



**AKTIVITAS MIKROBISIDA SEL NEUTROFIL YANG DIPAPAR  
*Streptococcus mutans* DAN DIINKUBASI EKSTRAK DAUN  
ALPUKAT (*Persea americana miller*)**

**SKRIPSI**

Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi syarat-syarat  
Untuk menyelesaikan Program Studi Kedokteran Gigi (S1)  
Dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran Gigi

Oleh :

**Lia Martina**

**NIM. 111610101046**

**BAGIAN BIOMEDIK  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS JEMBER**

**2015**

## HALAMAN PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT yang telah melimpahkan segala rahmat, hidayah dan karunia-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini;
2. Rasulullah Muhammad SAW;
3. Kedua orang tua tercinta, Ibunda Siti Rahma dan Ayahanda Safrudin yang selalu mendoakan, membimbing dan memberi dukungan kepada saya sehingga saya bisa menyelesaikan skripsi ini;
4. Kakak tercinta Elita Yuniar dan Kakak Ipar Baskoro Cahyo Romadoni yang selalu memberi dukungan, semangat dan kasih sayang;
5. Guru-guru tercinta sejak taman kanak-kanak sampai perguruan tinggi;
6. Almamater tercinta Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

**MOTTO**

*I am thankfull to all those who said NO to me, it's because of them I did it myself*  
*Abraham Lincoln*

*Sesuatu yang belum dikerjakan, seringkali tampak mustahil, kita baru yakin kalau*  
*kita telah berhasil melakukannya dengan baik.*  
*Evelyn Underhill*

*Barang siapa menuntut ilmu, maka Allah akan memudahkan*  
*baginya jalan menuju surga.*  
*(H.R Muslim dalam Shahih-nya).*

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Lia Martina

Nim : 111610101046

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul: “Aktivitas Mikrobisida Sel Neutrofil yang Dipapar *Streptococcus mutans* dan Diinkubasi Ekstrak Daun Alpukat (*Persea americana miller*)” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember,  
Yang menyatakan

Lia Martina  
NIM 111610101046

**SKRIPSI**

**AKTIVITAS MIKROBISIDA SEL NEUTROFIL YANG DIPAPAR  
*Streptococcus mutans* DAN DIINKUBASI EKSTRAK DAUN  
ALPUKAT (*Persea americana miller*)**

Oleh:

**Lia martina**

**111610101046**

Pembimbing

Dosen pembimbing utama : Dr. drg. Purwanto, M.Kes

Dosen pembimbing pendamping : drg. Tantin Ermawati, M.Kes

**PENGESAHAN**

Skripsi ini berjudul “Aktivitas Mikrobisida Sel Neutrofil yang Dipapar *Streptococcus mutans* dan Diinkubasi Ekstrak Daun Alpukat (*Persea americana miller*)”, telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada :

Hari, tanggal : 14 Januari 2015

Tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Penguji Ketua

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

Penguji Anggota

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

Pembimbing Utama

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

Pembimbing Pendamping

drg. Tantin Ermawati, M. Kes  
NIP. 19803222008122003

Mengesahkan,  
Dekan Fakultas Kedokteran Gigi,  
Universitas Jember,

drg. Hj. Herniyati, M. Kes  
NIP. 195909061985032001

## RINGKASAN

**Aktivitas Mikrobisida Sel Neutrofil yang Dipapar *Streptococcus mutans* dan Diinkubasi Ekstrak Daun Alpukat (*Persea americana miller*)**, Lia Martina, 111610101046; 2015; 76 Halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

*Streptococcus mutans* (*S. mutans*) merupakan penyebab utama karies gigi. Mikroorganisme yang terdapat pada karies tersebut akan menyebabkan iritasi terhadap jaringan pulpa dan jaringan periradikuler. Pulpa akan merespon iritan tersebut dengan suatu proses inflamasi. Ketika proses inflamasi berlangsung akan terjadi suatu reaksi dimana cairan, elemen darah, sel darah putih dan mediator kimia akan berkumpul pada tempat terjadinya cedera jaringan atau infeksi. Neutrofil merupakan garis pertahanan pertama bagi tubuh terhadap invasi benda asing yang menyerang. Obat-obatan seperti antibiotik secara umum juga dapat menyembuhkan infeksi. Namun saat ini penggunaan antibiotik untuk infeksi lokal telah dikurangi. Pengobatan atau perawatan dengan menggunakan bahan alam di Indonesia saat ini lebih digalakkan, baik di bidang kedokteran maupun kedokteran gigi. Salah satu bahan alam yang merupakan tanaman obat yang sangat penting dan dimanfaatkan sebagai obat tradisional adalah alpukat, dimana daun alpukat merupakan sumber antioksidan alami. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi ekstrak daun alpukat dalam meningkatkan aktivitas mikrobisida sel neutrofil yang dipapar *S. mutans*.

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental laboratoris. Rancangan penelitian yang digunakan adalah *post test only control group design*. Penelitian ini dilakukan pada bulan Oktober 2014. Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember dan Laboratorium *Bio Science* Rumah Sakit Gigi dan Mulut Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Pada penelitian ini digunakan sampel isolat neutrofil yang dibagi

menjadi enam kelompok perlakuan, yaitu kelompok kontrol positif, yaitu kelompok yang diinkubasi menggunakan *Penstrep* (*Penisilin Streptomisin*), kemudian kelompok yang diinkubasi dengan ekstrak daun alpukat konsentrasi 100%, kelompok yang diinkubasi dengan ekstrak daun alpukat konsentrasi 75%, konsentrasi 50%, konsentrasi 25% dan kelompok kontrol negatif yaitu kelompok yang menggunakan *aquadest steril*. Selanjutnya diinkubasi dengan bakteri *S. mutans* selama tiga jam, setelah itu dilakukan penanaman pada media BHI-A dan diinkubasi selama 24 jam. Uji mikrobisida dilihat dari jumlah koloni bakteri pada media agar yang dihitung dengan menggunakan *colony counter*.

Berdasarkan hasil dari penelitian ini, diketahui bahwa ekstrak daun alpukat dapat meningkatkan aktifitas mikrobisida dari sel neutrofil yang dipapar dengan bakteri *S. mutans*. Konsentrasi yang paling efektif untuk meningkatkan aktifitas mikrobisida sel neutrofil yang dipapar dengan bakteri *S. mutans* adalah ekstrak daun alpukat dengan konsentrasi 100%.



## PRAKATA

Segala puji dan syukur kehadiran Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Aktivitas Mikrobisida Sel Neutrofil yang Dipapar *Streptococcus mutans* dan Diinkubasi Ekstrak Daun Alpukat (*Persea americana miller*)”. Skripsi ini disusun guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Studi Ilmu Kedokteran Gigi (S1) dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran Gigi.

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

1. drg. Hj. Herniyati, M. Kes, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
2. Dr. drg. Purwanto, M. Kes, selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah memberikan bimbingan serta ilmu untuk menyelesaikan skripsi ini;
3. drg. Tantin Ermawati, M. Kes, selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah memberikan bimbingan serta ilmu untuk menyelesaikan skripsi ini;
4. Dr. drg. Sri Hernawati, M. Kes, selaku Dosen Penguji Ketua dan drg. Dwi Warna Aju Fatmawati, M. Kes, selaku Dosen Penguji Anggota yang telah memberikan masukan pemikiran dan saran yang membangun demi kesempurnaan skripsi ini;
5. drg. Amiyatun Naini, M. Kes, selaku Dosen Pembimbing Akademik yang selalu memantau dan memberikan masukan dari awal semester hingga terselesaikannya skripsi ini;
6. Seluruh staf Laboratorium *Bio Science* RSGM FKG Universitas Jember dan Laboratorium Mikrobiologi FKG Universitas Jember dimana penelitian ini

saya lakukan.

7. Kedua orang tua saya, Ibunda Siti Rahmah dan Ayahanda Safrudin atas segala kasih sayang, kesabaran, doa, semangat, dan pengorbanan selama ini;
8. Kakak tercinta Elita Yuniar dan kakak ipar Baskoro Cahyo Romadoni yang selalu memberi semangat dan dorongan untuk terus maju;
9. Keluarga besar yang selalu mendoakan dan memberi dukungan selama saya menempuh pendidikan S1 di FKG Universitas Jember;
10. Rizal Andriansyah yang selalu menemani dan memberi dukungan agar tetap sabar dan semangat;
11. Hairuni Indrasari yang selalu memberi semangat dan dukungan;
12. Sahabat-sahabat terhebat yang selalu ada disaat suka dan duka selama kurang lebih tujuh semester ini Sixtine Agustiana Fahmi, Rifqi Afdila, Chusna Sekar Wardani dan Dyah Kurnia Aulia;
13. Teman-teman seperjuangan di FKG Universitas Jember 2011 yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu;
14. Serta seluruh pihak yang terlibat secara langsung maupun tidak langsung dalam penyelesaian skripsi ini.

Pada kesempatan ini, penulis juga ingin menyampaikan bahwa penyusunan skripsi ini masih banyak kekurangan, oleh karena itu, kritik serta saran yang bersifat membangun diharapkan demi kesempurnaan skripsi ini.

Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua, Amin.

Jember, Maret 2014

Penulis

**DAFTAR ISI**

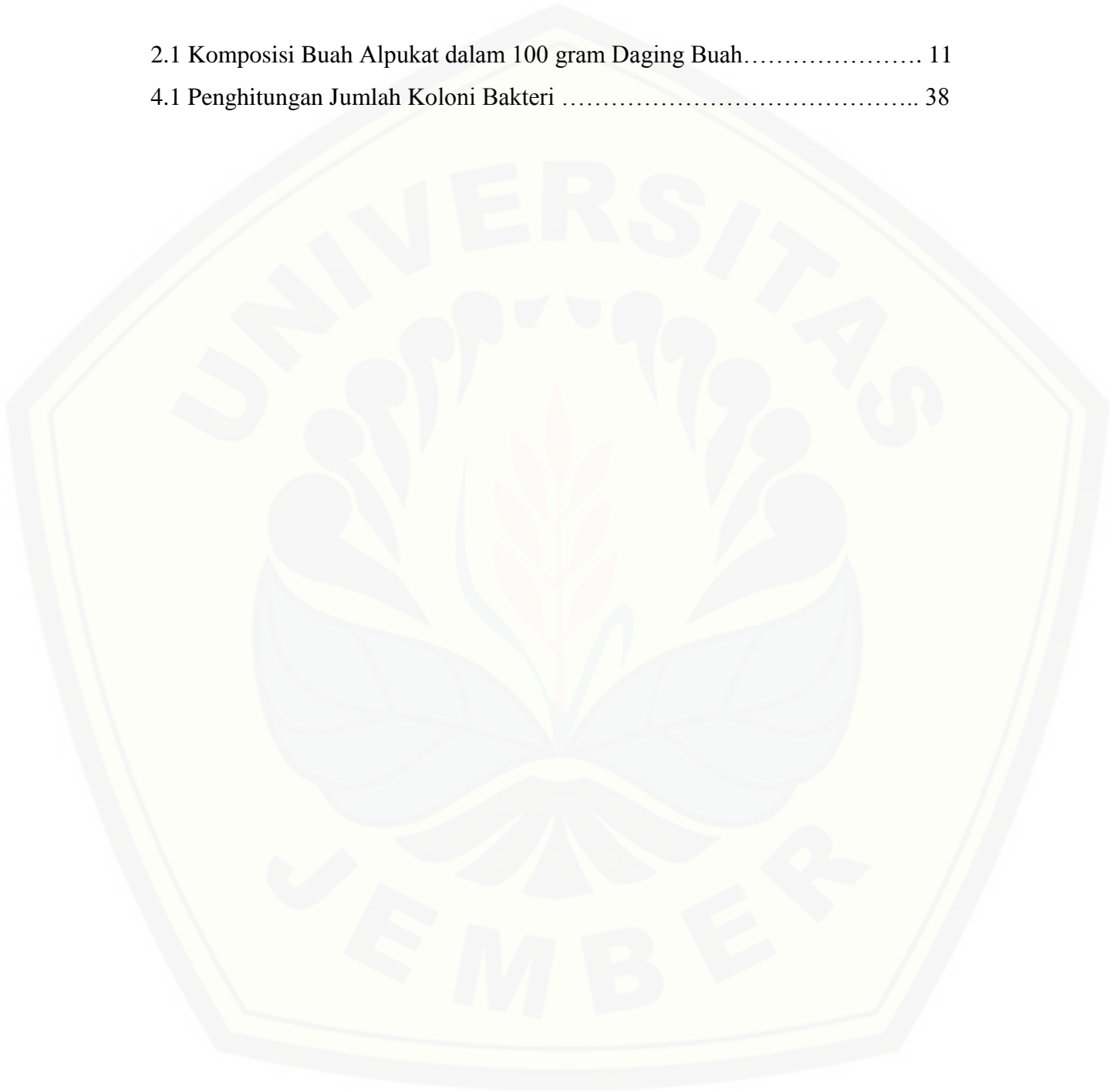
<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN.....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN MOTTO.....</b>	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN.....</b>	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PEMBIMBINGAN.....</b>	<b>v</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN.....</b>	<b>vi</b>
<b>RINGKASAN.....</b>	<b>vii</b>
<b>PRAKATA.....</b>	<b>ix</b>
<b>DAFTAR ISI .....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR TABEL.....</b>	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xv</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN.....</b>	<b>xvi</b>
<b>BAB 1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Latar Belakang .....</b>	<b>1</b>
<b>1.2 Rumusan Masalah .....</b>	<b>5</b>
<b>1.3 Tujuan .....</b>	<b>5</b>
<b>1.4 Manfaat .....</b>	<b>5</b>
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>6</b>
<b>2.1 <i>Streptococcus</i> .....</b>	<b>6</b>
<b>2.2 <i>Streptococcus mutans</i> .....</b>	<b>6</b>
<b>2.3 Alpukat (<i>Persea americana miller</i>).....</b>	<b>8</b>
2.3.1 Bagian Tanaman Alpukat .....	9
2.3.2 Habitat .....	11
2.3.3 Manfaat Alpukat .....	11
<b>2.4 Daun Alpukat .....</b>	<b>12</b>
<b>2.5 Pulpa .....</b>	<b>15</b>

2.5.1 Pertahanan Pulpa .....	16
<b>2.6 Neutrofil .....</b>	<b>17</b>
2.6.1 Morfologi .....	17
2.6.2 Fungsi .....	19
<b>2.7 Hipotesis .....</b>	<b>20</b>
<b>2.8 Kerangka Konsep .....</b>	<b>20</b>
<b>BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN .....</b>	<b>21</b>
<b>3.1 Jenis Penelitian .....</b>	<b>21</b>
<b>3.2 Waktu dan Tempat Penelitian .....</b>	<b>21</b>
<b>3.3 Identifikasi Variabel .....</b>	<b>21</b>
3.3.1 Variabel Bebas .....	21
3.3.2 Variabel Terikat .....	21
3.3.3 Variabel Terkendali .....	22
<b>3.4 Definisi Operasional .....</b>	<b>22</b>
3.4.1 Aktivitas Mikrobisida Sel Neutrofil .....	22
3.4.2 Ekstrak Daun Alpukat .....	22
3.4.3 Bakteri <i>S. mutans</i> .....	22
<b>3.5 Sampel Penelitian .....</b>	<b>22</b>
3.5.1 Kriteria Sampel .....	22
3.5.2 Besar Sampel .....	23
<b>3.6 Alat dan Bahan Penelitian .....</b>	<b>23</b>
3.6.1 Alat Penelitian .....	23
3.6.2 Bahan Penelitian .....	24
<b>3.7 Prosedur Penelitian .....</b>	<b>25</b>
3.7.1 Persiapan Penelitian .....	25
3.7.2 Prosedur Penelitian .....	29
<b>3.8 Analisis Data .....</b>	<b>34</b>
<b>3.9 Alur Penelitian .....</b>	<b>35</b>

<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>36</b>
<b>4.1 Hasil Penelitian.....</b>	<b>36</b>
4.1.1 Isolat Neutrofil.....	36
4.1.2 Identifikasi <i>Streptococcus mutans</i> .....	37
4.1.3 Uji Aktivitas Mikrobisida.....	37
4.1.4 Uji Statistik Data .....	39
<b>4.2 Pembahasan .....</b>	<b>41</b>
<b>BAB 5. PENUTUP.....</b>	<b>44</b>
<b>5.1 Kesimpulan.....</b>	<b>44</b>
<b>5.2 Saran.....</b>	<b>44</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>45</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>49</b>

**DAFTAR TABEL**

2.1 Komposisi Buah Alpukat dalam 100 gram Daging Buah.....	11
4.1 Penghitungan Jumlah Koloni Bakteri .....	38



**DAFTAR GAMBAR**

2.1 Bakteri <i>Streptococcus mutans</i> .....	7
2.2 Alpukat .....	9
2.3 Daun Alpukat .....	13
2.4 Sel Neutrofil .....	18
3.1 Maserasi Serbuk Alpukat dengan Etanol 70% .....	26
3.2 Evaporasi Ekstrak Daun Alpukat .....	27
3.3 <i>Thermolyne</i> .....	28
3.4 Pengambilan Darah Vena .....	29
3.5 Tabung Heparin .....	30
3.6 Lapisan Darah .....	30
3.7 Proses Penambahan neutrofil ke dalam <i>microplate</i> .....	31
3.7 Proses penambahan ekstrak daun alpukat ke dalam <i>microplate</i> .....	32
3.8 Proses penanaman suspense bakteri .....	33
3.9 <i>colony counter</i> .....	33
4.1 Preparat Hasil Isolasi Neutrofil .....	36
4.2 Preparat Hapusan <i>S. mutans</i> .....	37
4.3 Koloni Bakteri <i>S. mutans</i> secara makroskopik .....	38
4.4 Diagram Batang Jumlah Koloni Bakteri .....	39

**DAFTAR LAMPIRAN**

A. Hasil Penelitian .....	49
A1. Hasil Data Perhitungan Koloni Bakteri .....	49
A2. Gambar koloni bakteri .....	50
B. Perhitungan Sampel .....	51
C. Analisis Data .....	52
C1. Uji Normalitas <i>Kolmogorov-Smirnov</i> .....	52
C2. Uji Homogenitas <i>Levene</i> .....	52
C3. <i>Oneway</i> Anova .....	53
C4. Uji LSD .....	54
D. Alat dan Bahan Penelitian .....	54
D1. Alat Penelitian .....	55
D.2 Bahan .....	57
D. <i>Inform Concent</i> .....	58
E. Identifikasi <i>S. Mutans</i> .....	59
F. Identifikasi Alpukat .....	60



## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

*Streptococcus mutans* (*S. mutans*) merupakan penyebab utama karies gigi. Salah satu ciri dari bakteri ini adalah mempunyai kemampuan menempel pada seluruh permukaan rongga mulut (Anggraeni *et al*, 2005: 8). Sifat kariogenik bakteri ini dihubungkan dengan berbagai faktor, seperti *S. mutans* sebagai bakteri anaerob fakultatif yang dapat menghasilkan asam laktat sebagai bagian dari metabolisme, *S. mutans* mampu membentuk glukukan tidak larut air yang dapat menyebabkan menurunnya konsentrasi kalsium dan fosfat dalam saliva, sehingga mengurangi kemampuannya untuk memperbaiki kerusakan gigi yang disebabkan oleh asam laktat bakteri (Simon, 2007: 3).

Mikroorganisme yang terdapat pada karies tersebut akan menyebabkan iritasi terhadap jaringan pulpa dan jaringan periradikuler. Adanya mikroorganisme dan produk sampingnya pada dentin akan memasuki pulpa secara lokal melalui tubulus dentin. Apabila hal ini terjadi biasanya pulpa tidak mampu menghilangkan iritan tersebut, pulpa hanya mampu menghentikan persebaran ataupun memperlambat penyebaran dari iritan tersebut (Walton dan Torabinejad, 2008: 414).

Pulpa akan merespon iritan tersebut dengan suatu proses peradangan atau inflamasi (Ford, 1993: 45). Ketika proses inflamasi berlangsung akan terjadi suatu reaksi dimana cairan, elemen-elemen darah, sel darah putih dan mediator kimia akan berkumpul pada tempat terjadinya cedera jaringan atau infeksi (Azzahra *at al*, 2014: 162). Sel darah putih merupakan suatu sistem khusus untuk melawan bermacam agen infeksi dan toksik. Sel darah putih terdiri dari enam macam sel, yaitu *neutrofil*, *eosinofil*, *basofil*, *monosit*, *limfosit* dan *sel plasma* (Guyton dan Hall, 2007: 450-451).

Neutrofil merupakan garis pertahanan pertama bagi tubuh terhadap invasi dari bakteri, virus dan agen merugikan lainnya yang menyerang (Effendi, 2003: 2).

Neutrofil merupakan sel pertama yang keluar dari sirkulasi darah menuju jaringan tempat terjadinya peradangan akibat infeksi (Mannait *et al*, 2013: 31). Neutrofil akan mencari bakteri atau benda asing untuk ditangkap dengan pseudopodia dan memasukkannya ke dalam vakuol yang disebut fagosom. Setelah itu granula spesifik akan melebur ke dalam fagosom. Melalui pompa protein dalam membran fagosom, pH vakuol menurun hingga 5,0 yang merupakan pH optimal untuk aktifitas dari enzim lisosom. Selanjutnya granula azurofil akan melepas enzimnya ke dalam lingkungan asam yang akan mematikan dan mencerna mikroorganisme tersebut (Mescher, 2011: 201). Efektivitas neutrofil dipengaruhi oleh defisiensi beberapa komponen selular dan komponen humoral, obat-obatan dan produk toksik bakterial (Mannait *et al*, 2013: 31).

Obat-obatan seperti antibiotik secara umum juga dapat menyembuhkan penyakit infeksi (Roslizawaty *et al*, 2013: 91). Antibiotik adalah agen yang digunakan untuk mengobati suatu infeksi karena bakteri. Menurut Menteri Kesehatan Endang Rahayu Sedyaningsih, sekitar 92 persen masyarakat di Indonesia tidak menggunakan antibiotika secara tepat. Ketika digunakan secara tepat, antibiotik memberikan manfaat yang tidak perlu diragukan lagi. Namun bila dipakai atau diresepkan secara tidak tepat (*irrational prescribing*) dapat menimbulkan kerugian yang luas dari segi kesehatan (Utami, 2012: 124).

Saat ini penggunaan antibiotik untuk infeksi lokal telah dikurangi karena kecenderungan menimbulkan hipersensitivitas secara lokal pada kulit atau membran mukosa (Roslizawaty *et al*, 2013: 91). Dampak penggunaan antibiotik yang tidak sesuai aturan dapat menyebabkan berbagai reaksi tubuh, antara lain hipersensitivitas, kerusakan sel darah, keracunan obat, kerusakan ginjal dan kerusakan sel saraf. Antibiotik juga tidak sedikit yang menimbulkan efek toksik atau teratogenik terhadap ibu atau janin didalam Rahim (Gondo, 2007: 57).

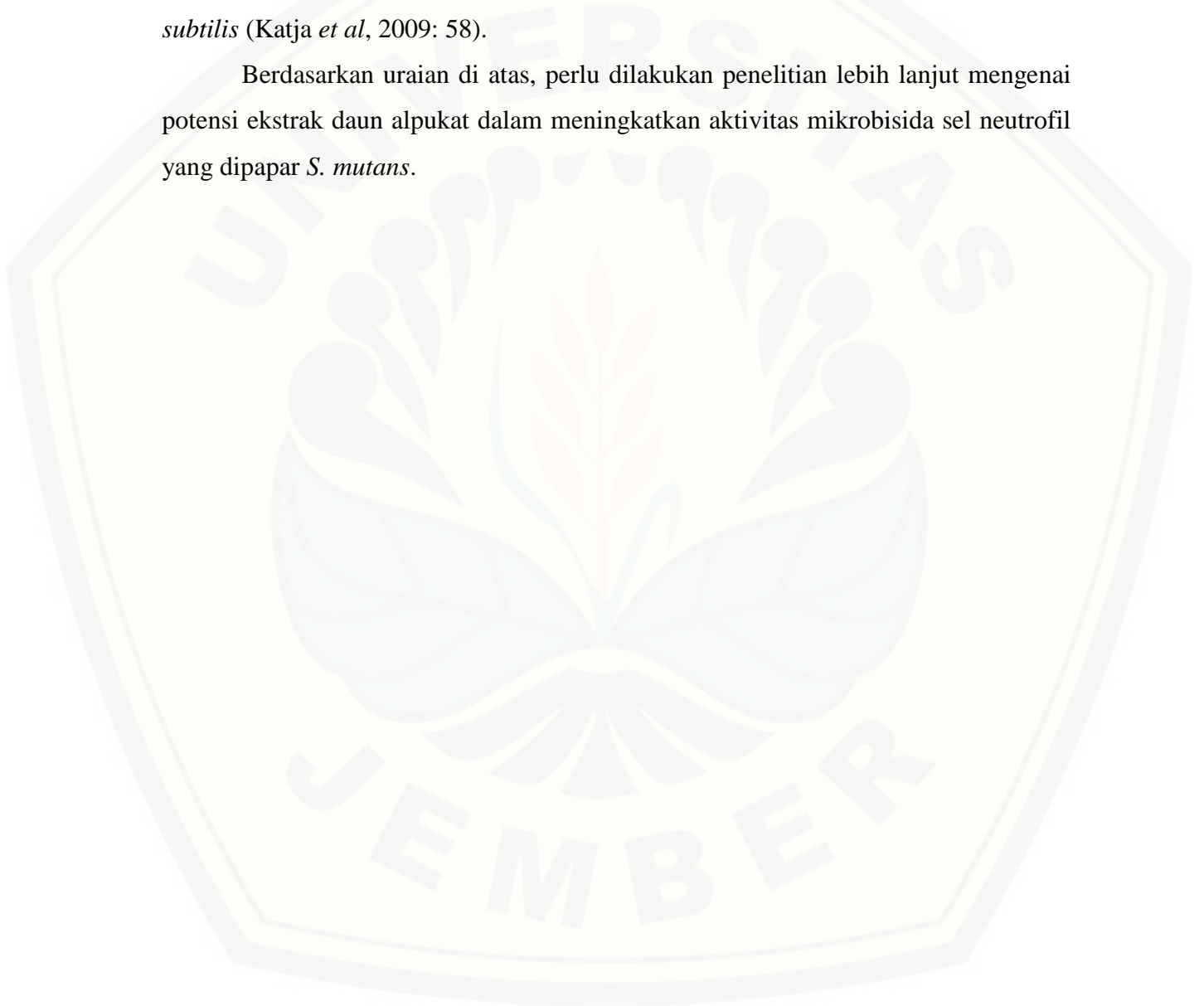
Munculnya kuman-kuman patogen yang kebal terhadap jenis antibiotika tertentu juga sangat menyulitkan proses pengobatan. Pemakaian antibiotika lini pertama yang sudah tidak bermanfaat harus diganti dengan obat-obatan lini kedua atau bahkan lini ketiga. Hal ini jelas akan merugikan pasien, karena antibiotika lini kedua maupun lini ketiga masih sangat mahal harganya. Sayangnya, tidak tertutup kemungkinan juga terjadi kekebalan kuman (Utami, 2012: 124).

Pengobatan atau perawatan pilihan dengan menggunakan bahan alam di Indonesia saat ini lebih digalakkan, baik di bidang kedokteran maupun kedokteran gigi. Pemakaian tanaman untuk pengobatan perlu digali lebih mendalam, khususnya sumber daya nabati Indonesia, yang dikenal kaya dengan keanekaragaman hayati. Upaya itu dilakukan seiring dengan anjuran pemerintah untuk mengelola dan memberdayakan segala sumber daya alam secara lestari dan berkelanjutan. Namun, pengobatan atau perawatan pilihan, harus dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah, baik dari segi manfaat maupun keamanannya. Telah banyak dilakukan penelitian dengan memanfaatkan bahan alam karena hal ini dianggap sangat bermanfaat di mana sejak dahulu kala masyarakat kita telah percaya bahwa bahan alam mampu mengobati berbagai macam penyakit dan jarang menimbulkan efek samping yang merugikan dibandingkan obat yang terbuat dari bahan sintetis (Purnamasari *et al*, 2010: 14).

Salah satu bahan alam yang merupakan tanaman obat yang sangat penting dan dimanfaatkan sebagai obat tradisional adalah alpukat (Katja *et al* , 2009: 58). Alpukat, yang memiliki nama latin *Persea americana miller*, merupakan salah satu komoditas buah yang sangat digemari oleh seluruh lapisan masyarakat. Buah alpukat memiliki kandungan lemak cukup tinggi, yakni berkisar antara 4% - 5% tergantung pada varietasnya, tingkat kematangan dan lokasi tumbuhnya. Buah alpukat mengandung banyak vitamin A, B, E, serta mineral yang umumnya lebih tinggi dari pada buah-buahan lain. Selain itu, bagian-bagian tanaman seperti daun dan biji alpukat dapat menyembuhkan beberapa penyakit (Kanisius, 1997 : 19).

Daun alpukat merupakan sumber antioksidan alami. Analisis kandungan kimia dari daun alpukat yang telah diisolasi adalah saponin, alkaloid, flavonoid, terpena, safrol dan tanin. Daun alpukat juga dilaporkan bersifat antibakteri dan dapat menghambat pertumbuhan bakteri seperti *Staphylococcus aureus strain A dan B*, *Staphylococcus albus*, *Pseudomonas sp*, *Proteus sp*, *Escherichiae sp* dan *Bacillus subtilis* (Katja *et al*, 2009: 58).

Berdasarkan uraian di atas, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai potensi ekstrak daun alpukat dalam meningkatkan aktivitas mikrobisida sel neutrofil yang dipapar *S. mutans*.



## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian dari latar belakang di atas, maka dapat ditarik rumusan masalah penelitian sebagai berikut:

- a. Apakah ada pengaruh pemberian ekstrak daun alpukat (*Persea americana miller*) terhadap aktivitas mikrobisida sel neutrofil yang telah dipapar oleh *S. mutans*?
- b. Berapakah konsentrasi paling efektif untuk meningkatkan aktifitas mikrobisida neutrofil terhadap *S. mutans*?

## 1.3 Tujuan Penelitian

- a. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun alpukat (*Persea americana miller*) terhadap aktivitas mikrobisida sel neutrofil yang telah dipapar oleh *S. mutans*.
- b. Untuk mengetahui konsentrasi paling efektif dari ekstrak daun alpukat (*Persea americana miller*) untuk meningkatkan aktifitas mikrobisida neutrofil terhadap *S. mutans*.

## 1.4 Manfaat Penelitian

- a. Dapat memberi informasi kepada masyarakat mengenai manfaat daun alpukat terhadap kesehatan.
- b. Dapat memberi masukan pada masyarakat mengenai khasiat ekstrak daun alpukat (*Persea americana miller*) terhadap aktivitas mikrobisida neutrofil yang dipapar dengan bakteri *S. mutan*.
- c. Sebagai pertimbangan dalam penggunaan obat tradisional.
- d. Sebagai literatur untuk penelitian selanjutnya apabila dalam penelitian ini terbukti dapat meningkatkan aktivitas mikrobisida neutrofil.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 *Streptococcus*

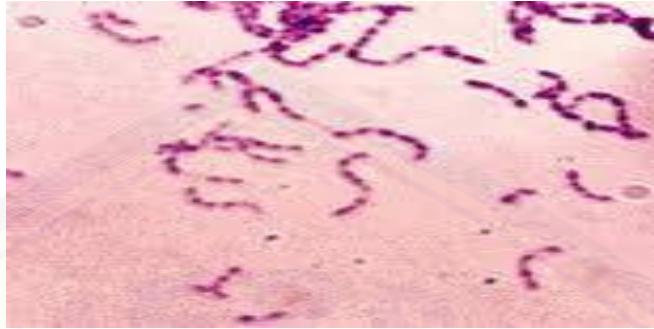
*Streptococcus* adalah bakteri *coccus* tunggal berbentuk bulat atau bulat telur dan memiliki susunan berbentuk rantai. *Coccus* membelah pada bidang yang tegak lurus sumbu panjang gigi. Rantainya sering tampak sebagai *diplococcus*, panjang dari rantai yang dibentuk sangat bervariasi dan sebagian besar ditentukan oleh faktor lingkungan. *Streptococcus* bersifat gram-positif (Jawetz *et al*, 2004: 233).

*Streptococcus* merupakan spesies yang mendominasi komposisi bakteri dalam plak. Bakteri ini merupakan mikroflora normal rongga mulut yang harus mendapat perhatian khusus karena kemampuannya membentuk plak dari sukrosa, melebihi jenis bakteri lainnya. Kebanyakan *streptococcus* tumbuh dalam perbenihan padat sebagai koloni berdiameter 1-2 mm (Jawetz *et al*, 2004: 233).

### 2.2 *Streptococcus mutans*

Klasifikasi terbaru tentang bakteri oral menyatakan bahwa *S.mutans* adalah satu dari empat bakteri kelompok *Streptococcus* oral selain *Streptococcus anginosus*, *S. mistis* dan *S. salivarius* (Purwanto, 2010: 5). Taksonomi *S. mutans* sebagai berikut:

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



Gambar 2.1 Gambaran mikroskopik bakteri *S. mutans* (Sumber : <http://textbookofbacteriology.net/normalflora.html>)

*S. mutans* merupakan bakteri gram positif (Jawetz *et al*, 2004: 233). *S. mutans* memiliki membran yang permeabel terhadap yodium, memiliki bentuk bulat atau oval dengan diameter 0,5 - 2,0 um, temperatur yang sesuai untuk pertumbuhan *S. mutans* adalah 37°C sedangkan temperatur yang sesuai untuk pembiakannya adalah 25 – 45°C. *S. mutans* termasuk *eubakteria* yaitu bakteri yang memiliki dinding sel tebal, kaku dan tidak bergerak atau *non motile* (Purwanto, 2010: 6). *S. mutans* bersifat asidogenik yaitu menghasilkan asam, dan menghasilkan pH kurang dari 5 hanya dalam waktu 1 - 3 menit (Kidd dan bechal, 1992: 2). Lihat gambar 2.1.

Energi utama diperoleh dari penggunaan gula. Pertumbuhan *Streptococcus* cenderung menjadi kurang subur pada perbenihan padat atau dalam kaldu, kecuali yang diperkaya dengan darah atau cairan jaringan. Kebutuhan makanan bervariasi untuk setiap spesies. Kuman yang patogen bagi manusia paling banyak memerlukan faktor-faktor pertumbuhan. Pertumbuhan dan hemolisis dibantu oleh pengeraman dalam CO<sub>2</sub> 10%. Meskipun kebanyakan *Streptococcus* patogen tumbuh paling baik pada suhu 37°C. Varian strain *Streptococcus* yang sama dapat menunjukkan bentuk koloni yang berbeda. Organisme ini cenderung virulen dan relative kebal terhadap fagositosis oleh leukosit manusia (Jawetz *et al*, 2004: 233).

### 2.3 Alpukat (*Persea americana miller*)

Tanaman alpukat (*Persea americana miller*) merupakan tanaman yang berasal dari dataran tinggi Amerika Tengah dan memiliki banyak varietas yang tersebar di seluruh dunia. Alpukat secara umum terbagi atas tiga tipe: tipe *West Indian*, tipe *Guatemalan* dan tipe *Mexican*. Daging dari buah alpukat berwarna hijau di bagian bawah kulit dan menguning kearah biji. Warna kulit buah alpukat bervariasi, bisa hijau ataupun hitam. Warna hijau karena kandungan klorofil atau hitam karena pigmen antosiasin (Chandra *et al*, 2013: 10).

Alpukat termasuk tanaman hutan yang tingginya mencapai 20 meter (Chandra *et al*, 2013: 11). Daunnya panjang (lonjong) dan tersusun seperti pilin. Pohonnya berkayu, umumnya percabangan jarang dan arahnya horizontal. Bunga alpukat keluar pada ujung cabang atau ranting dalam tangkai panjang. Warna bunga putih dan setiap bunga akan mekar sebanyak dua kali (Chandra *et al*, 2013: 11).

Toksonomi tanaman alpukat adalah sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Plantae</i> (Tumbuhan)
Subkingdom	: <i>Tracheobionta</i> (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi	: <i>Spermatophyta</i> (Menghasilkan biji)
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i> (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i> (Berkeping dua / dikotil)
Sub Kelas	: <i>Magnoliidae</i>
Ordo	: <i>Lurales</i>
Famili	: <i>Lauraceae</i>
Genus	: <i>Persea</i>
Spesies	: <i>Persea americana Mill</i> (Chandra <i>et al</i> , 2013: 10)



Ahli botani menyebutkan buah alpukat terdiri dari satu karp dan sebuah biji. Biji alpukat diselimuti oleh sebuah jaringan bernama perikarp. Perikarp terdiri dari bagian kulit yang disebut eksokarp, bagian daging buah yang dapat dimakan yaitu mesokarp dan lapisan tipis dekat biji yang disebut endokarp. Bagian mesokarp sebagian besar terdiri dari sel-sel parenkim isodiametrik yang seragam, dengan ukuran diameter sekitar 60  $\mu\text{m}$ . Seluruh jaringan ini adalah sel-sel minyak yang khusus. Sel-sel minyak atau idioblast dibedakan oleh ukurannya yang besar dan berdinging lignin (Chandra *et al*, 2013: 10-11). Lihat gambar 2.2.



Gambar 2.2 Alpukat (Sumber : Chandra *et al*, 2013: 12)

### 2.3.1 Bagian Tanaman Alpukat

Akar tanaman alpukat. Tanaman alpukat memiliki akar tunggang (Batubara, 2003: 1). Akar ini ditumbuhi oleh rambut-rambut halus, jumlah rambut halus yang sedikit mengharuskan pemberian pupuk pada tanaman alpukat dilakukan dengan cara yang benar agar hasilnya optimal. Pupuk harus diletakkan sedekat mungkin dengan akar tanaman, yaitu pada kedalaman 30–40 cm dari permukaan tanah melingkari tanaman (Chandra *et al*, 2013: 11).

Batang tanaman alpukat. Tinggi tanaman alpukat dapat mencapai 20 m (Chandra *et al*, 2013: 11). Pohon alpukat terdiri dari batang berwarna coklat kotor memiliki banyak cabang dan ranting yang berambut halus (Batubara, 2003: 1). Batang

tanaman alpukat biasanya digunakan sebagai pengembangan bibit, penyambungan dan okulasi (Prasetyono, 2012: 98).

Daun tanaman alpukat. Daun tunggal, bertangkai yang panjangnya 1,5-5 cm, letaknya berdesakan di ujung ranting, bentuknya lonjong sampai bundar telur memanjang, tebal seperti kulit, ujung dan pangkal runcing, tepi rata kadang-kadang agak menggulung ke atas, bertulang menyirip, panjang 10-20 cm, lebar 3-10 cm, daun muda warnanya kemerahan dan berambut rapat, daun tua warnanya hijau dan gundul (Batubara, 2003: 11; Chandra, 2013: 1; Prasetyono, 2012: 98).

Bunga tanaman alpukat. Bunga alpukat kecil berwarna hijau muda, mengelompok (Batubara, 2003: 11). Bunga alpukat merupakan bunga majemuk yang memiliki kelamin ganda atau disebut *hermaprodit* (Prasetyono, 2012: 98). Sifat pembungaannya *dichogamy*, artinya tiap bunga mekar 2 kali berselang, menutup antara 2 mekar dalam waktu berbeda. Pada hari mekar pertama, bunga betina yang berfungsi sedangkan pada hari mekar berikutnya bunga jantan yang berfungsi. Berdasarkan sifat pembungaannya, tanaman alpukat dibedakan menjadi 2 tipe. Tipe A: bunga betina mekar pada pagi hari sedangkan bunga jantan mekar pada sore hari pada hari berikutnya. Tipe B: bunga betina mekar pada sore hari dan bunga jantan mekar pada pagi hari berikutnya (Chandra *et al*, 2013: 11).

Buah alpukat berbentuk bola atau bulat telur dan bulat, dengan panjang 5–20m, berwarna hijau atau hijau kekuningan dengan bintik - bintik ungu atau ungu penuh (Prasetyono, 2012: 98). Buah alpukat memiliki massa berkisar 0,25 – 0,38 kg (Chandra *et al*, 2013: 11). Bila sudah matang daging buah menjadi lunak berwarna hijau kekuningan dan berlemak (Prasetyono, 2012: 98).

### 2.3.2 Habitat

Alpukat tumbuh baik pada suhu sekitar 25-30°C pada siang hari dan 15-20°C pada malam hari. Periode dengan suhu malam hari yang lebih dingin dan berkepanjangan, seperti pada bulan juli dan agustus, akan merangsang pertumbuhan bunga. Pohon alpukat hanya memerlukan syarat yang sederhana dalam hal kebasahan. Curah hujan 1.000-1500 mm/tahun sudah mencukupi. Pohon alpukat dapat tumbuh di bermacam tanah, tetapi paling baik hidup di tanah bertekstur medium dengan pH 5,5-6,5 (Batubara, 2003: 1).

### 2.3.3 Manfaat Alpukat

Alpukat merupakan buah yang sangat bergizi mengandung banyak senyawa penting bagi tubuh, diantaranya seperti pada tabel 2.1.

Tabel 2.1 Komposisi kimiawi buah alpukat dalam 100 gram daging buah

Komponen	Kadar
Energi buah (kal)	85-233
Air (%)	67,49-84,30
Protein (%)	0,27-1,7
Lemak (gram)	6,5-25,8
Karbohidrat (gram)	5,56-8
Abu (gram)	0,70-1,4
Vitamin (mg)	
A	0,13-0,51
B <sub>1</sub>	0,025-0,12
B <sub>2</sub>	0,13-0,23
B <sub>3</sub>	0,79-2,16
B <sub>6</sub>	0,45
C	2,3-7
D	0,01
E	3
K	0,08
Mineral (mg)	
Ca	10
Fe	0,9
P	20

Sumber: Chandra *et al.*, (2013)

Kandungan nutrisi yang banyak tersebut membuat alpukat dapat dimanfaatkan untuk berbagai kebutuhan. Kandungan lemak *monosaturated* (tak jenuh) yang terdapat di dalam alpukat mengandung *oleic acid* yang terbukti mampu meningkatkan kadar lemak sehat dalam tubuh, dan dapat mengontrol penyakit diabetes. Dengan menggunakan alpukat sebagai sumber lemak, penderita diabetes dapat menurunkan kadar *triglycerides* sampai 20%. Lemak tak jenuh ini juga sangat baik untuk mengurangi kadar kolesterol. Diet rendah lemak yang menyertakan alpukat telah terbukti mampu menurunkan kadar kolesterol jahat, dan meningkatkan kadar kolesterol baik dalam darah (Chandra *et al*, 2013: 12).

Alpukat juga banyak mengandung serat yang sangat bermanfaat untuk mencegah tekanan darah tinggi, penyakit jantung dan beberapa jenis kanker. Alpukat juga mengandung potassium 30% lebih banyak di banding nenas. Potassium sangat bermanfaat bagi tubuh untuk mengurangi resiko terkena penyakit tekanan darah tinggi, serangan jantung, dan kanker (Chandra *et al*, 2013: 12).

#### **2.4 Daun Alpukat**

Daun alpukat memiliki tangkai yang panjangnya 1,5-5 cm, bentuknya lonjong sampai bundar telur memanjang, tebal seperti kulit, ujung dan pangkal runcing, tepi rata kadang-kadang agak menggulung ke atas, bertulang menyirip dengan panjang 10-20 cm, lebar 3-10 cm berwarna hijau (Batubara, 2003: 11). Gambaran dari daun alpukat tampak seperti pada gambar 2.3.



Gambar 2.3 Daun Alpukat (Sumber : <http://aneka-manfaat.com>)

Daun alpukat mengandung senyawa kimia yang terdiri dari saponin, alkaloid, flavonoid, terpena, safrol dan tanin. Sebagai obat tradisional daun alpukat memiliki khasiat antibakteri, daun alpukat dapat menghambat pertumbuhan beberapa jenis bakteri seperti *Staphylococcus aureus strain A dan B*, *Staphylococcus albus*, *Pseudomonas sp*, *Proteus sp*, *Escherichiae sp* dan *Bacillus subtilis* (Katja, 2009: 58). Saponin merupakan senyawa dalam bentuk glikosida yang banyak ditemukan pada tumbuhan tingkat tinggi. Saponin membentuk larutan koloidal dalam air dan membentuk busa bila dikocok dan tidak hilang dengan penambahan asam. Fungsi saponin bagi tubuh telah diketahui dari berbagai hasil penelitian. Saponin berfungsi sebagai antibakteri dan antivirus, meningkatkan kekebalan tubuh, meningkatkan vitalitas, mengurangi kadar gula darah dan mengurangi penggumpalan darah (Dyah dan Firman, 2007: 20). Manfaat lain dari saponin adalah sebagai spermisida (obat kontrasepsi laki-laki), antimikroba, antiradang, dan aktivitas sitotoksik (Purnobasuki, 2004: 126). Saponin juga mempunyai efek antihistamin (Rohyami, 2008: 2).

Flavonoid merupakan salah satu metabolit sekunder dan keberadaannya pada daun tanaman dipengaruhi oleh proses fotosintesis, sehingga daun alpukat yang masih muda belum terlalu banyak mengandung flavonoid (Redha, 2010: 197). Manfaat flavonoid dalam tubuh manusia adalah sebagai antioksidan sehingga sangat baik digunakan untuk pencegahan kanker, melindungi struktur sel, meningkatkan efektivitas vitamin C, antiinflamasi, mencegah keropos tulang dan antibiotik (Widiana, 2013: 146).

Flavonoid berperan sebagai antioksidan dengan cara mendonasikan atom hidrogennya atau melalui kemampuannya mengikat logam, flavonoid berada dalam bentuk glukosida (mengandung rantai samping glukosa) atau dalam bentuk bebas yang disebut aglikon (Redha, 2010: 197). Dalam kebanyakan kasus, flavonoid dapat berperan secara langsung sebagai antibiotik dengan mengganggu fungsi organisme seperti bakteri atau virus (Widiana, 2013: 146).

Flavonoid juga mempunyai daya antibakteri. Flavonoid dapat mendenaturasi protein pada membran sel bakteri, lalu terjadi koagulasi protein, yang mengakibatkan hilangnya fungsi dari membran sel bakteri yang mengakibatkan terjadinya peningkatan tekanan osmotik di dalam sel, sehingga menyebabkan bakteri lisis (Christianto *et al*, 2012: 41).

Tanin merupakan senyawa metabolit sekunder yang sering ditemukan pada tanaman. Tanin merupakan astrigen, polifenol, berasa pahit, dapat mengikat dan mengendapkan protein serta larut dalam air (terutama air panas). Umumnya tanin digunakan untuk pengobatan penyakit kulit dan sebagai antibakteri (Widiana, 2013: 147). Tanin juga dapat berfungsi sebagai antioksidan biologis (Malanggi, 2012: 6).

Menurut Fajriati (2006: 110), tanin adalah kelompok polifenol yang larut dalam air dengan berat molekul antara 500 - 3000 gr/mol. Tanin dapat mengendapkan alkaloid, gelatin dan protein lainnya, membentuk warna merah tua dengan kalium ferrisianida dan amonia serta dapat diendapkan oleh garam-garam Cu, Pb dan kalium kromat (atau 1% asam kromat). Tanin diklasifikasikan dalam dua kelas, yaitu: *Condensed tannin* dan *hidrolisable tannin*.

*Condensed tannin* adalah tanin yang dapat terkondensasi dan tidak dapat dihidrolisis kecuali dalam suasana asam. Contoh: katekin, proantocyanidin. Sedangkan *hidrolisable tannin* adalah tanin yang terhidrolisis dalam air. Contoh: galotanin, caffetanin. Tanin atau lebih dikenal dengan asam tanat, biasanya mengandung 10% H<sub>2</sub>O. Struktur kimia tanin adalah kompleks dan tidak sama. Asam

tanat tersusun 5-10 residu ester galat, sehingga galotanin sebagai salah satu senyawa turunan tanin dikenal dengan nama asam tanat.

## 2.5 Pulpa

Pulpa adalah jaringan lunak yang terletak di dalam dentin dan berisi serabut, sel dan berbagai struktur seperti pembuluh darah, saraf sensorik dan pembuluh limfe (Harty dan Ogston, 1993: 253). Jaringan pulpa terletak di pusat gigi dan merupakan jaringan yang membentuk badan gigi selama gigi berkembang (Ford, 1993: 44). Pembatasan anatomis penempatan dentin pada pulpa menjadikan pulpa suatu organ peredaran darah terminimal, dengan pintu masuk terbatas pada foramen *apical* dan aksesoris (Grossman *at al*, 1995: 40).

Secara histologi, pulpa dibagi menjadi empat daerah, yaitu :

Pertama daerah odontoblas, odontoblast terdiri dari badan sel dan prosesus sitoplasmik (prosesus odontoblastik). Badan sel odontoblast membentuk daerah odontoblast, sedangkan prosesus odontoblastik berlokasi di dalam matriks predentin dan tubuli dentin, meluas ke dalam dentin. Pada potongan histologi odontoblast terlihat berderet dalam suatu susunan memagari perifer pulpa. Fungsi utama dari odontoblast adalah memproduksi dan mendeposisi dentin (Grossman *at al*, 1995: 40).

Kedua daerah bebas sel atau disebut weil, merupakan daerah yang relative bebas sel, teletak pada bagian koronal pulpa. Pada daerah ini terdapat beberapa fibroblast, sel masenkim dan magrofag. Apabila odontoblas dihancurkan karna adanya rangsang berbahaya maka sel fibroblast dan masenkin akan tumbuh menjadi odontoblast baru, sedangkan magrofag berfungsi untuk memfagosit iritan atau debris yang masuk (Grossman *at al*, 1995: 45).

Ketiga daerah kaya sel, terletak pada bagian sentral dari daerah bebas sel. Zona ini sangat padat karena mengandung banyak sel seperti fibroblast, makrofag, sel dendritik dan *undifferentiated mesenchymal* atau sel punca. Sel cadangan merupakan

sel mesenkhim yang tidak terdiferensiasi dan berfungsi untuk menggantikan sel-sel yang rusak, misalnya membentuk odontoblas baru (Grossman *at al*, 1995: 46-47).

Keempat daerah sentral atau pulpa, berisi pembuluh darah dan saraf yang tertanam didalam matriks pulpa bersama-sama dengan fibroblast. Neurovaskuler memasuki pulpa melalui foramen *apical*. Terdiri dari satu atau dua arteriola dengan serabut saraf simpatik dan sensorik yang bermielin dan tidak bermielin, dan dua atau tiga venula dan limfatik meninggalkan pulpa. (Grossman *at al*, 1995: 48).

### 2.5.1 Pertahanan Pulpa

Pulpa terdiri dari jaringan vaskuler yang terdapat didalam dinding dentin yang keras (Grossman *at al*, 1995: 40). Pulpa merupakan jaringan ikat yang sangat halus serta peka terhadap rangsang, sehingga dapat dengan mudah rusak oleh iritasi yang menimpa dentin. Oleh karena itu seluruh dentin dianggap sebagai satu kompleks dentin-pulpa (Ford, 1993: 44). Pulpa akan merespon iritan tersebut dengan suatu proses peradangan atau inflamasi (Ford, 1993: 45). Ketika proses inflamasi berlangsung, akan terjadi suatu reaksi vascular dimana cairan, elemen-elemen darah, sel darah putih dan mediator kimia akan berkumpul pada tempat terjadinya cedera jaringan atau infeksi (Azzahra *at al*, 2014: 162).

Respon pulpa terhadap inflamasi agak sedikit berbeda dengan jaringan lainnya, pada hampir semua jaringan apabila terjadi inflamasi akan ditandai dengan kemerahan, pembengkakan, panas, nyeri dan hilangnya fungsi. Pembengkakan terjadi akibat hiperemia pulpa dan meningkatnya permeabilitas pembuluh darah, sehingga cairan terakumulasi dan terjadi edema. Pada pulpa yang dikelilingi oleh dentin, pembengkakan tidak bias terjadi secara bebas, sehingga tekanan semakin meningkat pada inflamasi dan menyebabkan rasa nyeri (Walton dan Torabinejad, 2008: 414).

Aktivitas sistem imun oleh produk bakteri yang bersifat antigen biasanya bersifat merusak sel. Misalnya, aktifitas sel fagosit yang diaktifkan oleh system imun berperan penting dalam memerantarai perusakan jaringan dengan mensekresi berbagai



produk yang aktif secara biologis seperti metabolik oksigen yang toksid, NO dan protease. System imun juga dapat menstimulasi fibroblas, magrofaq dan sel sinovial untuk mensekresi metalloprotease, yang dapat bereaksi dengan komponen ekstrasel seperti proteoglikan, laminin, fibronektin dan kolagen *amorf*. Aktifitas sel imun dapat pula memicu proliferasi fibroblas dan produksi serabut kolagen. Hal ini ahirnya akan menyebabkan fibrosis pulpa dengan penggantian konstituen pulpa yang normal serta kalsifikasi yang difus (Walton dan Torabinejad, 2008: 414).

## 2.6 Neutrofil

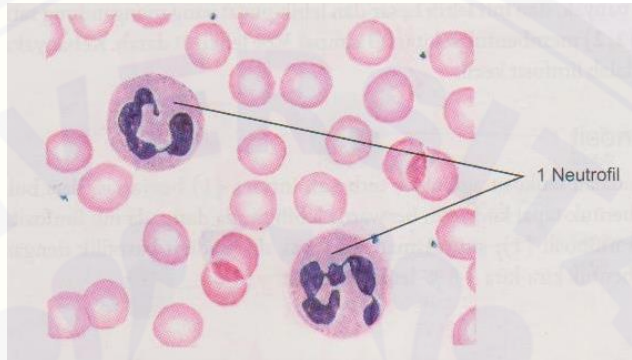
Pada orang sehat, neutrofil hanya dihasilkan oleh sumsum tulang, sekitar  $1,3 \times 10^{11}$  sel per orang dengan berat badan 80 kg per hari. Jumlah ini sudah cukup untuk melaksanakan fungsi fisiologis sekaligus sebagai cadangan yang disimpan didalam sumsum tulang dan dapat dimobilisasi apabila dibutuhkan untuk merespon peradangan ataupun infeksi (Guyton dan Hall, 2007: 453).

### 2.6.1 Morfologi

Neutrofil merupakan leukosit yang memiliki granula sitoplasma dan inti berlobulus yang paling sering ditemukan, jumlahnya sekitar 60-70 % dari leukosit darah. Garis tengah sekitar 12-15 um, satu inti dan 2-5 lobus. Usia neutrofil relatif pendek, dengan waktu paruh 6-7 jam dalam darah dan memiliki rentang hidup selama 1-4 hari dalam jaringan ikat sebelum mati melalui proses apoptosis (Mescher, 2011: 201).

Sitoplasma dari neutrofil mengandung dua jenis granula utama, granula yang lebih banyak adalah granula-granula spesifik (0,3-0,8um) mendekati batas resolusi optik, dan granula azurofil yang merupakan lisosom khusus untuk membunuh bakteri. (Mescher, 2011: 201). Granula sitoplasma ini berwarna ungu atau merah muda yang sulit dilihat dengan menggunakan mikroskop cahaya. Akibatnya sitoplasma tampak

jernih atau netral (Eroschencho, 2010). Gambaran dari sel neutrofil tampak seperti pada gambar 2.4.



Gambar 2.4 sel neutrofil (Sumber : Eroschencho, 2010)

Neutrofil jarang mengandung retikulum endoplasma granuler, sedikit mitokondria, apparatus golgi rudimenter dan sedikit granula glikogen. Adanya asam amino D oksidase dalam granula azurofilik penting dalam melisis dinding sel bakteri yang mengandung asam amino D. Selama proses fagositosis dibentuk peroksidase. Mieloperoxidase yang terdapat dalam neutrofil berikatan dengan peroksida dan halida bekerja pada molekul tirosin dinding sel bakteri dan menghancurkannya (Effendi, 2003: 2).

Dibawah pengaruh zat toksik tertentu seperti streptolisin toksin streptokokus membran granula-granula neutrofil pecah, mengakibatkan proses pembengkakan diikuti oleh aglutulasi dan destruksi neutrofil. Neutrofil mempunyai metabolisme yang sangat aktif dan mampu melakukan glikolisis baik secara aerob maupun anaerob. Kemampuan neutrofil untuk hidup dalam lingkungan anaerob sangat menguntungkan, karena mereka dapat membunuh bakteri dan membantu membersihkan debris pada jaringan nekrotik. Fagositosis oleh neutrofil merangsang aktivitas heksosa monofosfat shunt, meningkatkan glicogenolisis (Effendi, 2003: 2).

### 2.6.2 Fungsi

Neutrofil merupakan garis pertahanan pertama terhadap invasi dari bakteri, virus dan agen merugikan lainnya yang menyerang (Effendi, 2003: 2). Neutrofil adalah sel matur yang dapat menyerang dan menghancurkan bakteri, virus ataupun agen merugikan lainnya pada saat memasuki jaringan, maupun pada saat masih dalam sirkulasi darah (Guyton dan Hall, 2007: 453).

Neutrofil dapat memasuki ruang jaringan dengan cara diapadesis melalui pori-pori kapiler darah. Sehingga, meskipun ukuran neutrofil jauh lebih besar dari ukuran pori-pori sel, neutrofil bisa melaluinya dengan cara mengkontruksi ukuran tubuhnya pada saat melewati pori-pori tersebut (Guyton dan Hall, 2007: 453).

Fungsi utama dari neutrofil adalah fagositosis, yaitu pencernaan seluler terhadap agen yang mengganggu. Proses fagositosis bergantung pada tiga prosedur selektif berikut. Pertama, sebagian besar struktur alami dalam tubuh memiliki permukaan halus yang dapat menolak fagositosis. Kedua, sebagian besar struktur alami dalam tubuh memiliki protein pelindung yang menolak fagositosis. Ketiga sistem imun tubuh, kemampuan tubuh untuk membentuk *antibody* untuk melawan agen infeksius, *antibody* melekat pada bakteri yang kemudian membuat bakteri rentan terhadap fagositosis. Proses seleksi dan fagositosis ini disebut *opsonisasi* (Guyton dan Hall, 2007: 453).

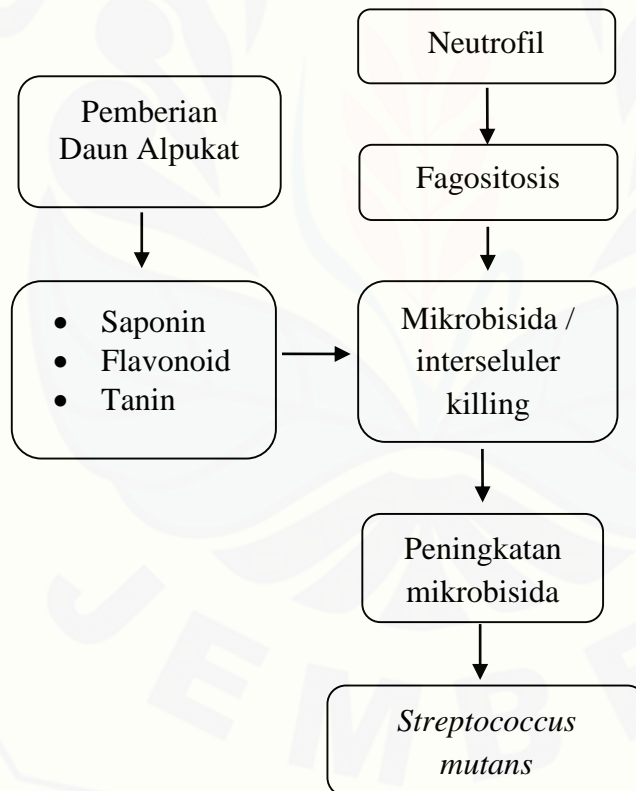
Pada saat akan memfagosit, mula-mula neutrofil akan melekatkan diri pada mikroorganisme kemudian menonjolkan pseudopodia ke segala arah di sekeliling partikel. Pseudopodia bertemu satu sama lain pada sisi yang berlawanan dan bergabung menjadi satu. Hal ini menciptakan ruangan tertutup yang berisi partikel yang telah difagositosis. Kemudian ruangan ini berinvaginasi ke dalam rongga sitoplasma dan melepaskan diri dari membran sel bagian luar untuk membentuk gelembung fagositik yang mengapung dengan bebas (*fagosom*) di dalam sitoplasma. Sebuah sel neutrofil dapat memfagositosis 3-20 bakteri sebelum akhirnya menjadi inaktif dan mati (Guyton dan Hall, 2007: 453).

Neutrofil juga mengandung bahan *bakterisidal* yang dapat membunuh bakteri, apabila enzim lisosomal gagal mencerna bakteri. Hal ini sangatlah penting, karena banyaknya bakteri yang memiliki selubung pelindung atau faktor lain yang mencegah penghancuran bakteri oleh enzim pencernaan (Guyton dan Hall, 2007: 453).

### 2.7 Hipotesis

Ekstrak daun alpukat meningkatkan aktivitas mikrobisida sel neutrofil yang dipapar *S. mutans*.

### 2.8 Kerangka Konsep



## **BAB 3. METODE PENELITIAN**

### **3.1 Jenis Penelitian**

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental laboratoris. Rancangan penelitian yang digunakan adalah *post test only control group design*, yaitu dilakukan pengukuran terhadap variabel yang diteliti setelah perlakuan, kemudian dibandingkan dengan kelompok kontrol (Pratiknya, 2010: 130).

### **3.2 Waktu dan Tempat Penelitian**

#### **3.2.1 Waktu Penelitian**

Penelitian ini telah dilakukan pada bulan Oktober 2014.

#### **3.2.2 Tempat Penelitian**

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember dan Laboratorium *Bio Science* Rumah Sakit Gigi dan Mulut Fakultas kedokteran Gigi Universitas Jember.

### **3.3 Identifikasi Variabel**

#### **3.3.1 Variabel Bebas**

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak daun alpukat (*Persea americana miller*) dengan konsentrasi 100%, 75%, 50% dan 25%.

#### **3.3.2 Variabel Terikat**

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah aktifitas mikrobisida sel neutrofil.

### 3.3.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah kriteria sampel, media pembiakan *S. mutans* dan teknik penghitungan aktivitas mikrobisidal sel neutrofil terhadap *S. mutans*.

## 3.4 Definisi Operasional

### 3.4.1 Aktivitas mikrobisida sel neutrofil

Aktivitas mikrobisida sel neutrofil adalah kemampuan sel neutrofil untuk menghancurkan bakteri *S. mutan* yang diukur dengan cara melihat koloni bakteri yang dihitung dengan menggunakan *colony counter*.

### 3.4.2 Ekstrak daun alpukat

Ekstrak daun alpukat adalah ekstrak yang diperoleh dari daun alpukat yang telah dicuci dengan air mengalir hingga bersih, dirajang dengan ukuran kecil, kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan, dan diblender hingga menjadi bubuk halus. Metode maserasi dilakukan dengan menambahkan etanol 70% ke dalam serbuk daun alpukat. Perbandingan jumlah pelarut dengan serbuk adalah 1 : 10.

### 3.4.3 Bakteri *S. mutan*

Bakteri *S. mutan* yang digunakan dalam penelitian ini adalah biakan murni yang didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi dalam media cair BHI-B.

## 3.5 Sampel Penelitian

### 3.5.1 Kriteria Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah isolat neutrofil yang berasal dari darah vena perifer laki-laki dewasa berusia 22 tahun, tidak memiliki kelainan

sistemik dan memiliki gaya hidup sehat yaitu, tidak merokok, tidak meminum minuman keras dan tidak mengkonsumsi narkoba.

### 3.5.2 Besar Sampel

Jumlah sampel pada penelitian ini sebanyak 4 sampel yang dihitung dengan rumus yang dikemukakan oleh Supranto (2000). Lihat lampiran B halaman 50.

Pengelompokan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 5 kelompok perlakuan yaitu:

1. Kelompok kontrol positif : Sel neutrofil diinkubasi dengan penisilin 100% dan dipapar dengan *S. mutans*.
2. Kelompok kontrol negatif: Sel neutrofil diinkubasi dengan *aquadest* steril dan dipapar dengan *S. mutans*.
3. Kelompok 100% : Sel neutrofil diinkubasi dengan ekstrak daun alpukat 100% dan dipapar dengan *S. mutans*.
4. Kelompok 75% : Sel neutrofil diinkubasi dengan ekstrak daun alpukat 75% dan dipapar dengan *S. mutans*.
5. Kelompok 50% : Sel neutrofil diinkubasi dengan ekstrak daun alpukat 50% dan dipapar dengan *S. mutans*.
6. Kelompok 25% : Sel neutrofil diinkubasi dengan ekstrak daun alpukat 25% dan dipapar dengan *S. mutans*.

## 3.6 Alat dan Bahan Penelitian

### 3.6.1 Alat Penelitian

- a. *Mikroplate 12 well* (Costar)
- b. Tabung falcon 15 ml (Thermo Scientific)
- c. *Syringe* 10 ml (One Med)
- d. Rak tabung

- e. *Centrifuge* (Eppendorf Centrifuge 5810 R)
- f. *Colony counter* (Lab Tech)
- g. *Laminar flow cabinet*
- h. *Incubator shaker* (Lab Tech)
- i. Mikropipet (Hummapete)
- j. Oven
- k. *Vortex*
- l. *Autoclave*
- m. *Blue tip* (Labtip Thermo)
- n. *Yellow tip* (Labtip Thermo)
- o. *Cover slip*
- p. *Handscoon*, masker dan lap kain
- q. *Filter*
- r. Mikroskop *inverted* (Olympus)
- s. Neraca analitik (Boeco, Germany)
- t. *Petri dish*
- u. Desikator
- v. Bunsen
- w. Tabung Erlenmeyer
- x. Sterilisasi UV
- y. *Anaerobic jar* (Oxoid)
- z. Gunting dan timbangan duduk

### 3.6.2 Bahan Penelitian

- a. Bakteri *Stretococcus mutan*
- b. *Aquadest* steril (Otsuka)
- c. Darah vena perifer
- d. *Ficoll Hypaqe Gradient*



- e. BHI-A (Brain Heart Infusion Agar) 5,2 gram (Merck, Germany)
- f. BHI-B (Brain Heart Infusion Agar) 3,7 gram (Merck, Germany)
- g. Ekstrak daun alpukat
- h. Alkohol 70%
- i. Heparin
- j. *Histopaque* 1119 (Sigma)
- k. HBSS Gibco (*Hank's Balanced Salt Solusion*)
- l. RPMI Gibco (*Roswell Park Memorial institute*)
- m. *Medium complete* M199 Gibco
- n. HCL 37%
- o. *Penilisin-Streptomicyn* (Sigma)
- p. *Fungizone* (Gibco)

### 3.7 Prosedur Penelitian

#### 3.7.1 Persiapan Penelitian

- a. Sterilisasi alat
  1. Semua alat yang terbuat dari kaca dicuci bersih, sedangkan peralatan yang masih dalam kemasan yang terbuat dari bahan plastik seperti *blue tip*, *yellow tip*, tabung falcon, filter dan lainnya disterilkan dengan alkohol 70%.
  2. Kemudian disterilkan dengan cara dimasukan dalam *laminar flow* kurang lebih selama 15 menit.
  3. Ruangan disterilkan dengan menggunakan Sterilisator UV.
- b. Pembuatan ekstrak daun alpukat
  1. Daun alpukat sebanyak kurang lebih 1kg yang ditimbang dengan timbangan duduk, dicuci dengan air mengalir secukupnya hingga bersih.
  2. Dirajang dengan gunting hingga mendapat ukuran kecil, dan di lap dengan menggunakan lap kain.

3. Selanjutnya dikeringkan dengan cara diangin-anginkan, proses ini dilakukan dengan cara dijemur di tempat teduh sehingga terhindar dari sinar matahari secara langsung. Daun kering kemudian ditimbang dengan timbangan duduk diperoleh daun kering seberat 300 gram.
4. Daun kering diblender dan kemudian disaring hingga menjadi bubuk halus, bubuk halus kemudian ditimbang dengan timbangan duduk dan diperoleh bubuk halus daun alpukat sebanyak 250 gram.
5. Pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode maserasi, etanol 70% ditambahkan kedalam bubuk daun alpukat. Perbandingan jumlah pelarut dengan bubuk daun alpukat adalah 1 : 10. Pada penelitian ini digunakan 150 gram bubuk daun alpukat dan 1,5 liter etanol 70%. Pencampuran antara etanol 70% dan bubuk daun alpukat kemudian diletakan didalam toples selama 2x24 jam seperti pada gambar 3.1.



Gambar 3.1 Maserasi serbuk daun alpukat dengan etanol 70% (Sumber: Koleksi pribadi ).

6. Dilakukan penyaringan dengan menggunakan kertas saring.
7. Dilakukan evaporasi dengan evaporator hingga didapat ekstrak pekat, didapat ekstrak daun alpukat sebanyak 13,5 ml. Proses evaporasi tampak seperti pada gambar 3.2.

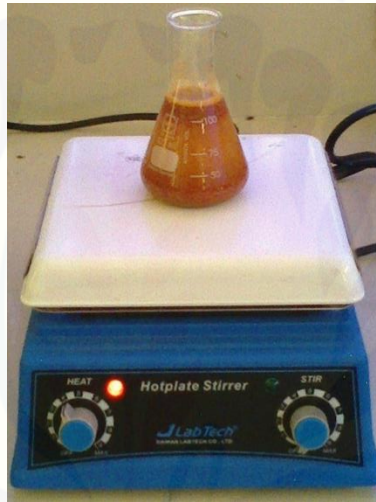


Gambar 3.2 Proses Evaporasi. Ekstrak yang sudah disaring dimasukkan ke dalam tabung, kemudian dilakukan evaporasi (penguapan) hingga diperoleh cairan pekat. (Sumber: Koleksi pribadi)

8. Pengenceran ekstrak daun alpukat dengan sediaan cair dengan menggunakan rumus  $M_1.V_1 = M_2.V_2$ . Untuk memperoleh ekstrak daun alpukat 75% sebanyak 4 ml, ekstrak daun alpukat 100% harus diencerkan dengan menambahkan 1 ml *aquadest* steril ke dalam 3 ml ekstrak daun alpukat 100%. Untuk memperoleh ekstrak daun alpukat 50% 4 ml, ekstrak daun alpukat 100% harus diencerkan dengan menambahkan 2 ml *aquadest* steril ke dalam 2 ml ekstrak daun alpukat 100%. Untuk memperoleh ekstrak daun alpukat 25 % sebanyak 4 ml, ekstrak daun alpukat 100% harus diencerkan dengan menambahkan 3 ml *aquadest* steril ke dalam 1 ml ekstrak daun alpukat 100%.
9. Masing-masing konsentrasi 100%, 75%, 50% dan 25% dimasukkan ke dalam tabung falcon, kemudian dipipetting dan divortex agar tercampur merata.
10. Lalu disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit pada suhu 37°C. Kemudian lakukan penyaringan dengan *filter* yang telah diaplikasikan dengan *syringe*, hingga mendapatkan larutan bening.

c. Perbuatan suspensi bakteri

1. Pembuatan suspensi *S.mutans* adalah dengan mencampurkan 2ml larutan BHI-B steril ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 1 ose isolat *S. mutans*.
2. Lalu tabung reaksi tersebut dimasukan kedalam desikator dan diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam.
3. Kemudian tabung reaksi dikocok dengan menggunakan *thermolyne* hingga larutan homogeny. Lihat gambar 3.3.



Gambar 3.3 *Thermolyne* (Sumber: Koleksi pribadi)

4. Setelah itu dilakukan pengukuran absorbansinya dengan standar Mc Farland 0,5 dengan panjang gelombang 560 nm menggunakan *spektrofotometer*.
  5. Dilakukan identifikasi bakteri dengan membuat preparat yang diberi pewarnaan gram dan dilihat menggunakan mikroskop.
- d. Pembuatan media agar BHI-A (*Brain Heart Infusi Agar*)
1. Campurkan 5,2 gram BHI-A dan 100 ml *aquadest* steril dalam tabung *erlenmeyer*.
  2. Dipanaskan diatas kompor listrik sampai homogen.

3. Kemudian ditutup kapas dan disterilkan dalam *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit.
4. Setelah media hangat dengan suhu 40-50°C dituangkan ke *petri dish* steril dengan ketebalan 4mm.
5. Didiamkan hingga padat lalu dimasukkan ke dalam desikator.
6. Kemudian diinkubasi dengan inkubator selama 24 jam dengan suhu 24°C.

### 3.7.2 Prosedur Penelitian

#### a. Isolasi neutrofil (Azzahra, 2014: 163) :

1. Proses pengambilan darah dimulai dengan meminta persetujuan dari sampel untuk dilakukan pengambilan darah dan diikuti dengan pemberian penjelasan singkat mengenai prosedur yang akan dilakukan, yang ditandai dengan pengisian *inform consent*.
2. Dilakukan asepsis pada daerah yang akan diambil darahnya. Asepsis daerah pengambilan darah dilakukan dengan mengoleskan alcohol 70%.
3. Lakukan pengambilan darah sebanyak 6 cc dari vena perifer dengan menggunakan *disposable syringe*. Proses pengambilan darah tampak seperti pada gambar 3.4.



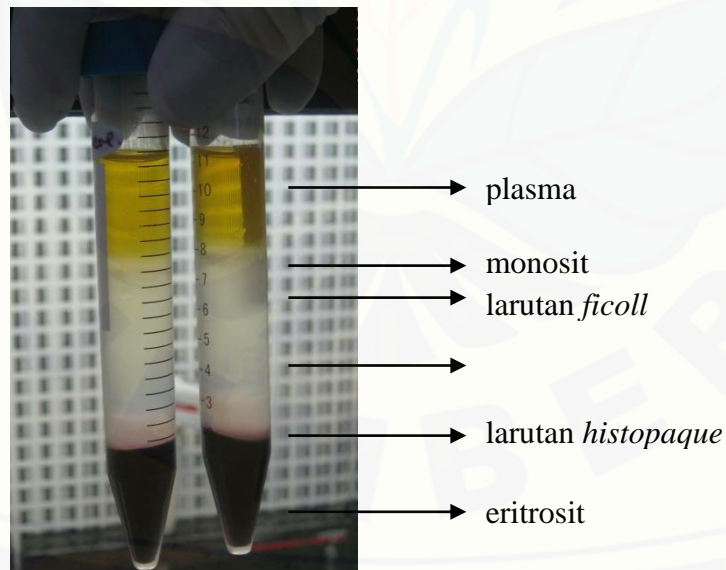
Gambar 3.4 Pengambilan darah vena (Sumber: Koleksi pribadi)

4. Kemudian dimasukkan ke dalam tabung heparin, terdapat dua tabung heparin masing-masing diisi darah sebanyak 3 cc. Lihat gambar 3.5.



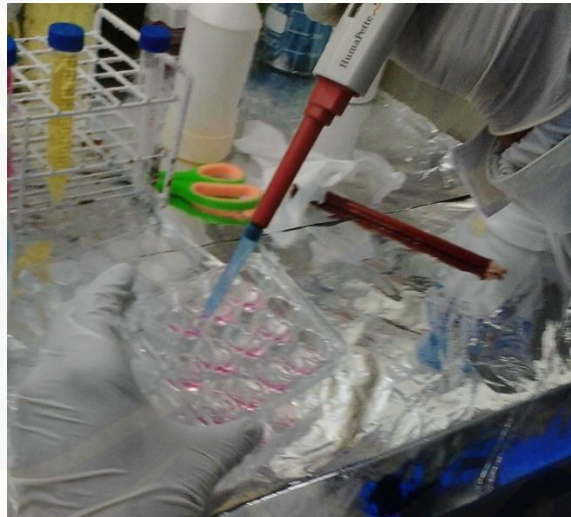
Gambar 3.5 tabung heparin berisi darah (Sumber: Koleksi pribadi)

5. Tabung heparin berisi darah kemudian digoyang-goyang agar darah tidak menggumpal.
6. Lapiskan larutan *histopaque* tambahkan *ficoll* masing-masing 3 ml secara perlahan-lahan ke dalam tabung falcon.
7. Kemudian disentrifus dengan kecepatan 1900rpm selama 30menit pada suhu 26°C.
8. Akan terbentuk 6 lapisan berturut-turut dari atas ke bawah, yaitu: plasma, monosit, ficoll, neutrofil, histopaque dan eritrosit. Lihat gambar 3.6.



Gambar 3.6 Lapisan darah (Sumber: Koleksi pribadi)

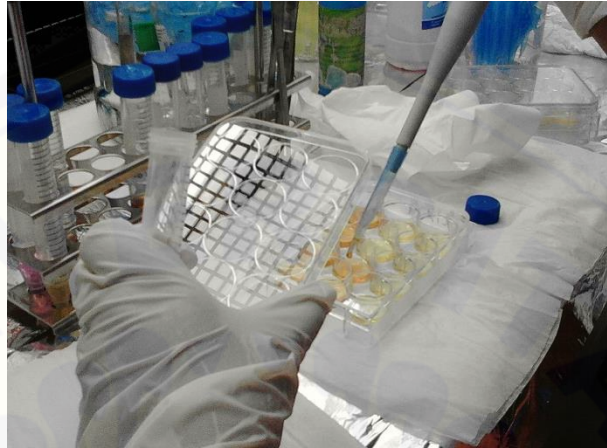
9. Pindahkan neutrofil ke dalam tabung falcon lainnya.
  10. Tambahkan dengan 1000cc HBSS dan sentrifus dengan kecepatan 1400 rpm selama 10 menit dengan suhu 26°C.
  11. Supernatan diaspirasi.
  12. Tambahkan 3000cc HBSS, kemudian di *pipeting*.
  13. Amati populasi sel di bawah mikroskop *inverted* dengan pembesaran 1000x.
  14. Tambahkan 15 µl fungizone dan 60µl *penstrep* untuk mencegah kontaminasi, kemudian *pipeting*.
- b. Inkubasi Ekstrak Daun Alpukat
1. Siapkan tiga buah *microplate 12 well* yang telah diberi *cover slip*.
  2. Isi setiap *microplate* dengan 100 µl suspensi neutrofil. Lihat gambar 3.7.



Gambar 3.7 Proses penambahan isolate neutrofil ke dalam *microplate* (sumber: koleksi pribadi)

3. *Microplate* kemudian diinkubasi selama 15 menit dengan suhu 37°C, supaya neutrofil menempel pada *cover slip*. Tambahkan 1000 µl RPMI, dan inkunbasi selama 30 menit dengan suhu 37°C.
4. Cuci dengan *medium complete* M199 sebanyak 1000 µl.

5. Tambahkan ekstrak daun alpukat sebanyak 200  $\mu\text{l}$  dengan konsentrasi 100%, 75%, 50% dan 25%. Lihat gambar 3.8.



Gambar 3.8 Proses penambahan ekstrak daun alpukat ke dalam *microplate* (sumber: koleksi pribadi)

6. Selanjutnya diinkubasi dengan *incubator shaker* selama 3 jam pada suhu 37°C. Pada dua jam pertama dicek setiap jam apakah ekstrak sudah melapisi neutrofil.
  7. Cuci dengan *medium complete* M199.
  8. Tambahkan 100  $\mu\text{l}$  suspensi *S. mutans* pada masing-masing *microplate*. Inkubasi pada *incubator shaker* selama 3 jam dengan suhu 37°C dan 5% CO<sub>2</sub>.
- c. Inkubasi dengan bakteri *S. mutans*
1. Menyiapkan media BHI-A pada *petri dish* sebanyak 24 buah.
  2. Uji aktivitas mikrobisida dengan mengambil resuspensi bakteri yang sudah diinkubasi dengan ekstrak daun alpukat dan neutrofil untuk ditanam pada media BHI-A sebanyak 1000  $\mu\text{l}$ , pengambilan dengan menggunakan mikropipet kemudian dituang ke permukaan media BHI-A dan diratakan dengan *spreader*. Lihat gambar 3.9.

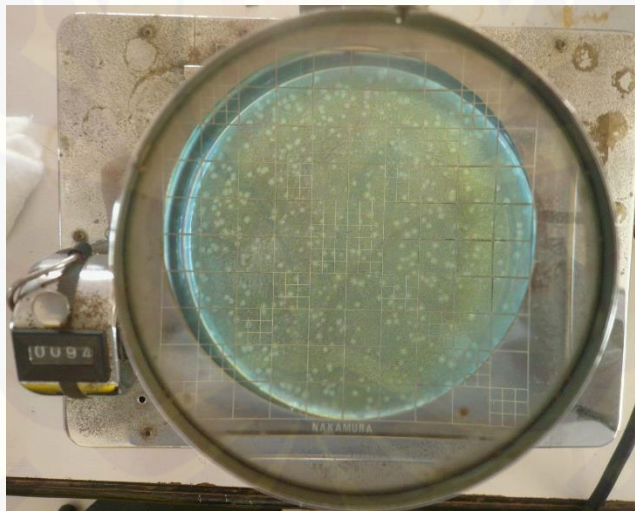




Gambar 3.9 Proses penanaman suspense bakteri ke dalam BHI-A dengan menggunakan mikropipet (Sumber: Koleksi pribadi).

3. Inkubasi selama 24 jam dengan menggunakan desikator pada suhu 37°C.
4. Lakukan pengamatan jumlah bakteri dengan menggunakan *colony counter*.

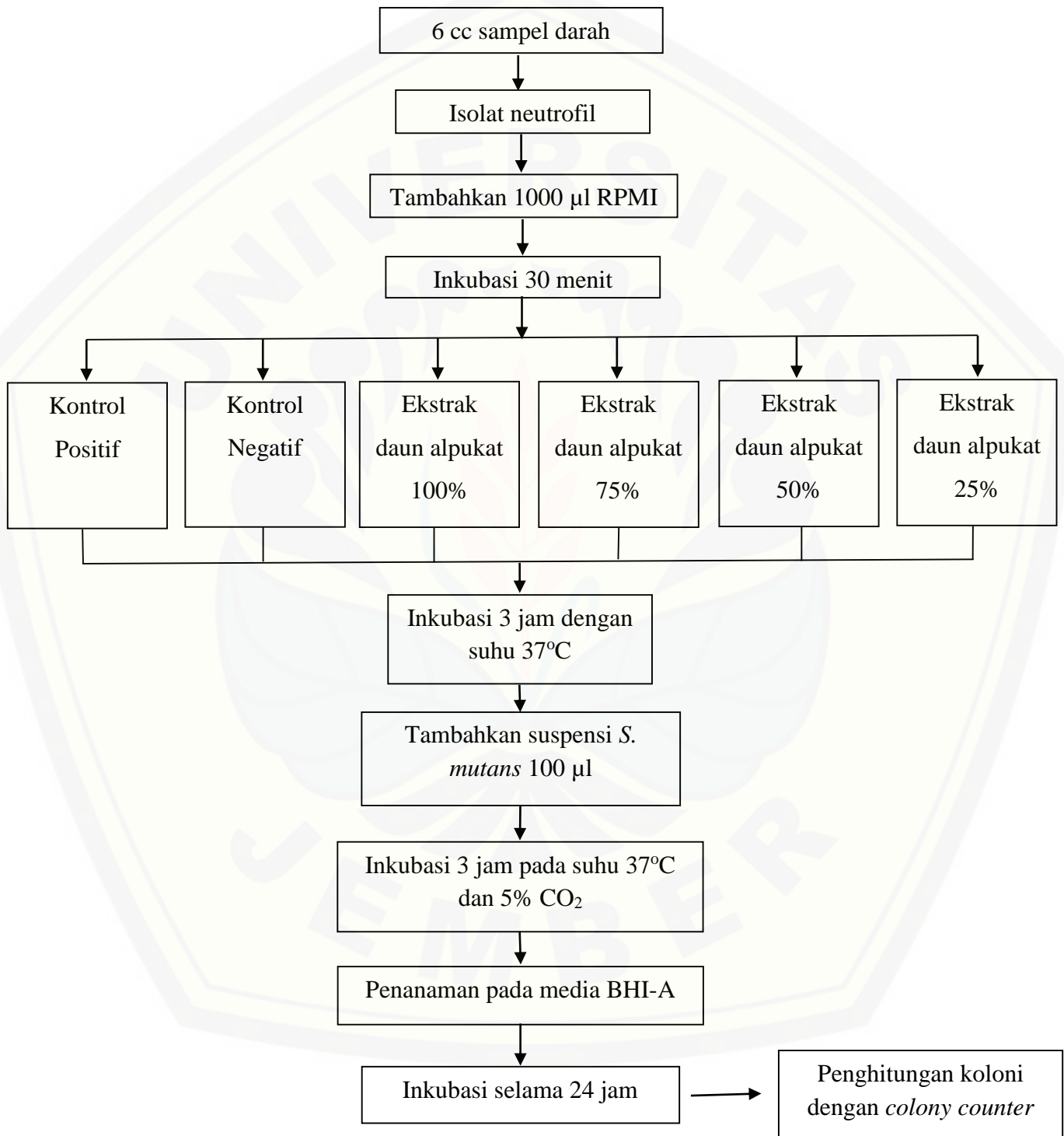
Lihat gambar 3.10.



Gambar 3.10 *colony counter* (Sumber: Koleksi pribadi)

### 3.8 Analisis Data

Data hasil penelitian dilakukan uji normalitas dengan uji *Kolmogorov-Smirnov* dan uji homogenitas dengan uji *Levene*. Apabila kedua uji menunjukkan data terdistribusi normal dan homogen maka dilakukan uji statistik parametrik uji *Oneway Anova* dilanjutkan dengan Uji *LSD*. Namun apabila kedua uji menunjukkan data terdistribusi tidak normal dan atau tidak homogen dilanjutkan dengan uji statistik non parametrik yaitu dengan Uji *Kruskal-Wallis* dan Uji *Mann-Whitney*. Semua uji data menggunakan tingkat kemaknaan 95% ( $\alpha=0,05$ ).

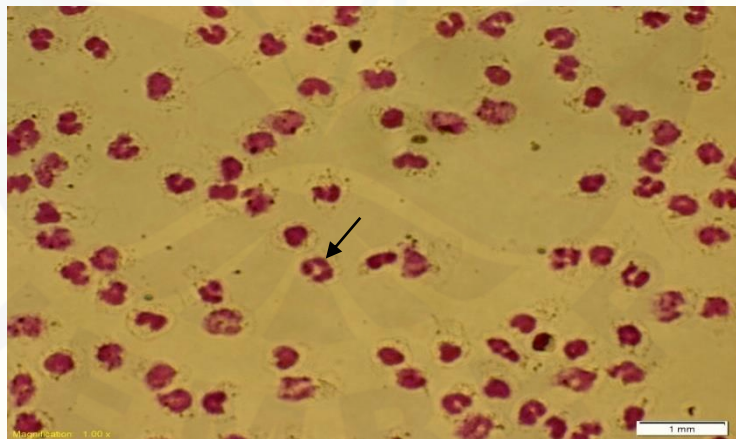
**3.9 Alur penelitian**

## BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Hasil Penelitian

#### 4.1.1 Isolasi Neutrofil

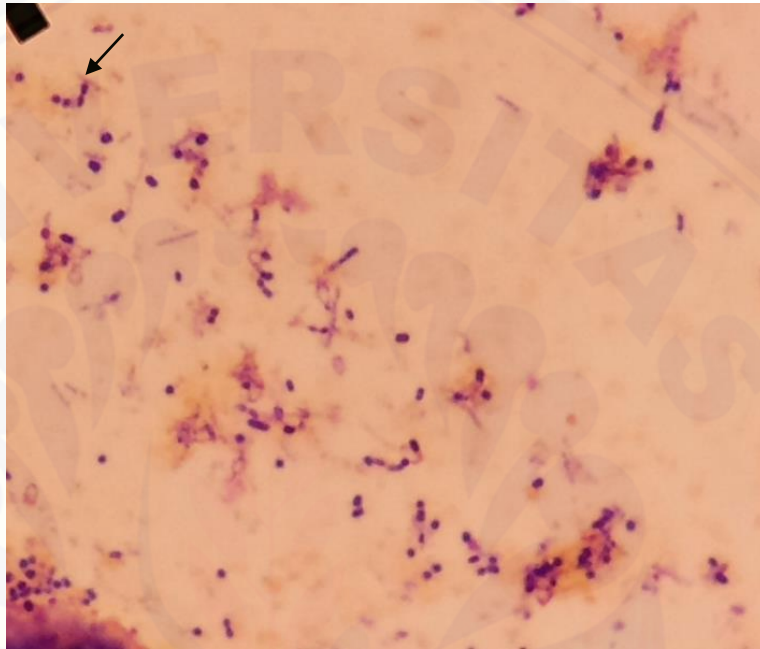
Penelitian ini telah dilakukan pada bulan Oktober 2014 di Laboratorium *Bio Science* Rumah Sakit Gigi dan Mulut Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember dan di Bagian Biomedik Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Pada penelitian ini digunakan sampel isolat neutrofil dari orang dewasa muda, berjenis kelamin laki-laki, sehat dan tidak memiliki kelainan sistemik. Darah yang diambil kemudian dilakukan isolasi untuk mendapatkan isolat neutrofil murni yang tidak tercampur sel darah lainnya, kemudian dilakukan pengecatan dengan Giemsa dan dilihat dengan menggunakan mikroskop, seperti yang terlihat pada gambar 4.1.



Gambar 4.1 Preparat hasil isolasi neutrofil. Ket: → menunjukkan gambaran sel neutrofil. Tampak neutrofil yang berwarna merah muda keunguan dengan menggunakan mikroskop *inverted* (pengecatan Giemsa, pembesaran 1000 kali) (sumber: koleksi pribadi).

#### 4.1.2 Identifikasi *Streptococcus mutans*

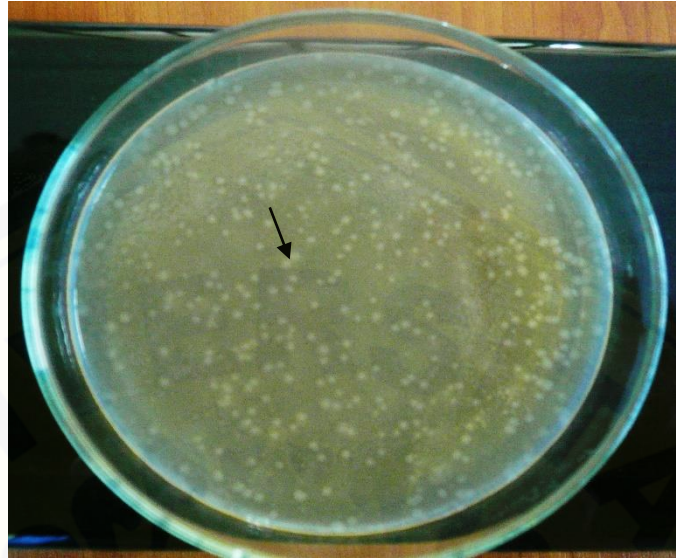
Bakteri yang digunakan pada penelitian ini adalah bakteri *S. mutans* yang diperoleh dari bagian Biomedik laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, seperti yang terlihat pada gambar 4.2.



Gambar 4.1 Sediaan *S. mutans*. Ket: → menunjukkan gambaran bakteri *S. mutans*. Terlihat bentukan kokus berformasi rantai panjang dan berwarna ungu pada pemeriksaan mikroskopik sesuai dengan ciri khas bakteri Gram positif (pengecatan Gram, pembesaran 1000 kali) (Sumber: koleksi pribadi).

#### 4.1.3 Uji Aktivitas Mikrobisida

Data hasil penelitian Aktifitas mikrobisida sel neutrofil yang dipapar *S. mutans* dan diinkubasi ekstrak daun alpukat, dapat dilihat jumlah perhitungan koloni bakteri, berikut gambaran dari koloni bakteri *S. mutans* secara makroskopik dapat dilihat pada gambar 4.3.



Gambar 4.3 Koloni bakteri *S. mutans* secara makroskopik. Ket:→ menunjukkan gambaran *S. mutans* (Sumber: Koleksi pribadi).

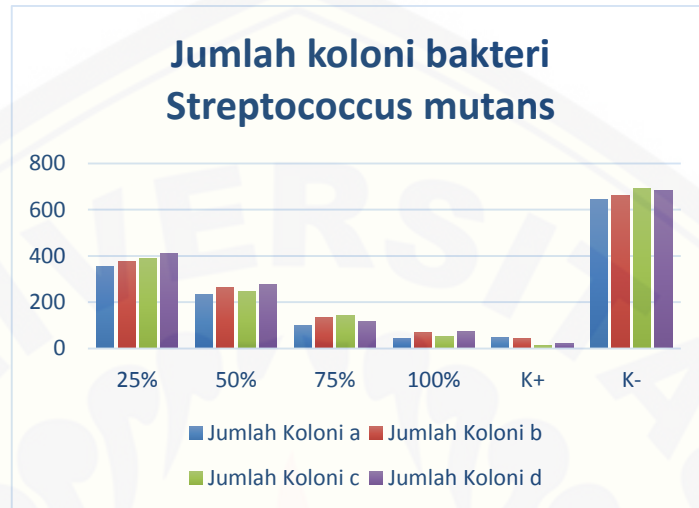
Dari masing-masing konsentrasi diperoleh hasil penghitungan koloni bakteri seperti berikut:

Tabel 4.1 Tabel penghitungan jumlah koloni bakteri

Konsentrasi	N	Rata-rata	Standart deviasi
25%	4	383	23,8
50%	4	255	18,3
75%	4	123,5	17,9
100%	4	58,25	12,8
K+	4	31	16,7
K-	4	670,5	20,5
Total	24	253,5	227,1

Pada tabel 4.1 menunjukkan bahwa dari hasil penelitian diketahui jumlah koloni bakteri yang paling sedikit adalah kelompok kontrol positif, yaitu kelompok yang menggunakan *Penstrep* (*Penisilin Streptomisin*), kemudian kelompok yang diinkubasi dengan ekstrak daun alpukat konsentrasi 100%, kelompok yang diinkubasi dengan ekstrak daun alpukat konsentrasi 75%, kelompok yang diinkubasi dengan ekstrak daun alpukat konsentrasi 50%, kelompok yang diinkubasi dengan ekstrak daun alpukat

konsentrasi 25% kemudian kelompok kontrol negatif yaitu kelompok yang menggunakan *aquadest* steril. Hasil penelitian dapat dilihat pada table 4.4.



Gambar 4.4 Diagram batang jumlah koloni bakteri

Penghitungan koloni bakteri dilakukan secara manual dengan menggunakan *colony counter*. Penghitungan dilakukan dengan cara membagi menjadi empat daerah pada *colony counter*, kemudian diambil 30 kotak secara acak pada empat daerah tersebut.

#### 4.1.4 Uji Statistik Data

Uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov* dilakukan untuk mengetahui apakah data dari masing-masing kelompok perlakuan terdistribusi normal. Pengambilan keputusan apakah data tersebut normal atau tidak, dapat dilihat dari signifikansi lebih atau kurang dari 0,05. Jika signifikansi lebih dari 0,05 maka data terdistribusi normal, sedangkan jika signifikansi kurang dari 0,05 maka data terdistribusi tidak normal. Tabel hasil analisis menunjukkan signifikansi lebih dari 0,05, sehingga data dinyatakan terdistribusi normal. Tabel dapat dilihat pada Lampiran C.1.

Setelah dilakukan uji normalitas, dilanjutkan dengan uji homogenitas untuk mengetahui apakah data homogen atau tidak dengan menggunakan uji *Levene*. Pengambilan keputusan apakah data tersebut homogen atau tidak, dapat dilihat dari signifikansi lebih dari atau kurang dari 0,05. Jika signifikansi lebih dari 0,05 maka data tersebut homogen, sedangkan jika signifikansi kurang dari 0,05 maka data tersebut tidak homogen. Tabel hasil analisis menunjukkan signifikansi lebih dari 0,05, sehingga data dinyatakan homogen. Tabel hasil analisis dapat dilihat pada Lampiran C.2.

Setelah data dinyatakan berdistribusi normal dan homogen, selanjutnya dilakukan uji parametrik *Oneway Anova*. Uji *Oneway Anova* digunakan untuk mengetahui perbedaan yang bermakna pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. Tingkat kepercayaan yang digunakan adalah 95% ( $p < 0,05$ ). Pengambilan keputusan apakah data mempunyai beda yang bermakna, dapat dilihat dari nilai signifikansi kurang dari atau lebih dari 0,05. Jika nilai signifikansi lebih dari 0,05 maka tidak ada beda yang bermakna pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol, sedangkan jika nilai signifikansi kurang dari 0,05 maka ada beda yang bermakna pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. Tabel hasil analisis menunjukkan nilai signifikansi 0,000 ( $p < 0,05$ ), sehingga dapat dinyatakan ada beda yang bermakna pada semua kelompok perlakuan. Table hasil analisis dapat dilihat pada Lampiran C.3.

Setelah dilakukan uji *Oneway Anova*, dilanjutkan dengan uji *Least Significant Different (LSD)*. Uji ini dilakukan untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan yang bermakna. Tingkat kemaknaan yang digunakan adalah 95% ( $p < 0,05$ ). Tabel hasil analisis menunjukkan ada perbedaan yang bermakna pada setiap kelompok pada penelitian ini. Adanya perbedaan yang bermakna dapat dilihat dari tanda \* yang berada di samping setiap angka pada masing-masing kelompok. Tabel hasil analisis dapat dilihat pada Lampiran C.4.



## 4.2 Pembahasan

Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan jumlah koloni bakteri setelah diinkubasi dengan neutrofil dan ekstrak daun alpukat. Kelompok perlakuan yang memiliki jumlah koloni tertinggi adalah kelompok kontrol negatif (neutrofil + *aquadest* steril + *S. mutans*) yaitu terdapat rata-rata 670 CFU/ml koloni bakteri. Sedangkan, kelompok perlakuan yang memiliki jumlah koloni bakteri terendah adalah kelompok kontrol positif (neutrofil + *penstrep* + *S. mutans*) yaitu terdapat rata-rata 31 CFU/ml koloni bakteri. Pada penelitian ini, untuk kelompok yang diinkubasi dengan ekstrak daun alpukat terjadi penurunan jumlah koloni bakteri yang bertahap dari konsentrasi 25% terdapat rata-rata 383 CFU/ml koloni bakteri, konsentrasi 50% terdapat rata-rata 255 CFU/ml koloni bakteri, konsentrasi 75% terdapat rata-rata 123 CFU/ml koloni bakteri dan pada konsentrasi 100% terdapat rata-rata 58 CFU/ml koloni bakteri.

Hasil menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun alpukat berpengaruh terhadap aktivitas mikrobisida. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diberikan, semakin tinggi aktivitas mikrobisidanya. Semakin tinggi aktivitas mikrobisida dapat dilihat dengan jumlah koloni bakteri yang semakin rendah. Aktivitas mikrobisida yang semakin tinggi dimungkinkan karena adanya kandungan antioksidan yang terkandung pada daun alpukat. Daun alpukat merupakan sumber antioksidan alami. Analisis kandungan kimia dari daun alpukat yang telah diisolasi adalah saponin, alkaloid, flavonoid, terpena, safrol dan tanin (Katja *et al*, 2009: 58).

Sel neutrofil hanya mampu memfagosit 3-20 bakteri dalam keadaan normal kemudian akan lisis (Guyton dan Hall, 2007: 453). Keutuhan sel neutrofil tersebut, salah satunya dipengaruhi oleh radikal bebas. Radikal bebas ini bisa berasal dari luar ataupun dalam tubuh. Salah satunya adalah proses fagositosis yang dilakukan oleh sel fagositik, pada saat melakukan fagositosis sel neutrofil akan menghasilkan radikal bebas superoksida.

Radikal bebas akan menyerang sel terdekat dan mengambil elektronnya, sehingga menjadi tidak stabil dan membentuk radikal bebas baru. Keadaan ini menyebabkan oksigen reaktif intermediet yang toksik melebihi pertahanan antioksidan endogen yang disebut stres oksidatif. Stres oksidatif menyebabkan kerusakan membran sel sehingga mengganggu aktifitas biokimia dalam sel, sehingga sel tidak mampu mempertahankan kehidupannya (Winarsi, 2007: 11). Untuk menangkal radikal bebas diperlukan antioksidan, salah satu bahan alam yang berfungsi sebagai antioksidan alami adalah ekstrak daun alpukat.

Antioksidan merupakan senyawa yang jika berada pada konsentrasi yang relatif lebih rendah dibandingkan konsentrasi suatu substrat, maka akan teroksidasi lebih dulu, sehingga dapat mencegah terjadinya oksidasi substrat tersebut. Tanin dapat menghambat pembentukan oksigen aktif yang dapat menyebabkan oksidasi (Hernawan, 2003: 33). Saponin mempunyai efek antioksidan dan penangkal radikal bebas dengan membentuk hidroperoksida sebagai ion bebas yang akan berikatan dengan radikal bebas (Khan *et al*, 2009: 58).

Flavonoid dapat berfungsi sebagai antioksidan. Hal ini berkaitan dengan kemampuannya untuk menangkal radikal bebas sehingga efektif dalam menghambat stres oksidatif (Azima *et al*, 2004). Flavonoid juga berperan sebagai antioksidan dengan cara mendonasikan atom hidrogennya atau melalui kemampuannya mengikat logam, flavonoid dapat berbentuk glukosida (mengandung rantai samping glukosa) atau dalam bentuk bebas yang disebut aglikon (Redha, 2010: 197).

Hal tersebut menunjukkan bahwa dengan adanya daun alpukat, sel di dalam tubuh termasuk sel neutrofil dapat bertahan lebih lama dari proses kerusakan sel ketika menghadapi mikroorganisme yang masuk ke dalam tubuh. Ketika keutuhan neutrofil dapat bertahan lebih lama dari kerusakan, maka semakin banyak bakteri dan benda asing lainnya yang akan difagosit oleh neutrofil.

Selain sebagai antioksidan, daun alpukat juga memiliki khasiat sebagai antibakteri (Katja, 2009: 58). Adanya kandungan saponin, flavonoid, tanin dan

alkaloid bagi tubuh telah diketahui dari berbagai hasil penelitian berfungsi sebagai antibakteri (Christianto *et al*, 2012; 2007; Widiana, 2013). Pada penelitian ini, zat-zat tersebut juga dimungkinkan dapat menyebabkan berkurangnya jumlah koloni bakteri *S. mutans*.

Kandungan daun alpukat yang dapat berfungsi sebagai antibakteri antara lain, yaitu saponin, tanin, flavonoid dan alkaloid. Kandungan saponin dalam daun alpukat dapat meningkatkan permeabilitas membran sel dari bakteri, sehingga dapat menyebabkan hemolisis sel bakteri. Ketika saponin berinteraksi dengan sel bakteri, maka sel bakteri akan lisis. Tanin dapat berperan sebagai antibakteri dalam konsentrasi tinggi maupun konsentrasi rendah. Ketika berada dalam konsentrasi rendah, tanin dapat mengganggu pertumbuhan bakteri dan ketika dalam konsentrasi tinggi, tanin berperan sebagai antibakteri dan mampu menggumpalkan bakteri.

Flavonoid dapat berperan sebagai antibakteri dengan cara mendenaturasi protein pada membran sel bakteri, lalu terjadi koagulasi protein, yang mengakibatkan hilangnya fungsi dari membran sel bakteri yang mengakibatkan terjadinya peningkatan tekanan osmotik di dalam sel, sehingga menyebabkan bakteri lisis (Christianto *et al*, 2012: 41). Sedangkan Alkaloid dapat berperan sebagai antibakteri dengan cara mengganggu terbentuknya komponen penyusun peptidoglikan pada bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian pada bakteri (Darsana, 2012: 437).

Dengan diketahuinya zat aktif yang terkandung dalam daun alpukat yaitu flavonoid, saponin dan tanin sebagai antibakteri, diharapkan memiliki manfaat besar dalam mengatasi infeksi dalam rongga mulut yang disebabkan bakteri, khususnya *S. mutans*. Berdasarkan hasil dari penelitian ini, diketahui bahwa ekstrak daun alpukat dapat meningkatkan aktifitas mikrobisida dari sel neutrofil yang dipapar dengan bakteri *S. mutans*. Konsentrasi yang paling efektif untuk meningkatkan aktifitas mikrobisida sel neutrofil yang dipapar dengan bakteri *S. mutans* adalah ekstrak daun alpukat dengan konsentrasi 100%.

## **BAB 5. PENUTUP**

### **5.1 Kesimpulan**

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

- a. Ekstrak daun alpukat dapat meningkatkan aktivitas mikrobisida sel neutrofil yang telah dipapar dengan bakteri *S. mutans*.
- b. Konsentrasi ekstrak daun alpukat paling efektif untuk meningkatkan aktivitas mikrobisida sel neutrofil adalah ekstrak daun alpukat dengan konsentrasi 100%.

### **5.2 Saran**

- a. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai kandungan zat aktif lain dari daun alpukat yang dapat meningkatkan aktifitas mikrobisida.
- b. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai biokompabilitas daun alpukat terhadap jaringan rongga mulut.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Angela, A. 2005. Pencegahan primer pada anak yang berisiko karies tinggi (Primary prevention in children with high caries risk). *Maj. Ked. Gigi*. Vol. 38(3).
- Anggraeni, A., Anita, Y., dan Intan, N. 2005. Perlekatan koloni *Streptococcus mutans* pada permukaan resin komposit sinar tampak. *Majalah Kedokteran Gig*. Vol 38(1).
- Azzahra, H., Peni, P., dan Purwanto. 2014. Potensi Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana L*) Buatan Pabrik terhadap Aktifitas Mikrobisidal Sel Neutrofil yang Dipapar *Streptococcus mutans*. *E-jurnal pustaka kesehatan*. Vol 2(1).
- Azima, F. D. Muchtadi, F. R. Zakaria, dan B.P. Priosoeryanto. 2004. Kandungan Fitokimia dan Aktifitas Antioksidan Ekstrak Cassia Vera (*Cinnamomum burmanii*). *Stigma*. Vol 12(2).
- Batubara, I. 2003. *Hidup Sehat dengan Produk Holtikultura Nusantara*. Jakarta: Departemen Pertanian.
- Chandra, A., Hie, M. I., dan Verawati. 2013. *Pengaruh pH dan Jenis Pelarut pada Perolehan dan Karakterisasi Pati dari Biji Alpuka*. Bandung: Universitas Katolik Parahyangan.
- Christianto, C. W., Diana, N., & Istiati. 2012. Efek Antibakteri Ekstrak Biji Alpukat (*Persea americana Mill*) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *Oral Biology Dental Journal*. Vol 4(2).
- Darsana, I. G. O, I Nengah, K, B & Hapsari Mahatmi. 2012. Potensi Daun Binahong (*Anredera Cordifolia (Tenore) Steenis*) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia Coli* secara *In Vitro*. *Indonesia Medicus Veterinus* 2012 1(3).
- Dyah, N. & Firman. 2007. *Mahkota dewa dan manfaatnya*. Bekasi: Ganeca.
- Effendi, Z. 2003. *Peranan Leukosit sebagai Anti Inflamasi Alergik dalam Tubuh*. Sumatra Utara: Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Sumatra Utara.
- Fajriati, I. 2006. Optimasi Metode Penentuan Tanin (Analisis Tanin secara Spektrofotometri dengan Pereaksi Orto-Fenantrolin). *Kaunia*. Vol 2(2).

- Ford, T, R, P., 1993. *Restorasi Gigi*: Edisi 2. Alih Bahasa oleh narlan Sumawinata. Jakarta: EGC.
- Gondo, H. K. 2007. Penggunaan Antibiotika pada Kehamilan. Wijaya Kusuma. Vol 1( 1).
- Guyton, A. C. & Hall, J. E. 2007. *Buku Ajar Fisiologi kedokteran* : Edisi 11. Jakarta: EGC Press.
- Harrison. 1999. *Prinsip-prinsip Ilmu Penyakit Dalam*: edisi 13 Vol.1. Alih bahasa oleh Ahmad H. Asdie. Jakarta : EGC Press.
- Hernawan, U. E. & Ahmad, D. S. 2003. Review: Ellagitanin; Biosintesis, Isolasi, dan Aktivitas Biologi. Biofarmasi. Vol 1 (1).
- Jawetz, E. M. J., Adelberg EA, Brooks GF, Butel JS, & Ornston LN. 2004. *Mikrobiologi kedokteran* 23<sup>th</sup> ed. Jakarta: EGC.
- Kanisius. 1997. Budidaya Dan Pemanfaatan Alpukat. Yogyakarta.
- Katja, D. G., Edi. S & Frenly W. 2009. Potensi Daun Alpukat (*Persea Americana Mill*) Sebagai Sumber Antioksidan Alami. *Chem. Prog.* Vol 2(1).
- Khan, A. A., T. S. Navqi & M. S. Navqi. 2012. Identification of Phytosaponins as Novel Biodynamic Agents: An Update Overview. *Asian.J.Exo.Biol.Sci.* Vol 3(3).
- Kidd, E. A. M., Sally. J, & Bechal. 1992. *Dasar-dasar karies Penyakit dan Penanggulangannya*. Terjemahan oleh narlan Sumawinata & safrida faruk. Jakarta: EGC.
- Malangngi. L. P, Meiske S. Sangi, Jessy J. E. Paendong. 2012. Penentuan Kandungan Tanin dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Buah Alpukat (*Persea americana Mill*). *Jurnal MIPA UNSRAT Online 1 (1) 5-10*, <http://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/jmuo/article/view/423>, [24 April 2014].
- Mannait, E. R, Retno. I. R & Indeswati D. 2013. Jumlah neutrofil dan keadaan status ekonomi sosial (ses) pada siswa kelompok usia 4 sampai 6 tahun dengan karies dan bebas karies. *Oral Biology Journal.* Vol 5(2).
- Mescher, A. L. 2011. *Histologi Dasar Junqueira : Text & Atlas* : Edisi 12. Alih bahasa oleh Frans Dani. Jakarta : EGC.

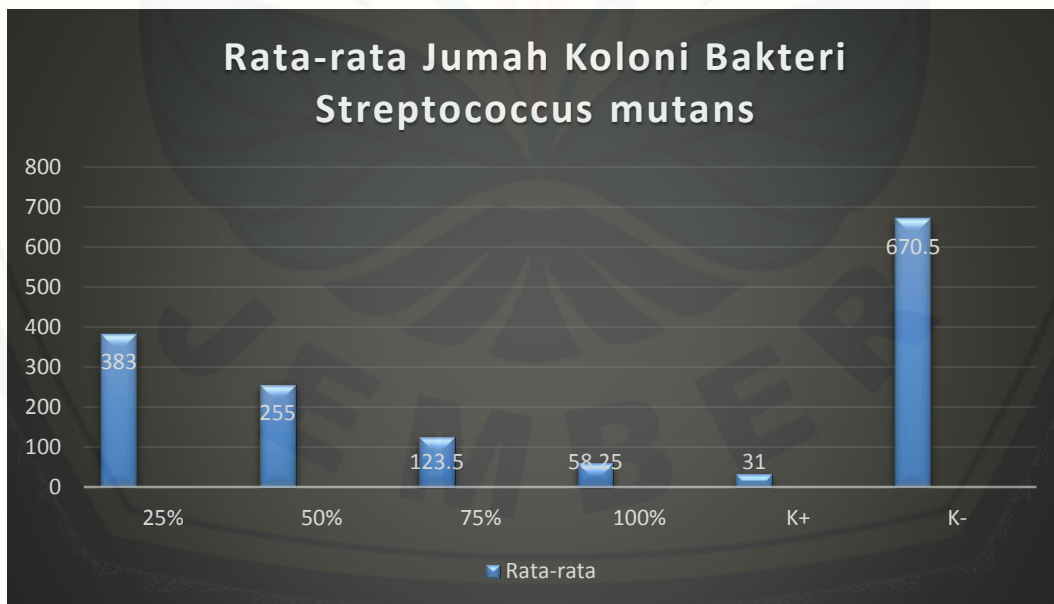
- Prasetya, R. C. 2008. Perbandingan Jumlah Koloni Bakteri Saliva pada Anak-anak Karies dan Non Karies Setelah Mengonsumsi minuman Berkarbonasi. *Indonesian Journal of Dentistry*. Vol 15(1 )
- Prasetyono. D.S. 2012. *A – Z Daftar Tanaman Obat Ampuh di Sekitar Kita*. Jogjakarta: FlasBooks.
- Pratiknya. A. W. 2010. *Dasar-dasar Metodologi Penelitian Kedokteran & Kesehatan*. Jakarta: Rajawali Pers.
- Purnamasari, D. A, Elly. M & R. Mohammad Y. 2010. Konsentrasi ekstrak biji kakao sebagai material alam dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* (*Concentration of Cacao seed extract as a natural material in prevent Streptococcus mutans growth*. PDGI. Vol 59(1).
- Purnomobasuki, H. 2004. *Potensi Mangrove Sebagai Tanaman Obat*. Biota . IX.
- Purwanto. 2010. *Hubungan Streptococcus mutan dengan Penyakit Aterotrombotik*. Jember : Jember University press.
- Putri, F. I., 2013. “Respons Antiinflamasi Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* Linn) Terhadap Jumlah Sel Neutrofil pada Gingiva Tikus Wistar Jantan Pasca Diinduksi Oleh *Porphyromonas gingivalis*”. Tidak Diterbitkan. Skripsi. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Redha, A. 2010. Flavonoid : Struktur, Sifat Antioksidatif Dan Peranannya Dalam Sistem Biologis. *Jurnal Belian*. Vol 9.
- Revilla, G, Yanwirasti & Erly Indrama. 2008. Efek Imunomodulasi Senyawa Flavonoid Kencur (*Kaempferia galanga* Linn) terhadap Kemampuan Mikrobisidal Sel Netrofil Secara In Vitro. *Majalah Kedokteran Andalas*. Vol 32(1).
- Rohyami, Y. 2008. Penentuan Kandungan Flavonoid dari Ekstrak Metanol Daging Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa Scheff Boerl*). *Logika*, Vol. 5(1).
- Roslizawaty, N, Y. R, Fakhurrazi & Herrialfian. 2013. Aktivitas Antibakterial Ekstrak Etanol dan Rebusan Sarang Semut (*Myrmecodia* sp.) terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Medika Veterinaria*. Vol. 7(2).
- Simon, L. 2007. *The Role of Streptococcus mutans And Oral Ecology in The Formation of Dental Caries*. *Undergraduate Research Journal*. Vol 2(2).

- Soesilo, D, Rinna, E, S & Indeswati D. 2005. Peranan sorbitol dalam mempertahankan kestabilan pH saliva pada proses pencegahan karies. *Maj. Ked. Gigi*. Vol. 38(1).
- Supranto J, 2000. *Teknik Sampling untuk Survei dan Eksperimen*. Jakarta : Penerbit PT Rineka Cipta.
- Utami, E. R. 2012. Antibiotika, Resistensi, dan Rasionalitas Terapi. *Sainstis*. Vol 1( 1).
- Walton, R. E. & Torabinejad, M. 2008. *Prinsip & Praktik Ilmu Endodonsia* : Edisi 3. Alih bahasa oleh Narlan sumawinata. Jakarta : EGC.
- Widiana, R., Gustina, I, & Indra A. 2013. Daya Hambat Sari Daun Sirsak (*Annona muricata L.*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *Stikp Pgri*. Vol 1(1).
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidn Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Karnisius.

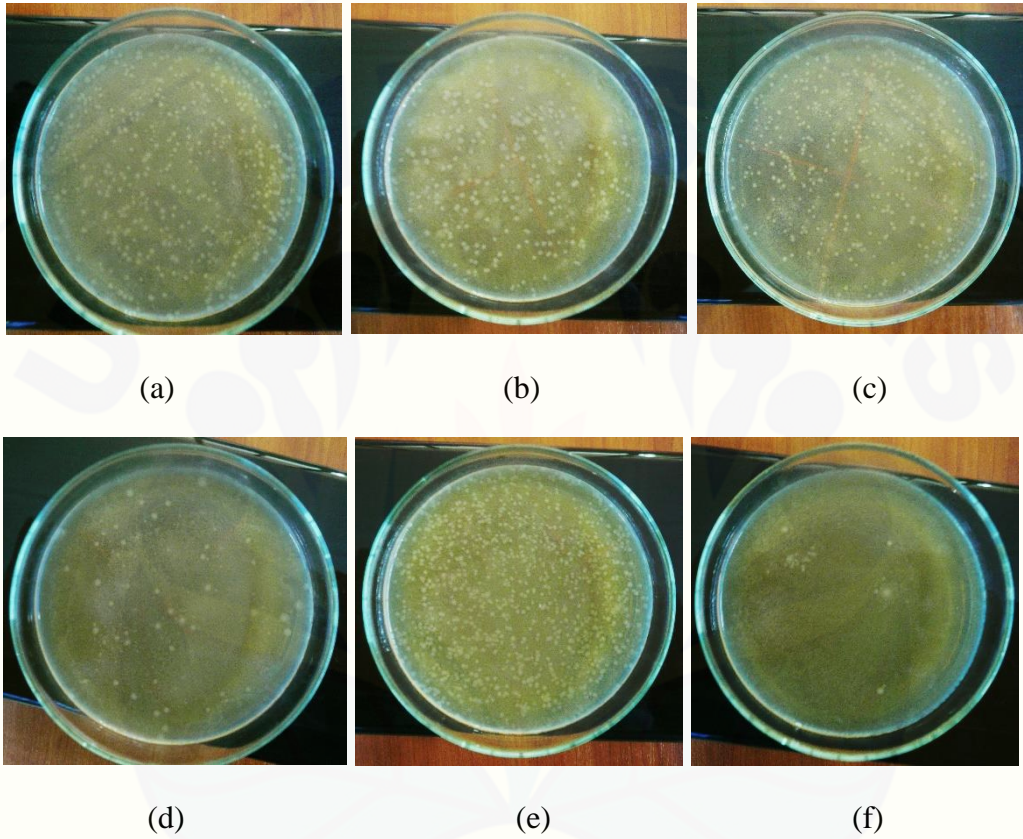


**LAMPIRAN****LAMPIRAN A. Hasil Penelitian****A1. Hasil Data Perhitungan Koloni Bakteri**

Konsentrasi	Jumlah Koloni a	Jumlah Koloni b	Jumlah Koloni c	Jumlah Koloni d	Rata-rata
25%	355	376	389	412	383
50%	234	263	247	276	255
75%	101	133	142	118	123.5
100%	44	67	51	71	58.25
K+	47	43	12	22	31
K-	646	662	692	682	670.5



**A2. Gambar koloni bakteri**



Keterangan:

- (a) Konsentrasi 25%; (b) konsentrasi 50%; (c) konsentrasi (75%); (d) konsentrasi 100%; (e) kontrol negatif; (f) kontrol positif.

## LAMPIRAN B. Perhitungan Sampel

### Besar Sampel

Jumlah sampel pada penelitian ini sebanyak 4 sampel yang dihitung dengan rumus yang dikemukakan oleh Supranto (2000).

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

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

$$5t - 5 \geq 15$$

$$5t \geq 20$$

$$t \geq 4$$

Keterangan :

n : Besar kelompok

t : Jumlah sampel

## LAMPIRAN C. Analisis Data

### C1. Uji Normalitas Kolmogorov-Smirnov

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		25%	50%	75%	100%	K(+)	K(-)
N		4	4	4	4	4	4
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	383,00	255,00	123,50	58,25	31,00	670,50
	Std. Deviation	23,875	18,348	17,972	12,842	16,753	20,551
Most Extreme Differences	Absolute	,151	,169	,201	,252	,263	,212
	Positive	,151	,169	,152	,214	,204	,160
	Negative	-,138	-,169	-,201	-,252	-,263	-,212
Kolmogorov-Smirnov Z		,302	,337	,403	,504	,526	,424
Asymp. Sig. (2-tailed)		1,000	1,000	,997	,961	,945	,994

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

### C2. Uji Homogenitas Levene Statistik

Test of Homogeneity of Variances

Rerata

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,358	5	18	,870

**C3. Oneway Anova****Descriptives**

Rerata

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
25%	4	383,00	23,875	11,937	345,01	420,99	355	412
50%	4	255,00	18,348	9,174	225,80	284,20	234	276
75%	4	123,50	17,972	8,986	94,90	152,10	101	142
100%	4	58,25	12,842	6,421	37,82	78,68	44	71
K(+)	4	31,00	16,753	8,377	4,34	57,66	12	47
K(-)	4	670,50	20,551	10,275	637,80	703,20	646	692
Total	24	253,54	227,181	46,373	157,61	349,47	12	692

**ANOVA**

Rerata

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1180761	5	236152,242	675,498	,000
Within Groups	6292,750	18	349,597		
Total	1187054	23			

## C4. Uji LSD

## Multiple Comparisons

Dependent Variable: Rerata

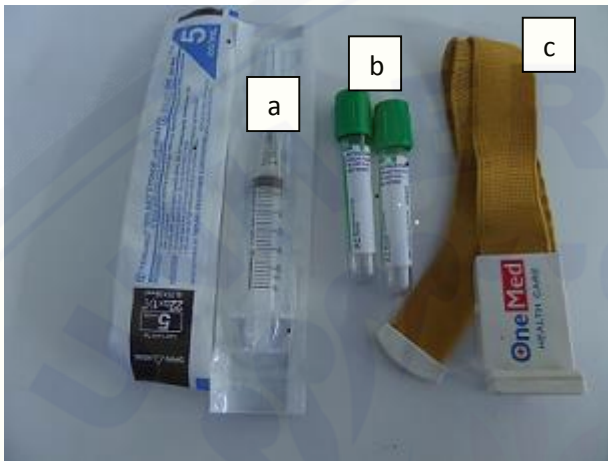
LSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
25%	50%	128,000*	13,221	,000	100,22	155,78
	75%	259,500*	13,221	,000	231,72	287,28
	100%	324,750*	13,221	,000	296,97	352,53
	K(+)	352,000*	13,221	,000	324,22	379,78
	K(-)	-287,500*	13,221	,000	-315,28	-259,72
50%	25%	-128,000*	13,221	,000	-155,78	-100,22
	75%	131,500*	13,221	,000	103,72	159,28
	100%	196,750*	13,221	,000	168,97	224,53
	K(+)	224,000*	13,221	,000	196,22	251,78
	K(-)	-415,500*	13,221	,000	-443,28	-387,72
75%	25%	-259,500*	13,221	,000	-287,28	-231,72
	50%	-131,500*	13,221	,000	-159,28	-103,72
	100%	65,250*	13,221	,000	37,47	93,03
	K(+)	92,500*	13,221	,000	64,72	120,28
	K(-)	-547,000*	13,221	,000	-574,78	-519,22
100%	25%	-324,750*	13,221	,000	-352,53	-296,97
	50%	-196,750*	13,221	,000	-224,53	-168,97
	75%	-65,250*	13,221	,000	-93,03	-37,47
	K(+)	27,250	13,221	,054	-,53	55,03
	K(-)	-612,250*	13,221	,000	-640,03	-584,47
K(+)	25%	-352,000*	13,221	,000	-379,78	-324,22
	50%	-224,000*	13,221	,000	-251,78	-196,22
	75%	-92,500*	13,221	,000	-120,28	-64,72
	100%	-27,250	13,221	,054	-55,03	,53
	K(-)	-639,500*	13,221	,000	-667,28	-611,72
K(-)	25%	287,500*	13,221	,000	259,72	315,28
	50%	415,500*	13,221	,000	387,72	443,28
	75%	547,000*	13,221	,000	519,22	574,78
	100%	612,250*	13,221	,000	584,47	640,03
	K(+)	639,500*	13,221	,000	611,72	667,28

\*. The mean difference is significant at the .05 level.

**LAMPIRAN D. Alat dan Bahan Penelitian**

**D1. Alat Penelitian**



Keterangan :

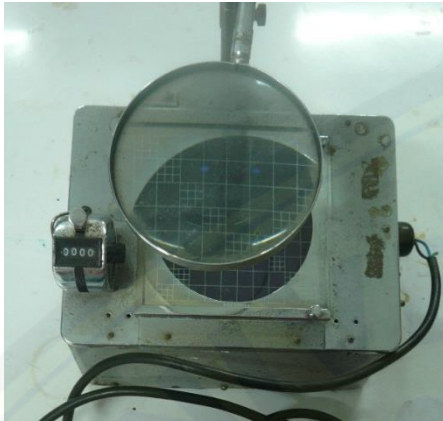
- a. *Syringe*
- b. Tabung Heparin
- c. Torquet



*Microscope Slides*



Mikroskop



*Colony Counter*



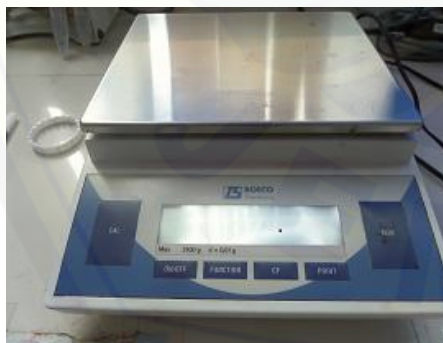
*Inkubator Shaker*



*Microplate*



*Centrifuge*



*Timbangan Digital*

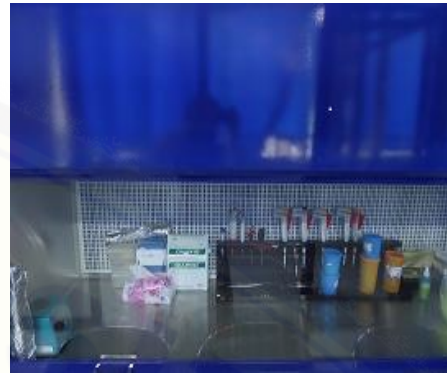


*Spektrofotometer*



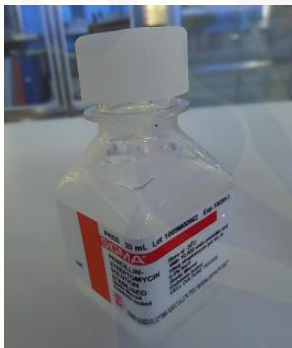


*Densicheck*

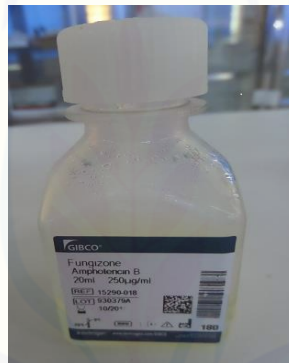


*Laminar Flow Cabinet*

**D.2 Bahan**



*Penicillin-Streptomycin*



*Fungizone*



*Histopaque-1119*



*Ficoll*



*HBSS*

**LAMPIRAN E. Inform Consent**

SURAT PERSETUJUAN/PENOLAKAN MEDIS KHUSUS  
(INFORM CONSENT)

Saya yang bertadatangan tangan di bawah ini:

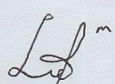
Nama : Bimbi Virgamantya  
Jenis kelamin : Laki-laki  
Umur/Tgl lahir : 22 / 31 Agustus 1992  
Alamat : Perum. Istana Tidar BS/7  
Telp : 082330445009

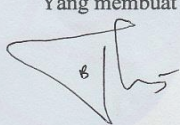
Dengan ini menyatakan ~~SETUJU~~/~~MENOLAK~~ dilakukan Tindakan Medis untuk kepentingan Penelitian berupa pengambilan darah sebanyak 12cc. Saya juga menyatakan bahwa saya tidak memiliki kebiasaan merokok sesuai dengan kriteria pasien yang ada dalam penelitian ini.

Dari penjelasan yang diberikan, saya mengerti dengan segala hal yang berhubungan dengan penelitian tersebut, serta tindakan medis yang akan dilakukan dan kemungkinan pasca tindakan yang akan terjadi sesuai penjelasan.

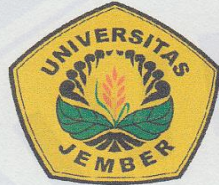
Jember, September 2014  
Yang membuat pernyataan

Pelaksana

  
.....  
(Lia Martina.....)

  
.....  
(.....Bimbi Virgamantya.....)

\*Coret yang tidak perlu

**LAMPIRAN F. Identifikasi *S. mutans***

LABORATORIUM MIKROBIOLOGI  
BAGIAN BIOMEDIK KEDOKTERANGIGI  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS JEMBER

**SURAT KETERANGAN**

No. 046/MIKRO/SKET/2014

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

Nama : Lia Martina  
Nim : 111610101046  
Fakultas : Kedokteran Gigi  
Keperluan : Identifikasi *Streptococcus mutans*

Telah melakukan uji identifikasi terhadap isolate *Streptococcus mutans*, hasil uji identifikasi secara mikroskopis dengan pewarnaan Gram menunjukkan bakteri *Streptococcus* Gram positif.

Jember, 29 Oktober 2014

Mengetahui,


Ketua Bagian Biomedik Kedokteran Gigi

Penanggung Jawab Laboratorium Mikrobiologi

Prof. Dr. IDA Ratna, M.Si.  
NIP1967050219907022001



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

## LAMPIRAN G. Identifikasi Alpukat



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

JL. Raya Surabaya - Malang Km. 65 Purwodadi - Pasuruan 67163  
Telp. (+62 343) 615033, (+62 341) 426046, Faks. (+62 343) 615033, (+62 341) 426046  
website: <http://www.krpurwodadi.lipi.go.id>

---

**SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI**  
No. 1457 /IPH.06/HM/XI/2014

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

**Lia Martina, NIM : 111610101046**

Mahasiswa Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, datang di UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi pada tanggal 07 Nopember 2014, berdasarkan buku Flora of Java, karangan C.A. Backer dan R.C. Bakhuizen van den Brink jr., volume I, tahun 1963, halaman 119-122 adalah :

Genus : *Persea*  
Species : *Persea americana* Mill.

Adapun menurut buku An Integrated System of Classification of Flowering plants, karangan Arthur Cronquist tahun 1981, halaman XII adalah sebagai berikut :

Divisio : *Magnoliophyta*  
Class : *Magnoliopsida*  
Subclass : *Magnoliidae*  
Ordo : *Laurales*  
Family : *Lauraceae*

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Purwodadi, 12 Nopember 2014  
An: Kepala  
Kepala Seksi Konservasi Ex-situ,



Deden Mudiana, S.Hut, M.Si