



**PENGARUH ALKALOID YANG TERKANDUNG
DALAM KULIT BUAH DELIMA PUTIH (*Granati
fructus cortex*) TERHADAP PERTUMBUHAN
*Lactobacillus acidophilus***

**KARYA TULIS ILMIAH
(SKRIPSI)**

Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh
Gelar Sarjana Kedokteran Gigi Pada Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Jember

Asal :	Hadiah	Klass
	Persewaan	615.882
Terima :		KRI
No. Induk :		P
Oleh	Pengkatalog :	

KRISTIN
NIM. 011610101034

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2005**

**PENGARUH ALKALOID YANG TERKANDUNG
DALAM KULIT BUAH DELIMA PUTIH (*Granati
fructus cortex*) TERHADAP PERTUMBUHAN
*Lactobacillus acidophillus***

**KARYA TULIS ILMIAH
(SKRIPSI)**

**Diajukan Guna Memenuhi Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh
Gelar Sarjana Kedokteran Gigi Pada
Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Jember**

Oleh :
K R I S T I N
NIM. 011610101034

Dosen Pembimbing Utama,



drg. Sukanto, M. Kes
NIP. 132 148 543

Dosen Pembimbing Anggota,



drg. Amiyatun Naini, M. Kes
NIP. 132 232 443

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER**

2005

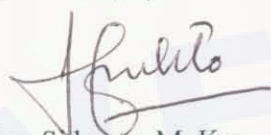
ii



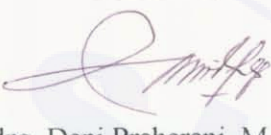
Diterima oleh:
Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Jember
Sebagai Karya Tulis Ilmiah (Skripsi)

Dipertahankan pada:
Hari : Rabu
Tanggal: 29 Agustus 2005
Pukul : 09.00 WIB
Tempat: Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Jember
TIM PENGUJI,

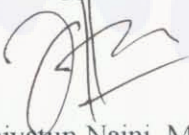
Ketua,


drg. Sukanto, M. Kes
NIP. 132 148 543

Sekretaris,


drg. Depi Praharani, M. Kes
NIP. 132 162 518

Anggota,


drg. Amiyatun Naini, M. Kes
NIP. 132 232 443

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Jember



Dr. Zahrehi Hamzah, MS.
NIP. 131 558 576

MOTTO :

*Hanya kepada Engkau lah kami menyembah dan hanya kepada
Engkau lah kami mohon pertolongan*

(Al-Fatihah: 5)

*Sesungguhnya kehormatan yang diberikan kepadamu adalah balasan pahala
untukmu dan pertanda bahwa usaha kebajikanmu disyukuri Tuhanmu*

(Al-Insaan: 22)

*Keindahan hidup tidak tergantung pada seberapa bahagia kamu, tetapi pada
seberapa bahagianya orang lain karena kamu*

(DR. Ikram Abidi)

Karya Tulis Ilmiah ini Kupersembahkan untuk:

- Allah SWT yang telah memberikan hidayah dan karunianya sehingga Karya Tulis Ilmiah ini bisa diselesaikan tepat pada waktunya.
- Ayahanda Rifa'i dan Ibunda Wagini tercinta, yang dengan tulus mencurahkan segala kasih dan sayangnya serta memberikan segala daya, upaya dan do'a yang tiada henti demi kemajuan putera-puterinya.
- Saudara-saudara tercintaku Ci Nur, Choiron, Ci Roes, Ci Ndar dan Yusuf yang telah memberikan dukungan materi dan moril yang tulus atas keberhasilanku ini. Dukungan kalian adalah segalanya bagiku.
- Almamater yang kubanggakan



KATA PENGANTAR

Puji syukur ke hadirat Allah SWT, yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah (Skripsi) yang berjudul **“Pengaruh Alkaloid yang Terkandung Dalam Kulit Buah Delima Putih (*Granati fructus cortex*) Terhadap Pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus*”**. Karya Tulis Ilmiah ini merupakan hasil penelitian eksperimental laboratoris.

Penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini guna memenuhi syarat untuk menyelesaikan pendidikan dokter gigi pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Dalam menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini tidak terlepas dari bantuan, bimbingan, dan dorongan dari berbagai pihak, oleh karena itu pada kesempatan ini penulis menyampaikan banyak terima kasih kepada yang terhormat :

1. drg. Zahreni Hamzah, MS., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember yang telah memberikan kesempatan penulis untuk melakukan penelitian hingga selesainya penulisan ini.
2. drg. Sukanto, M. Kes., selaku Dosen Pembimbing Utama dan drg. Amiyatun Naini, M.Kes, selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah banyak meluangkan waktunya untuk memberikan pengarahan dan bimbingan sejak awal hingga selesainya penulisan Karya Tulis Ilmiah ini.
3. drg. Depi Praharani, M.Kes., selaku sekretaris yang telah memberikan bimbingan dan sumbangan pikiran yang sangat berharga dalam menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.
4. Analis Laboratorium Biokimia, Fakultas MIPA Universitas Jember, Abdullah A.Md, dan analis Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Setyo Pinardi, A.Md., yang telah banyak membantu dalam melakukan penelitian.
5. Bapak dan Ibu tercinta, terima kasih yang tulus dan tak terhingga ananda haturkan atas segala bimbingan dan didikan yang telah ditanamkan kepada ananda serta motivasi dan do'a yang tiada henti.

6. Saudara-saudaraku yang telah memberikan dorongan dan semangat serta do'a yang tiada henti.
7. Sahabat-sahabatku: Onk, Dini, dan Retno yang telah memberikan bantuan baik moril maupun spiritual dalam penyusunan ini.
8. "Bintangku" yang selalu memberi motivasi di setiap langkahku.
9. Seluruh rekan angkatan 2001 dan kos-kosan Kalimantan IV blok C 57B; terima kasih atas bantuan dan dukungan selama ini.
10. Semua pihak yang terlibat baik langsung maupun tidak langsung yang membantu dalam penyelesaian Karya Tulis Ilmiah ini.

Penulis menyadari keterbatasan dan kekurangan penulisan karya tulis ilmiah ini, untuk itu kritik dan saran yang bersifat membangun sangat penulis harapkan demi kesempurnaan penulisan selanjutnya. Akhir kata, penulis berharap semoga Karya Tulis Ilmiah ini dapat memberikan manfaat bagi kita semua. *Amien ya robbal alamin.*

Jember, Agustus 2005

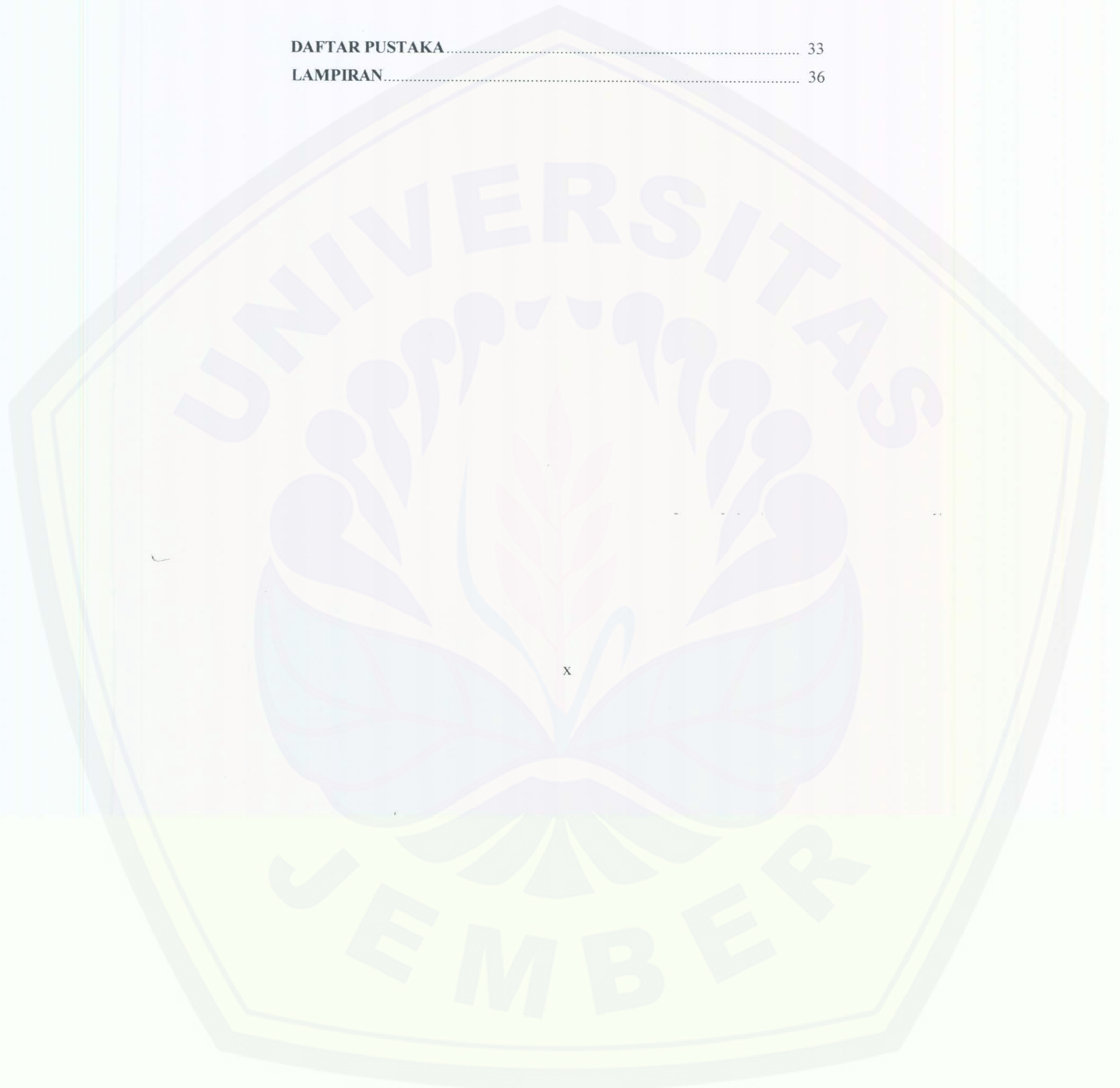
Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGAJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
RINGKASAN	xiv
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Delima Putih	5
2.1.1 Klasifikasi Tanaman	5
2.1.2 Nama Daerah	5
2.1.3 Nama Asing	5
2.1.4 Habitat dan Budidaya	6
2.1.5 Asal dan Distribusi	6
2.1.6 Gambaran Tanaman	7
2.2 Kulit Buah Delima Putih (<i>Granati fructus cortex</i>)	8
2.2.1 Ciri-ciri Kulit Buah Delima Putih	8
2.2.2 Anatomi Kulit Buah Delima Putih	9

2.2.3	Kandungan Tanaman.....	9
2.3	Alkaloid.....	9
2.2.1	Deskripsi Umum.....	9
2.2.2	Cara Identifikasi	11
2.4	<i>Lactobacillus sp</i>	11
2.3.1	Definisi	11
2.3.2	Morfologi dan Identifikasi	11
2.3.3	Klasifikasi.....	12
2.3.4	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	13
2.5	Hipotesis.....	14
III. METODE PENELITIAN		16
3.1	Jenis Penelitian.....	16
3.2	Tempat dan Waktu Penelitian	16
3.3	Definisi Operasional.....	16
3.4	Identifikasi Variabel.....	17
3.4.1	Variabel Bebas	17
3.4.2	Variabel Terikat	17
3.4.3	Variabel Kendali	17
3.5	Sampel Penelitian.....	17
3.5.1	Kriteria Sampel Penelitian.....	17
3.5.2	Besar Sampel Penelitian.....	17
3.6	Alat dan Bahan	18
3.6.1	Alat	18
3.6.2	Bahan	19
3.7	Prosedur Penelitian.....	19
3.7.1	Tahap Persiapan	19
3.7.2	Tahap Perlakuan.....	20
3.7.3	Tahap Pengamatan	21
3.8	Analisis Data	22
3.9	Kerangka Penelitian.....	23

IV. HASIL DAN ANALISA DATA	24
4.1 Hasil Penelitian	24
4.2 Analisa Data Hasil Penelitian	25
V. PEMBAHASAN	28
VI. KESIMPULAN DAN SARAN	32
6.1 Kesimpulan.....	32
6.2 Saran	32
DAFTAR PUSTAKA	33
LAMPIRAN	36



DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
1. Tanaman delima putih (<i>Punica granatum. L.</i>).....	7
2. Bunga dan buah delima putih (<i>Punica granatum. L.</i>).....	8
3. Struktur alkaloid jenis <i>pelletierine</i> yang terkandung dalam <i>Granati fructus cortex</i>	10
4. Foto hasil penelitian pengamatan 48 jam	52



DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Analisis data hasil penelitian	36
2. Langkah kerja memperoleh alkaloid	47
3. Metode pengenceran seri.....	49
4. Penghitungan besar sampel penelitian.....	51
5. Foto hasil penelitian pengamatan 48 jam	52



RINGKASAN

(Kristin, NIM. 011610101034, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Pengaruh Alkaloid yang Terkandung Dalam Kulit Buah Delima Putih (*Granati fructus cortex*) Terhadap Pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus* di bawah bimbingan drg. Sukanto, M.Kes (DPU) dan drg. Amiyatun Naini, M.Kes (DPA).

Tanaman obat telah lama digunakan untuk pengobatan oleh masyarakat Indonesia maupun mancanegara. Salah satu tanaman obat tersebut adalah delima putih (*Punica granatum. L.*). Dari berbagai penelitian yang telah dilakukan terbukti bahwa kulit buah delima putih dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme rongga mulut. Hal ini diduga adanya kandungan alkaloid dan flavanoid. Alkaloid merupakan senyawa basa yang terdiri dari satu atau lebih atom nitrogen dan mempunyai kegiatan fisiologi yang menonjol sehingga digunakan secara luas dalam bidang pengobatan. Kemampuan alkaloid dalam menghambat mikroorganisme rongga mulut melalui aktivitasnya berinteraksi dengan DNA bakteri yaitu merusak struktur heliks gandanya pada tahap replikasi dan transkripsi sehingga akan mengganggu metabolisme dan pertumbuhan bakteri. Karena aktivitas tersebut maka tidak tertutup kemungkinan bahwa alkaloid sebagai zat murni juga dapat mempengaruhi pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus* yang berperan dalam pembentukan karies gigi dan sejumlah penyakit dalam mulut yang merupakan predisposisi dari karies.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh dan konsentrasi minimum alkaloid yang terkandung dalam kulit buah delima putih terhadap pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus*.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 36 sampel dengan sembilan perlakuan, yang terdiri dari media hasil pengenceran seri yaitu 100%, 50%, 25%, 12.5%, 6.25%, 3.13%, 1.56%, media tanpa alkaloid dengan suspensi kuman (kontrol positif) dan media dengan alkaloid tanpa suspensi kuman (kontrol negatif), dimana setiap perlakuan dilakukan empat kali pengulangan.

Data penelitian terlebih dahulu dilakukan uji normalitas data dan uji homogenitas varians. Karena data mempunyai variansi yang tidak sama dan tidak homogen maka dilakukan uji statistik non parametrik *Kruskal Wallis* dengan derajat kemaknaan 95% ($p < 0.05$). Hasilnya tiap-tiap perlakuan mempunyai perbedaan yang signifikan. Untuk mengetahui lebih lanjut perbedaan diantara perlakuan, dilanjutkan dengan uji *U Mann Whitney* dengan derajat kemaknaan 95% ($p < 0.05$). Hasilnya diketahui bahwa terdapat perbedaan yang signifikan diantara tiap-tiap perlakuan, kecuali pada perlakuan 100% dengan 50%, 100% dengan kontrol negatif, dan 50% dengan kontrol negatif dimana $p > 0.05$.

Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa alkaloid yang terkandung dalam kulit buah delima putih dengan konsentrasi 100% dan 50% mempunyai kemampuan membunuh bakteri *Lactobacillus acidophilus* dan konsentrasi minimum alkaloid yang dapat membunuh bakteri tersebut adalah 50%.

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Para ahli dari berbagai negara seperti Jerman, India, Cina, Australia, Indonesia mengadakan penelitian dan pengujian berbagai tumbuhan yang secara tradisional dipakai untuk penyembuhan penyakit tertentu. Penelitian dan pengujian para ahli telah diketahui adanya komposisi kandungan kimiawi dari tumbuhan tradisional (Thomas, 2003).

Masyarakat di Indonesia yang umumnya tidak berbeda dengan keadaan di mancanegara, dengan berbagai ragam latar belakang budaya etniknya masing-masing, lazim menggunakan obat tradisional atau yang disebut jamu dengan memanfaatkan kekayaan alam Indonesia (Departemen Kesehatan RI, 2000).

Departemen Kesehatan RI pun berupaya memasyarakatkan tanaman obat yang dulu disebut apotik hidup ke seluruh masyarakat. Program ini mengupayakan kegiatan menanam pekarangan dengan tanaman obat. Gaya hidup yang mengarah kembali ke alam (*back to nature*). Ini membuktikan bahwa hal-hal yang alami bukanlah hal yang ketinggalan zaman. Tanaman berkhasiat obat diteliti dan dipelajari secara ilmiah, hasilnya pun mendukung tanaman obat memang memiliki kandungan zat-zat atau senyawa yang secara klinis terbukti bermanfaat untuk kesehatan (Muhlisah, 1999).

Salah satu obat tradisional yang dapat digunakan untuk pengobatan adalah delima putih (*Punica granatum. L.*). Di Indonesia tanaman ini menyebar dari dataran rendah sampai pegunungan. Tetapi tanaman ini masih dapat dijumpai pada ketinggian 1000 meter di atas permukaan laut. Tanaman delima merupakan tanaman tahunan yang berbentuk semak, dapat mencapai ketinggian hingga 1.8-4.5 meter. Rasa buah lebih manis dan enak bila ditanam di daerah yang beriklim sejuk. Buah yang berbentuk bulat dapat dimakan dalam keadaan segar sebagai salad, atau minuman segar dalam kaleng. Satu buah delima diperkirakan mengandung 667 biji. Bagian tanaman yang digunakan sebagai obat tradisional adalah kulit buah delima (Ashari, 1995).



Tumbuh-tumbuhan dikenal mengandung senyawa organik, salah satu senyawa organik yang terdapat pada tumbuh-tumbuhan dan sering digunakan sebagai bahan obat-obatan adalah alkaloid (www.kerinci.org/srg, 1999).

Menurut Harborne (1987) alkaloid sekitar 5500 telah diketahui merupakan golongan zat tumbuhan sekunder yang terbesar. Alkaloid mencakup senyawa basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen, biasanya dalam gabungan, sebagai bagian dari sistem siklik. Alkaloid mempunyai kegiatan fisiologi yang menonjol, jadi digunakan secara luas dalam bidang pengobatan. Alkaloid biasanya tanpa warna, seringkali bersifat optis aktif, kebanyakan berbentuk kristal. Secara tradisional, kulit buah delima putih digunakan sebagai ramuan dalam penyebaran penyakit cacing tambang dan cacing pita (antelmintik), obat batuk, diare, keputihan dan radang amandel (Mursito, 2000).

Berdasarkan skrining fitokimia, kulit buah delima putih (*Granati fructus cortex*) mengandung alkaloid dan flavanoid yang mempunyai sifat antibakteri (Robinson dalam Sukanto, 2003). Diperkuat oleh pernyataan Indrarini dalam Sukanto (2003) bahwa infusa *Granati fructus cortex* mempunyai sifat antibakteri terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus cereus*. Beberapa penelitian melaporkan bahwa infusa *Granati fructus cortex* dapat menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* pada permukaan media padat TYC. Tidak tumbuhnya *Streptococcus mutans* tersebut kemungkinan karena adanya kandungan flavanoid dan alkaloid pada infusa *Granati fructus cortex* yang cukup tinggi.

Selain itu kulit buah delima putih mengandung tanin antara 22-25 %, alkaloid *pelletierine*, *metilpelletierine*, *pseudopelletierine*, dan *isopelletierine* (Mardisworo dan Mangunsudarso, 1987). Menurut Evans dalam Sukanto (2002) alkaloid yang terkandung dalam *Granati fructus cortex* adalah jenis *pelletierine* yang mempunyai khasiat antibakteri dan bersifat toksik.

Lactobacillus sp merupakan bakteri anaerob fakultatif yang ditemukan sebagai flora normal rongga mulut, lambung, usus, dan saluran genitalia (Murray et al, 2002). Bakteri ini adalah penghuni normal rongga mulut tetapi bila lingkungan menguntungkan akan terjadi peningkatan populasi (Kidd dan

Bechal, 1992). *Lactobacillus sp* termasuk bakteri gram positif yang berbentuk batang yang tumbuh optimum pada suhu 15-45°C, umumnya terisolasi di rongga mulut meskipun jumlahnya kurang dari 1% dari jumlah mikroflora. Namun demikian proporsi maupun prevalensi *Lactobacillus sp* akan mengalami kenaikan pada perkembangan lesi karies baik itu pada karies enamel maupun pada karies permukaan akar (Marsh dan Martin, 2001).

Lactobacillus acidophilus merupakan salah satu spesies *Lactobacillus sp* dari kelompok homofermentatif yang dapat memproduksi sejumlah besar asam laktat dari fermentasi glukosa sehingga didapatkan pH terminal 3.8 atau kurang. Bakteri ini jarang ditemukan sebagai patogen primer walaupun spesies ini dikenal dalam perkembangan karies. *Lactobacillus acidophilus* bersifat asidogenik dan asidurik yang berarti kuman ini dapat hidup dalam suasana asam. Ciri inilah yang menyebabkan kuman tersebut dapat hidup dalam plak dan terus-menerus merusak struktur gigi yaitu dengan mengadakan fermentasi karbohidrat (Nolte, 1982).

Bakteri ini diisolasi dari saluran akar biasanya bergabung dengan organisme lainnya. Keberadaannya mengindikasikan adanya kontaminasi dari saliva atau karies dentin (Nolte, 1982). Bentuk koloni bakteri ini halus, kasar, seperti pecahan kaca. Beberapa diantaranya datar, keabuan dan sebagian besar translusen. Koloni-koloni tersebut mempunyai berbagai macam ukuran. Bakteri ini termasuk gram positif pleomorfik, tidak berspora dan tidak bergerak (Schelgel, 1994).

Berdasarkan hal tersebut maka haruslah dihambat pertumbuhannya agar tidak menjadi patogen. Cara menghambatnya yaitu dipapar dengan bahan antibakteri, yang salah satunya adalah alkaloid yang terkandung dalam *Granati fructus cortex*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian diatas maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut:

- a. Apakah pengaruh alkaloid yang terkandung dalam kulit buah delima putih terhadap pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus* ?

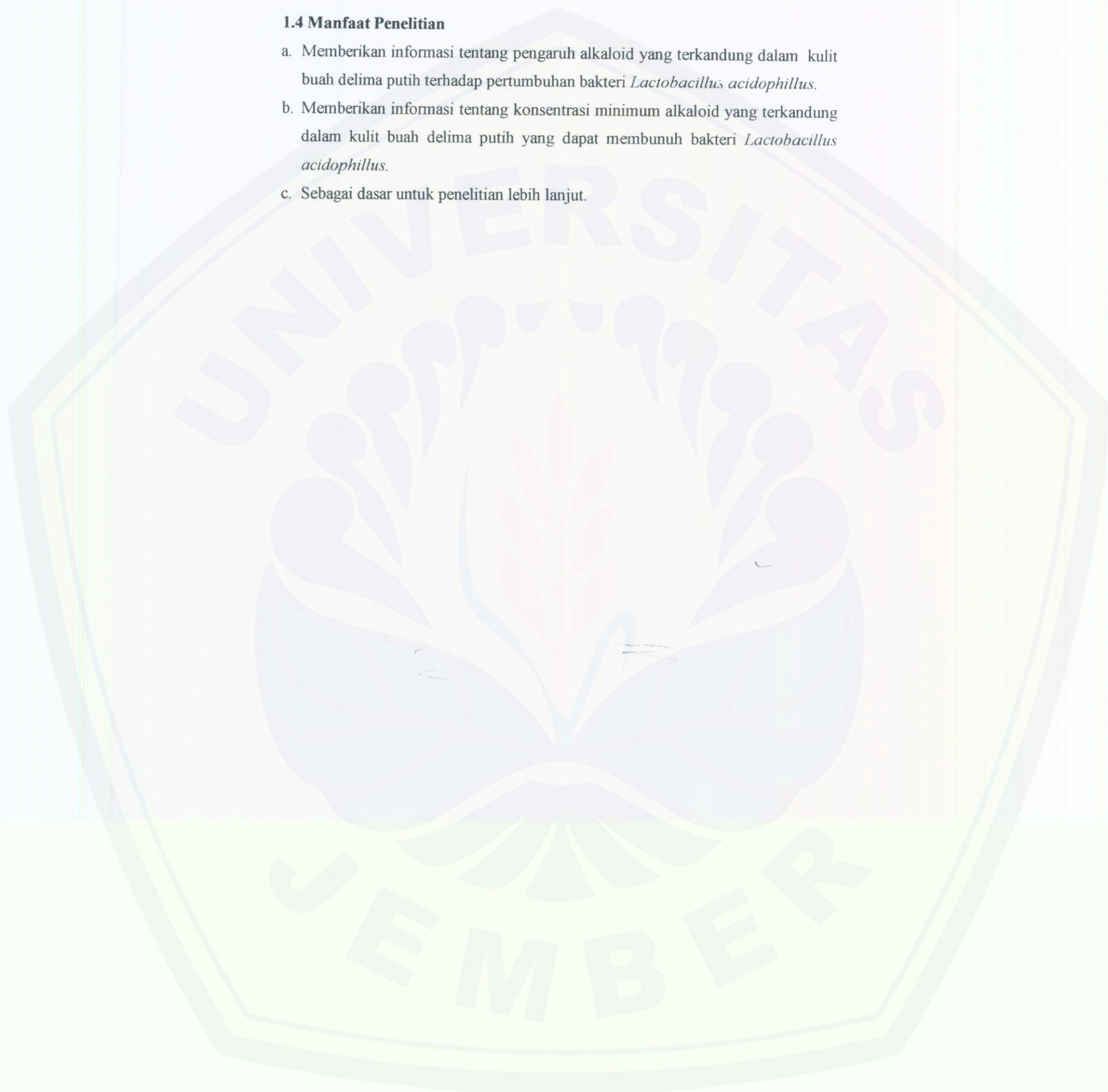
- b. Berapakah konsentrasi minimum dari alkaloid yang terkandung dalam kulit buah delima putih yang dapat membunuh *Lactobacillus acidophilus* ?

1.3 Tujuan Penelitian

- a. Mengetahui pengaruh alkaloid yang terkandung dalam kulit buah delima putih terhadap pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus*.
- b. Mengetahui konsentrasi minimum alkaloid yang terkandung dalam kulit buah delima putih yang dapat membunuh *Lactobacillus acidophilus*

1.4 Manfaat Penelitian

- a. Memberikan informasi tentang pengaruh alkaloid yang terkandung dalam kulit buah delima putih terhadap pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus*.
- b. Memberikan informasi tentang konsentrasi minimum alkaloid yang terkandung dalam kulit buah delima putih yang dapat membunuh bakteri *Lactobacillus acidophilus*.
- c. Sebagai dasar untuk penelitian lebih lanjut.



II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Delima Putih (*Punica granatum. L*)

2.1.1 Klasifikasi Tanaman

Secara botani delima putih dapat diklasifikasikan sebagai berikut.

Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Subdivisi	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Dicotyledonae</i>
Bangsa	: <i>Myrtales</i>
Suku	: <i>Punicaceae</i>
Marga	: <i>Punica</i>
Jenis	: <i>Punica granatum. L</i> (http://iptek.apjii.or.id , 2002)

2.1.2 Nama Daerah

Menurut Santoso (1998) tumbuhan delima putih mempunyai nama yang berbeda-beda untuk setiap daerah sebagai berikut.

- Sumatra yaitu glima (Aceh), glimau mekah (Gayo), dalimo (Batak), delima (Melayu)
- Jawa yaitu dalima (Sunda), gangsalan (Jawa), dhalima (Madura)
- Nusa Tenggara yaitu talima (Bima), dila doe lok (Roti), lelo kase, rumu (Timur), jeliman (Sasak)
- Maluku yaitu dilimene (Kisar)

2.1.3 Nama Asing

Tumbuhan delima putih juga mempunyai nama asing yaitu sebagai berikut.

- Gujarati yaitu *Dadam*
- Hindi yaitu *Anar*
- Kanarese yaitu *Dalimba*
- Malyalam yaitu *Matalam*
- Marathi yaitu *Dalimba*

- f. Tamil yaitu *Mandulai*
- g. Telugu yaitu *Danimma* (www.botanical.com , 2003)

2.1.4 Habitat dan Budidaya

Delima putih merupakan tanaman yang tumbuh liar di hutan-hutan. Ada juga yang ditanam orang di halaman sebagai tanaman hias. Tanaman ini tumbuh baik di daerah subtropik. Namun cocok pula ditanam di daerah tropik yang berhawa dingin. Di Asia Tenggara, delima dapat tumbuh baik di dataran rendah sampai pada dataran tinggi. Pada daerah basah produksinya kurang memuaskan. Tanaman ini dapat tumbuh pada beberapa jenis tanah asalkan subur, gembur dengan drainase yang baik (Ashari, 1995). Iklim dengan ketinggian tempat 1 m-500 m di atas permukaan laut. Curah hujan tahunan : 2000 mm-3000 mm/ tahun. Bualan basah (di atas 100 mm/ bulan) : 8 bulan-10 bulan. Bulan kering (di bawah 60 mm/ bulan) : 2 bulan-4 bulan. Suhu udara 22°C-25°C, kelembaban sedang dan penyinaran tinggi (Santoso, 1998).

Budidaya tanaman delima putih dilakukan dengan stek batang atau cabang. Stek diambil dari cabang yang telah berumur 1 tahun dengan panjang sekitar 12 cm. Bahan stek juga dapat diambil dari anakan yang telah berakar. Tanaman ini baru 4 tahun dan buah dapat dipanen sesudah 6 bulan terhitung dari mulai mekarnya bunga/*anthesis* (Ashari, 1995).

2.1.5 Asal dan Distribusi

Tanaman delima putih ini berasal dari Iran. Tanaman ini sudah lama dikenal pada masa kerajaan Mesir, kemudian menyebar ke daerah Mediteran, dan kearah timur hingga India dan Cina. Sekarang delima putih sudah ditanam di daerah tropik dan subtropik. Namun demikian buah delima yang berkualitas tinggi dihasilkan di daerah dingin subtropik yang mempunyai musim dingin sejuk dan musim panas dengan temperatur tinggi. Di daerah yang curah hujannya tinggi kualitas buahnya kurang baik (Ashari, 1995).

2.1.6 Gambaran Tanaman

Delima putih merupakan tanaman semak atau perdu yang tingginya 2-4 m. Batangnya berkayu, bulat, bercabang, berduri, ketika masih muda berwarna coklat dan setelah tua berwarna hijau kotor. Daunnya tunggal berbentuk lanset, bagian tepinya rata, ujungnya runcing, pangkal tumpul, panjangnya 1-8 cm, lebar 5-15 mm, petulangan menyirip, permukaan rata dan hijau. Bunganya tunggal, di ujung cabang, tangkai pendek, kelopak berlekatan, warna merah atau kuning pucat, mahkota membulat, tangkai sari melengkung bewarna kuning, putiknya putih, merah, atau kuning. Buahnya buni, butut, diameter 5-12 cm, hijau kekuningan. Bijinya bulat, keras, kecil dan bewarna merah. Dan akarnya tunggang, kuning kecoklatan (Ashari, 1995).



Gambar 1. Tanaman Delima Putih (*Punica granatum. L*)
Sumber: : <http://iptek.apjii.or.id>, 2002.



Gambar 2. Bunga dan Buah Delima Putih (*Punica granatum. L*)
Sumber: www.tabloidnova.com, 2005)

2.2 Kulit Buah Delima Putih (*Granati fructus cortex*)

2.2.1 Ciri-ciri Kulit Buah Delima Putih

Kulit buah berbentuk pipih dan agak rapuh. Pada pangkal buahnya umumnya ada sisa-sisa dari tangkainya. Pada ujung buahnya sisa-sisa dari dasar bunga tumbuh dalam bentuk seperti tabung dan tebal, tepinya terputus-putus tak teratur, lapisan dalam coklat dan diliputi dengan parut-parut, sering juga sisa-sisa dari benang sari, pada dasarnya dari rongga berbentuk silinder. Lapisan luar dari kulitnya agak kasar karena sedikit tidak rata, berwarna coklat merah atau coklat kuning. Lapisan dalam kuning, terutama di bagian atas dengan sekat yang menonjol ke dalam, sisa-sisa dari pengerat dan papan biji, selanjutnya karena cetakan dari biji seluruhnya terbagi dalam kotak kecil-kecil, bersudut 4-6, terpisah oleh tepi yang tajam, sering disana-sini masih ada biji dalam cetakan tersebut. Kulit buah delima ini berbentuk burut tidak rata, berbutir-butir kuning belerang, tidak berbau, rasanya sangat kelat (Departemen Kesehatan RI, 1991).

2.2.2 Anatomi Kulit Buah Delima Putih

Kulit buah delima putih tersusun dari epidermis luar dan dalam serta jaringan palisade yang tersusun secara seri. Sel-selnya berbentuk polygonal, tidak beraturan, berisi butir pati dan zat penyamak sklereida banyak, tersebar tunggal, umumnya berkelompok, dinding sel berlapis-lapis sangat tebal dengan lumen sempit, atau berdinding kurang tebal dengan lumen lebih lebar (Syukur dan Hernani, 2001).

2.2.3 Kandungan Tanaman

Kulit buah mengandung tanin antara 22-25%, alkaloid *pelletierine*, *metil pelletierine*, *pseudopelletierine* dan *isopelletierine* (Mursito, 2000). Menurut Kartasapoetra (1996) bagian yang terpenting dari tanaman ini yang berkhasiat obat adalah kulit buah luar dan kulit batangnya yang ternyata mengandung alkaloid *pelletierine* dan *metil pelletierine*, dan kadar keseluruhannya tidak kurang dari 0.4% (hitungan terhadap bahan yang telah dikeringkan).

2.2 Alkaloid

2.2.1 Deskripsi Umum

Banyak obat berkhasiat diketahui berasal dari tumbuhan. Beberapa diantaranya telah dikenal ribuan tahun, salah satunya alkaloid. Nama alkaloid berarti alkali yang mencerminkan sifat basa lemah (Wilbraham dan Matta, 1992).

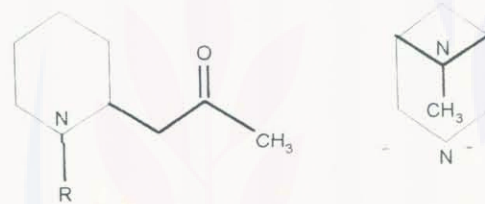
Alkaloid tersebar luas di dunia tumbuhan. Berbagai perkiraan menyatakan bahwa persentase jenis tumbuhan yang mengandung alkaloid terletak dalam rentang 15-30%. Angka ini merupakan hasil kesepakatan dan secara umum tumbuhan alkaloid dapat didefinisikan sebagai tumbuhan yang mengandung alkaloid lebih besar dari 0.05% bobot kering. Alkaloid sebagai golongan dibedakan dari sebagian besar komponen tumbuhan lain berdasarkan sifat basanya (kation). Senyawa ini biasanya terdapat dalam tumbuhan sebagai garam berbagai asam organik dan sering ditangani di laboratorium sebagai garam dengan asam hidroklorida dan asam sulfat. Garam ini disebut alkaloid bebas, berupa senyawa

padat berbentuk kristal tanwarna. Beberapa alkaloid berupa cairan dan alkaloid yang berwarna langka (Robinson, 1995).

Alkaloid sebagai senyawa basa terdiri dari atom nitrogen yang biasanya terdapat pada tumbuhan, hal ini didasarkan pada cirinya yang mempunyai aktifitas farmakologi. Ciri ini didapatkan juga pada protein. Meskipun alkaloid sebenarnya berasal dari tumbuhan, tetapi ada substansi pada hewan yang struktur kimianya hampir sama dengan alkaloid, yang seharusnya diklasifikasikan ke dalam alkaloid. Dalam ini adalah efedrin pada tumbuhan dan epinefrin pada hewan yang keduanya mempunyai struktur kimia dan efek farmakologi yang hampir sama (Katzung, 1989).

Alkaloid yang spesifik didapat dari tumbuhan yang spesifik pula (*strichnin* dalam *Loganiaceae*, morfin dalam *Papaveraceae*). Alkaloid terdapat pada bagian yang berbeda dari tumbuhan: dalam benih (*nux vomica*, *areca*), dalam buah (*black pepper*, *conium*), dalam daun (*belladonna*, *hyoscyamus*), batang yang terpendam dalam tanah (*sanguinaria*, *corydalis*), dalam akar (*aconita*, *belladonna root*), dalam rhizome dan akar (*ipecac*, *hydrastis*) dan dalam kulit batang (*chincona*, *pomegranate*). Alkaloid ini juga ditemukan pada fungi (*ergot*, *amanita muscaria*) (Katzung, 1989).

Nitrogen yang ada dalam alkaloid adalah sebagai amina primer ($R-NH_2$), amina sekunder seperti (R_2NH) atau siklik, amina tertier seperti (R_3N) atau siklik, atau amina kuartar ammonium hidroksid seperti (R_4NOH) atau siklik. Bentuk dari susunan nitrogen adalah dasar dari alkaloid murni (Harborne, 1987).



Gambar 2. Jenis Peletierin yang terkandung dalam *Granati fructus cortex* (Evans dalam Sukanto, 2003)

2.2.2 Cara Identifikasi

Satu-satunya sifat alkaloid yang penting adalah kebiasaannya. Metode pemurnian dan pencirian umumnya mengandalkan sifat ini. Alkaloid biasanya diperoleh dengan cara mengekstraksi bahan tumbuhan memakai air yang diasamkan yang melarutkan alkaloid sebagai garam, atau bahan tumbuhan dapat dibasakan dengan natrium karbonat dan sebagainya dan basa bebas diekstraksi dengan pelarut organik seperti kloroform, eter dan sebagainya (Robinson, 1995). Identifikasi alkaloid dilakukan dengan cara mengekstraksi jaringan kering dengan asam asetat 10% dalam etanol, biarkan sekurang-kurangnya empat jam. Pekatkan ekstrak sampai seperempat volume asal dan endapkan alkaloid dengan meneteskan NH_4OH pekat. Kumpulkan endapan dengan pemusingan, cuci dengan NH_4OH 1%. Larutkan sisa dalam beberapa tetes etanol atau kloroform (Harborne, 1987).

2.3 *Lactobacillus* sp

2.3.1 Definisi

Genus *Lactobacillus* merupakan kuman yang mampu memproduksi sejumlah asam laktat dari karbohidrat sederhana dengan demikian menciptakan suasana asam yang mampu mematikan kuman lain yang tidak berspora. Produksi asam ini mengakibatkan pH turun yang menjadikan sangat potensial bagi perkembangan karies (Staf Pengajar FK UI, 1994).

2.3.2 Morfologi dan Identifikasi

Lactobacillus sp merupakan bakteri anaerob fakultatif yang dapat ditemukan sebagai flora normal rongga mulut, lambung, usus, dan saluran genitalia (Murray dkk, 2002). *Lactobacillus* sp termasuk bakteri gram positif berbentuk batang yang tumbuh optimum pada suhu 15°C - 45°C umumnya terisolasi di dalam rongga mulut meskipun jumlahnya kurang dari 1% dari jumlah mikroflora. Namun demikian proporsi dan prevalensi *Lactobacillus* sp akan mengalami kenaikan pada perkembangan lesi karies baik itu pada karies enamel maupun pada karies pada permukaan akar (Marsh dan Martin, 2001).

Menurut Nolte (1982) seperti halnya *Streptococcus*, *Lactobacillus sp* tidak memproduksi katalase dan memerlukan oksigen walaupun sebagian lebih menyukai anaerob atau kondisi mikroaerofilik.

Lactobacillus sp secara pasti diakui mempunyai peran sekunder atau oportunistik terhadap terjadinya karies gigi. *Lactobacillus sp* selain bersifat asidogenik juga bersifat asidurik yang berarti kuman ini dapat hidup dalam suasana asam. Ciri ini yang menyebabkan *Lactobacillus sp* dapat hidup di dalam plak dan secara terus menerus merusak struktur gigi yaitu dengan mengadakan fermentasi karbohidrat yang dikonsumsi oleh inang (Kusumaningsih, 1999)

Bakteri ini tidak mempunyai *adherence mechanism* yaitu perlekatan pada gigi. Hal ini yang membedakan kuman tersebut dengan *Streptococcus mutans*, dimana *Streptococcus mutans* mempunyai sifat melekat yang kuat (Kusumaningsih, 1999).

2.3.3 Klasifikasi

Lactobacillus sp terbagi menjadi dua kelompok utama sesuai dengan hasil akhir yang terbentuk selama fermentasi, yaitu:

a. *Lactobacillus* hemofermentatif, memproduksi asam laktat kurang lebih 85% dari produksi fermentasi glukosa dan didapat pH terminal 3.8 atau kurang darinya.

Contoh : *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaris*, *Lactobacillus bividus*.

b. *Lactobacillus* heterofermentatif, membentuk asam laktat kira-kira setengah dari hasil akhir bersama-sama dengan CO₂, asam laktat dan alkohol serta pH akhir berkisar antara 3.9-4.3.

Contoh : *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus fermentii*, *Lactobacillus buchneri*.
(Staf Pengajar FK UI, 1994).

2.3.4 *Lactobacillus acidophilus*

Lactobacillus acidophilus berperan dalam pembentukan karies gigi dan sejumlah penyakit dalam mulut yang merupakan predisposisi dari karies (Alcarno, 1983).

Mikroorganisme ini pertama kali diisolasi oleh Moro pada tahun 1900 pada feses bayi. Organisme ini diisolasi dari usus pada hampir seluruh mamalia, sebagian besar vertebrata dan beberapa invertebrata meningkat dan menjadi dominan ketika komposisi diet karbohidrat (Burrows, 1994).

Bakteri ini mempunyai bentuk koloni yang kecil, halus dan permukaan tidak rata seperti pecahan kaca. Beberapa diantaranya datar, keabuan dan sebagian besar translusen. Koloni-koloni tersebut mempunyai berbagai macam bentuk dan ukuran. Mikroorganisme ini adalah gram positif, pleomorfik, tidak berspora, tidak bergerak (Nolte, 1982). Menurut Alcarno (1983) bakteri ini termasuk gram positif disaat muda, tetapi akan menjadi gram negatif seiring dengan waktu. Pewarnaan kultur muda menunjukkan gram positif, sedangkan kultur tua, menampilkan pewarnaan bipolar.

Lactobacillus acidophilus merupakan bagian kecil dari mikroflora plak. Rasionya mendekati 1 *Lactobacillus acidophilus* dibanding 100.000 kokus. Bakteri ini lebih sering ditemukan dalam plak yang menutupi gigi yang mengalami karies awal. Bakteri ini merupakan organisme mikroaerifilik atau anaerob pada isolasi awal, namun setelah pembiakan lebih lanjut beberapa strain akan tumbuh dengan adanya udara (Schelgel, 1994).

Kebutuhan nutrisi *Lactobacillus acidophilus* kompleks dan sebagian besar strain tidak dapat dibiakkan pada nutrisi biasa atau media infusi yang kekurangan nutrisi seperti glukosa. Kebutuhan asam amino per individu berbeda, mulai dari dua macam asam amino sampai 15 macam asam amino. Kebutuhan vitamin pada bakteri ini melibatkan berbagai kelompok vitamin B kompleks untuk memproduksi asam secara maksimal. Tipe heterofermentasi membutuhkan perubahan dalam biakan strain dari heterofermentasi ke homofermentasi nampak karena kehilangan kebutuhan thiamin (Burrows, 1994).

Lactobacillus acidophilus jarang menjadi patogen primer bagi manusia, walaupun spesies ini dikenal dalam perkembangan karies. Pada umumnya, gingivitis dan penyakit periodontal berkaitan dengan flora proteolitik yang dominan, sementara karies gigi sering dihubungkan dengan peningkatan proporsi mikroorganisme tipe fermentasi (Schelgel, 1994).

Beberapa *Lactobacillus acidophilus* dianggap resisten terhadap penisilin yang diisolasi dari kultur murni atau dalam campuran dengan *Streptococcus*. Isolasi kultur biasanya sensitif terhadap sejumlah antibiotik termasuk linkomisin, kloramfenikol, dan streptomisin. Strain ini resisten terhadap cephalothin, cefoxitin, colistin, vankomisin, metronidazole, dan tetrasiklin (Nolte, 1982).

Pelezar dan Chan (1988) menemukan bakteri ini diantara organisme lain dari plak gigi pada permukaan karies gigi, selanjutnya ditemukan bahwa sejumlah besar bakteri ini berkaitan dengan karies gigi.

2.4 Hipotesis

Salah satu obat tradisional yang dapat digunakan untuk pengobatan adalah delima putih (*Punica granatum L.*) dan bagian tanaman yang digunakan adalah kulit buahnya (Ashari, 1995). Berdasarkan skrining fitokimia, kulit buah delima putih mengandung alkaloid yang mempunyai sifat antibakteri (Robinson dalam Sukanto, 2003). Alkaloid yang terkandung dalam kulit buah delima putih adalah jenis *pelletierine*, metil *pelletierine*, *pseudopelletierine*, dan *isopelletierine* (Mursito, 2000). Indrarini dalam Sukanto (2003) menyatakan bahwa kulit buah delima putih mempunyai sifat antibakteri terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus cereus*. Didukung oleh pernyataan Robinson dalam Sukanto (2002) bahwa kulit buah delima putih dapat menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans*. Tidak tumbuhnya *Streptococcus mutans* tersebut kemungkinan karena adanya kandungan alkaloid pada kulit buah delima putih yang cukup tinggi.

Mekanisme alkaloid dalam mempengaruhi pertumbuhan bakteri adalah dengan cara berinteraksi dengan DNA bakteri dan merusak struktur heliks gandanya, pada tahap replikasi dan transkripsi.

Lactobacillus acidophilus merupakan bakteri anaerob fakultatif yang dapat ditemukan sebagai flora normal rongga mulut yang bisa mengalami kenaikan populasi pada keadaan yang menguntungkan dirinya untuk tumbuh secara berlebihan (Murray dkk, 2002). *Lactobacillus acidophilus* merupakan bakteri yang dapat menyebabkan karies baik itu karies enamel, karies media maupun penyakit rongga mulut yang lain (Marsh dan Martin, 2001)

Berdasarkan uraian di atas tidak tertutup kemungkinan bahwa alkaloid yang terkandung dalam kulit buah delima putih sebagai zat murni juga dapat membunuh *Lactobacillus acidophilus*.



III. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian yang dilakukan ini adalah eksperimental laboratories dengan rancangan percobaan *The Post Test Only Control Group Design*.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Fakultas MIPA Kimia dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada bulan Maret-April 2005.

3.3 Definisi Operasional

- a. Kulit buah delima putih adalah kulit pelapis luar pada buah delima putih. Simplisia ini didapatkan dari Pasar Tanjung Jember sudah dalam bentuk kering.
- b. Alkaloid adalah senyawa kimia bersifat antimikroba yang terkandung dalam kulit buah delima putih. Didapat dengan cara mengekstraksi jaringan kering kulit buah delima putih.
- c. *Lactobacillus acidophilus* adalah bakteri yang berperan dalam pembentukan karies dan sejumlah penyakit dalam rongga mulut yang merupakan predisposisi dari karies. Diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.
- d. Membunuh dalam penelitian diartikan sebagai suatu kemampuan untuk menghilangkan atau menghabisi secara total bakteri *Lactobacillus acidophilus* dalam media padat MRS-A sehingga tidak ada pertumbuhan bakteri sama sekali.

3.4 Identifikasi Variabel

3.4.1 Variabel Bebas

Alkaloid dalam *Granati fructus cortex* dengan konsentrasi 100 %, 50 %, 25 %, 12,50 %, 6,25 %, 3,13 %, 1,56 %.

3.4.2 Variabel Terikat

Jumlah koloni *Lactobacillus acidophilus* yang tumbuh pada media padat MRS-A.

3.4.3 Variabel Kendali

- Hasil isolasi alkaloid
- Bakteri *Lactobacillus acidophilus*
- Media biakan MRS-A dan MRS-B
- Prosedur penelitian

3.5 Sampel Penelitian

3.5.1 Kriteria Sampel Penelitian

Kriteria sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut.

- Larutan alkaloid dengan konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,13%, 1,56% yang didapatkan dengan metode pengenceran seri (*serial of dilution*)
- Lactobacillus acidophilus* yang diambil dari galur murni yang dibiakkan secara *in vitro*.

3.5.2 Besar Sampel Penelitian

Besar sampel yang digunakan dalam penelitian ini berjumlah 36 sampel. Jumlah pengulangan didapatkan dari rumus sebagai berikut.

$$(p-1)(q-1)(r-1) \geq 20 \quad (\text{Hanafiah, 1997})$$

Keterangan : p = jumlah perlakuan

q = jumlah kontrol

r = jumlah pengulangan

Sehingga besar sampel didapatkan dari banyaknya perlakuan dikalikan dengan banyaknya pengulangan.

3.6 Alat dan Bahan

3.6.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah

- a. *Petridish*
- b. Spidol
- c. *Colony counter*
- d. *Autoclave* (Smic, China)
- e. *Disposable syringe* (Terumo,Japan)
- f. *Laminar flow* (Suzhou Antai Air Tech Co. LTH type HF 100, China)
- g. Tabung reaksi (Pyrex, Japan) dan rak tabung reaksi
- h. Tabung *Erlenmeyer* (Pyrex, Japan)
- i. Desikator
- j. *Oven* (Memert, Germany)
- k. Gelas ukur
- l. *Thermolyne* (Maxi Mix II, USA)
- m. Neraca (Ohaus, Germany)
- n. Ose
- o. Pemanas listrik
- p. Inkubator
- q. Evaporator
- r. *Sentrifuge*
- s. *Strong blender* (Miyako)
- t. *Grinder* (Janko&Kunkel, GMBH&CoKG, IKA Labortechnik)
- u. *Funil separating scat* (Duren, West Germany)
- v. *Rotavapor* (Buchi, Switzerland)
- w. Pipet kapiler
- x. Botol kaca

3.6.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah

- a. Media perbenihan *MRS-A* dan *MRS-B*
- b. *Lactobacillus acidophilus* (galur murni) diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember
- c. Etanol 99% (PA)
- d. Simplisia *Granati fructus cortex* didapat dari Pasar Tanjung Jember
- e. Larutan alkaloid (didapat dari hasil isolasi *Granati fructus cortex* di Laboratorium Kimia Organik Fakultas MIPA Kimia Universitas Jember)
- f. Aquades steril (PT Durafarma, Surabaya Indonesia)
- g. Asam asetat 10%
- h. NH_4OH 1%
- i. NH_4OH pekat

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Tahap Persiapan

- a. Sterilisasi alat
Alat yang digunakan harus dicuci bersih dan disterilkan dalam oven selama 20 menit dengan suhu 110°C
- b. Mempersiapkan suspensi kuman
Kuman *Lactobacillus acidophilus* diperoleh dari galur murni koleksi laboratorium Mikrobiologi Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember. Suspensi *Lactobacillus acidophilus* dibuat dengan cara mengambil satu ose *Lactobacillus acidophilus* ditambahkan media *MRS-B* sebanyak 2 cc . Pembuatan suspensi dilakukan di dalam laminar flow, setelah itu dimasukkan desikator selama 48 jam pada suhu 37°C , setelah 48 jam suspensi *Lactobacillus acidophilus* dikocok dengan thermolyne .
- c. Mempersiapkan media biakan *Lactobacillus acidophilus*
 - a. Media cair
Media perbiakan cair yang digunakan adalah *MRS-B* (*De Mann Rogosa and Sharpe-Broth*) yang diperoleh dengan melarutkan 5.52 gram *MRS-B*

ditambah 100 cc aquades dan diletakkan pada 9 tabung reaksi masing-masing 5 ml dan diberi kode A, B, C1, C2, C3, C4, C5, C6, C7.

b. Media padat

Sebanyak 6,62 gram *MRS-A* ditambah 100 cc aquades dipanaskan di atas pemanas listrik sampai mendidih dan homogen. Kemudian disterilkan dalam *autoclave* dengan suhu 121°C selama 20 menit.

d. Mempersiapkan larutan alkaloid

Alkaloid diperoleh dengan cara mengekstraksi jaringan kering menggunakan asam asetat 10% dalam etanol PA, kemudian dibiarkan selama 4 jam. Jaringan kering tersebut didapat dengan cara mengeringkan kulit buah delima putih tanpa terkena sinar matahari secara langsung dan dimasukkan dalam oven untuk memastikan benar-benar kering. Hasil ekstraksi dipekatkan sampai seperempat volume asal dan diendapkan dengan meneteskan NH_4OH pekat. Endapan dikumpulkan dengan *sentrifuge* dan dicuci dengan NH_4OH 1%. Sisanya dilarutkan dengan meneteskan beberapa tetes etanol atau kloroform (Harborne, 1987). Alkaloid yang diperoleh diencerkan dengan cara pengenceran seri yaitu mencampurkan alkaloid sebanyak 2 gr dengan aquades steril 2 ml sehingga didapatkan larutan alkaloid dengan konsentrasi 100%. Dari larutan alkaloid 100% diambil 1 ml dan ditambahkan lagi pelarut aquades steril 1 ml untuk didapatkan larutan alkaloid konsentrasi 50%. Begitu seterusnya sampai didapatkan konsentrasi 1,56%.

3.7.2 Tahap Perlakuan

a. Perlakuan di media cair

9 tabung reaksi disiapkan dan diberi kode A, B, C1, C2, C3, C4, C5, C6, C7. Tabung A diberi media *MRS-B*, dan ditambahkan *Lactobacillus acidophilus* (kontrol positif). Tabung B diberi media *MRS-B* ditambah bahan uji (alkaloid) (kontrol negatif). Masing-masing tabung C1 sampai C7 diisi bahan uji (larutan alkaloid) sebanyak 0,5 ml dan suspensi *Lactobacillus acidophilus* sebanyak 0,5 ml dalam 5 ml media *MRS-B* dengan konsentrasi sebagai berikut : tabung kode C1 diisi 100%, C2 diisi 50%, C3 diisi 25%, C4 diisi 12,50%, C5 diisi

dengan konsentrasi sebagai berikut : tabung kode C1 diisi 100%, C2 diisi 50%, C3 diisi 25%, C4 diisi 12,50%, C5 diisi 6,25%, C6 diisi 3,13%, C7 diisi 1,56%. Seluruh tabung tersebut dimasukkan desikator dan diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 48 jam. Pembacaan dari bahan uji terhadap pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus* dengan mengamati ada tidaknya pertumbuhan yang ditandai dengan adanya kekeruhan atau endapan.

b. Perlakuan di media padat

Hasil pembuatan media padat dikeluarkan dari *autoclave* dan ditunggu agak dingin tetapi masih dalam keadaan cair, kemudian dituangkan dalam *Petridish* sebanyak 25 ml. Hasil pengenceran seri suspensi yang mengandung *Lactobacillus acidophilus* dalam media *MRS-B* divibrasi selama 15 menit dan dilakukan pengenceran sebanyak 10^{-6} . Kemudian dilakukan penanaman *Lactobacillus acidophilus* pada media *agar MRS-A* dengan cara mengambilnya dari tabung reaksi menggunakan *syringe* sebanyak 0,1 ml. Kemudian *Petridish* digoyang-goyangkan sehingga suspensi kuman bercampur dengan media *MRS-A*. Metode ini dikenal dengan *Pour Plate Method* (Alcamo, 1983) selanjutnya diberi tanda sesuai dengan kode pada tabung reaksi, kemudian dimasukkan desikator dan diinkubasi dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 48 jam.

3.7.3 Tahap Pengamatan

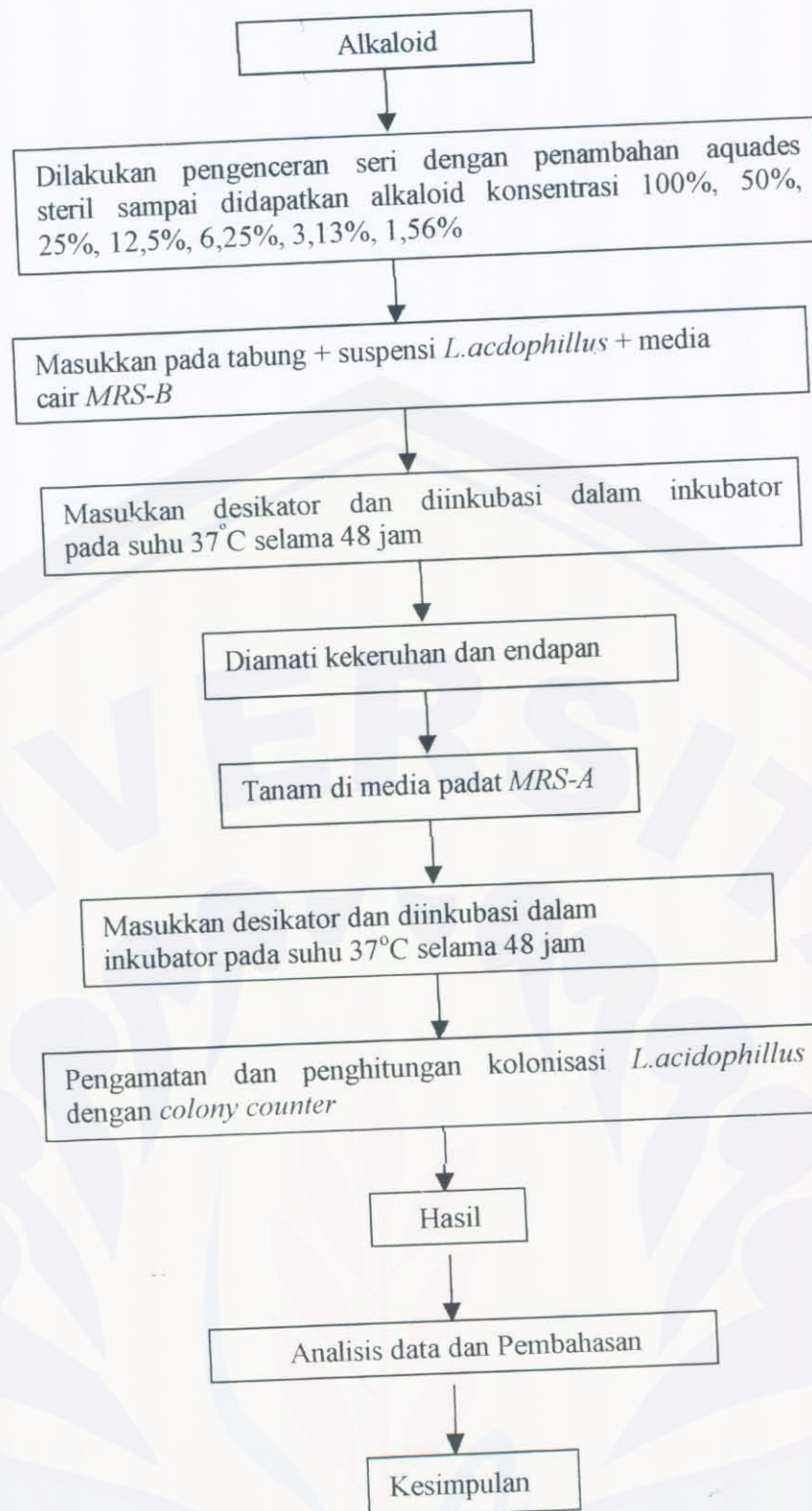
Setelah 48 jam, *Petridish* diambil dari desikator dan dilakukan pengamatan ada tidaknya pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus* yang ditandai dengan adanya pertumbuhan pada permukaan media padat. Masing-masing *Petridish* dilakukan penghitungan dengan *colony counter*. *Petridish* dengan media hasil perbenihan dimasukkan secara terbalik. Kemudian *Petridish* ditutup dengan plastik transparan dan dilakukan penghitungan koloni bakteri pada permukaan media padat *MRS-A*.

3.8 Analisis Data

Analisa data pada penelitian ini menggunakan uji statistik *Kruskal-Wallis* dengan derajat kemaknaan 95 % ($p < 0,05$). Uji *Kruskal-Wallis* merupakan metode statistik non parametrik untuk menghitung jumlah ranking tiap variabel. Dan untuk melihat kemaknaan perbedaan, analisa dilanjutkan dengan uji *U Mann Whitney* dengan derajat kemaknaan 95% ($p < 0,05$).



3.9 Kerangka Penelitian



IV. HASIL DAN ANALISA DATA

4.1 Hasil Penelitian

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan diperoleh data tentang pengaruh alkaloid yang terkandung dalam kulit buah delima putih (*Granati fructus cortex*) dengan berbagai konsentrasi, tanpa alkaloid sebagai kontrol positif dan tanpa kuman sebagai kontrol negatif terhadap pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus* selama 48 jam. Data hasil pengamatan dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Penghitungan Jumlah Koloni *Lactobacillus acidophilus* pada Konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,13%, 1,56%, Kontrol Positif dan Negatif

Replikasi	Konsentrasi							Kontrol	
	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	A	B
I	0	0	9	16	22	26	58	130	0
II	0	0	9	15	20	28	60	125	0
III	0	0	7	13	23	25	56	120	0
IV	0	0	8	12	21	28	55	128	0
Rata-rata	0.00	0.00	8.3	14.00	21.50	26.75	75.50	125.8	0.00
SD	0.00	0.00	1	1.83	1.29	1.50	35	4.35	0.00

Keterangan : A = campuran media *MRS-B* dan *Lactobacillus acidophilus* (kontrol positif)
 B = campuran media *MRS-B* dan alkaloid konsentrasi 100% (kontrol negatif)
 C1 = alkaloid konsentrasi 100%
 C2 = alkaloid konsentrasi 50%
 C3 = alkaloid konsentrasi 25%
 C4 = alkaloid konsentrasi 12,5%
 C5 = alkaloid konsentrasi 6,25%
 C6 = alkaloid konsentrasi 3,13%
 C7 = alkaloid konsentrasi 1,56%
 SD = Standar Deviasi

Dari tabel 1 dapat diketahui persamaan kemampuan dari alkaloid yang terkandung dalam kulit buah delima putih pada konsentrasi 100% dan konsentrasi 50% dalam membunuh *Lactobacillus acidophilus*. Terlihat juga rata-rata

perbedaan kemampuan membunuh alkaloid konsentrasi 25%, 12.5%, 6.25%, 3.13%, 1.56% pada pengamatan setelah 48 jam.

4.2 Analisis Data Hasil Penelitian

Analisis data hasil penelitian didahului dengan uji normalitas data untuk mengetahui apakah data tersebut terdistribusi normal. Kemudian dilanjutkan dengan uji homogenitas varians untuk mengetahui berlaku tidaknya salah satu asumsi yaitu ragam dari populasi tersebut.

Tabel 2. Hasil Uji Normalitas pada Penghitungan Jumlah Koloni *Lactobacillus acidophilus* pada Konsentrasi Alkaloid 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,13%, 1,56% dan pada Kontrol Positif serta Negatif

	Konsentrasi						Kontrol	
	100%	50%	25%	12.5%	6.25%	3.13%	1.56%	kontrol (+) kontrol(-)
Sig.			0.905	0.995	1.000	0.870	0.478	0.998

Tabel 2 memperlihatkan bahwa nilai probabilitas alkaloid pada konsentrasi 25%, 12,5%, 6,25%, 3,13%, 1,56% dan kontrol positif yaitu 0,909, 0,995, 1,000, 0,870, 0,478 dan 0,998. Karena $p > 0,05$ berarti data penelitian tersebut normal. Sedangkan pada alkaloid konsentrasi 100%, 50% dan kontrol negatif tidak dapat diuji normalitas datanya karena pada variabel tersebut tidak ada variasi distribusi.

Tabel 3. Uji Homogenitas Varians dari 9 Kelompok Perlakuan pada Pengamatan 48 Jam

	Levene Statistic	df 1	df 2	Probabilitas
Hasil Ukur	8.243	8	27	0.000

Keterangan : Levene Statistic : taraf kepercayaan
 df 1 : derajat bebas kelompok perlakuan
 df 2 : standar salah

Hasil uji homogenitas varians dari 9 kelompok perlakuan pada pengamatan 48 jam terlihat bahwa nilai probabilitasnya 0.000 ($p < 0.05$). Karena probabilitasnya kurang dari 0.05 maka H_0 ditolak, artinya sembilan kelompok perlakuan mempunyai variansi yang tidak sama. Oleh karena variansinya tidak sama, maka dilanjutkan dengan uji non parametrik *Kruskal Wallis* dengan derajat kemaknaan 95% ($p < 0.05$). Uji *Kruskal Wallis* digunakan untuk menguji apakah tiap-tiap perlakuan terdapat perbedaan yang signifikan atau tidak yang hasilnya ditunjukkan pada tabel. 4.

Tabel 4. Uji *Kruskal Wallis* Pengaruh Alkaloid yang Terkandung dalam Kulit Buah Delima Putih (*Granati fructus cortex*) terhadap Pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus*

Jumlah Koloni <i>Lactobacillus acidophilus</i>	
H hitung	34.575
df	8
Probabilitas	0.000

Berdasarkan hasil uji *Kruskal Wallis* didapatkan H 34.575 dengan probabilitas 0.000 ($p < 0,05$). Karena probabilitasnya kurang dari 0.05, maka H_0 ditolak. Hal ini berarti terdapat perbedaan signifikan dari tiap-tiap perlakuan tersebut.

Untuk mengetahui lebih lanjut perbedaan kemaknaan diantara tiap-tiap perlakuan, maka dilanjutkan uji *Mann Whitney* dengan derajat kemaknaan 95% ($p < 0.05$) yang dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Uji Mann Whitney Alkaloid dengan Berbagai Konsentrasi, tanpa Alkaloid sebagai Kontrol Positif dan tanpa Suspensi Kuman sebagai Kontrol Negatif terhadap Pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus*

Perlakuan	Konsentrasi Alkaloid							Kontrol	
	100%	50%	25%	12,5%	6,25%	3,13%	1,56%	(+)	(-)
C1	-	TB	B	B	B	B	B	B	TB
		1,000	1,000	0,014	0,014	0,013	0,014	0,014	1,000
C2	-		B	B	B	B	B	B	TB
			0,013	0,014	0,014	0,013	0,014	0,014	1,000
C3				B	B	B	B	B	B
				0,020	0,020	0,019	0,020	0,020	0,013
C4					B	B	B	B	B
					0,021	0,020	0,021	0,021	0,014
C5						B	B	B	B
						0,020	0,021	0,021	0,014
C6							B	B	B
							0,020	0,020	0,013
C7								B	B
								0,021	0,014
(+)								-	B
									0,014
(-)									-

- Keterangan :
1. B = berbeda nyata (bermakna) pada uji *U Mann Whitney*
 2. TB = tidak berbeda nyata (tidak bermakna) pada uji *U Mann Whitney*
 3. Angka bercetak tebal merupakan probabilitas perbandingan antara perlakuan

Dari hasil uji *U Mann Whitney* diketahui terdapat perbedaan yang signifikan diantara perlakuan ($p < 0.05$), kecuali pada perlakuan 100% dengan 50%, 100% dengan kontrol negatif, dan 50% dengan kontrol negatif tidak ada perbedaan yang signifikan karena $p > 0.05$.

V. PEMBAHASAN

Lactobacillus acidophilus merupakan bakteri anaerob fakultatif yang dapat ditemukan sebagai flora normal rongga mulut (Murray dkk, 2002). Bakteri ini jarang menjadi patogen primer bagi manusia, walaupun spesies ini dikenal dalam perkembangan karies. Pada umumnya, gingivitis dan penyakit periodontal berkaitan dengan flora proteolitik yang dominan, sedangkan karies gigi dihubungkan dengan peningkatan proporsi mikroorganisme (Schelgel, 1994). *Lactobacillus acidophilus* merupakan bagian kecil dari mikroflora plak. Rasionya mendekati 1 *Lactobacillus acidophilus* dibanding 100.000 kokus. Bakteri ini lebih sering ditemukan dalam plak yang menutupi gigi pada karies awal (Nolte, 1982).

Delima putih (*Punica granatum L.*) merupakan salah satu tanaman obat yang telah lama digunakan sebagai obat tradisional oleh masyarakat, tetapi hanya berdasarkan pengalaman saja. Bukti empiris mengenai manfaat dari kandungan-kandungan yang ada dalam delima putih belum banyak dibahas. Salah satu kandungan kimiawi yang ada dalam kulit buah delima putih adalah alkaloid (Mursito, 2000).

Alkaloid merupakan golongan zat tumbuhan sekunder yang terbesar (Harborne, 1987). Susunannya berupa senyawa nitrogen heterosiklik yang bersifat basa lemah (Naim, 2005). Senyawa ini seringkali mempunyai efek fisiologis yang menonjol bagi manusia sehingga sering dimanfaatkan dalam bidang pengobatan (Willbraham dan Matta, 1992). Jenis alkaloid yang terkandung dalam kulit buah delima putih adalah *pelletierine* yang mencakup *truepelletierine*, *isopelletierine*, *metilpelletierine*, dan *pseudopelletierine* (www.republika.co.id, 2004).

Pelletierine ($C_8H_{15}NO$) disebut juga *Punicine*. Alkaloid jenis *pelletierine* ini dapat dikenali dari warnanya yang berubah menjadi cokelat atau agak gelap dalam paparan udara dan memiliki aroma khas mirip anggur. *Pelletierine* harus dilindungi dari cahaya dan senyawa asam (www.ibiblio.org, 2005).

Pelletierine mempunyai efek yang spesifik di bidang pengobatan yaitu sebagai obat cacing tambang dan cacing pita, diare, muntaber pada anak,

gangguan pencernaan, perut kembung, mencegah masuk angin dan disentri (www.medicastore.com, 2004).

Hasil uji *Kruskal Wallis* (tabel 4) menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan tiap-tiap perlakuan pada pengamatan 48 jam. Hal tersebut berarti bahwa alkaloid konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12.5%, 6.25%, 3.13%, dan 1.65% mempunyai kemampuan dalam mempengaruhi pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus*. Sesuai dengan pernyataan Indrarini dalam Sukanto (2003) bahwa kulit buah delima putih mempunyai sifat antibakteri terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus cereus*. Didukung oleh pernyataan Robinson dalam Sukanto (2002) bahwa kulit buah delima putih dapat menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans*. Mekanisme kerja dari alkaloid dihubungkan dengan kemampuan bahan ini untuk berinteraksi dengan DNA bakteri. Struktur DNA erat kaitannya dengan dua peran utamanya yaitu replikasi dan transkripsi. Pada tahap replikasi, DNA bereplikasi pada acuan DNA yaitu setiap rantai DNA dalam heliks ganda berlaku sebagai acuan untuk mensintesis komplemennya. Sedangkan pada tahap transkripsi yaitu RNA dibuat dengan acuan pada DNA. Oleh karenanya setiap zat yang mampu mengganggu struktur heliks ganda DNA tersebut maka mampu pula mempengaruhi seluruh fase pertumbuhan dan metabolisme kuman (Staf Pengajar FKUI, 1992). Mekanisme kerja dari bahan antimikroba yaitu dengan mengadakan interaksi dengan benang heliks ganda dengan cara sedemikian rupa yang mencegah replikasi atau transkripsi berikutnya dan menghambat pertumbuhan bakteri melalui ikatan kuat pada polimerase RNA yang bergantung pada DNA bakteri. Jadi, bila bahan ini dapat menghambat sintesis RNA bakteri maka akan mencegah pertumbuhan bakteri lebih lanjut (Jawetz dkk, 1996).

Pada umumnya struktur utama dari DNA bakteri adalah asam amino. Dimana, seluruh reaksi metabolisme sel dikatalisis oleh enzim yang terbuat dari protein. Reaksi metabolisme ini meliputi reaksi biosintesis penting dan reaksi penting yang menghasilkan energi. Jadi, agen kimia manapun jika berkombinasi dengan protein maka akan menghalangi protein untuk melakukan fungsi normalnya, misalnya alkaloid yang mempunyai sifat basa. Dimana bakteri

biasanya rentan terhadap pH yang tidak menguntungkan pada sisi basa yang aktivitas basanya sebanding dengan konsentrasi ion hidroksil (OH^-) dalam larutan. Efek bakterisida ini disebabkan oleh hidrolisis dan denaturasi protein (Volk dan Wheeler, 1993). Hal ini sesuai dengan pernyataan Naim (2005) bahwa alkaloid mempunyai efek antimikroba.

Untuk mengetahui lebih lanjut perbedaan diantara perlakuan maka digunakan uji statistik non parametrik *U Mann Whitney* dengan derajat kemaknaan 95% ($p < 0,05$) yang ditunjukkan pada tabel 5. Hasilnya diketahui bahwa terdapat perbedaan yang signifikan diantara perlakuan ($p < 0,05$), kecuali pada perlakuan 100% dengan 50%, 100% dengan kontrol negatif, dan 50% dengan kontrol negatif tidak ada perbedaan yang signifikan karena $p > 0,05$. Berdasarkan uraian diatas diketahui bahwa alkaloid yang terkandung dalam kulit buah delima putih mempunyai kemampuan yang berbeda-beda dalam mempengaruhi pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus*. Hal ini dibuktikan dengan semakin meningkatnya konsentrasi alkaloid akan mempunyai kemampuan untuk membunuh bakteri yang lebih banyak. Karena peningkatan konsentrasi menyebabkan semakin pekatnya alkaloid sehingga semakin banyak kation aktif obat yang berinteraksi dengan anion esensial sel bakteri membentuk garam stabil dan mengakibatkan metabolisme sel bakteri terhambat. Dengan demikian kemampuan membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri semakin kuat. Sesuai dengan pernyataan Volk dan Wheeler (1993) bahwa satu faktor utama yang menentukan bagaimana bahan antibakteri bekerja adalah kadar atau konsentrasinya.

Pada konsentrasi 100%, 50%, dan kontrol negatif tidak didapatkan perbedaan yang signifikan karena pada tiga perlakuan tersebut sama-sama tidak ditemukan adanya pertumbuhan koloni bakteri. Artinya konsentrasi 100% dan 50% mempunyai kemampuan yang sama untuk membunuh *Lactobacillus acidophilus*, atau dapat dikatakan bahwa konsentrasi minimum yang mampu membunuh *Lactobacillus acidophilus* adalah 50% sedangkan kontrol negatif tidak didapatkan pertumbuhan koloni bakteri karena hanya diberi bahan uji alkaloid tanpa suspensi bakteri.

Berdasarkan kemampuan alkaloid dalam membunuh bakteri *Lactobacillus acidophilus* pada media padat *MRS-A*. Maka tidak tertutup kemungkinan bahwa melalui beberapa penelitian lagi sampai pada tahap uji klinik diharapkan bahan ini akan menjadi salah satu bahan alternatif di bidang kedokteran gigi. Misalnya sebagai bahan antiseptik/ obat kumur.



VI. KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

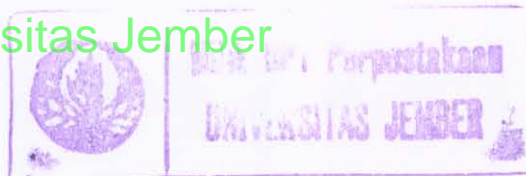
Setelah dilakukan pengujian pengaruh alkaloid yang terkandung dalam kulit buah delima putih terhadap pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus* dapat disimpulkan sebagai berikut.

- a. Alkaloid yang terkandung dalam kulit buah delima putih dengan konsentrasi 100% dan 50% mempunyai kemampuan membunuh bakteri *Lactobacillus acidophilus*.
- b. Konsentrasi minimum alkaloid yang dapat membunuh bakteri *Lactobacillus acidophilus* adalah 50%.

6.2 Saran

Dari hasil penelitian ini disarankan perlunya penelitian lebih lanjut mengenai hal-hal berikut.

- a. Konsentrasi efektif antara konsentrasi 50% sampai 25% yang mampu membunuh bakteri *Lactobacillus acidophilus*.
- b. Pengaruh antibakteri alkaloid terhadap spesies lain yang patogen dalam rongga mulut.
- c. Pengaruh antibakteri alkaloid sebagai *denture cleanser*.
- d. Waktu yang tepat dalam membunuh *Lactobacillus acidophilus*.
- e. Melalui beberapa penelitian lebih lanjut sampai pada tahap uji klinik diharapkan bahan ini akan menjadi salah satu bahan alternatif di bidang kedokteran gigi, misalnya sebagai bahan antiseptik/obat kumur.



DAFTAR PUSTAKA

- Alcarno, E. 1983. *Laboratory Fundamentals of Microbiology*. Canada: Addison-Wesley Publishing Company. h. 135.
- Ashari, S. 1995. *Hortikultura Aspek Budidaya*. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia Press. h. 295-296.
- Burrows, W. 1994. *Microbiology*. Philadelphia: W.B Saunders. h. 553-554.
- Departemen Kesehatan RI. 1991. *Farmakope Belanda, Edisi V*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. h. 180.
- , 2000. *Pedoman Pelaksanaan Uji Klinik Obat Tradisional*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. h.1-2.
- Hanafiah, K.A. 1997. *Rancangan Percobaan: Teori dan Aplikasi*. Jakarta: PT Raja Grafindo Pustaka. h. 57-58.
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia*. Bandung: Penerbit ITB. h. 234-239.
- <http://iptek.apjii.or.id>. 2002. *Delima Putih (Punica Granatum L)*. Diakses tanggal 18 September 2004.
- Jawetz, E., J. I. Melnick dan E. A. Adelberg. 1996. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: EGC. h. 218.
- Kartasapoetra. 1996. *Budidaya Tanaman Berkhasiat Obat*. Jakarta: PT Rineka Cipta. h. 71-72.
- Katzung, B, G. 1989. *Farmakologi Dasar dan Klinik, Edisi III*. Alih Bahasa: B.H Kotualuhun, B. Indrawasih., Sanjaya, Y.H. Hokardi, G. Budipranoto dan P. Adrianto. Judul Asli: *Basic and Clinical Pharmacology*. Jakarta: Hipokrates. h. 201-203.
- Kidd, E. A. M dan S. J. Bechal. 1992. *Dasar dasar Karies, Penyebab dan Penanggulangannya*. Alih Bahasa: N. Sumawinata. Judul Asli: *Essentials of Dental Caries, The Disease and Its Management*. Jakarta: EGC. h. 1-8.
- Kusumaningsih, T. 1999. "Hubungan Antara Indeks Keparahan Karies dengan Jumlah *Lactobacillus sp.* di dalam Saliva Anak Taman Kanak-kanak." Dalam Majalah Kedokteran Gigi (Dental Journal). Volume 32. Nomor 4. h. 171-173.

- Mardisiswo dan Mangunsudarso. 1987. *Cabe Puyang Warisan Nenek Moyang I dan II*. Yogyakarta: Karya Wreda. h.68.
- Marsh, Philip dan Michael V. Martin. 2001. *Oral Microbiology, Edisi IV*. London: Wright. h. 25-26.
- Muhlisah, F. 1999. *Tanaman Obat Keluarga*. Cetakan IV. Jakarta: Penebar Swadaya. h.2.
- Murray, Patrick R. ,Ken S. Rosenthal, George S, Kobayashi dan Michael A. D Faller. 2002. *Medical Microbiology, Edisi IV*. St. Louis Missouri: Mosby Inc. h. 338.
- Mursito, B. 2000. *Terampil Percaya Diri dengan Ramuan Tradisional*. Jakarta : Penebar Swadaya. h.67-68.
- Naim, R. 2005. *Peletierine dalam Punica granatum*. www.ipb.org.id. Diakses tanggal 8 Mei 2005.
- Nolte, A. W. 1982. *Oral Microbiology with Basic Microbiology and Immunology*. London: The C. V. Mosby Company. h. 336-338.
- Pelezar, M. J dan E. Chan. 1988. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Universitas Indonesia. h . 105.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Alih Bahasa: Kosasih Padmawinata. Judul Asli: *The Organic Constituents of Higher Plants*. Bandung: FMIPA ITB .h.281-284.
- Santoso, B. 1998. *Toga II*. Yogyakarta: Kanisius. h.44-46.
- Schelgel, G.H. 1994. *Mikrobiologi Umum, Edisi VI*. Alih Bahasa: Tedjo Baskoro. Judul Asli: *Algemeine Mikrobiologie*. Yogyakarta: UGM. h. 112-113.
- Staf Pengajar FK UI. 1994. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: Binarupa Aksara. h.136.
- Sukanto. 2002. “ Daya Antibakteri Infusa *Granati fructus cortex* terhadap *Streptococcus mutans*”. *Majalah Kedokteran Gigi (Dental Journal)*. Volume 35. Nomor 4. Oktober. h.86-90.
- 2003. “ Pengaruh Konsentrasi Ekstrak *Granati fructus cortex* Terhadap *Streptococcus mutans*”. *Majalah Kedokteran Gigi (Dental Journal)*. Volume 1. Nomor 1. Januari. h. 5-8.

Syukur, C dan Hernani. 2001. *Budidaya Tanaman Obat Komersial*. Jakarta: Penebar Swadaya. h. 61-62.

Thomas A. N. S. 2003. *Tanaman Obat Tradisional I*. Cetakan 15. Yogyakarta: Kanisius.

www.botanical.com. 2003. *Punica granatum Linn*. Diakses tanggal 18 September 2004.

www.ibiblio.org. 2005. *Granati fructi cortex (Pomegranate Rind)*. Diakses tanggal 22 Agustus 2005.

www.kerinci.org/srg. 1999. *Upaya Inventarisasi Tumbuhan yang Mengandung Senyawa Alkaloid sebagai Bahan Dasar Obat-obatan di Taman Nasional Kerinci Seblat*. Diakses tanggal 18 September 2004.

www.medicastore.com. 2004. *Delima Putih (Punica granatum Linn)*. Diakses tanggal 26 Juli 2005.

www.republika.com. 2004. *Delima untuk Sakit Gigi dan Gusi*. Diakses tanggal 10 Agustus 2005.

www.tabloidnova.com. 2005. *Tanaman Delima Putih*. Diakses tanggal 3 September 2005.

Volk, W.A dan Wheeler, M.F. 1993. *Mikrobiologi Dasar Jilid I. Edisi V*. Alih Bahasa: Markham. Judul Asli: *Basic Microbiology*. Jakarta: Erlangga. h. 219.

Wilbraham dan Matta. 1992. *Pengantar Kimia Organik dan Hayati*. Alih Bahasa: Suminar Achmadi. Judul Asli: *Introduction to Organic and Biological Chemistry*. Bandung: Penerbit ITB. h. 178.

Lampiran 1. Analisa Data Hasil Penelitian

Descriptives

Jumlah Koloni *Lactobacillus acidophilus*

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
alkaloid 100%	4	.00	.00	.00	.00	.00	0	0
alkaloid 50%	4	.00	.00	.00	.00	.00	0	0
alkaloid 25%	4	8.25	.96	.48	6.73	9.77	7	9
alkaloid 12.5%	4	14.00	1.83	.91	11.09	16.91	12	16
alkaloid 6.25%	4	21.50	1.29	.65	19.45	23.55	20	23
alkaloid 3.13%	4	26.75	1.50	.75	24.36	29.14	25	28
alkaloid 1.56%	4	75.50	35.04	17.52	19.75	131.25	56	128
Kontrol (+)	4	125.75	4.35	2.17	118.83	132.67	120	130
Kontrol (-)	4	.00	.00	.00	.00	.00	0	0
Total	36	30.19	42.35	7.06	15.87	44.52	0	130

Uji Kenormalan Data jumlah koloni *Lactobacillus acidophilus*

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		100%	50%	25%	12.50%	6.25%	3.13%	1.56%	(+)	(-)
N		4	4	4	4	4	4	4	4	4
Normal Parameters a,b	Mean	.00	.00	8.25	14.00	21.50	26.75	75.50	125.75	.00
	Std. Deviation	.00 ^c	.00 ^c	.96	1.83	1.29	1.50	35.04	4.35	.00 ^c
Most Extreme Differences	Absolute			.283	.208	.151	.298	.421	.198	
	Positive			.217	.208	.151	.202	.421	.164	
	Negative			-.283	-.208	-.151	-.298	-.421	-.198	
Kolmogorov-Smirnov Z			.905	.995	1.000	.870	.478	.998		
Asymp. Sig. (2-tailed)										

- a. Test distribution is Normal.
- b. Calculated from data.
- c. The distribution has no variance for this variable. One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test cannot be performed.

Uji Kehomogenan ragam (homogenitas) dari analisa varian

Test of Homogeneity of Variances

Jumlah Koloni *Lactobacillus acidophilus*

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
8.243	8	27	.000

Uji Kehomogenan ragam jumlah koloni *Lactobacillus acidophilus* by perlakuan

Test of Homogeneity of Variance^{a,b,c}

Jumlah Koloni *Lactobacillus acidophilus*

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Based on Mean	7.813	5	18	.000
Based on Median	1.024	5	18	.433
Based on Median and with adjusted df	1.024	5	3.036	.526
Based on trimmed mean	5.968	5	18	.002

- a. Jumlah Koloni *Lactobacillus acidophilus* is constant when Perlakuan = alkaloid 100%. It has been omitted.
- b. Jumlah Koloni *Lactobacillus acidophilus* is constant when Perlakuan = alkaloid 50%. It has been omitted.
- c. Jumlah Koloni *Lactobacillus acidophilus* is constant when Perlakuan = kontrol (-). It has been omitted.

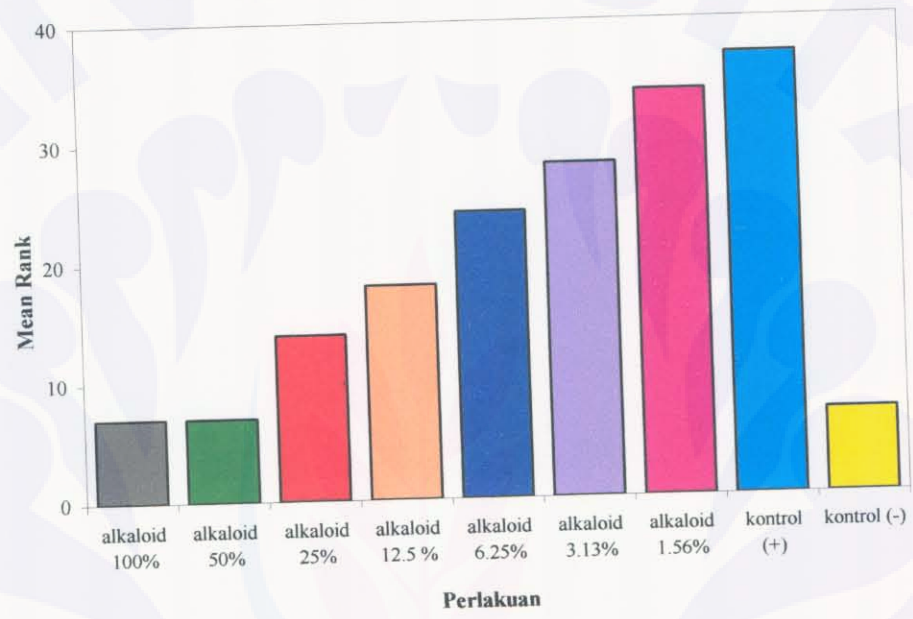
NPar Tests
Kruskal-Wallis Test

	Ranks		
	Perlakuan	N	Mean Rank
Jumlah Koloni	alkaloid 100%	4	6.50
Lactobacillus acidophilus	alkaloid 50%	4	6.50
	alkaloid 25%	4	14.50
	alkaloid 12.5%	4	18.50
	alkaloid 6.25%	4	22.50
	alkaloid 3.13%	4	26.50
	alkaloid 1.56%	4	31.13
	Kontrol (+)	4	33.88
	kontrol (-)	4	6.50
	Total		36

Test Statistics^{a,b}

	Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus
Chi-Square	34.575
df	8
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test
b. Grouping Variable: Perlakuan



**NPar Tests
Mann-Whitney Test**

Ranks			
Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus			
Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 100%	4	4.50	18.00
alkaloid 50%	4	4.50	18.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus
Mann-Whitney U	8.000
Wilcoxon W	18.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^a

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

**NPar Tests
Mann-Whitney Test**

Ranks			
Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus			
Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 100%	4	2.50	10.00
alkaloid 12.5%	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

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

**NPar Tests
Mann-Whitney Test**

Ranks			
Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus			
Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 100%	4	2.50	10.00
alkaloid 25%	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.477
Asymp. Sig. (2-tailed)	.013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

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

**NPar Tests
Mann-Whitney Test**

Ranks			
Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus			
Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 100%	4	2.50	10.00
alkaloid 6.25%	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

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

**NPar Tests
Mann-Whitney Test**

Ranks			
Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus			
Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 100%	4	2.50	10.00
alkaloid 3.13%	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.477
Asymp. Sig. (2-tailed)	.013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

**NPar Tests
Mann-Whitney Test**

Ranks			
Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus			
Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 100%	4	2.50	10.00
Kontrol (+)	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

**NPar Tests
Mann-Whitney Test**

Ranks			
Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus			
Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 100%	4	2.50	10.00
alkaloid 1.56%	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

**NPar Tests
Mann-Whitney Test**

Ranks			
Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus			
Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 100%	4	4.50	18.00
kontrol (-)	4	4.50	18.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus
Mann-Whitney U	8.000
Wilcoxon W	18.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

**NPar Tests
Mann-Whitney Test**

Ranks			
Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus			
Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 50%	4	2.50	10.00
alkaloid 25%	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.477
Asymp. Sig. (2-tailed)	.013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

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

**NPar Tests
Mann-Whitney Test**

Ranks			
Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus			
Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 50%	4	2.50	10.00
alkaloid 6.25%	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

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

**NPar Tests
Mann-Whitney Test**

Ranks			
Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus			
Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 50%	4	2.50	10.00
alkaloid 12.5%	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

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

**NPar Tests
Mann-Whitney Test**

Ranks			
Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus			
Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 50%	4	2.50	10.00
alkaloid 3.13%	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.477
Asymp. Sig. (2-tailed)	.013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

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

**NPar Tests
Mann-Whitney Test**

Ranks			
Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus			
Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 50%	4	2.50	10.00
alkaloid 1.56%	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

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

**NPar Tests
Mann-Whitney Test**

Ranks			
Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus			
Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 50%	4	4.50	18.00
kontrol (-)	4	4.50	18.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus
Mann-Whitney U	8.000
Wilcoxon W	18.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^a

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

**NPar Tests
Mann-Whitney Test**

Ranks			
Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus			
Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 50%	4	2.50	10.00
Kontrol (+)	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

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

**NPar Tests
Mann-Whitney Test**

Ranks			
Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus			
Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 25%	4	2.50	10.00
alkaloid 12.5%	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.323
Asymp. Sig. (2-tailed)	.020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

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

**NPar Tests
Mann-Whitney Test**

Ranks			
Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus			
Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 25%	4	2.50	10.00
alkaloid 6.25%	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.323
Asymp. Sig. (2-tailed)	.020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

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

**NPar Tests
Mann-Whitney Test**

Ranks			
Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus			
Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 25%	4	2.50	10.00
alkaloid 1.56%	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.323
Asymp. Sig. (2-tailed)	.020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

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

**NPar Tests
Mann-Whitney Test**

Ranks			
Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus			
Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 25%	4	2.50	10.00
alkaloid 3.13%	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.337
Asymp. Sig. (2-tailed)	.019
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

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

**NPar Tests
Mann-Whitney Test**

Ranks			
Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus			
Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 25%	4	2.50	10.00
Kontrol (+)	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.323
Asymp. Sig. (2-tailed)	.020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

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

**NPar Tests
Mann-Whitney Test**

Ranks			
Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus			
Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 25%	4	6.50	26.00
kontrol (-)	4	2.50	10.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.477
Asymp. Sig. (2-tailed)	.013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

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

**NPar Tests
Mann-Whitney Test**

Ranks			
Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus			
Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 12.5%	4	2.50	10.00
alkaloid 3.13%	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.323
Asymp. Sig. (2-tailed)	.020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

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

**NPar Tests
Mann-Whitney Test**

Ranks			
Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus			
Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 12.5%	4	2.50	10.00
alkaloid 6.25%	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

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

**NPar Tests
Mann-Whitney Test**

Ranks			
Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus			
Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 12.5%	4	2.50	10.00
alkaloid 1.56%	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

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

**NPar Tests
Mann-Whitney Test**

Ranks			
Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus			
Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 12.5%	4	2.50	10.00
Kontrol (+)	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

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

**NPar Tests
Mann-Whitney Test**

Ranks			
Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus			
Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 6.25%	4	2.50	10.00
alkaloid 3.13%	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.323
Asymp. Sig. (2-tailed)	.020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

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

**NPar Tests
Mann-Whitney Test**

Ranks			
Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus			
Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 12.5%	4	6.50	26.00
kontrol (-)	4	2.50	10.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

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

**NPar Tests
Mann-Whitney Test**

Ranks			
Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus			
Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 6.25%	4	2.50	10.00
alkaloid 1.56%	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

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

**NPar Tests
Mann-Whitney Test**

Ranks			
Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus			
Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 6.25%	4	2.50	10.00
Kontrol (+)	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

**NPar Tests
Mann-Whitney Test**

Ranks			
Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus			
Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 3.13%	4	2.50	10.00
alkaloid 1.56%	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.323
Asymp. Sig. (2-tailed)	.020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

**NPar Tests
Mann-Whitney Test**

Ranks			
Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus			
Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 6.25%	4	6.50	26.00
kontrol (-)	4	2.50	10.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

**NPar Tests
Mann-Whitney Test**

Ranks			
Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus			
Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 3.13%	4	2.50	10.00
Kontrol (+)	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.323
Asymp. Sig. (2-tailed)	.020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

**NPar Tests
Mann-Whitney Test**

Ranks			
Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus			
Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 3.13%	4	6.50	26.00
kontrol (-)	4	2.50	10.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.477
Asymp. Sig. (2-tailed)	.013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

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

**NPar Tests
Mann-Whitney Test**

Ranks			
Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus			
Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 1.56%	4	6.50	26.00
kontrol (-)	4	2.50	10.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

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

**NPar Tests
Mann-Whitney Test**

Ranks			
Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus			
Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 1.56%	4	3.13	12.50
Kontrol (+)	4	5.88	23.50
Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus
Mann-Whitney U	2.500
Wilcoxon W	12.500
Z	-1.597
Asymp. Sig. (2-tailed)	.110
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.114 ^a

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

**NPar Tests
Mann-Whitney Test**

Ranks			
Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus			
Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kontrol (+)	4	6.50	26.00
kontrol (-)	4	2.50	10.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Koloni Lactobacillus acidophilus
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

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

Lampiran 2. Langkah Kerja Memperoleh Alkaloid

LANGKAH KERJA MEMPEROLEH ALKALOID

1. Kulit buah delima putih dikeringkan dalam oven sampai benar-benar kering.
2. Kulit buah delima putih dihaluskan dengan *strong blender*, untuk mendapatkan hasil yang lebih halus masukkan dalam *grinder* hingga didapat bentuknya berupa serbuk halus seperti tepung.
3. Timbang kulit buah delima putih tersebut sebanyak 50 gr dengan neraca analitik.
4. Masukkan dalam 2 corong pemisah (*Funil separating schatt*), tiap corong pemisah masing-masing 25 mg. Letakkan corong pemisah tersebut pada statif.
5. Dilakukan ekstraksi dalam etanol PA dan asam asetat dengan perbandingan 9:1. Dengan cara memasukkan etanol PA dalam tiap corong pemisah sebanyak 225 ml. Lakukan pengenceran asam asetat terlebih dahulu, yang semula asam asetat 25% menjadi asam asetat 10%. Lalu masukkan asam asetat 25% dalam gelas ukur sebanyak 5 ml dan tambahkan aquades 45 ml sehingga didapatkan asam asetat dengan konsentrasi 10 ml. Kemudian masukkan asam asetat tersebut dalam corong pemisah, tiap corong pemisah masing-masing 25 ml.
6. Dilakukan pengocokan pada corong pemisah agar cairan dan bahan dapat tercampur dengan cara memutar corong pemisah, kemudian letakkan kembali pada statif dan biarkan \pm 4 jam.
7. Tuangkan cairan dari corong pemisah pada tabung *sentrifuge*, kemudian di *sentifuge* selama 5 menit.
8. Tuangkan cairan dalam labu *evaporator* atau *rotavapor*. Di evaporasi dengan tekanan 200 mbar suhu 50°C sampai $\frac{1}{4}$ volume asal, lalu pindahkan ke 1 corong pemisah.

9. Tambahkan NH_4OH pekat untuk mengendapkan alkaloid, terlihat dengan munculnya gumpalan-gumpalan kecil. Kemudian kocok hingga tercampur.
10. Untuk mengumpulkan alkaloid tersebut masukkan cairan dalam tabung *sentrifuge* kemudian di *sentrifuge* selama 5 menit hingga didapatkan endapan berwarna coklat tua yang dikatakan sebagai alkaloid.
11. Pindahkan endapan tadi pada wadah kaca/ botol kaca.
12. Sisa cairan dimasukkan lagi dalam tabung *sentrifuge* dan dicuci dengan NH_4OH 1%, kemudian di *sentrifuge* kembali.
13. Kemudian keringkan endapan alkaloid tersebut dalam oven, suhu $60^\circ\text{C} \pm 48$ jam hingga menjadi serbuk.
14. Alkaloid yang diperoleh sebanyak 10 mg.



Lampiran 3. Metode Pengenceran Seri

A. Alkaloid

1. Timbang 2 gr serbuk alkaloid. Tambahkan 2 ml aquades steril, sehingga didapatkan larutan alkaloid konsentrasi 100%.
2. Ambil 1 ml hasil pengenceran tersebut dan tambahkan aquades 1 ml, sehingga didapatkan larutan alkaloid konsentrasi 50%.
3. Ambil 1 ml hasil pengenceran pada tahap 2 dan tambahkan aquades 1 ml, sehingga didapatkan larutan alkaloid konsentrasi 25%.
4. Ambil 1 ml hasil pengenceran pada tahap 3 dan tambahkan aquades 1 ml, sehingga didapatkan larutan alkaloid konsentrasi 12,5%.
5. Ambil 1 ml hasil pengenceran pada tahap 4 dan tambahkan aquades 1 ml, sehingga didapatkan larutan alkaloid konsentrasi 6,25%.
6. Ambil 1 ml hasil pengenceran pada tahap 5 dan tambahkan aquades 1 ml, sehingga didapatkan larutan alkaloid konsentrasi 3,13%.
7. Ambil 1 ml hasil pengenceran pada tahap 6 dan tambahkan aquades 1 ml, sehingga didapatkan larutan alkaloid konsentrasi 1,56%.

B. Media Cair

Pada percobaan ini terdapat 7 konsentrasi larutan alkaloid yaitu 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,13%, 1,56%. Dari hasil pengenceran seri di atas masing-masing konsentrasi diambil 0,5 ml dan dicampurkan pada 7 tabung reaksi yang telah berisi 5 ml media cair *MRS-B* dan 0,5 ml suspensi kuman. Kemudian ditambah lagi 1 tabung reaksi sebagai kontrol positif yang berisi media cair *MRS-B* dan suspensi kuman, 1 tabung reaksi lagi sebagai kontrol negatif yang berisi media cair *MRS-B* dan alkaloid. Sembilan tabung reaksi tersebut dimasukkan dalam desicator selama 48 jam. Setelah 48 jam media cair tersebut ditanam pada media padat *MRS-A*. Namun sebelumnya dilakukan pengenceran dengan aquades steril sampai 6 kali (10^{-6}) dengan cara sebagai berikut :

1. Dari media cair tersebut (konsentrasi 100%) diambil 1 ml dan diencerkan dengan 9 ml aquades steril. Hasil pengenceran tersebut merupakan pengenceran 10^{-1} .
2. Dari tahap 1 diambil 1 ml dan dicampur dengan 9 ml aquades steril. Hasil pengenceran tersebut merupakan pengenceran 10^{-2} .
3. Dari tahap 2 diambil 1 ml dan dicampur dengan 9 ml aquades steril. Hasil pengenceran tersebut merupakan pengenceran 10^{-3} .
4. Dari tahap 3 diambil 1 ml dan dicampur dengan 9 ml aquades steril. Hasil pengenceran tersebut merupakan pengenceran 10^{-4} .
5. Dari tahap 4 diambil 1 ml dan dicampur dengan 9 ml aquades steril. Hasil pengenceran tersebut merupakan pengenceran 10^{-5} .
6. Dari tahap 5 diambil 1 ml dan dicampur dengan 9 ml aquades steril. Hasil pengenceran tersebut merupakan pengenceran 10^{-6} .

Hal tersebut dilakukan juga pada konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,13%, 1,56%, kontrol positif dan kontrol negatif. Hasil pengenceran yang terakhir yaitu 10^{-6} dari masing-masing konsentrasi diambil 0,1 ml dan dituangkan ke media padat dengan *pour plate methode*.

Lampiran 4. Penghitungan Besar Sampel

Jumlah sampel penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah berdasarkan rumus sebagai berikut.

$$(p-1)(q-1)(r-1) \geq 20$$

Keterangan:

p = jumlah perlakuan

q = jumlah kontrol

r = jumlah pengulangan

Maka hasil perhitungan besar sampel adalah sebagai berikut.

$$p = 9$$

$$q = 2$$

$$r = ?$$

$$(p-1)(q-1)(r-1) \geq 20$$

$$(9-1)(2-1)(r-1) \geq 20$$

$$8.1(r-1) \geq 20$$

$$8r-8 \geq 20$$

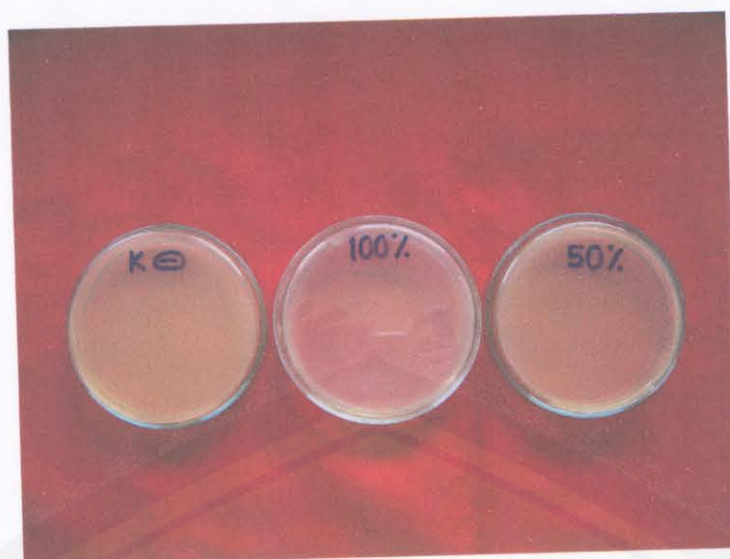
$$8r \geq 20$$

$$r \geq 3.5$$

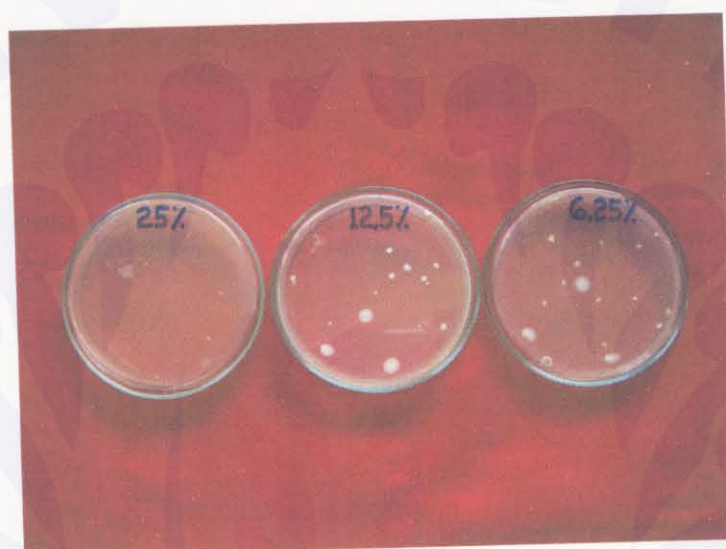
$$r \sim 4$$

Jadi, jumlah pengulangan sebesar 4, sehingga besar sampel didapatkan dari perkalian jumlah sampel (9) dengan jumlah pengulangan (4) yaitu sebesar 36.

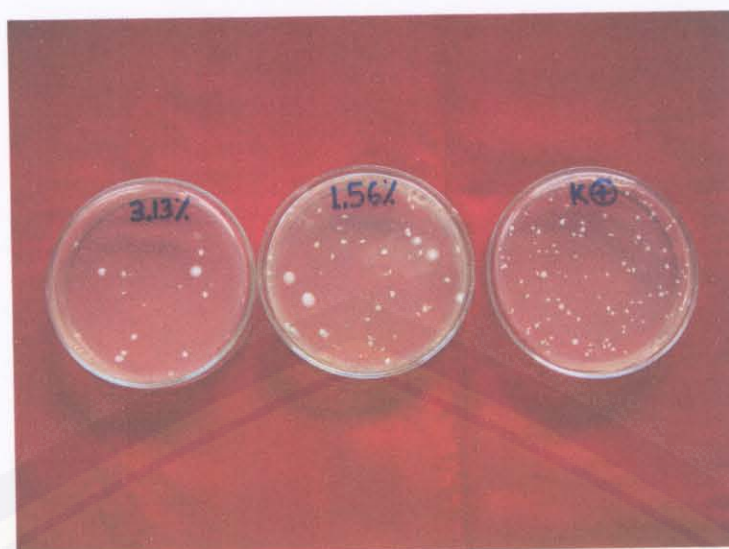
Lampiran 5. Foto Hasil Penelitian



Gambar 4. Hasil penelitian alkaloid dengan konsentrasi 100%, 50%, dan kontrol negatif



Gambar 4. Hasil penelitian alkaloid dengan konsentrasi 25%, 12.5%, dan 6.25%



Gambar 4. Hasil penelitian alkaloid dengan konsentrasi 3.13%, 1.56%, dan kontrol positif

