



**DAYA ANTIBAKTERI EKSTRAK MINYAK ATSIRI RIMPANG
TEMULAWAK (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) TERHADAP
PERTUMBUHAN *Porphyromonas gingivalis***

SKRIPSI

Oleh

Fiolina Fajar Febrianingrum

NIM 151610101121

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS JEMBER

2019



**DAYA ANTIBAKTERI EKSTRAK MINYAK ATSIRI RIMPANG
TEMULAWAK (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) TERHADAP
PERTUMBUHAN *Porphyromonas gingivalis***

SKRIPSI

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

Oleh

Fiolina Fajar Febrianingrum

NIM 151610101121

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER**

2019

PERSEMBAHAN

Bismillahirrohmaanirrohim, atas izin Allah SWT, dan dengan rasa syukur serta kerendahan hati, saya persembahkan skripsi ini kepada :

1. Kedua orangtua saya, Ibu Sujarni dan Ayah Hadi Slamet;
2. Kakak-kakak saya Evan Purwanarendra dan Fatra Adinata;
3. Dosen pembimbing dan dosen penguji saya yang selalu menjadi panutan;
4. Guru-guru saya yang telah memberikan bekal ilmu dan pendidikan sejak playgroup hingga perguruan tinggi;
5. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

MOTTO

“Uthlubul ilma minal mahdi ilal lahdi”

(Carilah Ilmu mulai dari tempat ayunan bayi sampai ke liang lahad)

Hadist

(Hadist Maudhu’^{*)})

Berdoalah (mintalah) kepadaKu, niscaya Aku kabulkan untukmu.

(Q.S Al-Mukmin : 60)^{**)}

Karena sesungguhnya sesudah kesulitan itu atau kesukaran itu ada kelapangan yakni kemudahan, sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan

(Q.S Al Insyirah : 5-6)^{**)}

^{*)} Hadist Maudhu’

^{**)} Departemen Agama Republik Indonesia. 2013. *Al- Qur’an dan Terjemahannya*. Solo : PT Tiga Serangkai Pustaka Mandiri.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Fiolina Fajar Febrianingrum

NIM : 151610101121

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “Daya Antibakteri Ekstrak Minyak Atsiri Rimpang Temulawak (*Curcuma xantorrhiza* Roxb.) terhadap Pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis* ” adalah benar-benar hasil karya saya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 19 Juni 2019

Yang menyatakan,

(Fiolina Fajar Febrianingrum)

NIM 151610101121

SKRIPSI

**DAYA ANTIBAKTERI EKSTRAK MINYAK ATSIRI RIMPANG
TEMULAWAK (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) TERHADAP
PERTUMBUHAN *Porphyromonas gingivalis***

Oleh :

Fiolina Fajar Febrianingrum

NIM 151610101121

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : drg. Pujiana Endah Lestari, M.Kes.

Dosen Pembimbing Pendamping : drg. Happy Harmono, M.Kes.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Daya Antibakteri Ekstrak Minyak Atsiri Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) terhadap Pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*” telah di uji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Gigi pada:

Hari, tanggal : Selasa, 14 Mei 2019

Tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Penguji Ketua,

Penguji Anggota,

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

drg. Depi Praharani, M.Kes
NIP 196801221997022001

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

drg. Pujiana Endah Lestari, M.Kes
NIP19760809200512002

drg. Happy Harmono, M.Kes
NIP 196709011997021001

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Kedokteran Gigi
Universits Jember

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

RINGKASAN

Daya Antibakteri Ekstrak Minyak Atsiri Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) terhadap Pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*; Fiolina Fajar Febrianingrum Hadi, 151610101121; 2019: 74 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Penyakit periodontal merupakan masalah kesehatan gigi dan mulut yang memiliki prevalensi cukup tinggi di masyarakat dengan prevalensi penyakit periodontal pada semua kelompok umur di Indonesia adalah 96,58%. Penyakit periodontal dimulai dari gingivitis yang bila tidak dirawat akan berkembang menjadi periodontitis. Periodontitis merupakan peradangan pada jaringan pendukung gigi disebabkan oleh bakteri patogen pada plak yang mengakibatkan kerusakan progresif jaringan ikat periodontal dan tulang alveolar, dengan pembentukan poket, resesi gingiva, atau keduanya. *P. gingivalis* merupakan *keystone pathogen* penyebab penyakit periodontal, dimana organisme ini menjadi pusat pada proses terjadinya penyakit meskipun hanya ditemukan dalam jumlah yang relatif rendah. *P. gingivalis* paling banyak ditemukan pada periodontitis kronis dengan prevalensi sebesar 53,8% dan periodontitis agresif dengan prevalensi sebesar 79,6%

Perawatan periodontitis berupa perawatan mekanis yang mampu menghilangkan inflamasi dan mengurangi kedalaman poket. Terapi tambahan dengan pemberian antibiotik juga diperlukan untuk menunjang perawatan mekanis, hasil penelitian klinis membuktikan bahwa terapi tambahan antibiotik setelah perawatan mekanis lebih efektif dan mempercepat penyembuhan dibanding hanya perawatan mekanis. Pemberian antibiotik dalam perawatan penyakit periodontal dapat dilakukan secara lokal ataupun sistemik. Pemberian antibiotik secara lokal ke dalam poket periodontal mempunyai keuntungan dibandingkan pemberian secara sistemik. Keuntungan pemberian antibiotik secara lokal yakni mampu mengatasi konsentrasi bakteri secara langsung, mengurangi konsumsi obat secara berkesinambungan, mencegah kehilangan perlekatan klinis secara rekuren, dan dapat meminimalkan efek samping .

Salah satu antibiotik lokal yang umum digunakan yakni gel metronidazole yang terbukti efektif terhadap bakteri anaerob Gram negatif penyebab periodontitis

salah satunya *P. gingivalis*. Pasien yang memiliki hipersensivitas atau alergi terhadap gel metronidazol dikontraindikasikan menggunakan bahan ini. Mengatasi hal tersebut, perlu adanya berbagai pilihan obat dengan pengembangan antibiotik baru dari bahan-bahan herbal, salah satunya yaitu temulawak. Rimpang temulawak dilaporkan mengandung minyak atsiri yang memiliki aktivitas antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya antibakteri ekstrak minyak atsiri rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) terhadap pertumbuhan *P. gingivalis*.

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *the post test only control group design*. Penelitian ini menggunakan metode *disc-diffusion* yang terdiri dari 6 kelompok penelitian (2 kelompok kontrol dan 4 kelompok perlakuan). Kelompok kontrol terdiri dari kontrol positif (Gel Metronidazole) dan kontrol negatif (DMSO 10%+Tween 80 0,5%). Kelompok perlakuan terdiri dari konsentrasi 25%, 50%, 75%, 100%. Setiap kelompok diambil sebanyak 20 µl, lalu diteteskan pada kertas cakram dengan diameter 5 mm. Kertas cakram lalu diletakkan di atas permukaan media MH-A yang telah diinokulasi *P. gingivalis*. Petridish dimasukkan ke dalam desikator dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah 24 jam, dapat dilakukan pengukuran diameter zona hambat di sekitar cakram kertas menggunakan jangka sorong digital.

Data hasil penelitian kemudian dianalisis menggunakan uji statistik non parametrik dengan uji *Kruskal-Wallis*. Hasil uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan nilai signifikansi 0,001 ($p < 0,05$) yang dapat diartikan bahwa ada perbedaan bermakna pada kelompok penelitian, sehingga dapat dilanjutkan dengan uji lanjutan *Mann-Whitney* didapatkan perbedaan bermakna pada kelompok penelitian K-, K+, Cx25, Cx50, Cx75, Cx100 dengan kelompok penelitian lainnya, kecuali diantara kelompok minyak atsiri rimpang temulawak konsentrasi 75% dengan 100%. tidak memiliki perbedaan bermakna.

Data hasil penelitian dilakukan pengklasifikasian berdasarkan besarnya diameter zona hambatnya. Rata-rata diameter zona hambat kelompok perlakuan yaitu sebesar 8,1-10,1mm. Berdasarkan klasifikasi Ponce *et al.* (2003), termasuk ke dalam daya antibakteri dengan tingkatan sedang. Kesimpulan pada penelitian ini adalah ekstrak minyak atsiri rimpang temulawak memiliki daya antibakteri terhadap pertumbuhan *P. gingivalis*.

PRAKATA

Alhamdulillah Robbil ‘Alamiin, puji syukur kepada Allah SWT atas karunia, rahmat, nikmat, dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Daya Antibakteri Ekstrak Minyak Atsiri Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) terhadap Pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*”, sebagai salah satu persyaratan penyelesaian program sarjana (S1) Pendidikan Dokter Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

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

1. Allah SWT atas berkat rahmatNya saya dapat menyelesaikan skripsi ini;
2. Orang tua tercinta, Ibu Sujarni dan Bapak Hadi Slamet yang tidak pernah berhenti memberikan kasih sayang, doa, motivasi dukungan, dan semangat;
3. Kakak-kakak Evanh Purwanarendra; Fatra Adinata yang dengan tulus memberikan doa dan dukungan;
4. drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes., Sp. Pros selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
5. Dr. drg. IDA Susilawati, M.kes., selaku Pembantu dekan I Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
6. drg. Sri Hernawati, M.Kes., selaku Pembantu Dekan II Fakultas kedokteran Gigi universitas jember;
7. drg. Izzata Barid, M.Kes., selaku Pembantu Dekan III Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
8. drg. Pujiana Endah, M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Utama dan drg. Happy Harmono, M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;

9. drg. Melok Aris W., M.Kes. Sp. Perio selaku Dosen Penguji Ketua dan Dr. drg. Depi Praharani, M.Kes selaku Dosen Penguji Anggota yang telah memberikan kritik dan saran demi kesempurnaan skripsi ini;
10. Staf laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
11. Staf laboratorium Mesin Politeknik Jember;
12. Teman seperjuangan Iftinan, Zulfa, Haifa, Ari Intan yang selalu memberi semangat untuk menyelesaikan skripsi ini;
13. Sahabat kuliah saya Mia, Mega, Firyal, Nosya, Hanna, Erryskaa, Leni, Shela, Sania, Inge yang selalu memberi semangat, motivasi, canda, tawa agar saya mampu menyelesaikan skripsi ini;
14. Sahabat saya Artika Sari R, Rizqi Sofiana, Meylo Satria S. D, yang setia mendengarkan keluh kesahku, memberi nasehat, dan semangat.
15. Teman-teman FKG 2015 atas bantuan, kerjasama dan kebersamaannya selama ini;
16. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

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

Jember, 19 Juni 2019

Penulis

DAFTAR ISI

| | |
|--|------|
| HALAMAN JUDUL | i |
| HALAMAN PERSEMBAHAN | iii |
| HALAMAN MOTO | iv |
| HALAMAN PERNYATAAN | v |
| HALAMAN PEMBIMBINGAN | vi |
| HALAMAN PENGESAHAN | vii |
| RINGKASAN | viii |
| PRAKATA | x |
| DAFTAR ISI | xii |
| DAFTAR TABEL | xv |
| DAFTAR GAMBAR | xvi |
| DAFTAR LAMPIRAN | xvii |
| BAB 1. PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1 Latar Belakang | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah | 3 |
| 1.3 Tujuan Penelitian | 4 |
| 1.4 Manfaat Penelitian | 4 |
| BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA | 5 |
| 2.1 <i>Porphyromonas gingivalis</i> | 5 |
| 2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi | 5 |
| 2.1.2 Pertumbuhan..... | 6 |
| 2.1.3 Virulensi..... | 7 |
| 2.2 Temulawak | 9 |
| 2.2.1 Morfologi dan Klasifikasi | 9 |
| 2.2.2 Lingkungan Tumbuh..... | 10 |
| 2.2.3 Manfaat | 11 |

| | |
|---|----|
| 2.2.4 Kandungan Temulawak | 11 |
| 2.3 Minyak Atsiri | 12 |
| 2.3.1 Kandungan Minyak Atsiri..... | 13 |
| 2.3.2 Metode Isolasi Minyak Atsiri..... | 14 |
| 2.4 Mekanisme Kerja Antibakteri | 14 |
| 2.4.1 Penghambatan Terhadap Sintesis Dinding Sel..... | 15 |
| 2.4.2 Penghambatan Terhadap Fungsi Membran Sel..... | 15 |
| 2.4.3 Penghambatan Terhadap Sintesis Protein | 15 |
| 2.4.4 Penghambatan Terhadap Sintesis Asam Nukleat ... | 16 |
| 2.5 Metronidazole | 16 |
| 2.6 Kerangka Konseptual | 17 |
| 2.7 Penjelasan Kerangka Konseptual | 18 |
| 2.8 Hipotesis | 18 |
| BAB 3. METODE PENELITIAN | 19 |
| 3.1 Jenis Penelitian | 19 |
| 3.2 Waktu dan Tempat Penelitian | 19 |
| 3.2.1 Waktu Penelitian..... | 19 |
| 3.2.2 Tempat Penelitian | 19 |
| 3.3 Variabel Penelitian | 19 |
| 3.3.1 Variabel Bebas..... | 19 |
| 3.3.2 Variabel Terikat..... | 19 |
| 3.3.3 Variabel Terkendali | 20 |
| 3.4 Definisi Operasional Penelitian | 20 |
| 3.4.1 Ekstrak Minyak Atsiri Rimpang Temulawak..... | 20 |
| 3.4.2 Hambatan Pertumbuhan <i>P.gingivalis</i> | 20 |
| 3.4.3 Media Biakan Bakteri | 20 |
| 3.4.4 Suspensi <i>P.gingivalis</i> | 21 |
| 3.4.5 Kriteria Rimpang Temulawak | 21 |
| 3.4.6 Suhu dan Durasi Inkubasi | 21 |

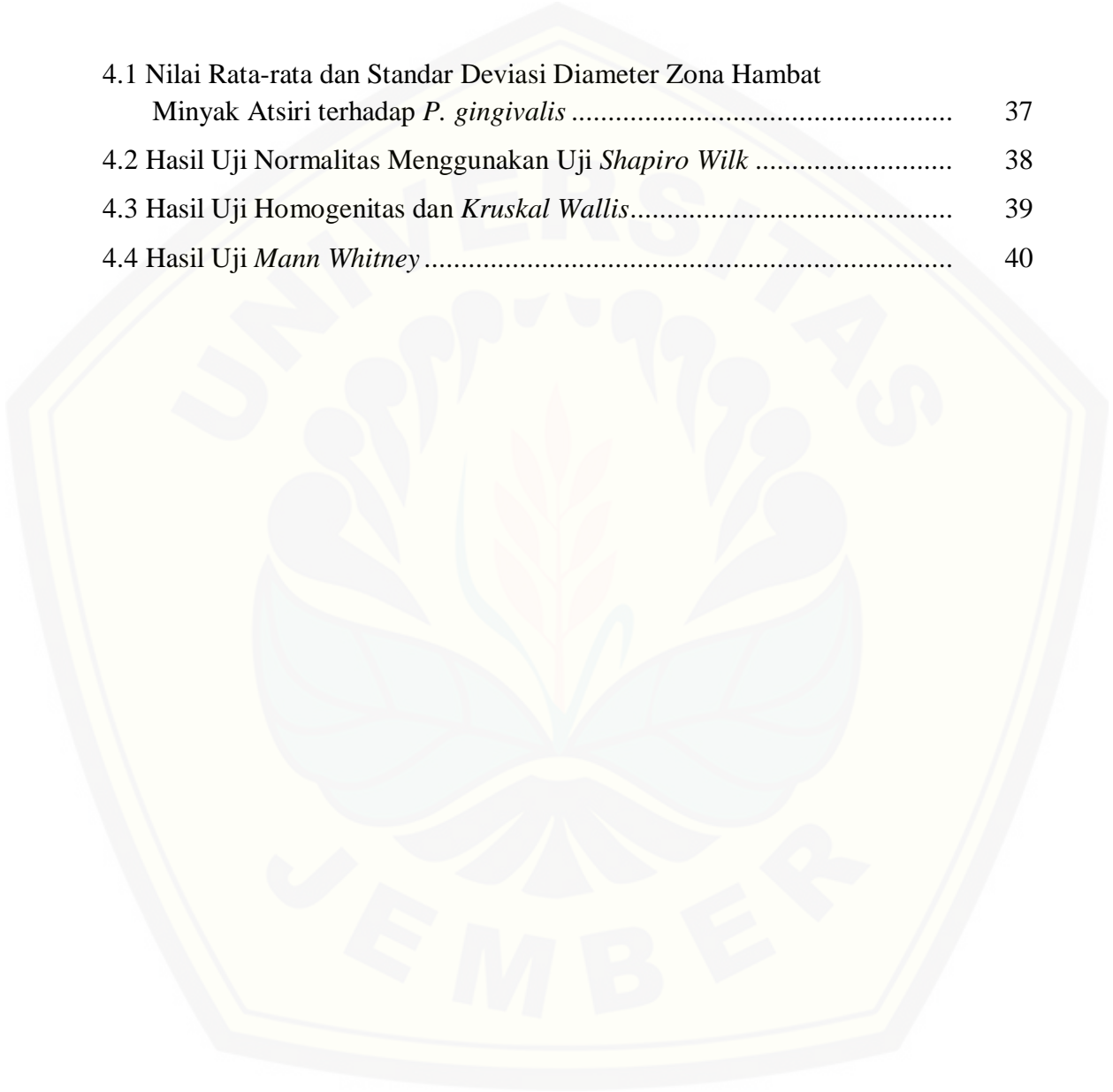
| | |
|---|-----------|
| 3.4.7 Alat Ukur Zona Hambat..... | 21 |
| 3.5 Sampel Penelitian | 21 |
| 3.5.1 Pengelompokan Sampel..... | 21 |
| 3.5.2 Jumlah Sampel..... | 22 |
| 3.6 Alat dan Bahan Penelitian..... | 23 |
| 3.6.1 Alat | 23 |
| 3.6.2 Bahan | 24 |
| 3.7 Prosedur Penelitian | 24 |
| 3.7.1 Tahap Persiapan..... | 24 |
| 3.7.2 Tahap Perlakuan | 31 |
| 3.7.3 Tahap Pengukuran | 32 |
| 3.8 Analisis Data..... | 34 |
| 3.9 Alur Penelitian..... | 35 |
| BAB 3. HASIL DAN PEMBAHASAN | 36 |
| 4.1 Hasil Penelitian..... | 36 |
| 4.2 Pembahasan..... | 40 |
| BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN | 45 |
| 5.1 Kesimpulan | 45 |
| 5.2 Saran | 45 |
| DAFTAR PUSTAKA | 46 |
| LAMPIRAN | 53 |

DAFTAR GAMBAR

| | |
|---|----|
| 2.1 Bakteri <i>P. gingivalis</i> | 6 |
| 2.2 Susunan Lapisan Dinding Sel Bakteri Gram Negatif | 6 |
| 2.3 Tanaman Temulawak dan Rimpang Temulawak | 10 |
| 2.4 Senyawa <i>Xanthorrhizol</i> | 13 |
| 2.5 Kerangka Konseptual..... | 17 |
| 3.1 Rimpang Temulawak yang Telah dipotong | 25 |
| 3.2 Alat Destilasi Uap Air..... | 25 |
| 3.3 Corong Pemisah Minyak Atsiri dan Air..... | 26 |
| 3.4 Ilustrasi Pengenceran Minyak Atsiri Rimpang Temulawak..... | 28 |
| 3.5 Perbandingan Suspensi Bakteri | 29 |
| 3.6 Skema Pembagian Daerah pada <i>Petridish</i> | 31 |
| 3.7 Ilustrasi Pengukuran Diameter Zona Hambat | 33 |
| 3.8 Alur Penelitian | 35 |
| 4.1 Zona Hambat Minyak Atsiri terhadap <i>P. gingivalis</i> | 36 |
| 4.2 Histogram Nilai Rata-rata Diameter Zona Hambat Minyak Atsiri terhadap <i>P. gingivalis</i> | 38 |

DAFTAR TABEL

| | |
|---|----|
| 4.1 Nilai Rata-rata dan Standar Deviasi Diameter Zona Hambat Minyak Atsiri terhadap <i>P. gingivalis</i> | 37 |
| 4.2 Hasil Uji Normalitas Menggunakan Uji <i>Shapiro Wilk</i> | 38 |
| 4.3 Hasil Uji Homogenitas dan <i>Kruskal Wallis</i> | 39 |
| 4.4 Hasil Uji <i>Mann Whitney</i> | 40 |



DAFTAR LAMPIRAN

| | |
|--|----|
| A. Pembuatan Kontrol Negatif..... | 53 |
| B. Pengenceran pada Kontrol Positif..... | 53 |
| C. Pembuatan Perlakuan Minyak Atsiri..... | 53 |
| D. Tahapan Identifikasi Bakteri | 54 |
| E. Diameter Zona Hambat | 55 |
| F. Analisis Data | 55 |
| F.1 Hasil Uji Normalitas dengan Uji <i>Shapiro Wilk</i> | 55 |
| F.2 Hasil Uji Homogenitas dengan <i>Levene Test</i> | 55 |
| F.3 Hasil Uji Non Parametrik dengan Uji <i>Kruskal Wallis</i> | 56 |
| F.4 Hasil Uji Beda Antar Kelompok Perlakuan dengan Uji <i>Mann Whitney</i> | 56 |
| G. Foto Hasil Penelitian | 66 |
| H. Foto Alat dan Bahan..... | 67 |
| H.1 Foto Alat | 67 |
| H.2 Foto Bahan | 69 |
| I. Surat Keterangan | 71 |
| I.1 Surat Identifikasi Tanaman Temulawak..... | 71 |
| I.2 Surat Pembuatan Ekstrak Minyak Atsiri Rimpang Temulawak | 72 |
| I.3 Surat Ijin Penelitian..... | 73 |
| I.4 Surat Identifikasi Bakteri..... | 74 |

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit periodontal merupakan masalah kesehatan gigi dan mulut yang memiliki prevalensi cukup tinggi di masyarakat dengan prevalensi penyakit periodontal pada semua kelompok umur di Indonesia adalah 96,58% (Alibasyah, 2016). Penyakit periodontal yang banyak dijumpai adalah gingivitis dan periodontitis (Mawaddah *et al.*, 2017). Penyakit periodontal dimulai dari gingivitis yang bila tidak dilakukan perawatan lebih lanjut dapat berkembang menjadi Periodontitis. Periodontitis merupakan peradangan pada jaringan pendukung gigi disebabkan oleh bakteri patogen pada plak yang mengakibatkan kerusakan progresif jaringan ikat periodontal dan tulang alveolar, dengan pembentukan poket, resesi gingiva, atau keduanya (Newman *et al.*, 2015).

Proses pembentukan plak diawali dengan pembentukan pelikel yang merupakan media permukaan lekat yang memfasilitasi bakteri untuk melekatkan diri. Pembentukan dilanjutkan dengan kolonisasi awal yang didominasi bakteri Gram positif seperti genus *Streptococcus*, dan *Actinomyces*. Kolonisasi sekunder terjadi setelah kolonisasi awal, bakteri kolonisasi sekunder didominasi oleh bakteri Gram negatif seperti *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*, dan *Porphyromonas gingivalis* (Newman *et al.*, 2015).

P. gingivalis merupakan *keystone pathogen* penyebab penyakit periodontal. Hal ini berarti bahwa *P. gingivalis* merupakan organisme yang menjadi pusat pada proses terjadinya penyakit meskipun hanya ditemukan dalam jumlah yang relatif rendah. *P. gingivalis* paling banyak ditemukan pada periodontitis kronis dengan prevalensi sebesar 53,8% dan periodontitis agresif dengan prevalensi sebesar 79,6% (Newman *et al.*, 2015).

Perawatan periodontitis meliputi perawatan mekanis seperti kontrol plak yang menyeluruh dengan disertai *scaling root planing*, kuretase, sehingga dapat menghilangkan inflamasi dan mengurangi kedalaman poket (Orgendrik, 2012). Terapi tambahan dengan pemberian antibiotik juga diperlukan untuk menunjang

perawatan mekanis, meskipun perawatan mekanis dapat mengurangi jumlah bakteri dalam poket, tetapi bakteri periodontopatogen yang berada pada tubulus dentin, gingiva dan sementum masih tertinggal (Krismariono, 2009). Hasil penelitian klinis membuktikan bahwa terapi tambahan antibiotik lebih efektif dan mempercepat penyembuhan dibanding hanya perawatan mekanis (Wijayanto *et al.*, 2014).

Pemberian antibiotik dalam perawatan penyakit periodontal dapat dilakukan secara lokal ataupun sistemik. Pemberian antibiotik secara lokal ke dalam poket periodontal mempunyai keuntungan dibandingkan pemberian secara sistemik. Keuntungan pemberian antibiotik secara lokal yakni mampu mengatasi konsentrasi bakteri secara langsung, mengurangi konsumsi obat secara berkesinambungan, mencegah kehilangan perlekatan klinis secara rekuren, dan dapat meminimalkan efek samping (Setiawan *et al.*, 2013).

Salah satu antibiotik lokal yang umum digunakan yakni gel metronidazol. Gel metronidazol terbukti efektif terhadap bakteri anaerob gram negatif penyebab periodontitis seperti *P. gingivalis* dan *Agregatibacter actinomycetemcomitans* (Wijayanto *et al.*, 2014). Pemberian metronidazol setelah perawatan mekanis pada periodontitis memberikan hasil yang lebih baik dalam mengurangi kedalaman poket (*pocket depth*), kehilangan perlekatan secara klinis (*clinical attachment lost*) dan menghilangkan perdarahan saat probing (*bleeding on probing*) (Newman *et al.*, 2015). Pasien yang memiliki hipersensivitas atau alergi terhadap gel metronidazol kontraindikasi untuk menggunakan bahan ini (Arunachalam *et al.*, 2017).

Mengatasi hal tersebut, perlu adanya berbagai pilihan obat dengan pengembangan antibiotik baru dari bahan-bahan herbal. Organisasi kesehatan dunia atau WHO merekomendasikan penggunaan obat tradisional dalam pemeliharaan kesehatan masyarakat, pencegahan dan pengobatan penyakit (WHO, 2011). Penggunaan obat tradisional secara umum dinilai lebih aman daripada penggunaan obat sintetik. Hal ini disebabkan karena obat tradisional memiliki efek samping yang relatif lebih sedikit dibandingkan obat sintetik (Sari, 2006).

Obat tradisional identik dengan tanaman obat karena sebagian besar obat tradisional berasal dari tanaman obat (Katno, 2008). Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai tanaman obat yaitu temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) yang berasal dari kawasan Indo-Malaysia yang kini sudah menyebar diseluruh pelosok wilayah Indonesia dan banyak dimanfaatkan sebagai jamu dan obat tradisional di kalangan masyarakat Indonesia (Rukmana, 2006). Temulawak mudah dibudidayakan karena temulawak dapat tumbuh liar di hutan-hutan, di ladang dan pekarangan rumah (Mashita, 2014). Temulawak menjadi salah satu tanaman biofarmaka enam teratas setelah tanaman jahe, kunyit, kapulaga, lengkuas, dan kencur (Kementerian Pertanian, 2015).

Bagian tanaman temulawak yang lazim dimanfaatkan sebagai obat adalah rimpang. Rimpang temulawak mengandung komponen utama berupa kurkuminoid dan minyak atsiri (Mashita, 2014). Kandungan minyak atsiri dalam rimpang temulawak paling banyak diantara genus *Curcuma* lainnya berkisar 4-6% (Setyawan, 2003). Berdasarkan penelitian oleh Jeeva *et all* (2012) hasil analisis minyak atsiri temulawak dengan *Gas Chromatography-Mass Spectroscopy* (GCMS), kandungan senyawa aktif terbesar pada ekstrak minyak atsiri temulawak yaitu *xanthorrhizol*, *camphene* dan *curcumin* yang diketahui mempunyai aktivitas antibakteri.

Ekstrak minyak atsiri rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) telah dilaporkan memiliki daya antibakteri terhadap beberapa bakteri patogen pada saluran akar gigi. Hal ini dibuktikan pada penelitian yang dilakukan oleh Syafira (2018) dilaporkan bahwa minyak atsiri dari rimpang temulawak memiliki daya antibakteri tingkat sedang terhadap pertumbuhan bakteri *Enterococcus faecalis* (Gram positif), dan *Fusobacterium nucleatum* (Gram negatif). Berdasarkan uraian diatas, sejauh ini belum ada penelitian mengenai aktivitas antibakteri minyak atsiri rimpang temulawak (*C. xanthorrhiza* Roxb.) terhadap bakteri penyebab penyakit periodontal yaitu salah satunya *P. gingivalis*. Maka dari itu muncul pemikiran peneliti melakukan penelitian untuk mengetahui kemampuan antibakterial minyak atsiri rimpang temulawak (*C. xanthorrhiza* Roxb.) terhadap bakteri penyebab penyakit periodontal *P. gingivalis*.

1.2 Rumusan Masalah

Masalah yang dapat dirumuskan dari latar belakang tersebut adalah:

1. Apakah ekstrak minyak atsiri rimpang temulawak (*C.xanthorrhiza* Roxb.) memiliki daya antibakteri terhadap pertumbuhan *P. gingivalis*?
2. Berapa konsentrasi ekstrak minyak atsiri rimpang temulawak (*C.xanthorrhiza* Roxb.) yang paling besar dalam menghambat pertumbuhan *P. gingivalis*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dalam penelitian ini adalah:

1. Mengetahui daya antibakteri ekstrak minyak atsiri rimpang temulawak (*C. xanthorrhiza* Roxb.) terhadap pertumbuhan *P. gingivalis*.
2. Untuk mengetahui konsentrasi ekstrak minyak atsiri rimpang temulawak (*C.xanthorrhiza* Roxb.) yang paling besar dalam menghambat pertumbuhan *P. gingivalis*.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah:

1. Memberikan informasi mengenai aktivitas antibakteri minyak atsiri rimpang temulawak (*C. xanthorrhiza* Roxb.) terhadap *P. gingivalis*.
2. Sebagai bahan acuan untuk penelitian lebih lanjut tentang manfaat minyak atsiri rimpang temulawak (*C. xanthorrhiza* Roxb.) dalam bidang kedokteran gigi, khususnya dalam pengembangan obat antibiotik penyakit periodontal.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Porphyromonas gingivalis*

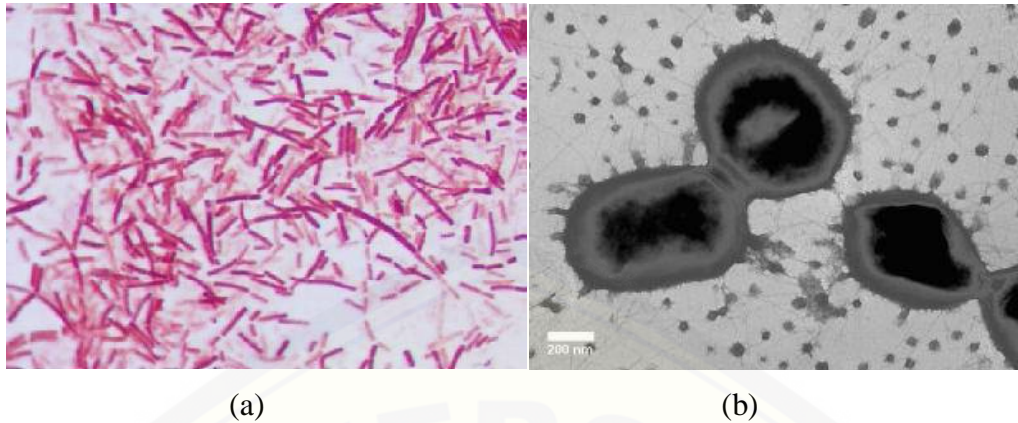
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi *Porphyromonas gingivalis*

Klasifikasi *P. gingivalis* adalah sebagai berikut (Henderson *et al.*, 2009) :

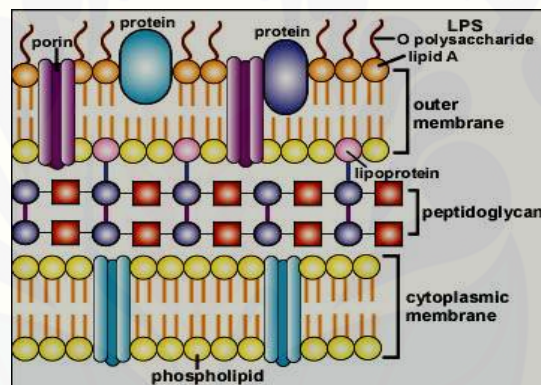
| | |
|---------|-----------------------------------|
| Kingdom | : <i>Bacteria</i> |
| Phylum | : <i>Bacteroidetes</i> |
| Class | : <i>Bacteroidetes</i> |
| Ordo | : <i>Bacteriodales</i> |
| Family | : <i>Porphyromonadaceae</i> |
| Genus | : <i>Porphyromonas</i> |
| Species | : <i>Porphyromonas gingivalis</i> |

P. gingivalis merupakan bakteri *black-pigmented, assaccharolytic, non-motile* dan *non-spora*. *P. gingivalis* merupakan bakteri Gram negatif yang bersifat anaerob obligat dan berbentuk basil, atau *cocobacillus* 0,5 µm dengan ukuran 1-2 µm, optimum pertumbuhan pada suhu 37° (Kolenbrander *et al.*, 2011). Koloni bakteri pada pewarnaan Gram berwarna merah yang menunjukkan bahwa bakteri ini termasuk golongan bakteri Gram negatif (Fitriyana *et al.*, 2013). Morfologi *P. gingivalis* dapat dilihat pada Gambar 2.1.

Bakteri Gram negatif mempunyai dua lapisan lipid (*bilayer lipid*) yang disebut lapisan lipopolisakarida. Lapisan ini tersusun atas fosfolipid, polisakarida dan protein (Madigan *et al.*, 2003). Bakteri Gram negatif memiliki dua lapisan lipid yang dipisahkan oleh peptidoglikan. Ada juga *outer membrane* yang menempel pada lapisan lipopolisakarida memperkuat sel dan melindungi dari lingkungan luar. Pada membran ini ada porin dengan diameter 1-2 nm yang mengatur akses larutan ke membran sitoplasma (Moat *et al.*, 2002). Susunan lapisan dinding sel bakteri Gram negatif dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.1 (a) *P. gingivalis* dengan mikroskop cahaya perbesaran 1000x menggunakan pewarnaan Gram (Fitryana *et al.*, 2013); (b) Hasil foto mikroskop elektron dengan pembesaran 200 nm menunjukkan bentuk *coccobacillus* *P. gingivalis* (Genome Project, 2014).



Gambar 2.2 Susunan lapisan dinding sel bakteri Gram negatif (Sri, 2018).

2.1.2 Pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*

Optimum pertumbuhan *P. gingivalis* pada suhu 37°C. *P. gingivalis* membutuhkan hemin dan vitamin K sebagai faktor pertumbuhan. Salah satu dari lingkungan bakteri yang dapat mengubah interaksi dari *P. gingivalis* dengan respon imun tubuh adalah konsentrasi dari hemin. Hemin memiliki kemampuan untuk mengikat besi dari *host* dan besi utama yang didapatkan dari *host* digunakan untuk sistem dari *P. gingivalis*. Konsentrasi dari hemin mempengaruhi ekspresi dari beberapa gen pertumbuhan, kelangsungan hidup, dan patogenitas dari *P. gingivalis* seperti protease, fimbriae, LPS dan beberapa protein membran (Henderson *et al.*, 2009).

Habitat utama *P. gingivalis* adalah sulkus subgingiva dari rongga mulut manusia. *P. gingivalis* bergantung pada pembentukan asam amino untuk produksi energi yang diperlukan untuk kelangsungan hidupnya di dalam sulkus subgingiva (Bostanci dan Belibasakis, 2012). *P. gingivalis* secara lokal menyerang jaringan periodontal dan dapat menghindari dengan mekanisme pertahanan host (How *et al.*, 2016).

2.1.3 Virulensi

P. gingivalis menghasilkan faktor virulensi yang dapat menyebabkan kerusakan jaringan pendukung gigi secara langsung atau tidak langsung (Hajishengallis *et al.*, 2012). Faktor virulensi dapat didefinisikan sebagai konstituen atau metabolit dari suatu organisme yang penting dalam tahap siklus kehidupan *P. gingivalis* dan menyebabkan kerusakan pada inang (Kimura *et al.*, 2012). *P. gingivalis* memiliki sejumlah faktor virulensi, dapat berupa molekul yang mampu merusak pada sel. Faktor virulensi utama yakni seperti gingipains, LPS, polisakarida kapsul dan fimbriae (Jenkinson dan Lamont, 2010; Bostanci dan Belibasakis, 2012).

Faktor-faktor virulensi *P. gingivalis* seperti berikut:

a. Gingipains

P. gingivalis terdapat dua jenis protease yang diproduksi. Salah satunya adalah jenis *proteinase cysteine* atau juga dikenal sebagai "*trypsin-like*" enzim dan adalah *serine proteinase* (Bostanci dan Belibasakis, 2012). *Proteinase* ini umumnya dikenal sebagai *gingipains*. *Gingipains* secara kolektif berperan 85% dari aktivitas proteolitik ekstraseluler *P. gingivalis* pada lokasi infeksi (de Diego *et al.*, 2014). Terdapat bukti kuat yang menunjukkan bahwa *proteinase P. gingivalis* berpengaruh langsung dalam kolonisasi poket periodontal, yang menyebabkan kerusakan jaringan pendukung periodontal (Dubin *et al.*, 2013).

b. Lipopolisakarida

LPS adalah molekul yang tersusun dari komponen lipid dan polisakarida. Molekul ini ditemukan pada membran luar bakteri. TLRs (*Tool like receptors*) yang terdapat pada membran luar sel *host* akan mengenali lipopolisakarida kemudian memicu respons inflamasi pada jaringan periodontal, meliputi vasodilatasi pembuluh darah, kemotaksis hingga pelepasan sitokin proinflamatori. Oleh karena itu, lipopolisakarida menjadi kunci utama dalam menginisiasi respons inflamasi pada jaringan periodontal (Newman *et al.*, 2015).

c. Kapsul

Kapsul ditemukan terlibat dalam gangguan sel epitel gingiva. Kehadiran dan jenis kapsul juga memiliki pengaruh yang signifikan pada adhesi awal *P. gingivalis* ke sel epitel poket periodontal manusia. Mekanisme agregasi bersama periodotopathogen lainnya, seperti *Fusobacterium nucleatum* telah terbukti bergantung adanya kapsuler (Singh *et al.*, 2011).

d. Fimbriae

Fimbriae *P. gingivalis* adalah tonjolan permukaan sel yang tipis dan berfilamen yang memfasilitasi perlekatannya pada protein saliva, matriks ekstraseluler, sel eukariotik dan bakteri dari spesies yang sama atau spesies lainnya. Melalui fimbriae, *P. gingivalis* dapat menempel pada bakteri kolonisasi awal, dan berpartisipasi dalam struktur biofilm yang sedang berkembang. Tipe I (utama) fimbriae memiliki peran penting dalam kolonisasi dan invasi, sedangkan tipe II (minor) fimbriae memiliki kapasitas proinflamasi yang lebih tinggi (Jenkinson dan Lamont, 2010; Hajishengallis *et al.*, 2012).

2.2 Temulawak

2.2.1 Morfologi dan Klasifikasi

Temulawak (*C.xanthorrhiza* Roxb.) merupakan salah satu jenis tanaman obat. Temulawak sebagaimana nama padanannya *Curcuma javanica* yang dipercaya sebagai tumbuhan asli Indonesia. Temulawak yang diduga kuat berasal dari Pulau Jawa menyebar ke beberapa wilayah Indonesia seperti Sumatera Utara, Sumatera Barat, Sumatera Selatan, Bengkulu, Lampung, Kalimantan dan Sulawesi (Afifah, 2013). Temulawak merupakan tanaman tahunan, berbatang semu, berwarna hijau dan coklat gelap. Tinggi tanaman dapat mencapai 2 m. Temulawak memiliki daun 2-9 helai, berwarna hijau, berbentuk bulat memanjang, panjang 31-84 cm, dan lebar 10-18 cm. Bunga temulawak merupakan tipe majemuk berbentuk bulir, bulat panjang, panjang 9-23 cm, lebar 4-6 cm, perbungaan termasuk tipe exantha (bunga keluar dari rimpang), mahkota bunga berwarna merah (Rizki *et al.*, 2016).

Rimpang temulawak adalah rimpang yang terbesar pada rimpang curcuma. Rimpang temulawak terdiri atas 2 jenis, yaitu rimpang induk dan rimpang cabang. Rimpang induk berwarna kuning tua, coklat kemerahan, dan bagian dalamnya berwarna jingga coklat. Rimpang cabang tumbuh keluar dari rimpang induk, berukuran lebih kecil, dan memiliki warna lebih muda. Akar temulawak memiliki ujung akar yang melebar (Rizki *et al.*, 2016). Rimpang temulawak sejak lama dikenal sebagai bahan ramuan obat yang biasa digunakan sebagai obat herbal tradisional Indonesia. Aroma dan warna khas rimpang temulawak adalah berbau tajam, dan daging buahnya berwarna kekuning-kuningan (Gagas Ulung, 2014). Tanaman rimpang temulawak dapat dilihat pada Gambar 2.3.

Secara kasat mata, rimpang temulawak memiliki bentuk yang hampir sama dengan kunyit. Warna dasar kunyit dan temulawak adalah kuning orange. Namun terdapat perbedaan dari segi warna, yakni kunyit memiliki warna orange yang lebih pekat daripada temulawak yang memiliki warna kuning orange yang lebih cerah. Dari segi ukurannya, temulawak memiliki ukuran yang lebih besar daripada kunyit (Tilaar, 2002).

Klasifikasi tanaman temulawak adalah sebagai berikut (Afifah, 2013):

| | |
|------------|-------------------------------------|
| Kingdom | : <i>Plantae</i> |
| Divisi | : <i>Spermatophyta</i> |
| Sub-divisi | : <i>Magnoliophyta</i> |
| Kelas | : <i>Monocotyledoneae</i> |
| Ordo | : <i>Zingiberales</i> |
| Famili | : <i>Zingiberaceae</i> |
| Genus | : <i>Curcuma</i> |
| Spesies | : <i>Curcuma xanthorrhiza</i> Roxb. |



(a)

(b)

Gambar 2.3 (a) Tanaman temulawak (Afifah, 2013) ; (b) Rimpang temulawak.

2.2.2 Lingkungan Tumbuh

Temulawak mempunyai daya adaptasi yang cukup luas di daerah tropis. Temulawak dapat tumbuh dan berproduksi dengan baik pada dataran rendah sampai dengan dataran tinggi (5 – 1.500 m dpl) dengan curah hujan 1.500 – 4.000 mm setahun. Habitat tanaman ini pada tempat yang ternaung seperti di hutan atau di padang rumput dan semak belukar. Tempat tumbuh tanaman temulawak sangat berpengaruh terhadap kualitas dari rimpang yang dihasilkan. Bila tanaman temulawak ditanam di dataran rendah maka kandungan patinya lebih tinggi dibandingkan yang ditanam di dataran tinggi. Sebaliknya, rimpang yang diperoleh dari tanaman yang tumbuh di dataran tinggi kandungan minyak atsirinya lebih tinggi dibandingkan rimpang yang berasal dari dataran rendah. Tanaman

temulawak lebih menyukai tempat yang ternaungi, tetapi bisa juga dibudidayakan di lahan yang terbuka. Pada lahan yang terbuka, dengan kondisi kesuburan tanah yang baik, hasil rimpang yang dipanen akan lebih tinggi (Tilaar, 2002).

2.2.3 Manfaat

Temulawak dapat dimanfaatkan sebagai obat, sumber karbohidrat, bahan penyedap masakan dan minuman, serta pewarna alami untuk makanan dan kosmetika. Temulawak terbukti berkhasiat dalam menyembuhkan berbagai jenis penyakit. Misalnya dapat digunakan untuk pengobatan gangguan fungsi hati (liver), baik pada hepatitis maupun pada perlemakan hati. Temulawak dapat digunakan sebagai obat anti-inflamasi atau antiradang, temulawak juga mempunyai sifat fungistatik atau antijamur terhadap beberapa jamur golongan dermatophyta. Selain bersifat fungistatik, temulawak juga bersifat bakteristatik atau antibakteri pada mikroba jenis tertentu (Afifah, 2013).

2.2.4 Kandungan Temulawak

Rimpang temulawak mengandung zat kuning kurkumin, minyak atsiri, protein, lemak, selulosa, dan mineral. Komponen tersebut yang paling banyak kegunaannya adalah kurkuminoid dan minyak atsiri. Kurkuminoid terdiri atas senyawa berwarna kuning kurkumin dan turunannya. Minyak atsiri berbau dan berasa yang khas. Kurkuminoid terdiri dari beberapa zat warna kuning. Kurkumin ($C_{21}H_{20}O_6$) adalah suatu pigmen kuning yang mudah larut dalam eter klorofom dan alkohol serta sedikit larut dalam benzene (Mashita, 2014).

Dari hasil analisis mutu rimpang temulawak secara kuantitatif diperoleh kadar air 13,98% kadar minyak atsiri 3,81% kadar pati 41,45% kadar serat 12,62% kadar abu 4,62% kadar abu tak larut asam 0,56% sari air 10,96% sari alkohol 9,48% dan kadar kurkumin 2,29%. Hasil skrining menunjukkan beberapa senyawa metabolit sekunder dalam rimpang temulawak yaitu fenol, terpenoid, flavonoid, saponin, alkaloid dan tannin (agustina, 2013).

2.3 Minyak Atsiri

Minyak atsiri adalah salah satu kandungan tanaman yang sering disebut “minyak terbang” (Inggris: volatile oils). Minyak atsiri dinamakan demikian karena minyak tersebut mudah menguap. Selain itu minyak atsiri juga disebut essential oil (dari kata essence) karena minyak tersebut memberikan bau pada tanaman. Minyak atsiri itu berupa cairan jernih, tidak berwarna, tetapi selama penyimpanan akan mengental dan bewarna kekuningan atau kecoklatan. Hal tersebut terjadi karena adanya pengaruh oksidasi. Untuk mencegah atau memperlambat proses oksidasi tersebut, minyak atsiri harus dilindungi dari pengaruh sinar matahari yang dapat merangsang terjadinya oksidasi dan oksigen udara yang akan mengoksidasi minyak atsiri (Koensoermardiyah., 2010).

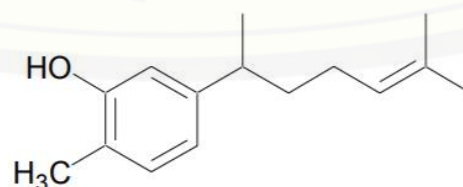
Sifat minyak atsiri yaitu tersusun oleh berbagai komponen senyawa; Memiliki bau khas umumnya baunya mewakili bau tanaman asal; Pada keadaan murni (belum tercemar oleh senyawa lain) mudah menguap pada suhu kamar; Tidak stabil terhadap lingkungan baik pengaruh oksigen udara, sinar matahari (terutama ultraviolet), dan panas karena terdiri dari berbagai macam komponen penyusun; sangat mudah larut dalam pelarut organik, pada umumnya tidak dapat bercampur dengan air (Gunawan dan Mulyani, 2010).

Minyak atsiri terbagi ke dalam 3 kelompok besar sesuai susunan kimianya, yaitu *terpena*, *terpenoid*, dan *fenilpropana*. *Terpena* merupakan rantai hidrokarbon yang terbentuk dari kombinasi beberapa unit isopren (C_5H_8). *Terpena* yang paling umum ditemukan yaitu *monoterpen* ($C_{10}H_{16}$) dan *sesquiterpen* ($C_{15}H_{24}$). Rantai yang lebih panjang jarang ditemukan, seperti *diterpen* ($C_{20}H_{32}$) dan *triterpen* ($C_{30}H_{40}$). *Terpenoid* merupakan *terpena* yang telah tersubstitusi molekul oksigen atau *terpena* yang telah kehilangan gugus metil. *Fenilpropana* merupakan senyawa yang mengandung suatu gugus fenol aromatik dengan 6 karbon dan suatu rantai propana dengan 3 karbon (Nazzaro *et al.*, 2013)

2.3.1 Kandungan Minyak Atsiri Temulawak

Terpena merupakan kelompok terbanyak yang ditemukan dalam minyak atsiri rimpang temulawak (Jeeva *et al.*, 2012). Minyak atsiri mengandung senyawa golongan terpena jenis monoterpen dan sesquiterpen yang pada umumnya mempunyai tingkat toksisitas rendah dan berperan sebagai antibakteri (Prabuseenivasan *et al.*, 2006). Analisis dengan *Gas Chromatography-Mass Spectroscopy* (GCMS), ekstrak minyak atsiri rimpang temulawak mengandung senyawa *xanthorrhizol* (64,38%), *camphene* (8,27%), *curcumin* (5,85%), *α -Pinene* (1,93%), *α -Thujenen* (0,16%), *β -Pinene* (0,14%), *myrcene* (0,37%), *linalool* (0,27%) dan *zingiberene* (0,10%) (Rukayadi dan Hwang, 2006).

Ekstrak temulawak 70% diduga mengandung minyak atsiri yang teroksidasi yaitu *xanthorrhizol* yang termasuk senyawa *sesquiterpen*. *Xanthorrhizol* memiliki rumus molekul C₁₅H₂₂O dengan bobot molekul sebesar 218.335 g/mol. Nama IUPAC-nya 5-(1,5-dimetilheks-4-enil)- 2-metilfenol (Rukayadi dan Hwang, 2006). *Xanthorrhizol* memiliki keunggulan dapat tetap bekerja stabil sebagai agen antibakteri pada suhu tinggi dan pH asam maupun basa. *Xanthorrhizol* memiliki daya antibakteri potensial yang memiliki spektrum luas terhadap beberapa aktivitas bakteri, yang memiliki stabilitas terhadap panas, yakni pada temperatur tinggi antara 60°C-121°C (Hwang dalam Setiawan *et al.*, 2013). *Xanthorrhizol* merupakan senyawa *sesquiterpene* yang terdiri dari senyawa fenol dan hidrokarbon, dimana terdapat satu gugus hidroksil (-OH) yang terikat cincin aromatik (Gambar 2.3) (Udin, 2013).



Gambar 2.4 Struktur *xanthorrhizol* (Asriani, 2010).

2.3.2 Metode Isolasi Minyak Atsiri

Penyulingan adalah proses pemisahan komponen-komponen campuran dari dua atau lebih cairan berdasarkan perbedaan tekanan uap masing-masing komponen tersebut. Ada beberapa cara penyulingan yang dapat dilakukan untuk memisahkan minyak atsiri yaitu penyulingan dengan air (Direbus), penyulingan dengan air dan uap (Dikukus), dan penyulingan langsung dengan uap (Diuapkan) (Taufiq, 2009).

Bagian utama dari alat penyuling cara dikukus yaitu tungku api, ketel penyuling, kondensor (pendingin) dan penampung/pemisah minyak. Pada cara ini bahan diletakkan di atas rak-rak atau saringan berlobang. Bahan yang akan disuling berada pada jarak tertentu di atas permukaan air. Ketel suling diisi air sampai permukaan air berada tidak jauh dari saringan. Ciri khas metode ini adalah uap selalu dalam keadaan basah, jenuh dan tidak terlalu panas, dan bahan yang disuling hanya berhubungan dengan uap dan tidak dengan air panas (Sahwalita dan Herdiana, 2015).

Metode penyulingan ini cocok untuk bahan-bahan berupa rumput, biji, dan daun-daunan. Metode ini lebih unggul bila dibandingkan dengan cara direbus karena proses dekomposisi minyak (hidrolisa ester, polimerisasi, dan resinifikasi) lebih kecil. Selain itu, lebih efisien karena jumlah bahan bakar lebih sedikit, waktu penyulingan lebih singkat, dan rendemen minyak atsiri yang dihasilkan lebih tinggi (Kharismayanti, 2015).

2.4 Mekanisme Kerja Antibakteri

Aktivitas bahan antibakteri dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti konsentrasi bahan, pH, komposisi media, suhu, jenis bakteri target, ukuran populasi mikroba dan lamanya kontak untuk memperkirakan keefektifan antibakteri (Pelzar dan Chan, 2012). Mekanisme kerja bahan antibakteri dapat dikelompokkan menjadi empat kelompok utama, yaitu:

2.4.1 Penghambatan Terhadap Sintesis Dinding Sel

Dinding sel bakteri berisi polimer mukopeptida kompleks (peptidoglikan) yang secara kimia berisi polisakarida dan campuran rantai polipeptida yang tinggi. Dinding sel berfungsi mempertahankan bentuk mikroorganisme dan pelindung sel bakteri, yang mempunyai tekanan osmotik internal yang tinggi 3-5 kali lebih besar pada bakteri gram-positif daripada bakteri gram-negatif (Brooks *et al.*, 2013). Struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk (Pelzar dan Chan, 2012). Trauma pada dinding sel atau penghambatan dalam pembentukan dinding sel tersebut dapat menimbulkan lisis pada sel (Brooks *et al.*, 2013).

2.4.2 Penghambatan Terhadap Fungsi Membran Sel

Sitoplasma semua sel hidup dibatasi oleh membran sitoplasma, yang berperan sebagai pembatas permeabilitas selektif, memiliki fungsi transport aktif, dan mengontrol komposisi internal sel. Jika fungsi integritas dari membran sitoplasma dirusak akan menyebabkan keluarnya makromolekul dan ion dari sel, kemudian sel rusak atau terjadi kematian. Kerusakan struktur ini akan menghambat atau merusak kemampuan membran sel yang bertindak sebagai penghalang osmosis dan juga mencegah berlangsungnya sejumlah biosintesis yang perlu di dalam membran. Membran sitoplasma bakteri dan fungi juga mempunyai struktur yang dapat dengan mudah dikacaukan oleh agen tertentu (Brooks *et al.*, 2013).

2.4.3 Penghambatan Terhadap Sintesis Protein

DNA, RNA dan protein memegang peranan sangat penting di dalam proses kehidupan normal sel. Hal ini berarti bahwa gangguan apapun yang terjadi pada pembentukan atau pada fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan penghentian sintesis protein dan kematian sel pada akhirnya. Kebanyakan antibiotik menghambat sintesis protein dengan mengikat ribosom prokariot.

Beberapa tahap berbeda yang dapat terpengaruh adalah ikatan tRNA-aminoasil, ikatan formasi peptida, mRNA *reading* dan translokasi (Brooks *et al.*, 2013).

2.4.4 Penghambatan Terhadap Sintesis Asam Nukleat

Mekanisme antibakteri yang berfungsi menghambat sintesis asam nukleat yaitu dengan cara menghambat *DNA polymerase*, *DNA helicase* atau *RNA polymerase*, sehingga menghalangi proses replikasi ataupun transkripsi dan dengan jelas menghambat pertumbuhan dan pembelahan sel (Brooks *et al.*, 2013).

2.5 Metronidazol

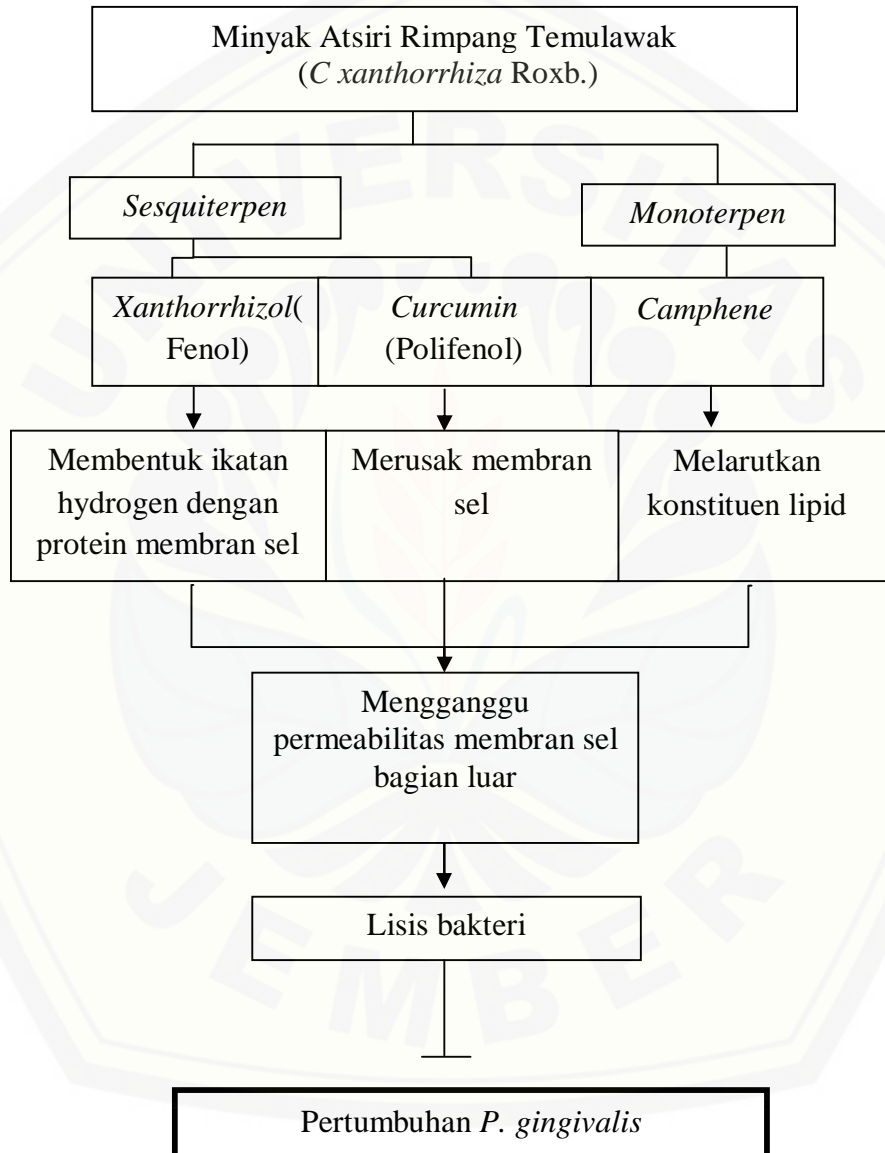
Metronidazol mempunyai sifat bakteriosid terhadap bakteri anaerob. Metronidazol efektif untuk membunuh bakteri anaerob yang menyebabkan penyakit periodontal seperti *P. gingivalis*, *A. actynomicetemscomitans*, *Prevotella intermedia*, (Setiawan *et al.*, 2013). Metronidazol memiliki aktivitas yang efektif terhadap anaerob obligat, mikroorganisme mikroaerofilik, dan mikroorganisme yang terlibat dalam infeksi akut orofasial, periodontitis, dan *acute necrotizing ulcerative gingivitis* (Yagiela *et al.*, 2011).

Pada penelitian sebelumnya dilaporkan adanya penurunan koloni bakteri anaerob menunjukkan bahwa metronidazol merupakan zat yang efektif terhadap infeksi bakteri anaerob yang berperan pada penyakit periodontal (Loesche dalam Wijayanto *et al.*, 2014). Bakteri penyebab periodontitis adalah bakteri anaerob, oleh karena itu pemberian gel meningkatkan keberhasilan penyembuhan karena bersifat bakterisid terhadap bakteri anaerob (Wijayanto *et al.*, 2014).

Mekanisme kerjanya yaitu adanya interaksi dengan DNA yang menyebabkan perubahan struktur helik DNA dan putusya rantai sehingga sintesa protein dihambat dan terjadi kematian sel . Dalam sel atau mikroorganisme mengalami reduksi menjadi produk polar. Hasil reduksi ini mempunyai aksi antibakteri dengan cara menghambat sintesa asam nukleat dan mereduksi nitrogen membentuk intermediet. dapat bereaksi dengan DNA bakteri, yang mampu menyebabkan penghambatan replikasi DNA, fragmentasi DNA yang ada, dan dalam dosis rendah dapat terjadi mutasi genom bakteri (Yagiela *et al.*, 2011).

2.6 Kerangka Konseptual

Kerangka konseptual penelitian ini dapat dilihat dalam Gambar 2.5 berikut:



Keterangan :

—| : Menghambat

—> : Menyebabkan

— : Mengandung

Gambar 2.5 Kerangka konseptual

2.7 Penjelasan Kerangka Konseptual

Salah satu tanaman yang memiliki khasiat obat yakni temulawak. Kandungan minyak atsiri rimpang temulawak (*C. xanthorrhiza* Roxb.) dilaporkan kandungan senyawa aktifnya mempunyai aktivitas antibakteri. Kandungan senyawa aktif terbesar pada ekstrak minyak atsiri rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) yaitu *xanthorrhizol* (64,38%), *camphene* (8,27%), dan *curcumin* (5,85%), sisanya α -Pinene, α -Thujenen, β -Pinene, *myrcene*, *linalool* dan *zingiberene* (Jeeva *et al.*, 2012). Minyak atsiri rimpang temulawak (*C. xanthorrhiza* Roxb.) terdiri dari senyawa *sesquiterpene* dan *monoterpene* (Anggraeni, 2010).

Senyawa *sesquiterpene* adalah *xanthorrhizol* dan *curcumin* (Rukayadi dan Hwang, 2006). Aktivitas antibakteri *xanthorrhizol* diduga berasal dari senyawa fenol yang terdapat pada *xanthorrhizol* dengan membentuk ikatan hidrogen antara gugus hidroksil pada senyawa fenol dengan protein membran sel yang menyebabkan gangguan terhadap permeabilitas membran sehingga komponen esensial keluar dari dalam sel dan menyebabkan bakteri lisis (Dermawaty, 2015). Aktivitas antibakteri *curcumin* diduga berasal dari senyawa polifenol pada *curcumin*, dimana pada konsentrasi tinggi dapat merusak membran sitoplasma sedangkan pada konsentrasi rendah dapat dengan merusak membran sel sehingga mengakibatkan keluarnya metabolit atau nutrisi penting untuk pertumbuhan bakteri. Sehingga pertumbuhan bakteri akan terhambat (Safitrie *et al.*, 2015).

Senyawa *monoterepen* pada minyak atsiri rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) adalah *camphene*. Senyawa *monoterepen* diduga dalam menghambat pertumbuhan bakteri yaitu dengan melarutkan konstituen lipid yang dapat mengganggu permeabilitas membran dan menyebabkan bakteri lisis (Jeeva *et al.*, 2012).

2.8 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini yaitu ekstrak minyak atsiri rimpang temulawak (*C. xanthorrhiza* Roxb.) memiliki daya antibakteri terhadap pertumbuhan *P. gingivalis*.

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris. Adapun rancangan penelitian yang digunakan *the post test only control group design* untuk mengetahui perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan dan kontrol (Notoatmodjo, 2010).

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

3.2.1 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September 2018 - Desember 2018.

3.2.2 Tempat Penelitian

- a. Pengambilan minyak atsiri rimpang temulawak dengan cara destilasi uap air dilakukan di Laboratorium Mesin dan Alat Pertanian, Politeknik Negeri Jember.
- b. Penelitian daya antibakteri minyak atsiri rimpang temulawak terhadap *P. gingivalis* dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Bagian Biomedik, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember.

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dari penelitian ini adalah ekstrak minyak atsiri rimpang temulawak (*C.xanthorrhiza* Roxb) dengan konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100%.

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dari penelitian ini adalah hambatan pertumbuhan *P. gingivalis*.

3.3.3 Variabel Terkendali

Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah media biakan bakteri, suspensi *P. gingivalis* ATCC 33277, Kriteria rimpang temulawak, suhu dan durasi inkubasi, alat ukur zona hambat.

3.4 Definisi Operasional

3.4.1 Ekstrak Minyak Atsiri Rimpang Temulawak

Ekstrak minyak atsiri rimpang temulawak dibuat dari rimpang temulawak. Rimpang Temulawak didapatkan dan di panen langsung di Dusun Krajan RT 19/ RW 07, Desa Tanggung, Kecamatan Padang, kabupaten Lumajang. Minyak atsiri rimpang temulawak diperoleh dari proses destilasi dengan cara dikukus (*Water and Steam destilation*) dari rimpang temulawak yang konsentrasi 100% kemudian diencerkan untuk mendapatkan konsentrasi 25%, 50% dan 75%.

3.4.2 Hambatan pertumbuhan *P. gingivalis*

Hambatan pertumbuhan *P. gingivalis* adalah terhambatnya pertumbuhan pertumbuhan *P. gingivalis* disebabkan oleh pemberian ekstrak minyak atsiri rimpang temulawak. Metode yang digunakan adalah uji *disc-diffusion* (Kirby Bauer), dimana hambatan pertumbuhan *P. gingivalis* ditandai dengan adanya zona hambat yaitu daerah jernih/bening di sekitar cakram kertas. Diameter zona hambat diukur dari tepi (*break point*) ke tepi (*break point*) zona hambat yang berseberangan melewati pusat cakram kertas. Jika tidak terdapat zona hambat di sekitar cakram kertas, maka nilai diameter zona hambat dikatakan 0,00 mm (Hudzicki, 2009).

3.4.3 Media Biakan Bakteri

Media biakan bakteri adalah media yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri. Media biakan yang digunakan dalam penelitian ini adalah dalam bentuk padat yaitu *Mueller-Hinton Agar* dengan ketebalan media yaitu 4 mm.

3.4.4 Suspensi *P. gingivalis* ATCC 33277

Suspensi *P. gingivalis* ATCC 33277 merupakan sediaan cair yang mengandung *P. gingivalis* yang disesuaikan dengan menggunakan standar McFarland 0,5.

3.4.5 Kriteria Rimpang Temulawak

Rimpang temulawak yang digunakan pada penelitian ini adalah keseluruhan bagian rimpang, baik rimpang utama maupun cabang rimpang. Rimpang temulawak di panen pada usia 7-8 bulan dari seorang petani di Dusun Krajan RT 19/ RW 07 Desa Tanggung Kecamatan Padang Kabupaten Lumajang.

3.4.6 Suhu dan Durasi Inkubasi

Suhu dan durasi inkubasi adalah temperatur dan lamanya waktu yang digunakan dalam memelihara kultur bakteri untuk memantau pertumbuhan bakteri yaitu suhu 37°C dengan durasi inkubasi selama 24 jam.

3.4.7 Alat Ukur Zona Hambat

Alat ukur zona hambat merupakan alat yang digunakan untuk mengukur diameter dari zona hambat yang terbentuk. Alat ukur yang digunakan yaitu jangka sorong digital dengan ketelitian 0,01 mm.

3.5 Sampel Penelitian

Sampel pada penelitian ini menggunakan cakram kertas yang diletakkan pada media agar yang sudah di inokulasi *P. gingivalis*.

3.5.1 Pengelompokan Sampel

Sampel yang akan digunakan dibagi menjadi 6 kelompok yaitu :

- a. Kelompok K(-) : kontrol negatif DMSO (larutan dimetil sulfoksida) 10% + Tween 80 0,5%
- b. Kelompok K(+) : kontrol positif (gel metronidazol 12,5%)

- c. Kelompok minyak atsiri Cx 25 : minyak atsiri rimpang temulawak
konsentrasi 25%
- d. Kelompok minyak atsiri Cx 50 : minyak atsiri rimpang temulawak
konsentrasi 50%
- e. Kelompok minyak atsiri Cx 75 : minyak atsiri rimpang temulawak
konsentrasi 75%
- f. Kelompok minyak atsiri Cx 100: minyak atsiri rimpang temulawak
konsentrasi 100%

3.5.2 Jumlah Sampel

Sampel pada penelitian ini dihitung menggunakan rumus perhitungan jumlah sampel. Besar jumlah sampel menurut Federer (Wahyuningrum dan Probosari, 2012) adalah sebagai berikut:

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

Keterangan :

n : jumlah pengulangan

t : jumlah perlakuan

Pengulangan yang dilakukan pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

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

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

$$(n-1) \times 5 \geq 15$$

$$5n-5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Berdasarkan hasil penghitungan menggunakan rumus di atas, jumlah sampel (pengulangan) minimal yang dapat digunakan yaitu 4. Pada penelitian ini menggunakan 4 sampel (pengulangan) untuk setiap kelompok. Kelompok yang digunakan adalah sebanyak 6 kelompok.

3.6 Alat dan Bahan Penelitian

3.6.1 Alat yang dipakai pada penelitian ini adalah :

- a. *Petridish* tidak bersekat dengan diameter 150 mm
- b. Ose
- c. Tabung Erlenmeyer (Schoot Duran, *Germany*)
- d. Bunsen (Pyrex, *Japan*)
- e. Tabung reaksi (Pyrex, *Japan*)
- f. *Beaker glass* (Pyrex, *Japan*)
- g. Jangka sorong digital (Inoki, *Japan*)
- h. *Thermolyne* (Maxi Mix II, Dubuque, IOWA, *USA*)
- i. Mikropipet (Eppendorf, *Germany*)
- j. *Disposable syringe* (OneMed, *Indonesia*)
- k. Spektrofotometer (Milton Roy, Spectronic 20+, *Germany*)
- l. Timbangan ohaus
- m. Timbangan digital
- n. *Laminar flow* (Tipe HF-100, *Korea*)
- o. *Incubator* (Binder, *Germany*)
- p. Kompor
- q. *Autoclave* (Memmert, *Germany*)
- r. *Oven* (Binder tiper FED 720, *Germany*)
- s. *Desicator* (Kartell, *Italy*)
- t. Satu set alat destilasi uap meliputi tabung destilasi, kondensator dan tabung pendingin balik
- u. *Object glass* dan *deck glass*
- v. Mikroskop cahaya (Olympus CX31, *Japan*)
- w. Spatula
- x. *Spreader*
- y. Pinset steril

3.6.2 Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

- a. Kultur murni *P. gingivalis* ATCC 33277
- b. Dimetil sulfoksida (DMSO) 10%
- c. Tween 80 0,5%
- d. Gel Metronidazol 12,5% (Ti-es Metronidazol Gel, *Indonesia*)
- e. MH-A (*Mueller-Hinton Agar*) (Oxoid, *UK*)
- f. BHI-B (*Brain Heart Infusion Broth*) (Oxoid, *UK*)
- g. Aquadest Steril (Otsuka, *Indonesia*)
- h. Larutan saline 0,9%
- i. Alkohol 70%
- j. Minyak atsiri rimpang temulawak (*C.xanthorrhiza* Roxb.)
- k. Cakram kertas (*paper disk*) diameter 5 mm (Oxoid, *UK*)
- l. Kertas label dan spidol
- m. Bahan pewarnaan meliputi *Crystal Violet*, *Iodine*, *Decolorizer Solution*, dan *Safranin*
- n. Kertas Penyerap
- o. Minyak imersi
- p. Kapas

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Tahap Persiapan

- a. Identifikasi Tanaman Temulawak (*C.xanthorrhiza* Roxb.)

Sebelum dilakukan penelitian, temulawak yang akan digunakan, dilakukan identifikasi tanaman terlebih dahulu. Identifikasi tanaman bertujuan untuk menentukan nama dan tempat yang tepat dalam sistem klasifikasi, sehingga tanaman yang digunakan dalam penelitian sesuai dengan apa yang dimaksud oleh peneliti. Identifikasi tanaman dilakukan di Laboratorium Tanaman Politeknik Negeri Jember, Kabupaten Jember, Jawa Timur.

b. Identifikasi *P. gingivalis*

Identifikasi *P. gingivalis* dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Kabupaten Jember, Jawa Timur dengan metode pewarnaan Gram (Lampiran D).

c. Proses destalasi uap air minyak atsiri rimpang temulawak

Proses pengambilan minyak atsiri rimpang temulawak dilakukan dengan metode destilasi uap air yaitu sebagai berikut (Sahwalita dan Herdiana, 2015):

- 1) Rimpang temulawak dipotong-potong dengan ketebalan 1-2 mm, lalu ditimbang sebanyak 5 kg (Gambar 3.1).



Gambar 3.1 Rimpang temulawak yang telah dipotong dengan ketebalan 1-2 mm

- 2) Tabung destilasi diisi air sebanyak 6 liter.
- 3) Rimpang temulawak diletakkan diatas saringan berlubang dalam tabung destilasi yang telah berisis air.
- 4) Tabung destilasi ditutup rapat untuk menghindari kebocoran.
- 5) Tabung destilasi dihubungkan dengan kondensor dan tabung pendingin balik. Pendingin balik dialiri air kran secara terus menerus sampai destilasi selesai (Gambar 3.2).



(a) Kondensor; (b) Tabung destilasi; (c) Tabung pendingin

Gambar 3.2 Alat destilasi uap air

- 6) Kompor gas dihubungkan ke tabung destilasi, dihidupkan, lalu diatur besar kecilnya api pemanasan.
- 7) Pemanasan berjalan sekitar 5 jam dengan suhu air 100°C . Pemanasan akan membuat air dan minyak atsiri dalam rimpang temulawak menguap, namun segera mengalami kondensasi di dalam tabung pendingin.
- 8) Selanjutnya, minyak atsiri dan air dipisahkan dengan corong pisah (Gambar 3.3).



Gambar 3.3 Corong pemisah minyak atsiri dan air

- 9) Minyak yang diperoleh ditempatkan pada botol gelap yang tertutup rapat, kemudian disimpan pada tempat yang sejuk 18°C .

d. Sterilisasi Alat dan Media

Sterilisasi media dengan menggunakan uap air bertekanan (Autoklaf). Sterilisasi dengan autoklaf digunakan untuk media yang tahan terhadap pemanasan tinggi. Sterilisasi dilakukan dengan suhu 120°C selama 10-70 menit sesuai dengan kebutuhan. Semua alat yang terbuat dari kaca, seperti *petridish*, tabung erlenmeyer, tabung reaksi, dan lain-lain disterilkan dengan *oven* pada suhu 160°C selama 120 menit, sedangkan untuk alat yang terbuat dari plastik hanya di cuci bersih dan dikeringkan lalu di ulas dengan alkohol 70% (Torabinejad dan Walton, 2009).

e. Pembuatan Kontrol Negatif

Kontrol negatif yang dipakai pada penelitian ini adalah larutan DMSO 10% + Tween 80 0,5% (Prabuseenivasan *et al.*, 2006). Berdasarkan hasil uji pendahuluan yang telah dilakukan, larutan DMSO 10% + Tween 80 0,5% tidak mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *P. gingivalis*, ditandai dengan tidak adanya zona hambat di sekeliling cakram kertas (Prabuseenivasan *et al.*, 2006).

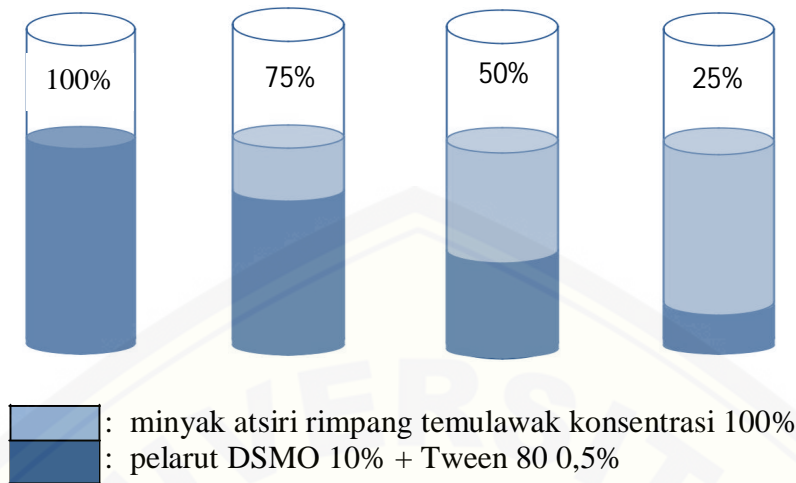
f. Pengenceran Minyak Atsiri Rimpang Temulawak

Proses pengenceran minyak atsiri rimpang temulawak dilakukan dengan metode *serial dilution* dengan pelarut larutan DMSO 10% + Tween 80 0,5%. *Serial dilution* adalah metode pengenceran bertahap dari suatu zat dalam larutan. Konsentrasi minyak atsiri rimpang temulawak yang dibuat dalam penelitian ini adalah 25%, 50%, 75%, 100%.

Pengenceran minyak atsiri temulawak dengan metode *serial dilution* adalah sebagai berikut :

- 1) Mengambil minyak atsiri rimpang temulawak konsentrasi 100% sebanyak 500 μ l dengan mikropipet, masukkan pada tabung reaksi 1.
- 2) Minyak atsiri rimpang temulawak konsentrasi 75% dibuat dengan cara mencampurkan 375 μ l minyak atsiri temulawak konsentrasi 100% dengan 125 μ l pelarut DMSO 10% + Tween 80 0,5%, lalu masukan ke abung reaksi 2.
- 3) Minyak atsiri rimpang temulawak konsentrasi 50% dibuat dengan cara mencampurkan 250 μ l minyak atsiri temulawak konsentrasi 100% dengan 250 μ l pelarut DMSO 10% + Tween 80 0,5%, lalu masukan ke tabung reaksi 3.
- 4) Minyak atsiri rimpang temulawak konsentrasi 25% dibuat dengan cara mencampurkan 125 μ l minyak atsiri konsentrasi 100% dengan 375 μ l pelarut DMSO 10% + Tween 80 0,5%, lalu masukan ke abung reaksi 4.

Setelah dilakukan pengenceran, setiap tabung dikocok dengan menggunakan *thermolyne* agar minyak atsiri dan pengencernya dapat bercampur dengan homogen.



Gambar 3.4 Ilustrasi pengenceran minyak atsiri rimpang temulawak

g. Persiapan Media BHI-B

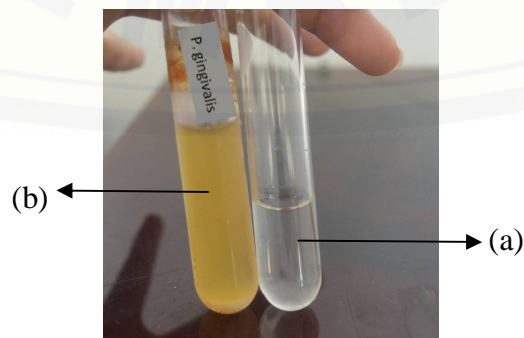
BHI-B merupakan media penyubur dalam bentuk cair untuk pertumbuhan bakteri yang digunakan dalam pembuatan suspensi. Pembuatan BHI-B disesuaikan dengan takaran pabrik pada kemasannya, yaitu sebagai berikut :

- 1) Menimbang 3,7 gram bubuk BHI-B menggunakan neraca.
- 2) Mengukur akuades steril sebanyak 100ml dengan gelas ukur.
- 3) Memasukkan BHI-B dan akuades steril kedalam tabung erlenmeyer dan diaduk dengan spatula.
- 4) Memanaskan di atas kompor hingga mendidih dan homogen.
- 5) Setelah itu, menutup tabung erlenmeyer dengan kapas dan sterilkan didalam *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit.
- 6) Kemudian, media BHI-B diuji sterilitasnya dengan dimasukkan dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C, media BHI-B yang steril akan tetap jernih setelah diinkubasi.

h. Pembuatan Suspensi *P. gingivalis*

Pembuatan suspensi sesuai protokol standar NCCLS (*National Committee for Clinical Laboratory Standards*), yaitu sebagai berikut:

- 1) Menyiapkan 2 buah tabung reaksi.
- 2) Mengukur sebanyak 2 ml BHI-B, lalu masukkan ke dalam masing-masing tabung reaksi.
- 3) Mengambil 1 ose biakan bakteri, celupkan ke dalam BHI-B.
- 4) Memasukkan tabung reaksi ke dalam desikator.
- 5) Memasukkan desikator ke dalam inkubator, lalu inkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam.
- 6) Kemudian vibrasi menggunakan *thermolyne*.
- 7) Mengukur absorbansinya dengan alat spektrofotometer.
- 8) Mengambil pelarut *saline* sebanyak 4 ml ke dalam tabung reaksi.
- 9) Mengambil suspensi bakteri dengan menggunakan *syringe* 0,3 ml, lalu masukkan beberapa tetes suspensi ke dalam tabung reaksi yang telah terdapat larutan *saline*.
- 10) Sesuaikan kekeruhan suspensinya hingga sesuai standar McFarland 0,5 yang ekuivalen dengan suspensi sel bakteri dengan konsentrasi $1,5 \times 10^8$ CFU/mL yang kekeruhannya digunakan sebagai standar suspensi bakteri uji
- 11) Apabila suspensi terlalu keruh, tambahkan larutan *saline*, dan apabila suspensi terlalu jernih, tambahkan beberapa tetes suspensi bakteri kembali. Perbandingan suspensi yang sudah di standarisasi McFarland dan suspensi asli *P. gingivalis* bisa dilihat pada Gambar 3.5.



Gambar 3.5 (a) Suspensi standar McFarland 0,5; (b) Suspensi asli dari bakteri.

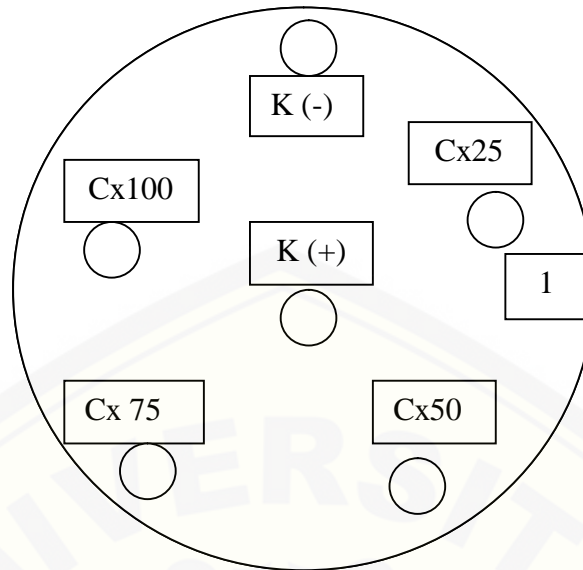
i. Pembuatan Media MH-A

Pembuatan MH-A disesuaikan dengan takaran pabrik pada kemasannya, yaitu sebagai berikut:

- 1) Menimbang 3,8 gram bubuk MH-A menggunakan neraca.
- 2) Mengukur akuades steril sebanyak 100 ml dengan gelas ukur.
- 3) Memasukkan MH-A dan akuades steril ke dalam tabung erlenmeyer dan diaduk dengan spatula.
- 4) Lalu dipanaskan diatas kompor hingga mendidih dan homogen.
- 5) Setelah itu, menutup tabung erlenmeyer dengan kapas dan sterilkan di dalam *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit.
- 6) Media MH-A yang masih hangat pada suhu 45°-50C° dituangkan ke dalam setiap *petridish* hingga mencapai ketebalan 4mm.
- 7) *Petridish* dibiarkan dalam suhu ruangan dengan tutup *petridish* terbuka sedikit, ditunggu sampai memadat dan dingin sekitar 10-30 menit.
- 8) Media MH-A diuji sterilitasnya dengan dimasukkan dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam, media MH-A yang steril ditandai tidak adanya pertumbuhan koloni setelah diinkubasi.

j. Pemberian Label Pada Bagian Bawah *Petridish*

Label Cx25, Cx50, Cx75 dan Cx100 ditempel pada bagian bawah *petridish* sesuai konsentrasi minyak atsiri yang dipakai pada perlakuan. Label K(+) untuk kontrol positif (gel metronidazol 12,5%) dan label K(-) untuk kontrol negatif (larutan) DMSO 10% + Tween 80 0,5%. Pemberian label pada bagian bawah *petridish* bisa dilihat pada Gambar 3.6



Keterangan :

| | |
|-------|---|
| 1 | : Penomoran <i>petridish</i> |
| K(-) | : Kertas label untuk larutan DMSO 10% + Tween 80 0,5% |
| K(+) | : Kertas label untuk gel metronidazol 12,5% |
| Cx25 | : Kertas label untuk minyak atsiri rimpang temulawak 25% |
| Cx50 | : Kertas label untuk minyak atsiri rimpang temulawak 50% |
| Cx75 | : Kertas label untuk minyak atsiri rimpang temulawak 75% |
| Cx100 | : Kertas label untuk minyak atsiri rimpang temulawak 100% |
| ○ | : Cakram kertas |

Gambar 3.6 Skema pembagian daerah pada *petridish*.

3.7.2 Tahap Perlakuan

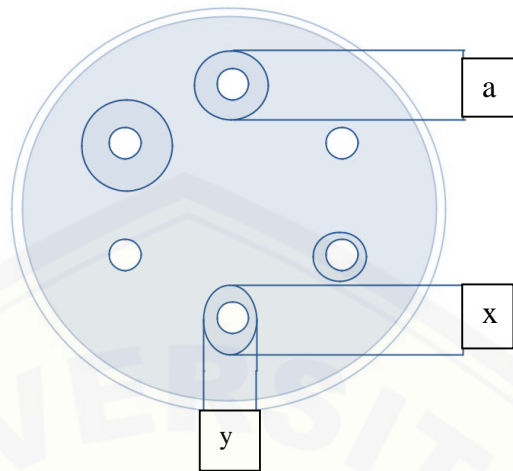
Tahap perlakuan uji dilakukan di dalam *laminar flow* untuk mencegah terjadinya kontaminasi dengan lingkungan luar.

- Persiapan inokulasi *P.gingvalis* pada media agar dengan metode *spread plate*.
- Ambil sebanyak 1 ml suspensi bakteri dengan menggunakan *syringe*.
- Teteskan pada media agar perlahan-lahan hingga merata .
- Kemudian diratakan menggunakan alat *spreader* keseluruhan permukaan agar hingga merata.
- Tunggu hingga permukaan media menjadi kering. Tutup *petridish* dapat dibiarkan tetap terbuka selama 3-5 menit, tapi tidak melebihi dari 15 menit.

- f. Cakram kertas ditetesi sebanyak 20 µl ekstrak minyak atsiri rimpang temulawak dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%, kontrol positif gel metronidazol 12,5%, dan kontrol negatif larutan DMSO 10% + Tween 80 0,5% dengan menggunakan alat mikropipet. Lalu didiamkan hingga dipastikan cairan pada cakram kertas sudah tidak menetes lagi.
- g. Cakram kertas diletakkan pada permukaan media dengan menggunakan pinset steril.
- h. Lalu cakram kertas harus diletakkan secara merata sehingga tidak lebih dekat dari 24 mm dari pusat cakram ke pusat cakram lainnya.
- i. Cakram kertas yang diperkirakan memberikan zona hambat yang kecil sebaiknya diletakkan di samping cakram kertas yang memberikan zona hambat yang lebih besar yaitu untuk menghindari zona yang tumpang tindih (*overlapping*).
- j. *Petridish* ditutup dan dibiarkan hingga cakram kertas sudah benar-benar menempel pada masing-masing media kultur.
- k. Kemudian, *Petridish* dibalik dan dimasukkan ke dalam desikator yang diberi bunsen dengan api yang menyala di dalam desikator, ditunggu sampai kondisi anaerob yang ditandai api bunsen menjadi padam.
- l. Dimasukkan ke dalam inkubator untuk diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

3.7.3 Tahap Pengukuran

Setelah diinkubasi, *petridish* yang telah diberi perlakuan dikeluarkan dari desikator kemudian dilakukan pengukuran diameter zona hambat dengan menggunakan jangka sorong digital. Pengukuran dilakukan dengan mengukur diameter zona hambat yaitu daerah jernih di sekitar cakram kertas. Pengukuran diameter zona hambat dilakukan dengan menggunakan jangka sorong digital dalam satuan milimeter, dari satu sisi ke sisi lainnya yang bersebrangan melewati tepat di pusat cakram kertas (Calvalieri dan J. Stephen, 2005)(Gambar 3.7).

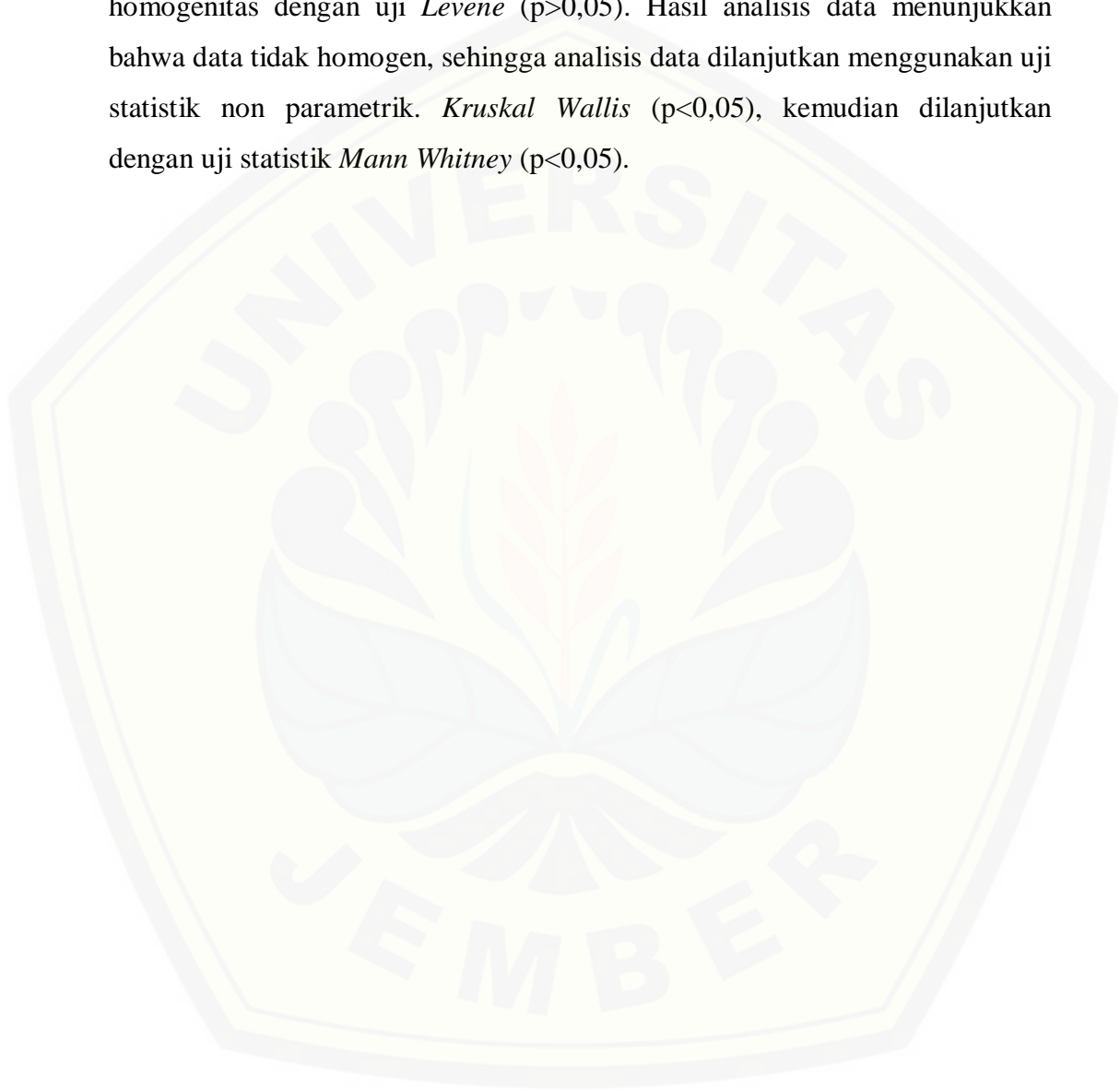


Gambar 3.7 Ilustrasi pengukuran diameter zona hambat. (a) Pengukuran diameter zona hambat berbentuk lingkaran; Pengukuran diameter zona hambat berbentuk lonjong dengan (x) diameter terpanjang dan (y) diameter terpendek.

Zona hambat dapat berbentuk lingkaran atau *elips*. Jika zona hambat berbentuk lingkaran, pengukuran langsung dilakukan dengan mengukur diameter dari zona hambat. Jika zona hambat berbentuk elips, pengukuran dilakukan pada diameter terpanjang (misal x mm) dan diameter terpendek (misal y mm), kemudian keduanya dijumlahkan dan dibagi dua. Jadi, diameter zona hambatnya $= \frac{x+y}{2}$ (Majidah *et al.*, 2014). Jika tidak terlihat adanya zona hambat, maka diameter zona hambat dikatakan 0 mm (Hudzicki, 2009). Pengukuran dilakukan oleh 3 orang pengamat yang berbeda, yang sebelumnya telah dijelaskan cara pengukurannya, lalu diambil rata-rata (Joshi *et al.*, 2009).

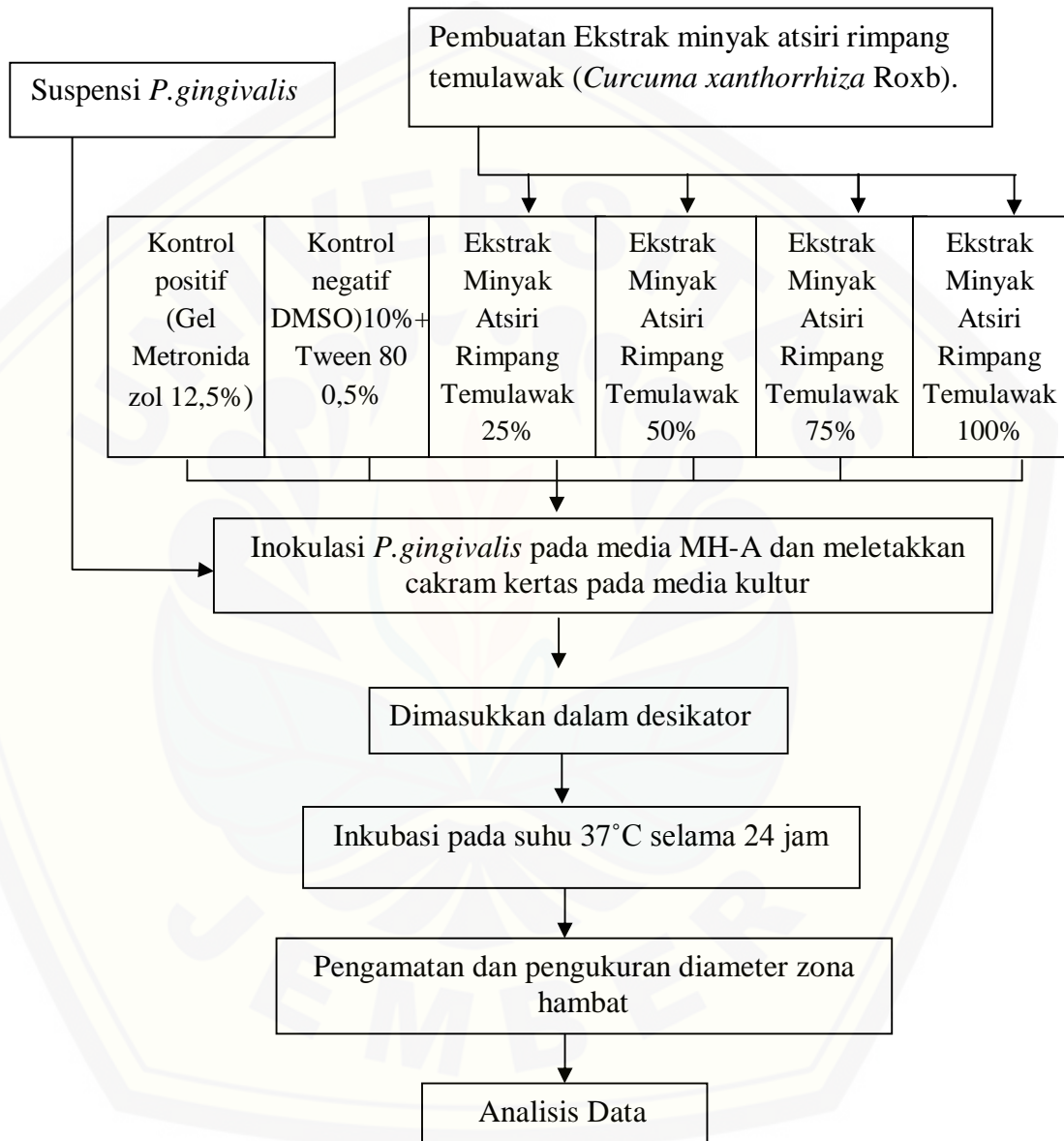
3.8 Analisis Data

Data yang terkumpul disusun dalam bentuk tabel, lalu dianalisis menggunakan program *Statistical and Service Solutions* (SPSS). Data hasil penelitian dilakukan uji normalitas dengan uji *Shapiro Wilk* dan uji homogenitas dengan uji *Levene* ($p > 0,05$). Hasil analisis data menunjukkan bahwa data tidak homogen, sehingga analisis data dilanjutkan menggunakan uji statistik non parametrik. *Kruskal Wallis* ($p < 0,05$), kemudian dilanjutkan dengan uji statistik *Mann Whitney* ($p < 0,05$).



3.9 Alur Penelitian

Alur penelitian ini dapat dilihat dalam Gambar 3.8 berikut:



Gambar 3.8 Alur penelitian

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak minyak atsiri rimpang temulawak (*C. xanthorrhiza* Roxb.) memiliki daya antibakteri terhadap pertumbuhan *P. gingivalis*.
2. Konsentrasi ekstrak minyak atsiri rimpang temulawak (*C. xanthorrhiza* Roxb.) yang paling besar dalam menghambat pertumbuhan *P. gingivalis* adalah 75% dan 100%.

5.2 Saran

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

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai daya antibakteri minyak atsiri rimpang temulawak dikombinasikan dengan minyak atsiri tanaman herbal lainnya..
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai daya antibakteri senyawa aktif tunggal dari minyak atsiri rimpang temulawak.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai daya antibakteri minyak atsiri rimpang temulawak menggunakan metode ekstraksi yang berbeda yakni seperti metode ekstraksi pelarut etanol.
4. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai daya antibakteri minyak atsiri rimpang temulawak terhadap pertumbuhan bakteri patogen lainnya.
5. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai uji biokompatibilitas minyak atsiri rimpang temulawak terhadap jaringan rongga mulut khususnya jaringan periodontal.

DAFTAR PUSTAKA

- Afifah, E., 2013, *Khasiat dan Manfaat Temulawak : Rimpang Penyembuh Aneka Penyakit*, AgroMedia Pustaka, Jakarta
- Agustina, W. 2013. *Produksi Pati Temulawak sebagai Alternatif Pemanfaatan Temulawak untuk Bahan Baku Produk Olahan Pangan : Studi Kasus di Desa Pabuaran, Kec. Salem, Kab. Brebes, Jawa Tengah. Seminar Nasional & Workshop : Peningkatan Inovasi Dalam Menanggulangi Kemiskinan. LIPI2013*
- Alibasyah, Zulfan M., Ridha Andayani dan Ana Farhana. 2016. *Potensi Antibakteri Ekstrak Jahe (Zingiber officinale Roscoe) terhadap Porphyromonas gingivalis secara Invitro. Journal of Syiah Kuala. 1(2)*
- Anggraeni, Ani. 2010. *Fraksinasi Senyawa Aktif Minyak Atsiri Temulawak Sebagai Pelangsing Aromaterapi Secara Invivo*. Bogor: Departemen Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor
- Arunachalam, R., V. Rajevv, V. Vedam, S. Ganaphaty, dan J. Dhanavel. 2014. *Perioceutics in the management of Periodontal Disease. Journal Young Pharm. 9(1): 8-13*
- Asriani, D. 2010. *Isolasi Xanthorizol dari Temulawak Terpilih Berdasarkan Nomor Harapan. Tesis. Sekolah Pascasarjana: Institut Pertanian Bogor*
- Bostanci N. dan G.N.Belibasakis. 2012. *Porphyromonas gingivalis: an invasive and evasive opportunistic oral pathogen. FEMS Microbiogyl. 333 1-9*
- Brooks, G.F., J.S. Butel , dan S.A. Morse. 2013. *Mikrobiologi kedokteran*. Alih Bahasa. Mudihardi E., Kuntaman, E.B Wasito. Jakarta: Salemba Medika
- Calvalieri dan J. Stephen. 2005. *Manual of Antimicrobial Susceptibility Testing. United States of America: American Society for Microbiology*
- Candrasari, A., M. A. Romas, M. Hasbi, dan O. R. Astuti. 2012. *Uji daya antimikroba ekstrak etanol daun sirih merah (Piper crocatum Ruiz & Pav.) terhadap pertumbuhan Staphylococcus aureus ATCC 6538, Eschericia coli ATCC 11229 dan Candidan albicans ATCC 10231 secara in vitro. 4(1): 09-16*
- Dermawaty, D.E. 2015. *Potential extraxt curcuma (Curcuma xanthorrhiza Roxb.) as antibacterial. Journal Majority. 4(1): 5-11*

- de Diego, I., F. Veillard, M.N. Sztukowska, T. Guevara, B. Potempa, dan A. Pomowski. 2014. Structure and mechanism of cysteine peptidase gingipain K (Kgp), a major virulence factor of *Porphyromonas gingivalis* in periodontitis. *Journal Biology Chemistry*. 289: 32291–32302
- Dubin, G., J. Kozie, K. Pyrc, B. Wladyka, dan J. Potempa. 2013. Bacterial proteases in disease–role in intracellular survival, evasion of coagulation/fibrinolysis innate defenses, toxicoses and viral infections. *Current Pharmaceutical Design*. 19:1090–1113
- Elya, B., A. Soemiati, dan Farida. 2009. Antibakteri ekstrak kulit batang manggis hutan (*Garcinia rigida* MIQ). *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 6(1): 09-17
- Fitriyana, N., Y. M. D. Arina, H. Harmono, dan I. Susilawati. 2013. Pemaparan Bakteri *Porphyromonas Gingivalis* Mempengaruhi Produksi Superoksida Nitrofil. *Dentofasial*, 12(3):152-157.
- Gagas Ulung, Pusat Studi Biofarmaka LPPM IPB. 2014. *Sehat Alami dengan Herbal 250 Tanaman Hebal Berkasiat Obat +60 Resep Menu Makanan*. Jakarta : PT Gramedia Pustaka Utama
- G-Biosciences. 2012. *Bacterial Gram Staining*. Cat. #BE-202. USA: A Geno Technology, Inc. p. 6-7
- Gunawan, D dan S. Mulyani . 2010. Ilmu Obat Alam (Farmakognosi). Jilid I. Jakarta: Penerbit Penebar Swadaya
- Hajishengallis, G., R. P. Darveau, dan M. A. Curtis. 2012. The keystone-pathogen hypothesis. *Nature. Reviews Microbiology*. 10(1): 717–725
- Henderson, B., Cutris, M., Seymour, R..2009. *Periodontal Medicine and System Biology*. New Delhi: Jhon Willey and Sons
- Hudzicki, J. 2009. Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol. *American Society for Microbiology*. p. 1-19
- How, K.Y., K.P. Song, dan K.G. Chan. 2016. *Porphyromonas gingivalis*: an overview of periodontopathic pathogen below the gum line. *Frontiers in Microbiology*. 53(7):53-69
- Jantan, I., F. C. Saputri, M. N. Qaisar, dan F. Buang. 2012. Research Article: Correlation between Chemical Composition of *Curcuma domestica* and *Curcuma xanthorrhiza* and Their Antioxidant Effect on Human Low-Density Lipoprotein Oxidation. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 438356: 1-10

- Jeeva S., PA, M. Helen, S. Gomathy, S. Jayasree, AM. Nizzy, dan B., Rajagopal. 2012. Phytochemical characterization and antimicrobial activity of *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. S637-S640
- Jenkinson, H.F dan R.J. Lamont. 2010. *Oral Microbiology at a Glance*. USA: WileyBlackwel
- Joshi, R. K., C. Pande, M. H. K. Mujawar, dan S.D. Kholkute. 2009. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Anaphalis nubigena var monocephala*. *Natural Product Communications*. 4: 993-996
- Katno. 2008. *Tingkat manfaat, Keamanan dan Efektivitas Tanaman Obat dan Obat Tradisional*. Karanganyar: Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional Balitbangkes Depkes RI
- Kementerian Pertanian. 2015. *Statistik Produksi Hortikultura Tahun 2014*. Direktorat Jenderal Pertanian, Kementerian Pertanian. h. 40-48
- Kharismayanti, A. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia* (Christm. & Panz.) Swingle) terhadap *Porphyromonas Gingivalis* ATCC 33277 secara In Vitro. *Skripsi*. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. h. 16-26
- Kimura, S., Y.O. Nemoto, Y. Shimoyama, T. Ishikawa, dan M. Sasaki. 2012. Pathogenic Factors of *Porphyromonas gingivalis* and the host defenses mechanism. *Pathogenesis and Treatment of Periodontitis*. pp.3-12
- Kolenbrander, P.E., R.J. Palmer, S. Periasamy, dan N.S. Jakubovics. 2011. Oral multispecies biofilm development and the key role of cell-cell distance. *Nature Review Microbiology* 8: 471–480
- Koensoermardiyah. 2010. *A to Z Minyak Atsiri* . Yogyakarta: CV Andi Offset
- Krismariono, A. 2009. Antibiotika sitemik dalam perawatan penyakit periodontal. *Periodontal Journal*. 1(1): 15-19
- Lima, Iga Oliveira., Fernanda, de Medeiros Nobrega., Wylly, Araujo de Oliveira., Edeltrudes, de Oliveira Lima. 2012. Anti-*Candida albicans* Effectiveness Of Citral And Investigation Of Mode Of Action. *Pharmaceutical Biology*. 50(12): 1536-1541
- Madigan, M.T., P.J. Martinko dan J.Parker. 2003. *Brock Biologi of microorganisms*. New York : Prentice Hall International Inc., Englewood Cliff.

- Majidah, D., D.W.A. Fatmawati, dan A. Gunadi. 2014. Daya antibakteri ekstrak daun seledri (*Apium graveolens* L.) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* sebagai alternatif obat kumur. *Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa*
- Maryati, RS. Fauzia, dan T. Rahayu. 2009. Uji aktivitas antibakteri minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherchia coli*. *Jurnal Penelitian Sains & Tknologi*. 8(1):74-77
- Mashita, Ardiana Retno. 2014. Efek Antimikroba Ekstrak Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Malang*. 10(2): 138-144
- Mawaddah, Nashriatul., Kusuma, A., Niluh, Winda W. 2017. Perbedaan Indeks Kebutuhan Perawatan Periodontal (CPITN) Anak Normal Dan Anak Tuna Rungu. *ODONTO Dental Journal*. 4(1): 44-49
- Moat, G. Albert, Foster W. John, Spector P. Michael. 2002. *Microbial Phisiology* 4 th Edition. Wiley-Liss Publication. New York.
- Nazzaro, F., F. Fratianni., L. D. Martino, R. Coppola, dan V. D. Feo. 2013. Review: Effect of essential oils on pathogenic bacteria. *Pharmaceuticals*. 6: 1451-1474
- Newman, M. G., H. H. Takei, P. R. Klokkevold, dan F. A Carranza. 2015. *Clinical Periodontology*. 12th Edition. Canada: Elsevier
- Nikolic, M., S. Vasic, L.D. Martino, R. Coppola, dan V.D. Feo. 2013. Effect essential oils on pathogenic bacteria. *Pharmaceuticals*. 6: 1451-1474
- Notoatmodjo, S. 2010. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: Rineka Cipta
- Orgendrik, M. 2012. *Periodontopatic Bacterial Infection* . USA: John Hopkins Medicine
- Pelzar, M.J dan E.C.S Chan. 2012. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Universitas Indonesia Press
- Ponce, A. G., R. Fritz, C. del Valle, S. I. Roura. 2003. Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensm.-Wiss.u.-Technol*. 36: 679-684
- Genome Project. 2014. *P. gingivalis* ATCC 33277 (2) [serial online] <http://www.pgingivalis.org/ATCC33277%282%29.htm> [22 Juni 2018]

- Prabuseenivasan, S., M. Jayakumar, dan S. Ignacimuthu. 2006. Research article: In vitro antibacterial activity of some plant essential oils. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 6:39 p. 1-8
- Rizki, Ayu Ulan, Cholid, AR., Muttia, Amalia. 2016. Perbedaan Efektivitas Ekstrak Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) Dengan Ekstrak Daun Salam (*Eugenia polyantha* Wight) Pada Penurunan Kadar Kolesterol Total Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*). *Jurnal Profesi Medika*. 10(1) : 54-69
- Rukmana, R. 2006. *Temulawak: Tanaman Rempah dan Obat*. Yogyakarta: Kanisius
- Rukayadi, Y. dan J. K. Hwang. 2006. In vitro activity of *xanthorrhizol* against *Streptococcus mutans* biofilms. *Letters in Applied Microbiology*. 42(4): 400-404
- Saadoun, I., L. M. A. Challah, F. M. Aldhuhouri, A. A. Hamoudi, dan B. A. Joubori. 2014. Antagonistic Effect of the Exotic Plant "*Prosopis juliflora*" Extract on Different Bacterial Pathogens. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*. 3(7): 865-873
- Safitrie, Rizki Amalia., Tantiana., Setyari, Wisnu. 2015. Potensi Ekstrak Kunyit (*Curcuma longa*) dan Ekstrak Lidah Buaya (*Aloe vera linn*) dalam Penghambatan Pembentukan Biofilm *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa). *Oral Biology Journal*. 7(1) : 31-37
- Sahwalita, dan N. Herdiana. 2015. *Mengenal Nilam (pogostemon cablin benth.): Tanaman Perdu Penghasil Minyak Atsiri*. Ulu Rawas Musi: Kelompok Citra Lestari Desa Napallicin. h. 46-49
- Sari, L. 2006. Pemanfaatan obat tradisional dengan pertimbangan manfaat dan keamanannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 3(1):01-07
- Schinor, E. C., M. J. Salvador, I. Y. Ito, dan D. A. Dias. 2007. Evaluation of The Antimicrobial Activity of Crude Extracts and Isolated Constituents from *Chresta scapigera*. *Brazilian Journal of Microbiology*. 38:145-149
- Setiawan, A., S.P. Lastianny, dan D. Herawati. 2013. Efektivitas aplikasi madu murni terhadap penyembuhan jaringan periodontal pada perawatan periodontitis penderita hipertensi. *Jurnal Kedokteran Gigi*. 4(4): 228-235
- Setiawan, A., R. Utami, dan Kawiji. 2013. Pengaruh penambahan minyak atsiri rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) pada edible film terhadap karakteristik organoleptik dan antimikroba. *Jurnal Teknosains Pangan*. 2(3): 10-14

- Setyawan, A. D. 2003. Keanekaragaman Kandungan Minyak Atsiri Rimpang Temu-temuan (*Curcuma*). *Biofarmasi*. ISSN: 1693-2242. 1(2): 44-49
- Singh, A., T. Wyant, C. Anaya-Bergman, J. Aduse-Opoku, J. Brunner, M.L. Laine .2011. The capsule of *Porphyromonas gingivalis* leads to a reduction in the host inflammatory response, evasion of phagocytosis, and increase in virulence. *Infection and Immunity*. 79, 4533–4542
- Sri, Fitri. 2018. Dinding Sel Bakteri Struktur Fungsi dan Jenis. <https://www.sridianti.com/dinding-sel-bakteri-struktur-fungsi-dan-jenis.html> [06 Mei 2019].
- Syafi'i, F. 2015. Optimasi Proses Emulsifikasi dan Mikroenkapsulasi pada Pembuatan Bubuk Oleoresin Lada (*Piper nigrum*). *Tesis*. Bogor: Institut Pertanian Bogor
- Syafira , N.L. 2018. Daya antibakteri ekstrak minyak atsiri rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) terhadap pertumbuhan *Enterococcus faecalis* dan *Fusobacterium nucleatum*. *Skripsi*. Jember: Kedokteran Gigi Universitas Jember
- Sylvester, W. S., R. Son, K. F. Lew, dan Y. Rukayadi. 2015. Antibacterial activity of Java turmeric (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) extract against *Klebsiella pneumoniae* isolated from several vegetables. *International Food Research Journal*. 22(5): 1770-1776
- Taufiq, T. 2009. *Menyuling Minyak Atsiri*. Yogyakarta: PT Citra Aji Parama
- Tedjasulaksana, R. 2016. Metronidazol sebagai salah satu obat pilihan untuk periodontitis marginalis. *Jurnal Kesehatan Gigi*. 4(1): 19-23
- Tilaar, M .2002. *Budidaya Secara Organik Tanaman Obat Rimpang*. Penerbit Swadaya. Jakarta
- Torabinejad, M. dan Richard EW. 2009. *Endodontics: Principle and Practice* 4th Edition. https://books.google.co.id/books?id=bbuYu0IX_EwC&printsec. [Diakses pada 10 April 2017]. p. 204-214
- Trombetta, D., F. Castelli, M. G. Sarpietro, V. Venuti, M. Cristani, C. Daniele, A. Saija, G. Mazzanti, dan G. Bisignano. 2005. Mechanisms of Antibacterial Action of Three Monoterpenes. *Antimicrob. Agents Chemother*. 49(6): 2474-2478
- Udin, Zalar. 2013. Sitoksisitas *Xanthorrhizol* Dari Minyak Atsiri Rimpang *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. Terhadap Sel Kanker Payudara YBM-1. *JKTVI*. 15(1): 23-29

- Wahyuningrum, M. R., dan E. Probosari. 2012. Pengaruh pemberian buah pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap kadar trigesilerida pada tikus *sprague Dawley* dengan hiperkolesteromia. *Journal of Nutrition College*. 1(1): 192-198
- Wijayanto, R., D. Herawati, dan Sudiby. 2014. Perbedaan efektivitas topikal gel asam hialuronat dan gel metronidazol terhadap penyembuhan jaringan periodontal setelah kuretase pada periodontitis kronis. *Jurnal Kedokteran Gigi*. 5(3): 307-325
- World health organization. 2011. Traditional, Complementary and Herbal Medicine. <http://www.who.int/medicinedocs/d/Jh2996e/6.2.html>. [Diakses 22 Juni 2018.]
- Yagiela J. A., F.J Dowd, dan E.A Neidle. 2011. *Pharmacology and Therapeutics for Dentistry*. 6 th ed. Missouri : Mosby. ST. Louis
- Zengin, H. dan A. H. Baysal. 2014. Antibacterial and Antioxidant Activity of Essential Oil Terpenes agains Pathogenic and Spoilage-Forming Bacteria and Cell Structure-Activity Relationships Evaluated by SEM Microscopy. *Molecules*. 19: 17773-17798.

LAMPIRAN

A. Pembuatan Kontrol Negatif

Pembuatan kontrol negatif larutan DMSO 10% + Tween 80 0,5% dibuat berdasarkan penghitungan:

a. Volume DMSO 10% $= \frac{10}{100} \times 2000 \mu\text{l}$
 $= 200 \mu\text{l}$

b. Volume DMSO 10% $= \frac{0,5}{100} \times 2000 \mu\text{l}$
 $= 10 \mu\text{l}$

c. Volume akuades steril yang dibutuhkan
 $= 2000 \mu\text{l} - (\text{Volume DMSO 10\%} + \text{Volume Tween 80 0,5\%})$
 $= 2000 \mu\text{l} - (200 \mu\text{l} + 10 \mu\text{l})$
 $= 1790 \mu\text{l}$

B. Pengenceran pada Kontrol Positif

Konsentrasi 50% (gel metronidazol 25%) =

Pada pengenceran kontrol positif (gel metronidazol 25%) di encerkan menjadi 50% dari sediaan. Cara pengenceran, 1 bagian gel metronidazol 25% di dalam 1 bagian volume akuades steril (1:1); (0,5 gram : 0,5ml)

C. Pembuatan Perlakuan Minyak Atsiri

a. Konsentrasi 75% $= \frac{75}{100} \times 500 \mu\text{l}$
 $= 375 \mu\text{l}$

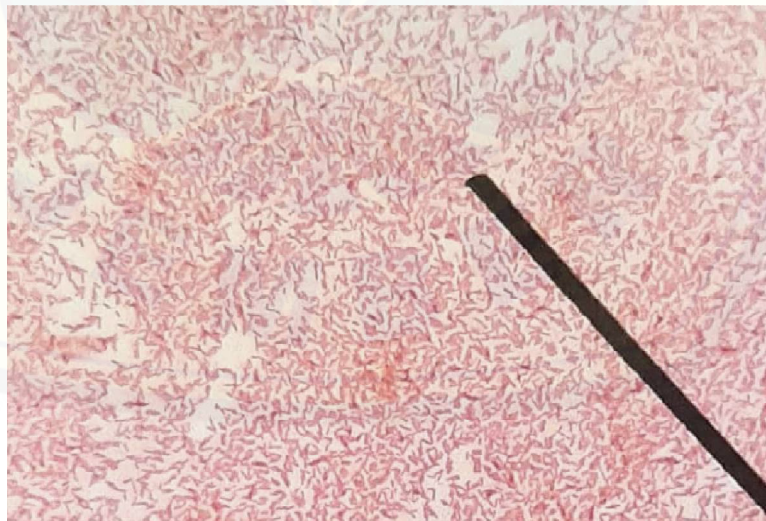
b. Konsentrasi 50% $= \frac{50}{100} \times 500 \mu\text{l}$
 $= 250 \mu\text{l}$

c. Konsentrasi 25% $= \frac{25}{100} \times 500 \mu\text{l}$
 $= 125 \mu\text{l}$

D. Tahapan identifikasi bakteri

Identifikasi bakteri dilakukan dengan metode pewarnaan Gram sebagai berikut (G-Biosciences,2012):

- 1) Ambil satu ose spesimen bakteri, lalu letakkan pada *object glass*.
- 2) Lewatkan diatas api bunsen 10-20 kali, Pastikan *object glass* tidak terlalu panas.
- 3) Tetesi seluruh permukaan spesimen dengan zat warna *Crystal Violet*, tunggu hingga 1 menit, bilas *object glass* dibawah air mengalir selama 5 detik.
- 4) Selanjutnya, tetesi spesimen dengan cairan *Iodine* dan ditunggu selama 1 menit., bilas *object glass* dibawah air mengalir selama 5 detik.
- 5) Lalu tetesi *Decolorizer Solution* sampai warna biru-violet tidak terlihat lagi pada spesimen, bilas *object glass* dibawah air mengalir lambat selama 5 detik.
- 6) Terakhir, tetesi spesimen dengan *Safranin* dan ditunggu hingga 1 menit, bilas *object glass* dibawah air mengalir lambat selama 5 detik.
- 7) Selipkan kertas penyerap agar sisa air pada *object glass* terbuang.
- 8) *Object glass* yang sudah kering kemudian ditutup dengan *deck glass*, lalu ditetesi minyak imersi untuk dilakukan pengamatan dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000x.



Gambaran hasil pewarnaan Gram dari sel bakteri *P. gingivalis* dengan perbesaran 1000x tampak berbentuk basil dan cocobacil, dan berwarna merah, yang menunjukkan bahwa bakteri tersebut bakteri Gram negatif

E. Diameter Zona Hambat (mm)

| Petridish | K - | K+ | Cx25 | Cx50 | Cx75 | Cx100 |
|-----------|------|-------|------|------|-------|-------|
| 1 | 0,00 | 31,09 | 8,29 | 8,45 | 10,02 | 10,54 |
| 2 | 0,00 | 31,16 | 8,10 | 8,79 | 9,98 | 10,35 |
| 3 | 0,00 | 31,07 | 8,02 | 8,52 | 8,81 | 9,46 |
| 4 | 0,00 | 30,91 | 7,94 | 8,51 | 9,19 | 9,87 |

K- = Kontrol negatif

K+ = Kontrol positif

Cx25= Minyak atsiri rimpang temulawak konsentrasi 25%

Cx50= Minyak atsiri rimpang temulawak konsentrasi 50%

Cx75= Minyak atsiri rimpang temulawak konsentrasi 75%

Cx100= Minyak atsiri rimpang temulawak konsentrasi 100%.

F. Analisis Data**F.1 Hasil Uji Normalitas dengan Uji *Shapiro Wilk***

| sampel | | Shapiro-Wilk ^b |
|-------------|------------------|---------------------------|
| | | Sig. |
| zona hambat | kontrol + | .517 |
| | konsentrasi 25% | .748 |
| | konsentrasi 50% | .110 |
| | konsentrasi 75% | .276 |
| | konsentrasi 100% | .724 |

a. zona hambat is constant when sampel = kontrol -. It has been omitted.

b. Lilliefors Significance Correction

F.2 Hasil Uji Homogenitas dengan *Levene Test***Test of Homogeneity of Variances**

zona hambat

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 12.563 | 5 | 18 | .000 |

F.3 Hasil Uji Non Parametrik dengan Uji *Kruskal Wallis***Kruskal-Wallis Test****Ranks**

| sampel | N | Mean Rank |
|------------------------------|----|-----------|
| kontrol - | 4 | 2.50 |
| kontrol + | 4 | 22.50 |
| zona hambat konsentrasi 25% | 4 | 6.50 |
| zona hambat konsentrasi 50% | 4 | 10.50 |
| zona hambat konsentrasi 75% | 4 | 15.50 |
| zona hambat konsentrasi 100% | 4 | 17.50 |
| Total | 24 | |

Test Statistics^{a,b}

| | zona hambat |
|-------------|-------------|
| Chi-Square | 22.016 |
| df | 5 |
| Asymp. Sig. | .001 |

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

F.4 Hasil Uji Beda Antar Kelompok Perlakuan

- a. Kontrol negatif (Larutan DMSO 10% + Tween 80 0,5% : Kontrol positif (gel metronidazol)

Ranks

| sampel | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|-----------|---|-----------|--------------|
| kontrol - | 4 | 2.50 | 10.00 |
| kontrol + | 4 | 6.50 | 26.00 |
| Total | 8 | | |

Test Statistics^a

| | zona hambat |
|--------------------------------|-------------------|
| 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: sampel

b. Not corrected for ties.

b. Kontrol negatif (Larutan DMSO 10% + Tween 80 0,5% : Minyak atsiri rim pang temulawak 25%)

Ranks

| sampel | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|-----------------------------|---|-----------|--------------|
| kontrol - | 4 | 2.50 | 10.00 |
| zona hambat konsentrasi 25% | 4 | 6.50 | 26.00 |
| Total | 8 | | |

Test Statistics^a

| | zona hambat |
|--------------------------------|-------------------|
| 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: sampel

b. Not corrected for ties.

- c. Kontrol negatif (Larutan DMSO 10% + Tween 80 0,5% : Minyak atsiri rimpang temulawak 50%

Ranks

| Sampel | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|-----------------------------|---|-----------|--------------|
| kontrol - | 4 | 2.50 | 10.00 |
| zona hambat konsentrasi 50% | 4 | 6.50 | 26.00 |
| Total | 8 | | |

Test Statistics^a

| | zona hambat |
|--------------------------------|-------------------|
| 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: sampel
b. Not corrected for ties.

- d. Kontrol negatif (Larutan DMSO 10% + Tween 80 0,5% : Minyak atsiri rimpang temulawak 75%

Ranks

| sampel | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|-----------------------------|---|-----------|--------------|
| kontrol - | 4 | 2.50 | 10.00 |
| zona hambat konsentrasi 75% | 4 | 6.50 | 26.00 |
| Total | 8 | | |

Test Statistics^a

| | zona hambat |
|--------------------------------|-------------------|
| 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: sampel

b. Not corrected for ties.

e. Kontrol negatif (Larutan DMSO 10% + Tween 80 0,5% : Minyak atsiri rimpang temulawak 100%)

Ranks

| sampel | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|------------------------------|---|-----------|--------------|
| kontrol - | 4 | 2.50 | 10.00 |
| zona hambat konsentrasi 100% | 4 | 6.50 | 26.00 |
| Total | 8 | | |

Test Statistics^a

| | zona hambat |
|--------------------------------|-------------------|
| 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: sampel

b. Not corrected for ties.

f. Kontrol positif (gel metronidazol) : Minyak atsiri rimpang temulawak 25%

Ranks

| sampel | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|-----------------------------|---|-----------|--------------|
| kontrol + | 4 | 6.50 | 26.00 |
| zona hambat konsentrasi 25% | 4 | 2.50 | 10.00 |
| Total | 8 | | |

Test Statistics^a

| | zona hambat |
|--------------------------------|-------------------|
| 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: sampel

b. Not corrected for ties.

g. Kontrol positif (gel metronidazol) : Minyak atsiri rimpang temulawak 50%

Ranks

| sampel | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|-----------------------------|---|-----------|--------------|
| kontrol + | 4 | 6.50 | 26.00 |
| zona hambat konsentrasi 50% | 4 | 2.50 | 10.00 |
| Total | 8 | | |

Test Statistics^a

| | zona hambat |
|--------------------------------|-------------------|
| 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: sampel

b. Not corrected for ties.

h. Kontrol positif (gel metronidazol) : Minyak atsiri rimpang temulawak 75%

Ranks

| sampel | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|-----------------------------|---|-----------|--------------|
| kontrol + | 4 | 6.50 | 26.00 |
| zona hambat konsentrasi 75% | 4 | 2.50 | 10.00 |
| Total | 8 | | |

Test Statistics^a

| | zona hambat |
|--------------------------------|-------------------|
| 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: sampel

b. Not corrected for ties.

i. Kontrol positif (gel metronidazol) : Minyak atsiri rimpang temulawak 100%

Ranks

| sampel | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|------------------------------|---|-----------|--------------|
| kontrol + | 4 | 6.50 | 26.00 |
| zona hambat konsentrasi 100% | 4 | 2.50 | 10.00 |
| Total | 8 | | |

Test Statistics^a

| | zona hambat |
|--------------------------------|-------------------|
| 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: sampel

b. Not corrected for ties.

j. Minyak atsiri rimpang temulawak 25% : Minyak atsiri rimpang temulawak 50%

Ranks

| sampel | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|-----------------------------|---|-----------|--------------|
| konsentrasi 25% | 4 | 2.50 | 10.00 |
| zona hambat konsentrasi 50% | 4 | 6.50 | 26.00 |
| Total | 8 | | |

Test Statistics^a

| | zona hambat |
|--------------------------------|-------------------|
| 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: sampel

b. Not corrected for ties.

- k. Minyak atsiri rimpang temulawak 25% : Minyak atsiri rimpang temulawak 75%

Ranks

| sampel | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|-----------------------------|---|-----------|--------------|
| konsentrasi 25% | 4 | 2.50 | 10.00 |
| zona hambat konsentrasi 75% | 4 | 6.50 | 26.00 |
| Total | 8 | | |

Test Statistics^a

| | zona hambat |
|--------------------------------|-------------------|
| 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: sampel
b. Not corrected for ties.

- l. Minyak atsiri rimpang temulawak 25% : Minyak atsiri rimpang temulawak 100%

Ranks

| sampel | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|------------------------------|---|-----------|--------------|
| konsentrasi 25% | 4 | 2.50 | 10.00 |
| zona hambat konsentrasi 100% | 4 | 6.50 | 26.00 |
| Total | 8 | | |

Test Statistics^a

| | zona hambat |
|--------------------------------|-------------------|
| 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: sampel

b. Not corrected for ties.

m. Minyak atsiri rimpang temulawak 50% : Minyak atsiri rimpang temulawak 75%

Ranks

| sampel | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|-----------------------------|---|-----------|--------------|
| konsentrasi 50% | 4 | 2.50 | 10.00 |
| zona hambat konsentrasi 75% | 4 | 6.50 | 26.00 |
| Total | 8 | | |

Test Statistics^a

| | zona hambat |
|--------------------------------|-------------------|
| 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: sampel

b. Not corrected for ties.

- n. Minyak atsiri rimpang temulawak 50% : Minyak atsiri rimpang temulawak 100%

Ranks

| sampel | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|------------------------------|---|-----------|--------------|
| zona hambat konsentrasi 50% | 4 | 2.50 | 10.00 |
| zona hambat konsentrasi 100% | 4 | 6.50 | 26.00 |
| Total | 8 | | |

Test Statistics^a

| | zona hambat |
|--------------------------------|-------------------|
| 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: sampel
b. Not corrected for ties.

- o. Minyak atsiri rimpang temulawak 75% : Minyak atsiri rimpang temulawak 100%

Ranks

| sampel | N | Mean Rank | Sum of Ranks |
|------------------------------|---|-----------|--------------|
| zona hambat konsentrasi 75% | 4 | 3.50 | 14.00 |
| zona hambat konsentrasi 100% | 4 | 5.50 | 22.00 |
| Total | 8 | | |

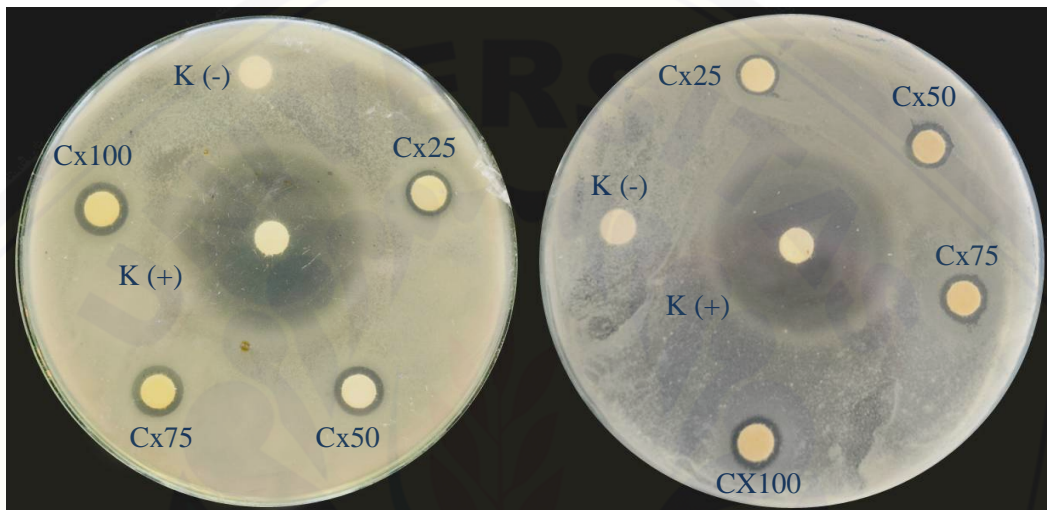
Test Statistics^a

| | zona hambat |
|--------------------------------|-------------------|
| Mann-Whitney U | 4.000 |
| Wilcoxon W | 14.000 |
| Z | -1.155 |
| Asymp. Sig. (2-tailed) | .248 |
| Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)] | .343 ^b |

- a. Grouping Variable: sampel
b. Not corrected for ties.

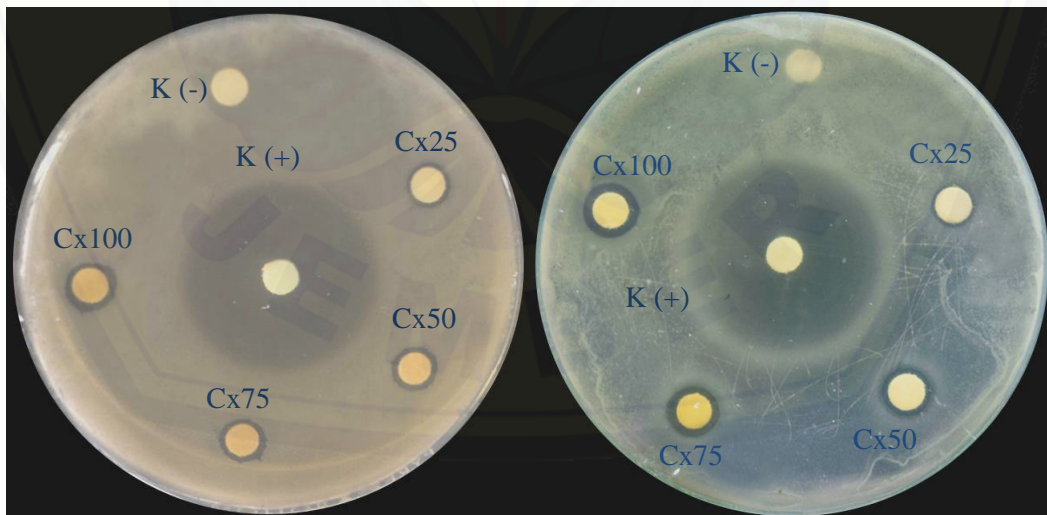
G. Foto Hasil Penelitian

Berikut merupakan foto hasil penelitian daya antibakteri minyak atsiri rimpang temulawak (*C. xanthorrhiza* Roxb.) terhadap *Porphyromonas gingivalis* pada 4 kali pengulangan dengan 4 kelompok konsentrasi minyak atsiri rimpang temulawak (Cx), kelompok kontrol positif (K+), dan kelompok kontrol negatif K(-) :



(Plate 1)

(Plate 2)

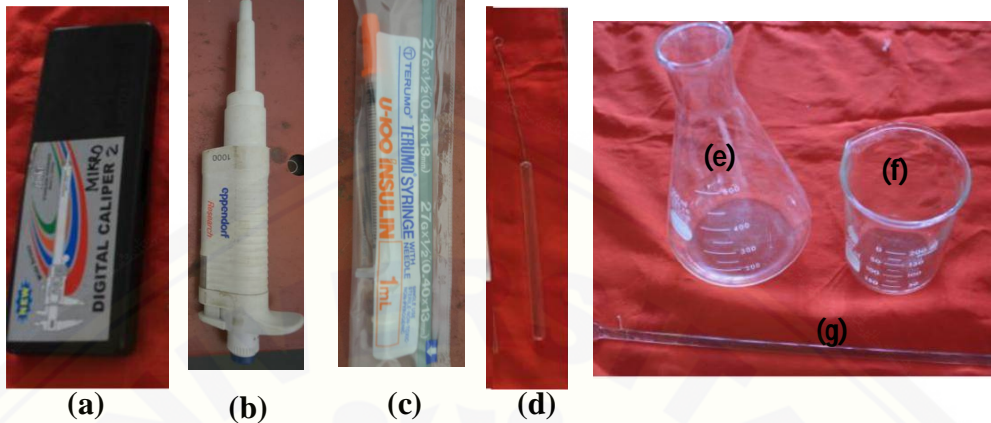


(Plate 3)

(Plate 4)

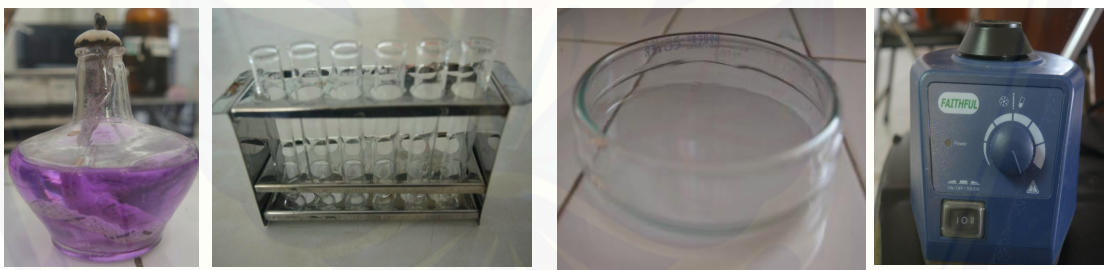
H. Foto Alat dan Bahan Penelitian

H.1 Alat Penelitian



- a. Jangka Sorong
- b. Mikropipet
- c. *Disposable syringe*
- d. Ose

- e. Tabung erlenmeyer
- f. Gelas ukur
- g. Spatula



- h. Bunsen
- i. Tabung Reaksi

- j. Petridish diameter 15mm
- k. Thermolyn



- l. Timbangan ohaus
- m. Spektrofotometer

- n. Desikator
- o. *Laminar flow*



(p)

p. Inkubator



(q)

q. Oven



(r)

r. Kompor Listrik



(s)

s. satu set alat destilasi uap



(t)

t. Autoklaf



(u)

u. Mikroskop



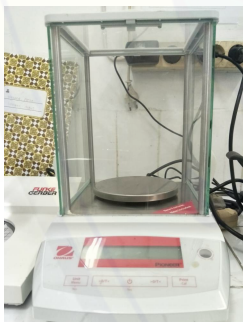
(v)

v. Pinset steril



(w)

w. Object glass+deck glass



(x)

x. Timbangan digital



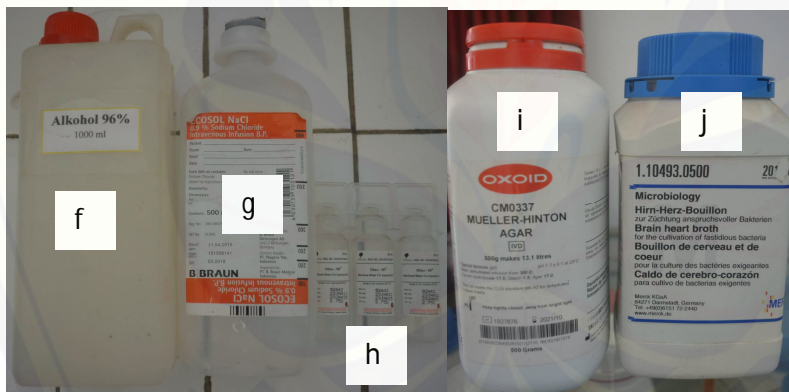
(y)

y. Spreader

H.2 Bahan Penelitian



- a. Kultur murni bakteri
- b. Minyak atsiri rimpang temulawak
- c. Tween 80
- d. Dimetil sulfoksida (DMSO)
- e. Gel metronidazol



- f. Alkohol
- g. Larutan *saline*
- h. Akuades steril
- i. MH-A (*Mueller Hinton-Agar*)
- j. BHI-B (*Brain Infusion -Broth*)



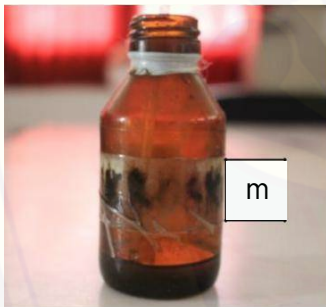
k

k. Bahan pewarnaan Gram (*Crystal violet, Iodine, Decolorizer Solution, Safranin*)



l

l. Cakram kertas diameter 5mm



m

m. Minyak imersi



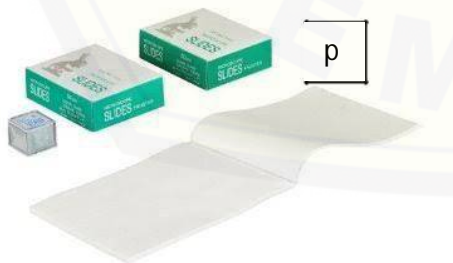
n

n. Kertas label dan spidol



o

o. Kapas steril



p

p. Kertas penyang





q

q. Tip Mikropipet




I. Surat Keterangan

I.1 Identifikasi Tanaman Temulawak

| |
|--|
| Kode Dokumen : FR-AUK-064 Revisi : 0 |
|  <p>KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI POLITEKNIK NEGERI JEMBER LABORATORIUM TANAMAN Jalan Mastrip Kotak Pos 164 Jember - 68101 Telp. (0331) 333532 - 333534 Fax. (0331) 333531 E-mail : Polije@polije.ac.id Web Site : http://www.Polije.ac.id</p> |
| <u>SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TANAMAN</u> No: 40/PL17.3.1.02/LL/2018 |
| <p>Menindaklanjuti surat dari Wakil Dekan I Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember No: 3015/UN25.8.TL/2018 perihal Permohonan Identifikasi Tanaman dan berdasarkan hasil pengamatan pada spesimen tumbuhan yang dikirimkan ke Laboratorium Tanaman, Jurusan Produksi Pertanian, Politeknik Negeri Jember oleh:</p> <p>Nama : Fiolina Fajar Febrianingrum H NIM : 151610101121 Jur/Fak/PT : Fakultas Kedokteran Gigi/ Universitas Jember</p> <p>maka dapat disampaikan hasilnya bahwa spesimen tersebut di bawah ini (terlampir) adalah: <i>Kingdom/Regnum: Plantae; Devisio: Spermatophyta; Subdevisio: Magnoliophyta; Kelas: Liliopsida (Monocotyledoneae); Ordo: Zingiberales; Famili: Zingiberaceae; Genus: Curcuma; Spesies: Curcuma xanthorrhiza, Roxb</i></p> <p>Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.</p> <p style="text-align: right;">Jember, 28 September 2018 Ka. Laboratorium Tanaman  Ir. Lilik Mastuti, M.P. NIP. 195808201987032001</p> |

I.2 Pembuatan Ekstrak Minyak Atsiri Rimpang Temulawak

KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI

**POLITEKNIK NEGERI JEMBER**

LABOTARIUM ALAT MESIN PERTANIAN

Nomor : 2389 / UN 25.8 TL / 2018

**Perihal : Permohonan ijin fasilitas laboratorium
Kegiatan Mahasiswa Penelitian**

Berdasarkan surat saudara nomor : 2389 / UN25.8.TL / 2018, Kami Kepala laboratorium Alat mesin Pertanian Politeknik Negeri Jember memberikan ijin dan penggunaan alat Destilasi sistim uap air kapasitas 4 kg kepada mahasiswa dibawah ini :

Nama : Fiolina Fajar Febrianingrum Hadi
NIM : 15161010121
Semester/Tahun : 2017/2018
Fakultas : Kedokteran Gigi Universitas Jember
Alamat : Jln.Baturaden I No. 52 Jember
Judul Penelitian : Daya Antibakteri Ekstrak Minyak Atsiri Rimpang Temulawak
(*Curcuma xanthorrhiza*) Terhadap Pertumbuhan Porphyromonas Gingivalis
Waktu Pelaksanaan: Juli 2018 s/d Selesai


Tempat pelaksanaan :
Laboratorium Alat Mesin Pertanian Politeknik Negri Jember

Alat :
Timbangan digital, Kunci pas,obeng, Alat destilasi uap dan air skala laboratorium kapasitas 4 kg.




Bahan :
Rimpang Temulawak Segar

Demikian surat permohonan ijin kami buat atas perhatiannya disampaikan terima kasih.

Jember, 6 September 2017
Ka. Lab Alat Mesin Pertanian


Amal Bahariawan. S.TP, M.Si
NIP. 19680911 199603 1 002

I. 3 Surat Ijin Penelitian

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|---|---|---|------|----------------------------------|---|-----|----------------|---|----------------|-------------|---|----------|---|---|--------|-------------------------------|---|------------------|--|---|-------------------|---|---|-------------------------|--|---|-------|----------------------------|----|-------------------|---|----|------------------|--|
|  | KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI UNIVERSITAS JEMBER FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI Jl. Kalimantan No. 37 Jember ☎(0331) 333536, Fak. 331991 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Nomor | 3016/UN25.S.TL/2018 | 16 AUG 2018 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Perihal | : Ijin Penelitian | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <p>Kepada Yth Kepala Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember di <u>Jember</u></p> <p>Dalam rangka pengumpulan data penelitian guna penyusunan skripsi maka, dengan hormat kami mohon bantuan dan kesediaannya untuk memberikan ijin guna melakukan penelitian bagi mahasiswa kami dibawah ini :</p> <table border="0"> <tr> <td>1</td> <td>Nama</td> <td>: Fiolina Fajar Febrianingrum H.</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>NIM</td> <td>: 151610101121</td> </tr> <tr> <td>3</td> <td>Semester/Tahun</td> <td>: 2017/2018</td> </tr> <tr> <td>4</td> <td>Fakultas</td> <td>: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember</td> </tr> <tr> <td>5</td> <td>Alamat</td> <td>: Jl. Danau Toba No.83 Jember</td> </tr> <tr> <td>6</td> <td>Judul Penelitian</td> <td>: Daya Antibakteri Ekstrak Minyak Atsiri Rimpang Temulawak (<i>Curcuma xanthorrhiza</i> Roxb.) Terhadap Pertumbuhan <i>Porphyromonas gingivalis</i></td> </tr> <tr> <td>7</td> <td>Lokasi Penelitian</td> <td>: Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember</td> </tr> <tr> <td>8</td> <td>Data/alat yang dipinjam</td> <td>: Oven, Spektrofotometer, Inkubator, Autoklaf, Laminar Flow, dll</td> </tr> <tr> <td>9</td> <td>Waktu</td> <td>: Agustus 2018 s/d Selesai</td> </tr> <tr> <td>10</td> <td>Tujuan Penelitian</td> <td>: Untuk Menganalisis Daya Antibakteri Ekstrak Minyak Atsiri Rimpang Temulawak (<i>Curcuma xanthorrhiza</i> Roxb.) Terhadap Pertumbuhan <i>Porphyromonas gingivalis</i></td> </tr> <tr> <td>11</td> <td>Dosen Pembimbing</td> <td>: 1. drg. Pujiana Endah Lestari, M.Kes. 2. drg. Happy Harmono, M.Kes.</td> </tr> </table> <p>Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih</p> <p style="text-align: right;">an, Dekan Wakil Dekan I,</p> <div style="text-align: center;">   Dr. drg. IDA Susilawati, M.Kes NIP. 196109031986022001 </div> | | | 1 | Nama | : Fiolina Fajar Febrianingrum H. | 2 | NIM | : 151610101121 | 3 | Semester/Tahun | : 2017/2018 | 4 | Fakultas | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember | 5 | Alamat | : Jl. Danau Toba No.83 Jember | 6 | Judul Penelitian | : Daya Antibakteri Ekstrak Minyak Atsiri Rimpang Temulawak (<i>Curcuma xanthorrhiza</i> Roxb.) Terhadap Pertumbuhan <i>Porphyromonas gingivalis</i> | 7 | Lokasi Penelitian | : Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember | 8 | Data/alat yang dipinjam | : Oven, Spektrofotometer, Inkubator, Autoklaf, Laminar Flow, dll | 9 | Waktu | : Agustus 2018 s/d Selesai | 10 | Tujuan Penelitian | : Untuk Menganalisis Daya Antibakteri Ekstrak Minyak Atsiri Rimpang Temulawak (<i>Curcuma xanthorrhiza</i> Roxb.) Terhadap Pertumbuhan <i>Porphyromonas gingivalis</i> | 11 | Dosen Pembimbing | : 1. drg. Pujiana Endah Lestari, M.Kes. 2. drg. Happy Harmono, M.Kes. |
| 1 | Nama | : Fiolina Fajar Febrianingrum H. | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2 | NIM | : 151610101121 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 3 | Semester/Tahun | : 2017/2018 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 4 | Fakultas | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 5 | Alamat | : Jl. Danau Toba No.83 Jember | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 6 | Judul Penelitian | : Daya Antibakteri Ekstrak Minyak Atsiri Rimpang Temulawak (<i>Curcuma xanthorrhiza</i> Roxb.) Terhadap Pertumbuhan <i>Porphyromonas gingivalis</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 7 | Lokasi Penelitian | : Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 8 | Data/alat yang dipinjam | : Oven, Spektrofotometer, Inkubator, Autoklaf, Laminar Flow, dll | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 9 | Waktu | : Agustus 2018 s/d Selesai | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 10 | Tujuan Penelitian | : Untuk Menganalisis Daya Antibakteri Ekstrak Minyak Atsiri Rimpang Temulawak (<i>Curcuma xanthorrhiza</i> Roxb.) Terhadap Pertumbuhan <i>Porphyromonas gingivalis</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 11 | Dosen Pembimbing | : 1. drg. Pujiana Endah Lestari, M.Kes. 2. drg. Happy Harmono, M.Kes. | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

I. 4 Identifikasi Bakteri *P. gingivalis* dengan Pewarnaan Gram

LABORATORIUM MIKROBIOLOGI
BAGIAN BIOMEDIK KEDOKTERAN GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER

SURAT KETERANGAN
No. 0146 / MIKRO / S.KET / 2018

Sehubungan dengan keperluan identifikasi mikroorganisme, maka kami menerangkan bahwa mahasiswa berikut:

Nama : Fiolina Fajar Febrianingrum Hadi
NIM : 151610101121
Fakultas : Kedokteran Gigi Universitas Jember
Keperluan : Identifikasi Mikroorganisme

Telah melakukan uji identifikasi terhadap isolasi bakteri *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 dengan menggunakan pengecatan Gram dan diamati secara mikroskopis menunjukkan hasil basil Gram negatif, /cocobacillus Gram negatif dan tidak terkontaminasi

Jember, 21 November 2018

Mengetahui,
Kepala Bagian Biomedik Kedokteran Gigi

(drg. Amandia Dewi Permana Shita, M. Biomed)
NIP. 198006032006042002

Menanggung Jawab Lab. Mikrobiologi

(drg. Pujiana Endah Lestari, M. kes)
NIP. 197608092005012002