

Secara umum mekanisme kerja antibakteri terdiri dari beberapa mekanisme, yaitu:

a. Merusak dinding bakteri,

Dinding sel bakteri berfungsi untuk mempertahankan bentuk sel bakteri dan melindungi membran protoplasma di bawahnya. Perusakan dinding sel bakteri dapat dilakukan dengan menghambat sintesis dinding bakteri atau menyebabkan trauma saat sel telah terbentuk. Dasar toksisitas selektif dari agen mikroba ini berdasarkan struktur dinding sel bakteri yang memiliki peptidoglikan dan dinding sel host yang tidak memiliki peptidoglikan. Sehingga obat yang bekerja dengan cara ini relatif aman bagi sel hospes (Brooks *et al.*, 2007; Dzen, 2003).

b. Meningkatkan permeabilitas bakteri.

Membran sel berfungsi untuk mempertahankan bahan-bahan dalam sel serta mengatur aliran keluar masuknya bahan-bahan lain. Permeabilitas membran sel bakteri yang terganggu akan dapat menyebabkan makromolekul dan ion akan terlepas dari bakteri dan bahan-bahan antimikroba dari luar akan masuk ke dalam sel sehingga bakteri akan mengalami kematian. Peningkatan permeabilitas bakteri dapat terjadi akibat rusaknya ikatan hidrolis dari komponen penyusun membran sel seperti protein dan fosfolipida serta larutnya komponen-komponen yang berikatan secara hidrolis (Brooks *et al*, 2007).

c. Mengganggu jalannya sintesis protein

Protein di dalam tubuh bakteri diperlukan untuk membentuk RNA yang berfungsi dalam metabolisme dan replikasi bakteri, sehingga sintesis protein yang terganggu akan mengakibatkan protein yang non fungsional, sehingga bakteri tidak dapat menjalankan proses metabolisme dan replikasi yang dapat menyebabkan kematian. Dasar toksisitas selektif ini berdasarkan struktur ribosom (70s) dan struktur ribosom sel eukariot atau sel host yaitu 80s. (Brooks *et al*, 2007).

d. Penghambatan produksi asam nukleat.

Antimikroba golongan ini bekerja dengan cara menghambat sintesis mRNA pada proses transkripsi atau menghambat proses replikasi DNA pada proses pembelahan sel. (Brooks *et al*, 2007).

e. Antagonis metabolit

Aktivitas enzim dihambat oleh senyawa yang memiliki struktur mirip dengan substrat asalnya. Senyawa penghambat bergabung dengan enzim sedemikian rupa sehingga dapat mencegah reaksi enzim dengan substrat dan reaksi katalitik (Dzen *et al*, 2003)

Secara umum, sebaiknya obat antimikroba memiliki sifat-sifat seperti:

- a. Menghambat atau membunuh patogen tanpa merusak hospes (toksisitas selektif)
- b. Bersifat bakterisidal dan bukan bakteriostatik.
- c. Tidak menyebabkan resistensi pada bakteri.
- d. Berspektrum luas.
- e. Tidak bersifat alergenik atau tidak menimbulkan efek samping apabila digunakan dalam jangka waktu yang lama.
- f. Tetap aktif dalam plasma, cairan tubuh dan eksudat.
- g. Larut dalam air dan stabil.
- h. Kadar bakterisidal di dalam tubuh cepat tercapai dan bertahan untuk waktu yang lama (Dzen *et al*, 2003).

2.4 Obat Kumur

Obat kumur adalah larutan yang digunakan untuk berkumur dengan berbagai tujuan, antara lain untuk membunuh bakteri, menyegarkan nafas, mempunyai efek terapi dan mencegah karies (Akande *et al*, 2004). Penggunaan obat kumur merupakan salah satu upaya tambahan untuk memberikan efektivitas pembersihan rongga mulut yang maksimal karena upaya pencegahan karies hanya dengan cara mekanis seperti penggunaan sikat gigi dan *dental floss* tidak menjamin mampu menghilangkan semua plak penyebab karies, terutama di daerah yang sulit dijangkau. Penggunaan obat kumur, selain mampu lebih banyak menjangkau lebih banyak permukaan gigi, juga dapat membunuh bakteri pada saliva dan jaringan lunak di rongga mulut yang memungkinkan menyebar ke permukaan gigi (Louis *et al*, 2007; Sari *et al*, 2014).

Mekanisme obat kumur dalam mengeliminasi bakteri rongga mulut dilakukan dengan tiga cara, yaitu dengan menghambat metabolisme sel, menghambat reproduksi bakteri dan mengakibatkan kematian sel. Menurut Tjay dan Rahardja (2002) efektivitas obat kumur dipengaruhi oleh konsentrasi bahan aktif dalam larutan, suhu larutan, pH rongga mulut, waktu kontak antara bahan aktif dan bakteri, kemampuan organisme untuk bertahan serta adanya bahan organik lain yang dapat menghambat kontak obat kumur dengan bakteri. Sementara menurut Louis (2007) keefektifan obat kumur dipengaruhi oleh formulasi obat kumur, konsentrasi bahan aktif, dosis, *substantivity*, pelaksanaan serta interaksi dengan zat kimi lain pada rongga mulut.

2.5 Chlorhexidine

Chlorhexidine merupakan bahan antiplak yang paling baik dan paling sering digunakan sebagai obat kumur antiplak. Meski begitu, *chlorhexidine* memiliki efek samping dalam penggunaannya. Penggunaan *chlorhexidine* dua kali sehari terbukti mampu menurunkan jumlah pembentukan plak. *Chlorhexidine* efektif untuk penggunaan selama dua tahun atau lebih. Namun pada keadaan lain, pembentukan plak kembali cepat secara normal setelah pemakaian *chlorhexidine* dihentikan. *Chlorhexidine* sering digunakan sebagai obat kumur profilaksis dalam

tindakan bedah, pasca bedah serta untuk merawat kesehatan gigi dan mulut pasien penderita disabilitas (Gupta, *et al*, 2012).

2.5.1 Farmakologi *chlorhexidine*

Chlorhexidine digolongkan dalam grup *polybiquinida* atau *bisquanida* yang berspektrum luas, bersifat bakteriostatik maupun bakteriosidal. *Chlorhexidine* memiliki sifat antimikroba yang baik terhadap bakteri gram positif, bakteri gram negatif, spora bakteri, virus lipofilik, jamur dan dermatofit. Formula *chlorhexidine* terdiri dari 2-symmetric 4-chlorophenyl dan 2 biquanid yang dihubungkan oleh rantai pusat heksametilen. *Chlorhexidine* bersifat basa kuat dan paling stabil dalam bentuk garam *chlorhexidine* diglukonat yang larut dalam air (Balagopal dan Arjunker, 2013).

Chlorhexidine memiliki daya antimikroba yang baik. *Chlorhexidine* bekerja dengan cara meningkatkan permeabilitas membran sel mikroorganisme dan mengkoagulasi makromolekul sitoplasma. *Chlorhexidine* juga mampu membentuk lapisan pada jaringan lunak dan keras sehingga memungkinkan menghasilkan efek antibakteri yang lebih lama (Balagopal dan Arjunker, 2013). Setelah sekali berkumur, terjadi daya antibakteri selama 5 jam dan menekan pertumbuhan bakteri saliva selama 12 jam (Gupta *et al*, 2012).

2.5.2 Metabolisme dan Toksikologi

Chlorhexidine memiliki toksisitas yang rendah. Dalam penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa saat berkumur menggunakan *chlorhexidine*, *chlorhexidine* tidak berpenetrasi pada epitel rongga mulut. Jika *chlorhexidine* tertelan maka *chlorhexidine* akan berikatan pertama kali dengan mukosa saluran pencernaan. Absorpsi *chlorhexidine* pada saluran pencernaan rendah dan akan dimetabolisasi pada ginjal dan hati. Obat dieksresi melalui tinja (Dutt *et al*, 2014).

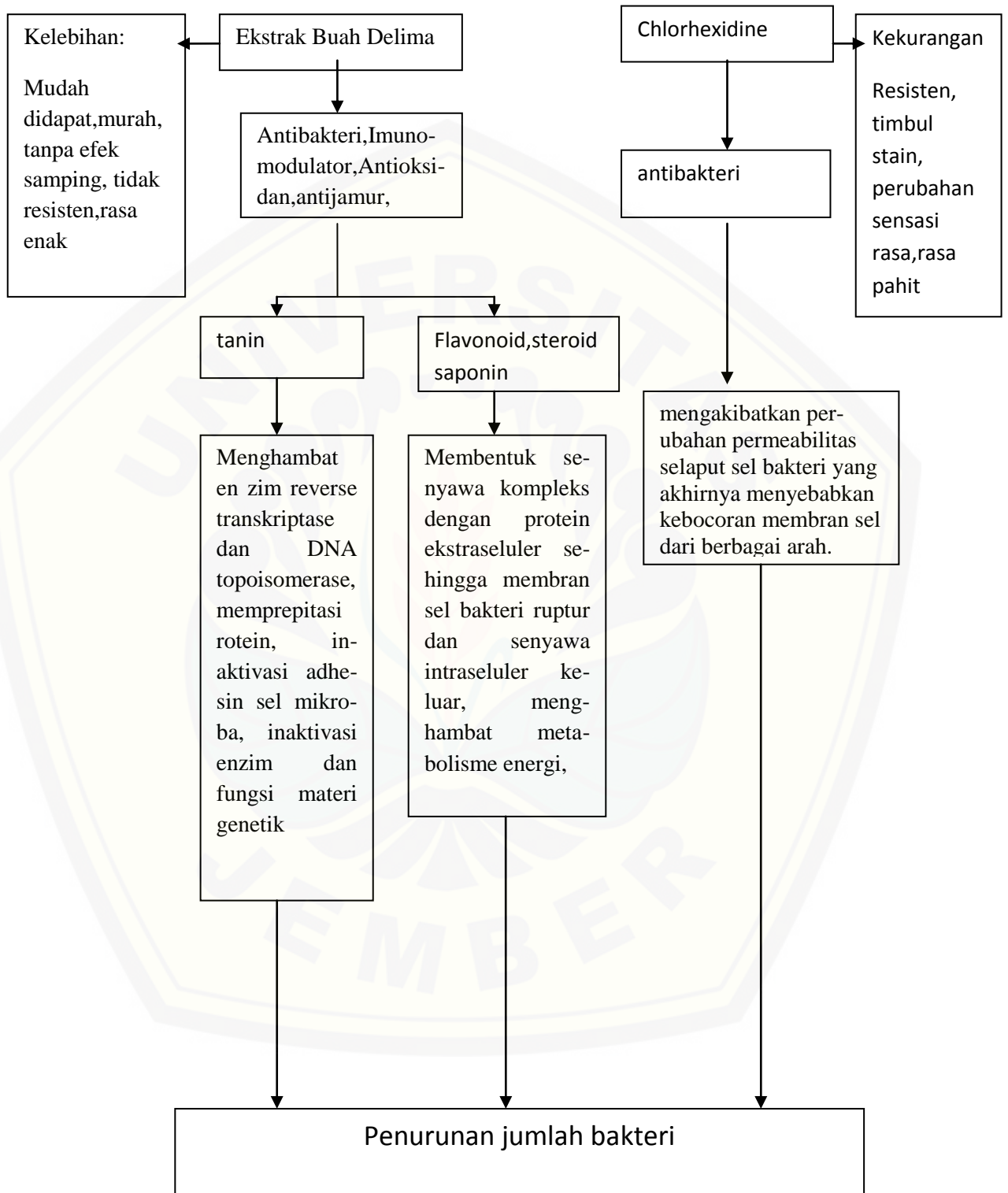
2.5.3 Efek samping

Efek samping *chlorhexidine* antara lain berupa resistensi bakteri, rasa pahit, perubahan keseimbangan flora rongga mulut, gangguan persepsi rasa lidah, pembengkakan kelenjar parotis, dan lesi deskuamasi serta stain kuning sampai coklat yang ditemui pada gingiva, lidah dan interproksimal gigi. Etiologi stain berhubungan dengan diet. Stain dibentuk melalui pengendapan FeS. Sulfur merupakan hasil pengendapan grup thiol dari denaturasi protein dan Fe berasal dari diet (Parwani, 2013).

2.5 Hipotesis

Obat kumur ekstrak buah delima putih memiliki efektivitas yang setara dengan *Chlorhexidine* dalam menurunkan jumlah koloni bakteri rongga mulut.

2.6 Kerangka Konsep



Gambar 2.2 Kerangka Konsep

2.6.1 Penjelasan

Buah delima putih memiliki berbagai macam keuntungan, antara lain mudah didapat, harga terjangkau, tanpa efek samping dan memiliki rasa yang enak. Buah delima putih memiliki berbagai ragam bahan fitokimia seperti tanin, flavonoid, steroid dan alkaloid. Bahan-bahan fitokimia yang terkandung dalam buah delima memiliki berbagai mekanisme antara lain menghambat enzim reverse transkriptase dan DNA topoisomerase, memprepitasi protein, inaktivasi adhesin sel mikroba, inaktivasi enzim dan fungsi materi genetik, membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler yang mengakibatkan membran sel bakteri ruptur dan senyawa intraseluler keluar, menghambat metabolisme energi yang dapat menurunkan jumlah koloni bakteri rongga mulut. *Chlorhexidine* bekerja dengan cara mengakibatkan perubahan permeabilitas selaput sel bakteri yang akhirnya menyebabkan kebocoran membran sel dari berbagai arah untuk menurunkan jumlah koloni bakteri rongga mulut. *Chlorhexidine* memiliki berbagai macam kekurangan, antara lain rasa yang tidak enak, resistensi bakteri, timbul stain dan perubahan sensasi rasa.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental laboratoris.

3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang dipilih adalah *pre and post test control group design*, yaitu dengan melakukan pengukuran atau observasi sebelum dan setelah perlakuan diberikan (Notoatmodjo, 2005).

3.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Mei tahun 2017 di laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel bebas

1. Ekstrak delima putih (*Punica granatum L*)

3.4.2 Variabel Terikat

1. Jumlah koloni bakteri rongga mulut.

3.4.3 Variabel terkontrol

1. Kriteria sampel penelitian.
2. Alat dan bahan.
3. Sterilisasi alat dan bahan.
4. Konsentrasi ekstrak buah delima putih 12,5 mg/ml

3.5 Populasi dan Sampel

3.5.1 Besar Sampel

Besar sampel yang digunakan dalam penelitian ini dihitung menggunakan rumus Federer sebagai berikut :

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

Keterangan :

t : Jumlah kelompok uji

n : Besar sampel per kelompok

penghitungan besar sampel untuk masing-masing kelompok

$$(3-1)(n-1) \geq 15$$

$$(2)(n-1) \geq 15$$

$$2n-2 \geq 15$$

$$2n \geq 17$$

$$n \geq 8,5$$

Besar sampel ideal tiap kelompok menurut hitungan rumus Federer di atas adalah 9 orang atau lebih.

3.5.2 Sampel Penelitian

Sampel penelitian ini adalah populasi yang memenuhi kriteria inklusi dan sebagai berikut:

a. Kriteria inklusi

- 1) berusia 18-35 tahun;
- 2) berjenis kelamin laki-laki;
- 3) bersedia mengisi *informed consent*;
- 4) tidak menderita penyakit sistemik;
- 5) tidak mengonsumsi obat antibakteri ;
- 6) tidak memakai protesa atau alat ortodonsia;
- 7) tidak menggunakan obat yang mempengaruhi produksi saliva;
- 8) tidak merokok;
- 9) memiliki kriteria OHI-S sedang.

b. Kriteria eksklusi

- 1) Tidak patuh terhadap prosedur perlakuan;
- 2) Sakit saat dilakukan penelitian.

3.6 Definisi Operasional

1. Efektivitas

Efektivitas adalah kemampuan obat kumur dalam menurunkan jumlah koloni bakteri rongga mulut.

2. Obat Kumur *Chlorhexidine*

Obat kumur *chlorhexidine* cairan yang digunakan untuk berkumur yang mengandung derivat bisquanid dalam bentuk glukonat sebesar 0,2% untuk menurunkan jumlah koloni bakteri rongga mulut.

3. Obat kumur ekstrak buah delima putih

Obat kumur ekstrak buah delima putih adalah cairan yang digunakan untuk berkumur, mengandung ekstrak buah delima putih 12,5 mg/ml untuk menurunkan jumlah koloni bakteri rongga mulut. Buah delima putih (*Punia granatum L*) diperoleh dari daerah Laweyan, Surakarta, Jawa Tengah

4. Jumlah koloni bakteri rongga mulut

Jumlah kolon bakteri rongga mulut adalah bakteri yang diambil dari saliva kemudian dibiakkan dalam media agar BHIA dan dihitung jumlah koloninya menggunakan *Colony counter*.

5. Ekstrak buah delima putih

Ekstrak yang berasal dari seluruh bagian buah delima yang diekstraksi dengan metode maserasi.

3.7 Alat dan Bahan

3.7.1 Alat Penelitian

1. petridish (cawan petri) Duran group diameter 100 x 20 mm, German)
2. *autoclave* (*Steam sterilizer ALP*) Model CL- 32 L, Japan)
3. inkubator (Labtech Tipe LSI -3016 A, Korea)
- 4.. Tabung reaksi (Pyrex, Japan) dan rak tabung reaksi
- 5 Gelas ukur kaca ukuran 100 ml dan 25 ml (Pyrex, japan)
6. Tabung erlenmeyer ukuran 250 ml, 500 ml (Duran, German)
7. *Beaker glass* ukuran 100 ml (Pyrex, Japan)
8. botol kaca
9. rotavapor heidolph
10. pipa kapiler
- 11.. micro pipet
12. spidol
- 13.. *Colony counter IUL instrument*, flash and Go Nr. 10006021/227
- 14.. kertas saring
15. *stopwatch*
16. tabung penampung steril
17. pipet ukur
18. tabung reaksi

3.7. Bahan penelitian

1. etanol 96%
2. aquades steril, botol kaca 500 ml
3. Ekstrak buah delima
4. Chlorhexidine Digluconate 0,2%
5. media BHIA
6. TEA (*Triethanolamine*)
7. aspartame

3.8 Prosedur Penelitian

3.6.1 Tahap Persiapan

a. Membuat Simplisia Buah Delima

Kulit buah delima dicuci dan dipotong setebal 0,25 dan 0,50 cm kemudian biji dan kulit delima dikeringkan pada suhu 40-50° C menggunakan pengering udara alir panas selama 2-3 jam. Pengeringan ini bertujuan untuk mengurangi kadar air dan mencegah tumbuhnya mikroba. Setelah kering, buah delima digiling dan diayak, kemudian disimpan dalam kantong plastik bersih dan kering.

b. Membuat Ekstrak Buah Delima

Simplisia dimasukkan pada botol kaca dan ditambahkan pelarut berupa etanol 96% secara berlebihan, dengan perbandingan 1:7,5. Setelah 3 hari, dilakukan penyaringan dengan kertas saring dan filtrat yang diperoleh dimasukkan ke dalam cawan penguap. Selanjutnya filtrat dimasukkan ke dalam evaporator *drying oven vacuum* pada suhu 60-80 C selama 3-4 jam hingga alkohol habis dan menjadi ekstrak buah delima.

c. Membuat Obat Kumur Ekstrak Buah Delima

Konsentrasi obat kumur yang digunakan adalah sebesar 12,5 mg/ml. Adapun formulasi obat kumur buah delima terdiri dari ekstrak buah delima putih 1,875 gr, aquadest steril 150 ml, TEA (trietanolamin) 200 mg, aspartam 230 mg (Pareira,2014).

Cara membuat obat kumur ekstrak buah delima putih yaitu ekstrak buah delima putih 1,875 gr dimasukkan pada *beaker glass*. kemudian ditambahkan dengan TEA 200gr dan diaduk hingga larut. Setelah larut, ditambahkan aquadest steril sebanyak 150 ml dan aspartam 230 mg kemudian diaduk hingga semua bahan larut dan homogen.

3.8.2 Tahap Perlakuan

a. Sterilisasi

Semua alat yang digunakan dibersihkan dan disterilkan terlebih dahulu dalam *autoclave* selama 15 menit dengan suhu 100 C.

b. Pengambilan sampel

Subyek penelitian diminta untuk tidak makan dan minum selama 1 jam sebelum perlakuan. Subyek dibagi menjadi 3 kelompok besar yaitu K0, yaitu kelompok yang berkumur dengan air steril, K1 adalah kelompok yang berkumur dengan obat kumur ekstrak buah delima putih dan K2, yaitu kelompok yang berkumur dengan *chlorhexidine* yang terdiri dari 10 orang pada masing-masing kelompok. Kemudian setiap sampel diinstruksikan menampung saliva sebelum berkumur pada pot obat. Selama pengambilan saliva, kepala harus sedikit condong ke depan dan mulut harus tetap terbuka dan saliva dibiarkan mengalir ke dalam wadah selama 1 menit. Selanjutnya sampel diinstruksikan untuk berkumur dengan cairan kumur yang telah disediakan sebanyak 10 ml dan digunakan selama 60 detik. Sampel berkumur dengan cara menggerakkan cairan kumur dengan kuat menggunakan gerakan otot lidah, bibir dan pipi pada waktu rongga mulut dalam keadaan tertutup. Selanjutnya sampel kumur dibawa ke laboratorium dengan cara meletakkan tabung yang berisi saliva ke dalam termos es.

c. Pengenceran saliva

Saliva diencerkan sampai 10^{-5} kali dengan cara mempersiapkan 5 buah tabung reaksi yang berisi 9 ml aquadest steril. Saliva diambil sebanyak 1 ml dan dimasukkan dalam tabung pertama dan dicampur hingga homogen. Kemudian dari tabung pertama diambil 1 ml, dimasukkan ke tabung kedua dan dicampur homogen. hal yang sama dilanjutkan hingga tabung ke lima

d. Penanaman Bakteri Saliva

Setelah dilakukan pengenceran, maka dilakukan penanaman dengan *metode pour plate* dengan menuangkan media BHIA dalam petridish lalu meneteskan sampel sebanyak 0,1 ml dan menggerakkan petridish sehingga sampel tercampur merata. Kemudian diinkubasi selama 24 jam dalam suhu 37°C.

e. Pengamatan dan Penghitungan

Setelah 24 jam maka dilakukan penghitungan dengan *colony counter*. Media yang sudah ditumbuhi koloni bakteri diletakkan secara terbalik pada alat kemudian alat dihidupkan. Pada *colony counter* akan terlihat kotak-kotak kuadaran yang terdiri dari 64 kotak lalu dilakukan penghitungan tiap-tiap koloni sebanyak 30 kotak tanpa arsiran secara acak dari keempat kuadaran masing-masing sebanyak 7-8 kotak secara merata

		2	3	4	5		
		1			6		
30			7	8			9
28	29					10	11
25	26	27			12	13	14
	24		16	17		15	
		18			19		
		20	21	22	23		

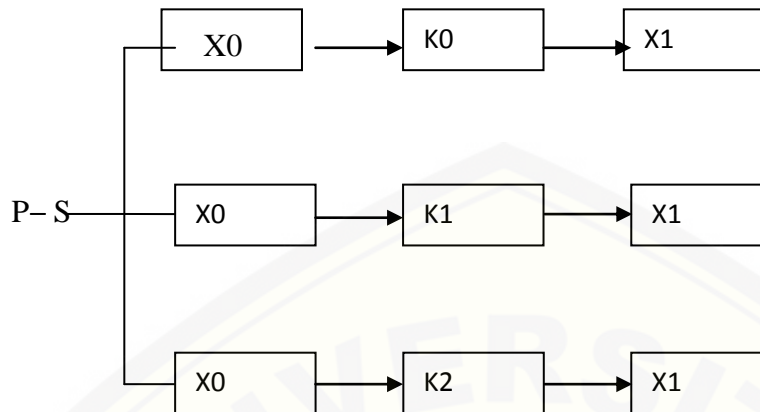
Gambar 3.1 Kotak Kotak penghitungan pada colony counter (Alcama,1983)

Keterangan : kotak no 1-30 merupakan daerah perhitungan jumlah koloni

3.9 Analisis Data

Data hasil penelitian akan disajikan dalam bentuk tabel, kemudian dilakukan analisis statistik. Data hasil penelitian diuji normalitas data dengan menggunakan *shapiro wilk* untuk mengetahui data berdistribusi normal atau tidak. Data tidak berdistribusi normal maka dilanjutkan dengan uji non parametrik *Kruskal Wallis* untuk mengetahui ada beda pada ketiga kelompok, kemudian dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok.

3.10 Rancangan penelitian



KETERANGAN

P = Populasi

S = Sampel

K0 = Berkumur dengan air

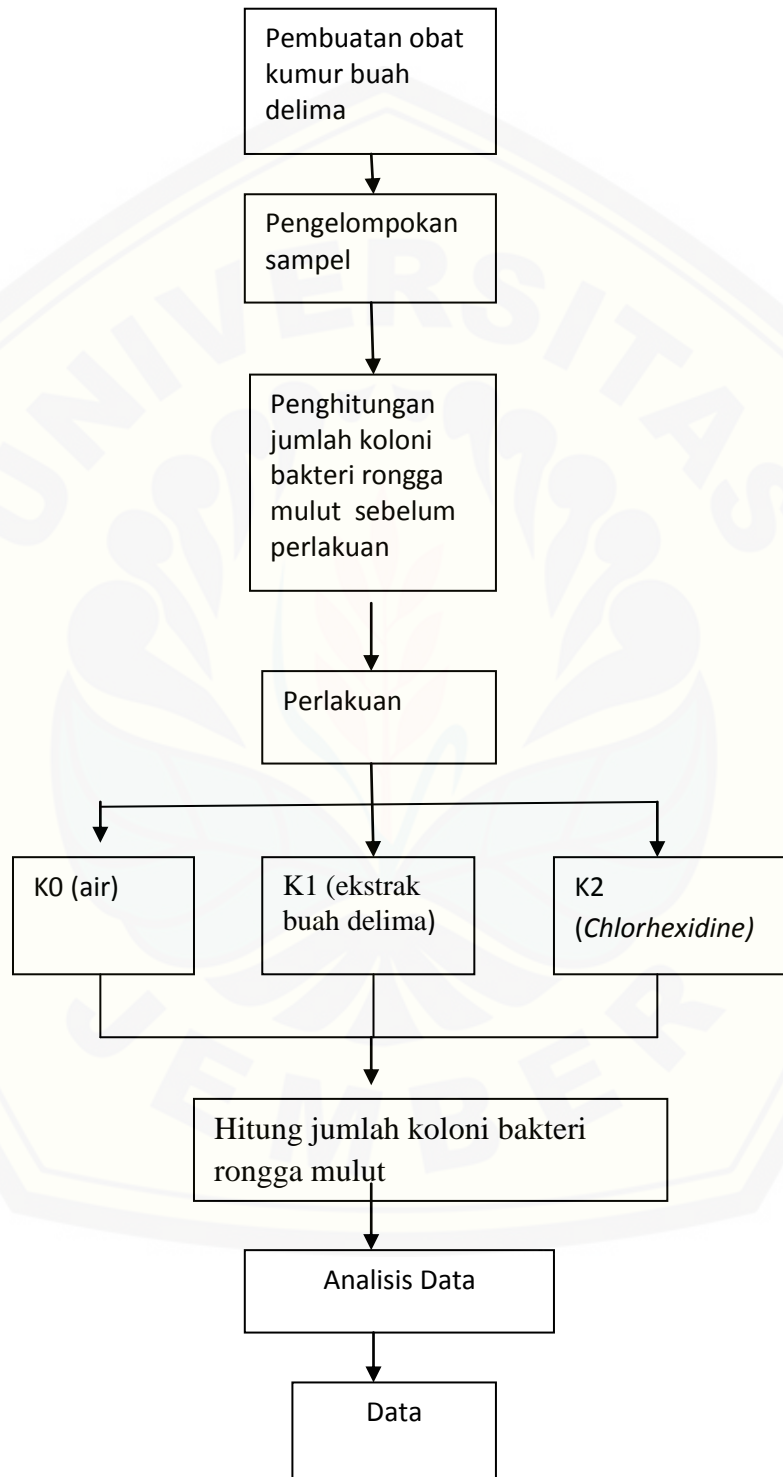
K1 = Berkumur dengan ekstrak buah delima

K2 = Berkumur dengan klorheksidin

X0 = Sebelum perlakuan

X1 = 15 menit setelah berkumur

3.11 Alur Penelitian



Gambar 3.2 Alur Penelitian



BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat ditarik kesimpulan bahwa obat kumur ekstrak buah delima putih memiliki efektivitas yang setara dengan *chlorhexidine* dalam menurunkan jumlah koloni bakteri rongga mulut.

5.2 Saran

Diperlukan penelitian lebih lanjut tentang formulasi obat kumur untuk menghasilkan obat kumur yang lebih baik