



**DAYA HAMBAT EKSTRAK APEL MANALAGI TERHADAP
PERTUMBUHAN *Porphyromonas gingivalis***

SKRIPSI

Oleh

ANUGERAH NUR YUHYI

NIM 111610101063

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS JEMBER

2016



**DAYA HAMBAT EKSTRAK APEL MANALAGI (*Malus sylvestris Mill.*)
TERHADAP PERTUMBUHAN *Porphyromonas gingivalis***

SKRIPSI

Oleh
Anugerah Nur Yuhyi
NIM 111610101063

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2016**

SKRIPSI

**DAYA HAMBAT EKSTRAK APEL MANALAGI (*Malus sylvestris* Mill.)
TERHADAP PERTUMBUHAN *Porphyromonas gingivalis***

Oleh:

Anugerah Nur Yuhyi

111610101063

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama : drg. Depi Praharani, M.Kes.

Dosen Pembimbing Pendamping : drg. Melok Aris W., M.Kes., Sp.Perio.

PERSEMBAHAN

Karya tulis ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT, segala puji hanya milik Allah, karena atas izin dan kehendak-Nya saya dapat menyelesaikan tugas akhir ini dengan lancar. Terima kasih atas segala nikmat, karunia dan anugerah-Mu.
2. Kedua orang tua saya, yang telah memberikan kasih sayang, selalu mendukung, memotivasi, membantu dan mengiringi setiap langkah saya. Terima kasih atas segala nasehat, perhatian, pengorbanan dan doa- doa yang telah dipanjatkan setiap hari.
3. Guru-guru dan dosen terhormat, yang telah mengajari dan membimbing saya dalam berbagai hal.
4. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember yang saya cintai dan saya banggakan.

MOTTO

Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan. Maka apabila kamu telah selesai (dari sesuatu urusan), kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan) yang lain dan hanya kepada Tuhanmulah hendaknya kamu berharap (terjemahan Surat Al-Insyirah 94:6-8)*



* Departemen Agama Republik Indonesia. 2005. *Al-Jumanatul 'Ali Al-Quran dan Terjemahannya*. Bandung: CV. Penerbit J-ART

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Anugerah Nur Yuhyi

Nim : 111610101063

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya tulis ilmiah yang berjudul “Daya Hambat Ekstrak Apel Manalagi (*Malus sylvestris Mill.*) terhadap Pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali 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 dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, Januari 2016

Yang Menyatakan

Anugerah Nur Yuhyi

111610101063

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Daya Hambat Ekstrak Apel Manalagi (*Malus sylvestris Mill.*) terhadap Pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*” telah diuji dan disahkan pada:

Hari, tanggal : Kamis, 21 Januari 2016

Tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Dosen Penguji Ketua

Dosen Penguji Pendamping

drg. Pudji Astuti, M.Kes.
NIP. 196810201996012001

drg. Rendra Chriestedy Prasetya, M.D.Sc.
NIP. 198305312008011003

Dosen Pembimbing Ketua

Dosen Pembimbing Pendamping

drg. Depi Praharani, M.Kes.
NIP. 196801221997022001

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

Mengesahkan

Dekan,

drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes., Sp.Prost.
NIP. 196901121999601001

RINGKASAN

Daya Hambat Ekstrak Apel Manalagi (*Malus sylvestris Mill.*) terhadap Pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*, Anugerah Nur Yuhyi, 111610101063; 2016; 52 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Penyakit periodontal merupakan salah satu masalah kesehatan gigi dan mulut yang menduduki urutan kedua dengan jumlah 42,8% penduduk Indonesia. Penyebab utama penyakit periodontal adalah bakteri plak serta produk-produknya. Salah satu bakteri penyebab penyakit periodontal yaitu *Porphyromonas gingivalis*. Infeksi yang disebabkan oleh bakteri biasanya diatasi dengan pemakaian bahan antibakteri yang dapat berasal dari bahan sintetis dan bahan alami. Penggunaan antibakteri sintetis yang sering dapat menimbulkan efek samping, serta mengakibatkan resistensi terhadap bakteri-bakteri tertentu. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk mencari bahan alternatif khususnya bahan antibakteri yang berasal dari bahan alami.

Bahan antibakteri alami yang diharapkan dapat dijadikan bahan alternatif salah satunya adalah apel yang diketahui mengandung berbagai macam senyawa kimia yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Jenis apel yang digunakan dalam penelitian ini adalah apel Manalagi karena merupakan jenis apel lokal, rasanya manis, mudah didapat dan harganya cukup terjangkau.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan ekstrak apel Manalagi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *P. gingivalis* serta konsentrasi terkecil ekstrak apel Manalagi yang masih dapat menghambat pertumbuhan bakteri tersebut.

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris *in vitro* dengan rancangan penelitian *the pre-post test only control group design*. Metode uji daya hambat yang digunakan adalah difusi *paper disc*. Daya hambat ditandai dengan adanya zona hambat yaitu daerah jernih di sekeliling *paper disc* yang menunjukkan terhambatnya pertumbuhan bakteri. Sampel dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kontrol

negatif (aquadest steril), kontrol positif (*Chlorhexidine* 0,2%), dan ekstrak apel Manalagi yang terdiri dari konsentrasi 100%, 50% dan 25% dengan jumlah sampel sebanyak 3 untuk setiap kelompok.

Hasil yang didapat dari penelitian ini bahwa ekstrak apel Manalagi konsentrasi 100% dan 50% mempunyai daya hambat terhadap *P. gingivalis* dimana hasil analisis data zona hambat ekstrak apel Manalagi konsentrasi 100% dengan konsentrasi 50% tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan. Sedangkan pada konsentrasi 25% tidak mempunyai daya hambat karena hasil analisis data menunjukkan tidak ada perbedaan zona hambat yang signifikan antara kontrol negatif dengan ekstrak apel Manalagi konsentrasi 25%. Hal ini berarti bahwa konsentrasi 50% merupakan konsentrasi terkecil ekstrak apel Manalagi yang masih mampu menghambat pertumbuhan *P. gingivalis* akan tetapi daya hambatnya sama dengan ekstrak apel Manalagi konsentrasi 100%. Terhambatnya pertumbuhan *P. gingivalis* tersebut diduga karena adanya kandungan senyawa aktif yang bersifat antibakteri pada ekstrak apel Manalagi, yaitu tannin, flavonoid, pektin, saponin dan vitamin C.

Kesimpulan yang bisa diambil berdasarkan hasil penelitian adalah ekstrak apel Manalagi mampu menghambat pertumbuhan bakteri *P. gingivalis* dan konsentrasi terkecil ekstrak apel Manalagi yang masih dapat menghambat pertumbuhan *P. gingivalis* yaitu konsentrasi 50%.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Daya Hambat Ekstrak Apel Manalagi (*Malus sylvestris Mill.*) terhadap Pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S-1) pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

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

1. drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes., Sp.Prost., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
2. drg. Depi Praharani M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Utama dan drg. Melok Aris W., M.Kes., Sp.Perio., selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah memberikan bimbingan, saran dan motivasi dengan penuh kesabaran sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
3. drg. Pudji Astuti M.Kes., selaku Dosen Penguji Utama dan drg. Rendra Chriestedy Prasetya, selaku Dosen Penguji Pendamping yang telah memberikan masukan pemikiran dan saran yang membangun demi kesempurnaan skripsi ini;
4. Prof. Dr. drg. I Dewa Ayu Ratna Dewanti, M.Si., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan motivasi dan menasehati penulis selama menjadi mahasiswa;
5. Kedua orang tuaku, terima kasih atas doa yang selalu terucap, dukungan, perhatian dan motivasi yang tiada batas;
6. Teman-teman FKG angkatan 2011 yang tidak bisa saya ucapkan satu persatu, terima kasih atas kerja samanya dan semoga kita sukses selalu;
7. Pihak-pihak lain yang turut membantu dalam penyelesaian skripsi ini staf Laboratorium *Bioscience* RSGM Universitas Jember, staf Laboratorium Mikrobiologi Bagian Biomedik Dental Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember dan staf Laboratorium Fitokimia UPT Materia Medica Batu;

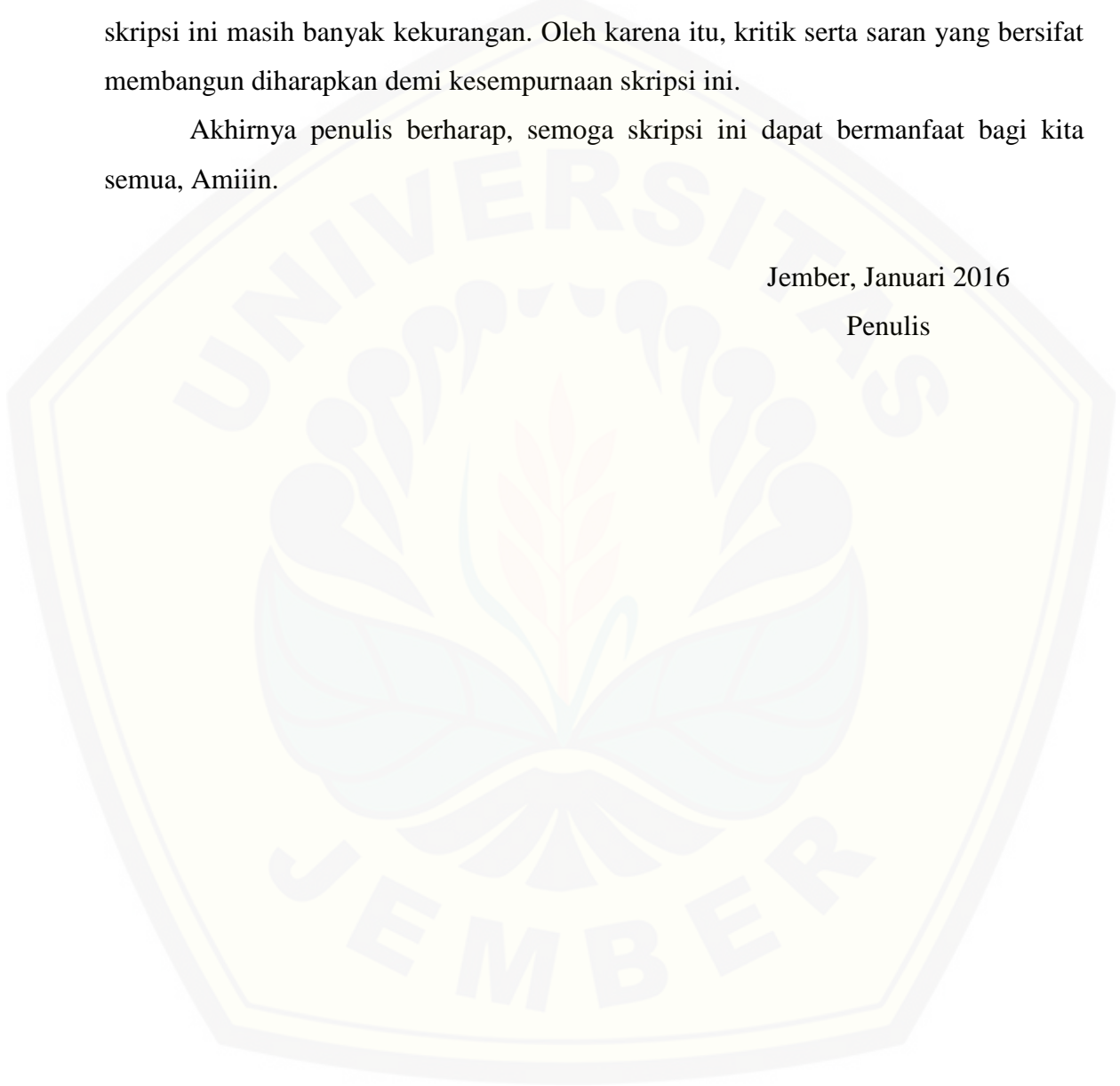
8. Semua pihak yang turut terlibat baik secara langsung maupun tidak langsung yang telah membantu dalam penyelesaian skripsi ini.

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, Amiiin.

Jember, Januari 2016

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN BIMBINGAN	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Apel	5
2.4.1 Jenis Apel yang Dikembangkan Di Indonesia	5
2.4.2 Manfaat dan Kandungan Apel	9
2.2 <i>Porphyromonas gingivalis</i>	10
2.2.1 Karakteristik <i>Porphyromonas gingivalis</i>	10
2.2.2 Pertumbuhan <i>Porphyromonas gingivalis</i>	12
2.2.3 Patogenitas <i>Porphyromonas gingivalis</i>	14

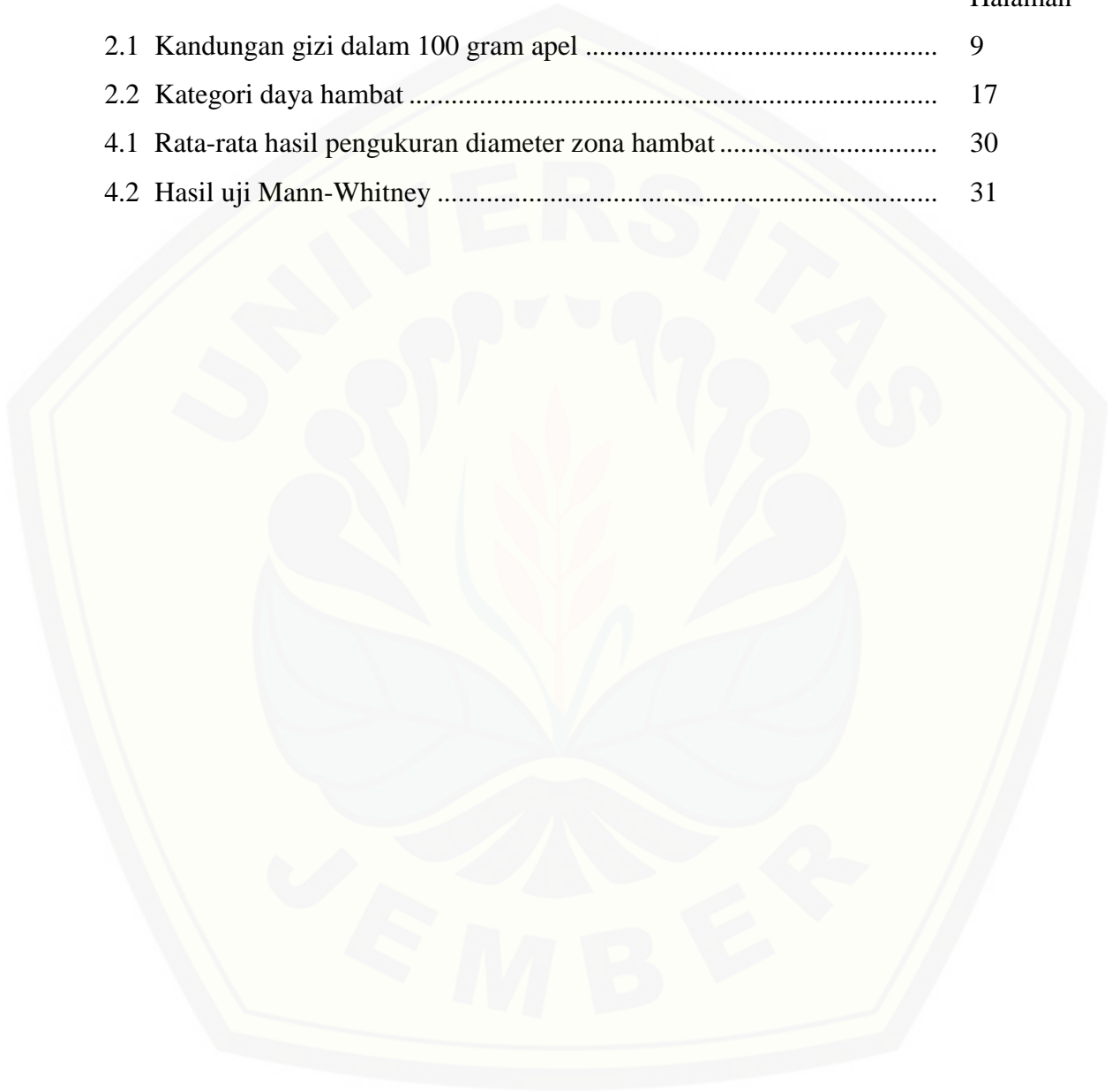
2.3 Antibakteri	14
2.4 Kandungan Apel yang Bersifat Antibakteri	18
2.5 Hipotesis	18
2.6 Kerangka Konsep	19
BAB 3. METODE PENELITIAN	
3.1 Jenis Penelitian	20
3.2 Rancangan Penelitian	20
3.3 Tempat dan Waktu Penelitian	20
3.4 Variabel Penelitian	20
3.5 Definisi Operasional	21
3.6 Sampel Penelitian	21
3.7 Alat dan Bahan Penelitian	22
3.7.1 Alat Penelitian	22
3.7.2 Bahan Penelitian	23
3.8 Prosedur Penelitian	23
3.8.1 Tahap Persiapan	23
3.8.2 Tahap Perlakuan	25
3.8.3 Tahap Pengukuran	26
3.9 Analisis Data	27
3.10 Alur Penelitian	28
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Hasil	29
4.2 Pembahasan	32
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan	35
5.2 Saran	35

DAFTAR PUSTAKA	36
LAMPIRAN	40



DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Kandungan gizi dalam 100 gram apel	9
2.2 Kategori daya hambat	17
4.1 Rata-rata hasil pengukuran diameter zona hambat	30
4.2 Hasil uji Mann-Whitney	31



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Apel Rome Beauty	6
2.2 Apel Manalagi	7
2.3 Apel Princess Nobble	7
2.4 Apel Wanglin	8
2.5 Apel New Zealand.....	9
2.6 Foto mikroskop elektron dengan pembesaran 200 nm menunjukkan vesikel muda dan fimbriae pada <i>Porphyromonas gingivalis</i> strain ATCC 33277 yang berumur 4 hari pada lempeng agar	11
2.7 Struktur dinding sel <i>Porphyromonas.gingivalis</i>	12
2.8 Kurva pertumbuhan <i>Porphyromonas gingivalis</i> ATCC 33277 dan <i>proteïnase-dificient</i> mutan KDP112 (<i>rgpA rgpB</i>), KDP129 (<i>kgp</i>), dan KDP128 (<i>rgpA rgpB kgp</i>) pada CDM yang dilengkapi serum albumin manusia	13
2.9 Koloni <i>Porphyromonas gingivalis</i> ATCC 33277 pada media <i>blood agar</i>	14
3.1 Pembagian daerah dan peletakkan <i>paper disc</i>	26
3.2 Cara pengukuran diameter zona hambat	27
4.1 Hasil penelitian.....	29
4.2 Diagram batang rata-rata diameter zona hambat.....	30

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Surat keterangan identifikasi <i>Porphyromonas gingivalis</i>	40
B. Hasil identifikasi <i>Porphyromonas gingivalis</i>	41
C. Surat keterangan identifikasi apel Manalagi	42
D. Surat keterangan pembuatan ekstrak apel Manalagi	43
E. Foto alat dan bahan penelitian.....	44
F. Data hasil penelitian	46
G. Analisis data	47

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Penyakit gigi dan mulut merupakan penyakit yang diderita oleh sebagian besar penduduk Indonesia. Salah satu penyakit gigi dan mulut yang memiliki prevalensi cukup tinggi di masyarakat adalah penyakit periodontal. Berdasarkan hasil Survey Kesehatan Rumah Tangga-Survey Kesehatan Nasional (SKRT) prevalensi penyakit periodontal menduduki urutan kedua dengan jumlah 42,8% penduduk Indonesia (Departemen Kesehatan, 2010).

Penyakit periodontal dapat didefinisikan sebagai suatu peradangan yang terjadi pada jaringan pendukung gigi dan apabila tidak dirawat maka dapat menyebabkan kehilangan gigi. Penyakit periodontal yang sering ditemukan adalah gingivitis dan periodontitis. Gingivitis merupakan penyakit periodontal yang hanya mengenai gingiva sedangkan periodontitis merupakan penyakit periodontal yang mengenai struktur yang lebih dalam (Newman *et al.*, 2012).

Penyebab utama penyakit periodontal adalah bakteri plak serta produk-produknya. Bakteri plak yang dijumpai pada gingivitis berbeda dengan bakteri yang dijumpai pada periodontitis. Spesies bakteri pada gingivitis lebih didominasi spesies bakteri Gram positif dari pada Gram negatif. Sedangkan bakteri yang terlibat sebagai patogen pada periodontitis didominasi spesies bakteri Gram negatif anaerob. Pada periodontitis kronis bakteri yang paling sering ditemukan meliputi *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Prevotella intermedia*, *Campylobacter rectus*, *Eikenella corrodens*, *Fusobacterium nucleatum*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Peptostreptococcus micros*, spesies *Treponema* dan *Eubacterium*. Sedangkan pada periodontitis agresif ditemukan keberadaan sejumlah besar *A. actinomycetemcomitans*, *Capnocytophaga spp.* dan *P. gingivalis* (Newman *et al.*, 2012).

P. gingivalis merupakan bakteri yang dijumpai baik pada periodontitis kronis maupun periodontitis agresif. Patogen periodontal ini adalah bakteri obligat anaerob Gram negatif yang tidak berspora (*non-spore forming*), tak punya alat gerak (*nonmotile*) dan berbentuk *coccobacilli* (Naito *et al.*, 2008).

Infeksi yang disebabkan oleh bakteri biasanya diatasi dengan pemakaian bahan antibakteri yang dapat berasal dari sintetis dan alami (Agromedia, 2008). Penggunaan antibakteri sintetis yang sering dapat menimbulkan efek samping, serta mengakibatkan resistensi terhadap bakteri-bakteri tertentu (Kumala dkk., 2010). Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk mencari bahan alternatif yang berasal dari bahan alami.

Bahan antibakteri alami yang diharapkan dapat dijadikan bahan alternatif salah satunya adalah apel. Buah apel merupakan buah yang sangat populer di masyarakat dan mempunyai banyak khasiat bagi tubuh. Buah ini dapat digunakan sebagai obat batuk, penghancur batu ginjal, melancarkan pencernaan, membersihkan tubuh dari racun dan mengobati peradangan di dalam tubuh (Yulianti dan Sitanggang, 2006). Mengunyah apel setiap hari juga dapat membantu membersihkan gigi dan mencegah gusi berdarah. Selain itu, apel juga mampu menghambat pertumbuhan bakteri (Heming, 2006). Selain karena manfaat-manfaat tersebut, peneliti memilih buah apel juga dikarenakan untuk melanjutkan penelitian-penelitian sebelumnya.

Jenis apel bermacam-macam, di Indonesia sendiri terdapat beberapa jenis apel yang dikembangkan diantaranya yaitu Rome Beauty, Manalagi, Princess Nobble, Wanglin, dan New Zealand (Soelarso, 1996). Jenis apel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu apel Manalagi karena merupakan jenis apel lokal, rasanya manis, mudah didapat dan harganya cukup terjangkau. Apel Manalagi telah diteliti dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus alfa*, *Salmonella typhosa*, dan *Streptococcus mutans*. Ekstrak apel Manalagi dapat menghambat pertumbuhan *S. alfa* mulai konsentrasi 40%. Sedangkan ekstrak apel Manalagi dengan konsentrasi 25% sudah dapat menghambat pertumbuhan *S. typhosa* (Wulandari, 2012) dan *S. mutans* (Jannata dkk., 2014).

Konsentrasi awal ekstrak apel Manalagi yang digunakan dalam penelitian ini meliputi konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125% dan 1,56%. Akan tetapi, karena hasil *trial* yang telah dilakukan menunjukkan bahwa untuk ekstrak apel Manalagi konsentrasi 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125% dan 1,56% tidak menunjukkan adanya zona hambat maka untuk konsentrasi 12,5%, 6,25%, 3,125% dan 1,56% tidak diikutkan. Sehingga berdasarkan hasil tersebut, konsentrasi ekstrak apel Manalagi yang digunakan hanya konsentrasi 100%, 50%, dan 25%.

Berdasarkan uraian tersebut dan dengan melihat manfaat serta kandungan yang dimiliki oleh buah apel dan belum ada penelitian mengenai daya hambat ekstrak apel Manalagi terhadap pertumbuhan *P. gingivalis*, maka penulis ingin melakukan penelitian mengenai kemampuan ekstrak apel Manalagi dalam menghambat pertumbuhan *P. gingivalis* yang merupakan salah satu bakteri penyebab penyakit periodontal.

1.2 Rumusan Masalah

Masalah yang dapat dirumuskan dari latar belakang di atas adalah:

1. Apakah ekstrak apel Manalagi dapat menghambat pertumbuhan *P. gingivalis*?
2. Apabila terbukti bahwa ekstrak apel Manalagi dapat menghambat pertumbuhan *P. gingivalis*, berapa konsentrasi terkecil ekstrak apel Manalagi yang masih dapat menghambat pertumbuhan *P. gingivalis*?

1.3 Tujuan Penelitian

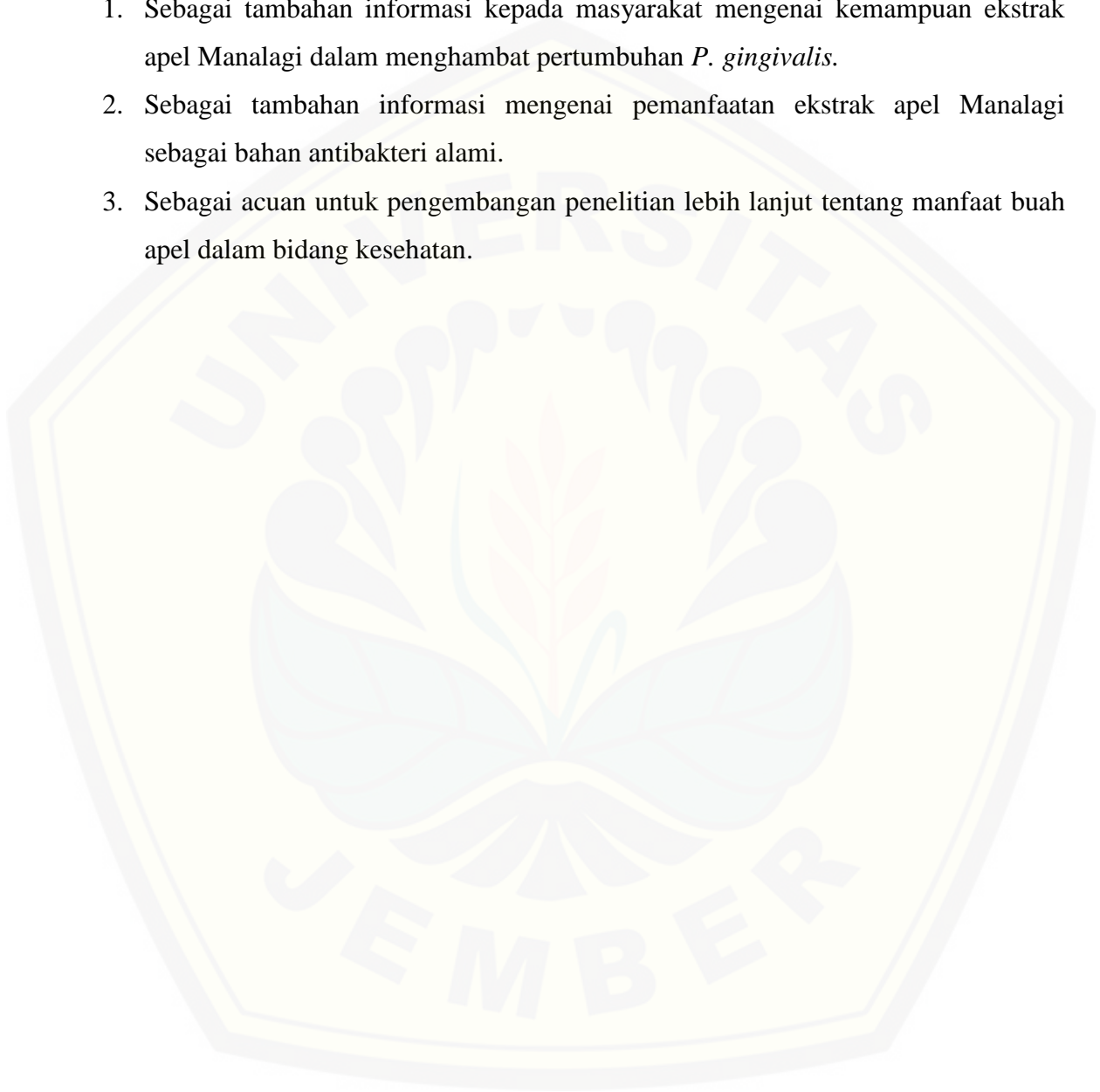
Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui kemampuan ekstrak apel Manalagi dalam menghambat pertumbuhan *P. gingivalis*.
2. Untuk mengetahui konsentrasi terkecil ekstrak apel Manalagi yang masih dapat menghambat pertumbuhan *P. gingivalis*.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat diantaranya:

1. Sebagai tambahan informasi kepada masyarakat mengenai kemampuan ekstrak apel Manalagi dalam menghambat pertumbuhan *P. gingivalis*.
2. Sebagai tambahan informasi mengenai pemanfaatan ekstrak apel Manalagi sebagai bahan antibakteri alami.
3. Sebagai acuan untuk pengembangan penelitian lebih lanjut tentang manfaat buah apel dalam bidang kesehatan.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Apel

Apel adalah tanaman buah yang dapat tumbuh subur di daerah yang mempunyai iklim sub tropis. Apel di Indonesia dikembangkan di beberapa wilayah dan apel lokal yang terkenal berasal dari daerah Malang, Jawa Timur. Tanaman apel di Indonesia dapat tumbuh dan berkembang dengan baik apabila dibudidayakan pada daerah yang mempunyai ketinggian sekitar 700-1200 meter di atas permukaan laut (Yulianti dan Sitanggang, 2006).

Menurut sistematikanya, tanaman apel diklasifikasikan sebagai berikut:

Divisi	: spermatophyte
Subdivisi	: angiosperma
Klas	: dicotyledonae
Ordo	: Rosales
Famili	: Rosaceae
Genus	: <i>Malus</i>
Species	: <i>Malus sylvestris mill</i>

(Yulianti dkk., 2012)

2.1.1 Jenis Apel yang Dikembangkan di Indonesia

Jenis-jenis tanaman apel yang dikembangkan di Indonesia yaitu: Rome Beauty, Manalagi, Princess Nobble, Wanglin dan New Zealand (Soelarso, 1996).

a. Rome Beauty

Apel jenis ini berdiameter 5-12 cm dengan berat 75-300 gram/buah. Bentuknya bulat tapi ada beberapa yang lonjong. Mempunyai lima sekat tidak nyata dengan pucuk buah yang berlekuk dangkal sampai agak dalam. Kulitnya berpori agak tebal dan kasar (Gambar 2.1). Aromanya tidak tajam dan rasanya segar karena mengandung cukup banyak air. Daging buahnya agak kasar dengan warna

kekuningan. Apel jenis Rome Beauty mempunyai rasa manis disertai rasa lebih masam dibanding apel jenis lain. Tanaman yang umurnya sudah mencapai tujuh tahun produksinya dapat mencapai 30-40 kg per pohon per musim (Yulianti dkk., 2012).



Gambar 2.1 Apel Rome Beauty (Yulianti dkk., 2012).

b. Manalagi

Bentuk buah agak bulat dengan ujung dan pangkal berlekuk dangkal, diameter 4-7 cm dan berat 75-160 gram/buah. Buah apel Manalagi berwarna hijau muda kekuningan dengan aroma yang harum segar. Pori kulitnya jarang-jarang (Gambar 2.2). Rasanya manis dan tidak berasa asam walaupun belum matang. Daging buahnya berwarna putih, sedikit air dan teksturnya agak liat. Bentuk bijinya bulat pendek dan berwarna coklat tua. Produksi buah rata-rata tiap pohonnya sekitar 75 kg per musim (Yulianti dan Sitanggang, 2006).



Gambar 2.2 Apel Manalagi (Yulianti dan Sitanggang, 2006)

c. Princess Nobble

Apel ini sering disebut apel Hijau atau apel Australia. Ciri khas terletak pada warna kulit buah yang tetap hijau kekuningan meskipun sudah masak. Rasanya segar sedikit asam. Buahnya berbentuk agak bulat dengan lekukan dibagian ujung relatif dalam (Gambar 2.3). Berat rata-rata tiap buah sekitar 175 gram. Pori kulit buahnya halus dan renggang. Daging buah berwarna putih, lembut dan berair. Apel ini juga mempunyai aroma yang kuat. Tangkainya panjang, kecil dan berwarna kelabu. Bijinya berbentuk agak bulat dan berwarna coklat tua. Jika sudah berumur tujuh tahun, produksinya bisa mencapai 30-40 kg per pohon dalam setiap musimnya (Yulianti dan Sitanggang, 2006).



Gambar 2.3 Apel Princess Nobble (Yulianti dan Sitanggang, 2006).

d. Wanglin

Apel ini berasal dari Jepang dan dapat dijumpai di Batu, Malang. Bentuknya mirip apel Princess Nobble dan warna kulit buahnya mirip apel Granny Smith (Gambar 2.4). Daging buahnya empuk dan renyah. Daging buah yang tua berwarna putih dengan rasa kurang manis dan aroma kurang tajam. Namun, daging buah ini akan berubah warna menjadi krem dan rasanya menjadi manis segar dengan aroma tajam setelah diperam selama 2-3 minggu. Setelah berumur enam tahun total produksinya hanya 6 kg per pohon per musim (Yulianti dkk., 2012).



Gambar 2.4 Apel Wanglin (Yulianti dkk., 2012).

e. New Zealand

Apel ini sering disebut sebagai apel Gala atau apel Fuji. Apel ini berasal dari Selandia Baru yang merupakan buah apel yang mempunyai rasa paling segar dan paling manis diantara apel yang lain. Apel jenis ini mempunyai warna kulit kuning dengan garis-garis vertikal berwarna merah jambu, berair, daging buah keras, manis, dan aroma lebih tajam (Gambar 2.5). Produksi buah 6 kg per pohon per musim (Yulianti dkk., 2012).



Gambar 2.5 Apel New Zealand (Yulianti dkk., 2012).

2.1.2 Manfaat dan Kandungan Apel

Menurut Hembing, manfaat buah apel antara lain adalah menurunkan kadar kolesterol, menurunkan tekanan darah, menstabilkan gula darah, menurunkan nafsu makan, membunuh virus, meningkatkan *High Density Lipoprotein* (HDL), memperlancar pencernaan, mempertahankan kesehatan urat saraf, antikanker dan sebagai obat jantung yang baik (Hembing, 2006).

Khasiat tersebut didasarkan pada tingginya kadar zat gizi yang terdapat dalam buah apel, terutama vitamin dan mineral (Tabel 2.1). Disamping zat-zat gizi tersebut, apel juga mengandung berbagai macam senyawa kimia seperti tannin, flavonoid dan pektin (Yulianti dan Sitanggang, 2006).

Tabel 2.1 Kandungan gizi dalam 100 gram apel

Zat Gizi	Jumlah Terkandung	Zat Gizi	Jumlah Terkandung
Energi	58.0 kal	Besi	1.30 mg
Protein	0.30 g	Vit A	24 RE
Lemak	0.40 g	Vit B1	0.04 mg
Karbohidrat	14.90 g	Vit B2	0.03 mg
Kalsium	6.00 mg	Vit C	5.00 mg
Fosfor	10.00 mg	Niacin	0.10 mg
Serat	0.07 g		

(Yulianti dkk., 2012).

2.2 *Porphyromonas gingivalis*

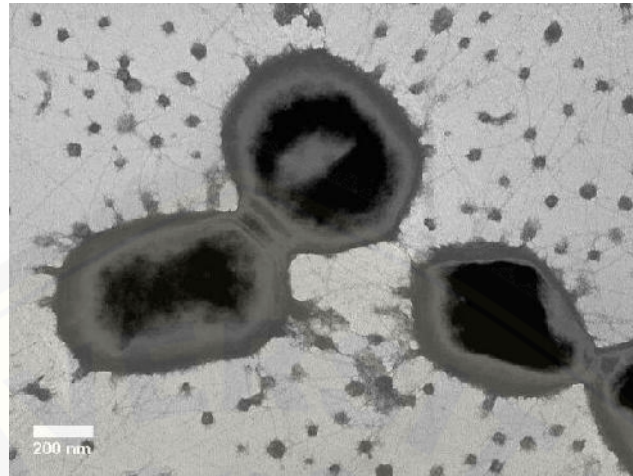
Taksonomi *P. gingivalis* sebagai berikut (Grenier and Mayrand, 2001).

<i>Kingdom</i>	: <i>Bacteria</i>
<i>Superphylum</i>	: <i>Bacteroidetes/Chlorobi group</i>
<i>Phylum</i>	: <i>Bacteroidetes</i>
<i>Class</i>	: <i>Bacteroides</i>
<i>Ordo</i>	: <i>Bacteroidales</i>
<i>Family</i>	: <i>Porphyromonadaceae</i>
<i>Genus</i>	: <i>Porphyromonas</i>
<i>Species</i>	: <i>Porphyromonas gingivalis</i>

2.2.1 Karakteristik *Porphyromonas gingivalis*

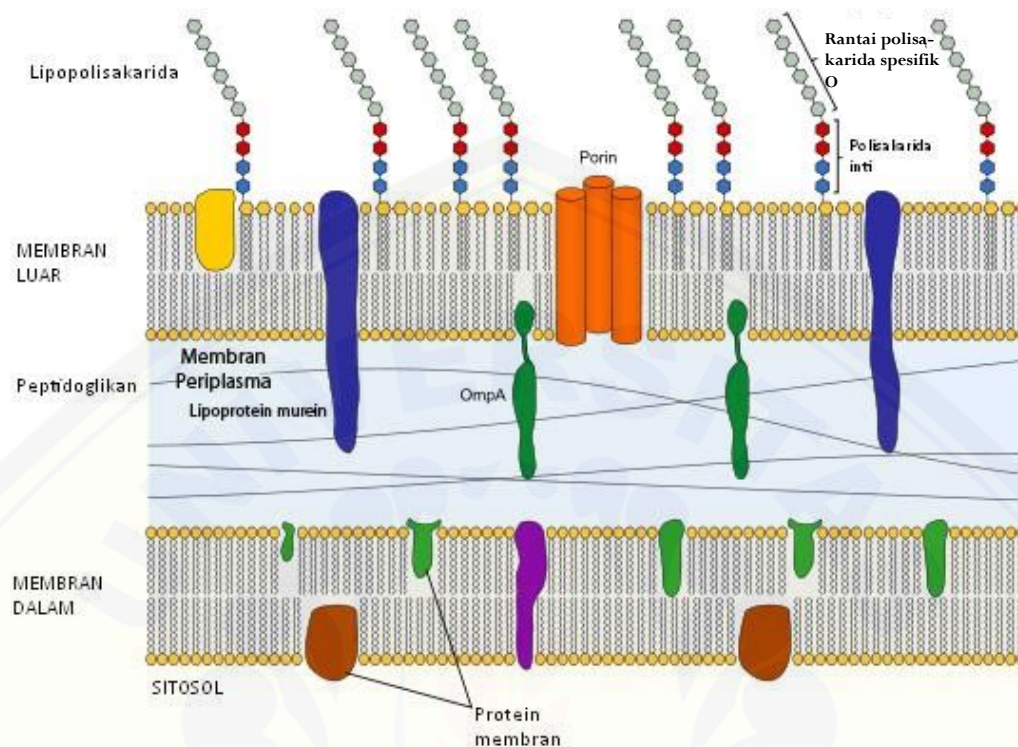
P. gingivalis memiliki bercak hitam, *pleomorphic* terutama berbentuk batang pendek (*coccobacilli*), tak punya alat gerak (*nonmotile*), anaerob Gram negatif, non-fermentasi, tidak membentuk spora (*non-spore forming*), obligat anaerob, *asaccharolytic*, dapat tumbuh optimum pada suhu 36,8-39°C dengan pH antara 7,5-8,0 (Naito *et al.*, 2008). Habitat utama *P. gingivalis* adalah di daerah subgingiva terutama pada penderita periodontitis. Selain itu juga dapat ditemukan di tonsil, lidah, gingiva, dan membran mukosa bukal (Samaranayake, 2002).

Bakteri ini memiliki komponen filamen dari struktur permukaan sel dengan diameter 5 nm dan panjang 33 nm yang membentuk *fimbriae* (Gambar 2.6). Sebagian besar bakteri Gram negatif membentuk struktur kecil pada permukaan membran terluar bakteri yang disebut sebagai *outer membrane vesicles* (OMV) yang dikeluarkan dari membran terluar selama pertumbuhan (Yoshimura *et al.*, 2009).



Gambar 2.6 Hasil foto mikroskop elektron dengan pembesaran 200 nm menunjukkan vesikel muda dan *fimbriae* pada *Porphyromonas gingivalis* strain ATCC 33277 yang berumur 4 hari pada lempeng agar (Chen *et al.*, 1994)

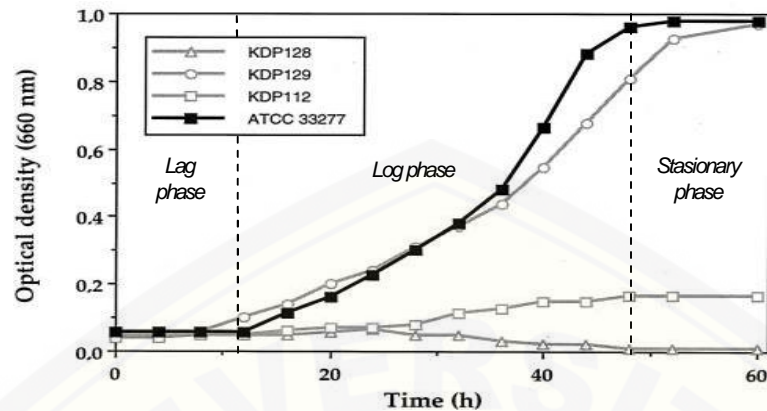
P. gingivalis merupakan bakteri Gram negatif yang memiliki struktur dinding sel yang berbeda dengan struktur dinding sel bakteri Gram positif. Pada dinding sel *P. gingivalis* terdapat adanya membran luar, dinding peptidoglikan, dan ruang periplasmik diantara dinding sel dan membran. Struktur membran luar ini mengandung lipopolisakarida (LPS) yaitu suatu struktur kompleks yang terdiri dari lipid A, rantai pendek gula dan rantai panjang karbohidrat yang disebut sebagai antigen O. Pada membran luar bakteri juga terdapat saluran porin yang memungkinkan penetrasi senyawa berukuran molekul kecil dan hidrofilik seperti gula, asam amino dan ion-ion tertentu (Gambar 2.7) (Geidam *et al.*, 2007).



Gambar 2.7 Struktur dinding sel *Porphyromonas gingivalis* (Hogg, 2005)

2.2.2 Pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*

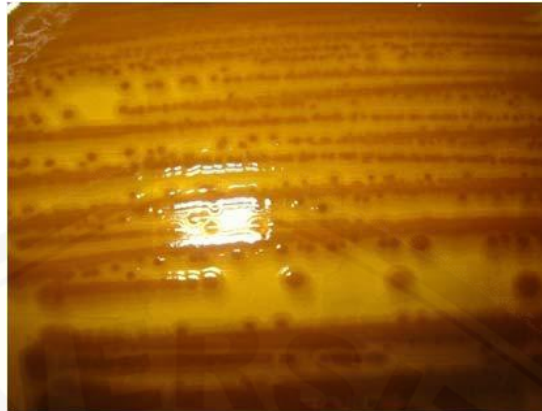
Pertumbuhan *P. gingivalis* dipengaruhi oleh adanya protein *hydrolysates*, seperti: *trypticase*, *protease peptone* dan ekstrak *yeast*. Pertumbuhannya dapat ditingkatkan dengan adanya 0,5-0,8% NaCl dalam darah. Produk fermentasi yang utama adalah n-butilat dan asam asetat. Pertumbuhan *P. gingivalis* meningkat pada inkubasi selama 48 jam (Gambar 2.8) (Grenier *et al.*, 2001).



Gambar 2.8 Kurva pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 dan *proteinasedeficient* mutan KDP112 (*rgpA rgpB*), KDP129 (*kgp*), dan KDP128 (*rgpA rgpB kgp*) pada CDM yang dilengkapi serum albumin manusia (Grenier *et al.*, 2001).

P. gingivalis membutuhkan bakteri pendahulu beserta produknya yang terdapat dalam plak seperti *Streptococcus* untuk menciptakan kondisi lingkungan yang adekuat dan memfasilitasi kolonisasi *P. gingivalis* yakni melalui penyediaan area perlekatan antar spesies dan substrat untuk pertumbuhan, serta penurunan tekanan oksigen hingga level yang rendah yang dibutuhkan untuk pertumbuhan dan pertahanannya. Setelah itu, *P. gingivalis* berikatan dengan koloni bakteri lainnya yang terakhir muncul pada rongga mulut, seperti *F. nucleatum*, *Treponema denticola*, dan *Bacteroides forsythus* (Richard and Howard, 1998). Kolonisasi pada area subgingiva juga difasilitasi dengan kemampuan *P. gingivalis* untuk melekat ke substrat yang tersedia, seperti struktur gigi, bakteri lain atau sel epitel manusia, khususnya pada sulkus gingiva (Samaranayake, 2002).

P. gingivalis tumbuh dalam media kultur membentuk koloni berdiameter 1-2 mm, konveks, halus, mengkilat, dan menggelap dari tepi koloni ke pusat diantara 4-8 hari. Bagian tengahnya menunjukkan gambaran lebih gelap karena produksi protoheme, yaitu suatu substansi yang bertanggung jawab terhadap warna khas koloni ini (Gambar 2.9) (Kusumawardani dkk., 2010).



Gambar 2.9 Koloni *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 pada media *blood agar* (Kusumawardani dkk., 2010)

2.2.3 Patogenitas *Phorphyromonas gingivalis*

P. gingivalis adalah patogen periodontal yang agresif. Bakteri ini telah terbukti meningkat pada lokasi periodontitis dan lebih rendah atau tidak terdeteksi pada lokasi gingiva yang sehat atau plak pada gingivitis. Spesies ini memproduksi faktor virulensi yang besar, termasuk banyaknya protease (untuk destruksi immunoglobulin, faktor-faktor komplemen, dan protein pengikat hemin; degradasi kolagen sel hospes), *endotoxin*, IgA, hemolisin, kolagenase, serta molekul rendah-senyawa berat termasuk *hydrogen sulfide* dan *ammonia*. *P. gingivalis* memiliki faktor virulensi dengan kemampuan induksi resorpsi tulang, menghancurkan jaringan ikat, induksi berbagai sitokin, dan menghambat mekanisme perlindungan hospes dengan menghambat migrasi *polymorphonuclear leukocytes* (PMNs) melalui *epithelial barrier* dan mempengaruhi produksi atau degradasi sitokin oleh sel mamalia. Spesies ini juga memiliki kapasitas untuk menginvasi jaringan lunak (Newman *et al.*, 2012).

2.3 Antibakteri

Antibakteri merupakan bahan atau senyawa yang digunakan untuk mengendalikan pertumbuhan bakteri. Berdasarkan aktivitasnya antibakteri dibagi menjadi 2 macam yaitu bakteristatik dan bakterisida. Bakteristatik adalah antibakteri yang menghambat pertumbuhan bakteri tetapi tidak membunuh patogen.

Bakterisida adalah antibakteri yang dapat membunuh patogen dalam kisaran luas (Brooks *et al.*, 2005).

Antibakteri dapat dibedakan berdasarkan mekanisme kerjanya, yaitu antibakteri yang menghambat pertumbuhan dinding sel, antibakteri yang mengakibatkan perubahan permeabilitas membran sel, antibakteri yang menghambat sintesis protein, dan antibakteri yang menghambat sintesis asam nukleat sel (Brooks *et al.*, 2005).

1. Merusak dinding sel

Bakteri memiliki lapisan luar yang kaku disebut dinding sel yang dapat mempertahankan bentuk bakteri dan melindungi membran protoplasma di bawahnya. Struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk. Salah satu contoh antibiotik yang bekerja dengan mekanisme ini yaitu *chlorhexidine*. *Chlorhexidine* merupakan suatu kationik biguanida, dengan spektrum antimikroba yang sangat luas. *Chlorhexidine* memiliki sifat bakterisid dan bakteristatik, baik untuk bakteri Gram positif maupun Gram negatif (Jawetz dan Adelberg, 2008).

2. Mengubah permeabilitas sel

Membran sitoplasma mempertahankan bahan tertentu di dalam sel serta mengatur aliran keluar masuknya bahan lain. Membran memelihara integritas komponen seluler. Kerusakan pada membran ini akan mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel atau matinya sel. Polimiksin bekerja dengan merusak struktur dinding sel dalam kemudian antibiotik tersebut bergabung dengan membran sel sehingga menyebabkan disorientasi komponen lipoprotein serta mencegah berfungsinya membran sebagai perintang osmotik (Pelczar dan Chan, 2009).

3. Mengubah molekul protein dan asam nukleat

Hidup suatu sel bergantung pada terpeliharanya molekul protein dan asam nukleat dalam keadaan alamiahnya. Suatu antibakteri dapat mengubah keadaan ini dengan mendenaturasikan protein dan asam nukleat sehingga merusak sel

tanpa dapat diperbaiki lagi. Salah satu antibakteri yang bekerja dengan cara mendenaturasi protein dan merusak membran sel adalah senyawa turunan fenolik (Pelczar dan Chan, 2009).

4. Menghambat sintesis asam nukleat dan protein

DNA, RNA, dan protein memegang peranan sangat penting di dalam proses kehidupan normal sel. Hal ini berarti bahwa gangguan apapun yang terjadi pada pembentukan atau pada fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel. Tetrasiklin merupakan salah satu antibiotik yang dapat menghambat sintesis protein dengan cara menghalangi terikatnya RNA pada ribosom, selama pemanjangan rantai peptida (Pelczar dan Chan, 2009).

Sebelum bahan antibakteri digunakan untuk keperluan pengobatan maka perlu diuji dahulu daya hambatnya terhadap spesies bakteri tertentu. Aktifitas antibakteri diukur secara *in vitro* agar dapat ditentukan potensinya suatu zat sebagai antibakteri dalam larutan, konsentrasi zat terhadap bakteri serta kepekaan suatu bakteri terhadap konsentrasi-konsentrasi bahan antibakteri yang diberikan (Jawetz dan Adelberg, 2008).

Uji daya hambat suatu bahan antibakteri dapat dilakukan dengan metode dilusi dan metode difusi.

1. Metode dilusi

Metode dilusi terdiri dari dua teknik pengerjaan yaitu teknik dilusi perbenihan cair dan teknik dilusi agar yang bertujuan untuk penentuan aktivitas antibakteri secara kuantitatif (Jawetz dan Adelberg, 2008).

a. Dilusi perbenihan cair

Dilusi perbenihan cair terdiri dari makrodilusi dan mikrodilusi. Pada prinsipnya sama hanya berbeda dalam volume. Untuk makrodilusi volume yang digunakan lebih dari 1 ml, sedangkan mikrodilusi volume yang digunakan 0,05-0,1 ml. Antibakteri yang digunakan disediakan pada berbagai macam pengenceran biasanya dalam satuan $\mu\text{g/ml}$, konsentrasi tergantung jenis dan sifat antibakteri (Koneman, 2006).

b. Dilusi agar

Pada teknik dilusi agar, zat antibakteri diencerkan dalam media agar kemudian dituangkan kedalam cawan petri. Setelah agar memadat, diinokulasikan bakteri kemudian diinkubasi pada waktu dan suhu tertentu. (Koneman, 2006).

2. Metode difusi

Metode difusi dapat dilakukan dengan metode *hole plate* dan metode *paper disc*.

a. Metode *hole plate*

Metode *hole plate* dilakukan dengan cara lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri uji dibuat suatu lubang yang selanjutnya diisi dengan zat antibakteri uji. Setelah diinkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai dengan mikroba uji, dilakukan pengamatan dengan melihat ada atau tidaknya zona hambatan di sekeliling lubang (Agbor *et al.*, 2011).

b. Metode *paper disc*

Metode *paper disc* dilakukan dengan cara *paper disc* yang telah dibubuhkan sejumlah bahan antibakteri, ditempatkan pada media yang telah diinokulasi bakteri. Setelah dilakukan inkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan di sekeliling *paper disc* (Koneman, 2006).

Hasil uji daya hambat suatu bahan antibakteri dapat diklasifikasikan dalam beberapa kategori berdasarkan ukuran zona hambat yang terbentuk (Tabel 2.2) (Susanto dkk., 2012).

Tabel 2.2 Kategori daya hambat

Diameter zona hambat (mm)	Kategori daya hambat
5	Lemah
6-10	Sedang
11-20	Kuat
21	Sangat kuat

(Susanto dkk., 2012).

2.4 Kandungan Apel yang Bersifat Antibakteri

Kandungan apel yang bersifat antibakteri diantaranya yaitu:

1. Tannin

Tannin mempunyai daya antibakteri dengan cara mendenaturasi protein pada dinding sel bakteri, kerusakan pada dinding sel mengakibatkan lisis pada bakteri (Murray, 2002).

2. Flavonoid

Flavonoid merupakan persenyawaan glukosida yang terdiri dari gula yang terikat dengan flavon serta merupakan senyawa golongan fenol yang mempunyai daya antibakteri dengan cara mendenaturasi protein sel bakteri (Rahardjo dkk., 2005).

3. Pektin

Pektin diketahui mempunyai kemampuan sebagai antiinflamasi dan antibakteri. Mekanisme pektin sebagai antibakteri bekerja dengan cara mengikat dan mengganggu permeabilitas permukaan sel bakteri sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Chansiripornchai *et al.*, 2005).

4. Saponin

Saponin mempunyai kemampuan sebagai antibakteri yang bekerja dengan cara meningkatkan permeabilitas membran sehingga menyebabkan hemolisis sel (Karlina dkk., 2013).

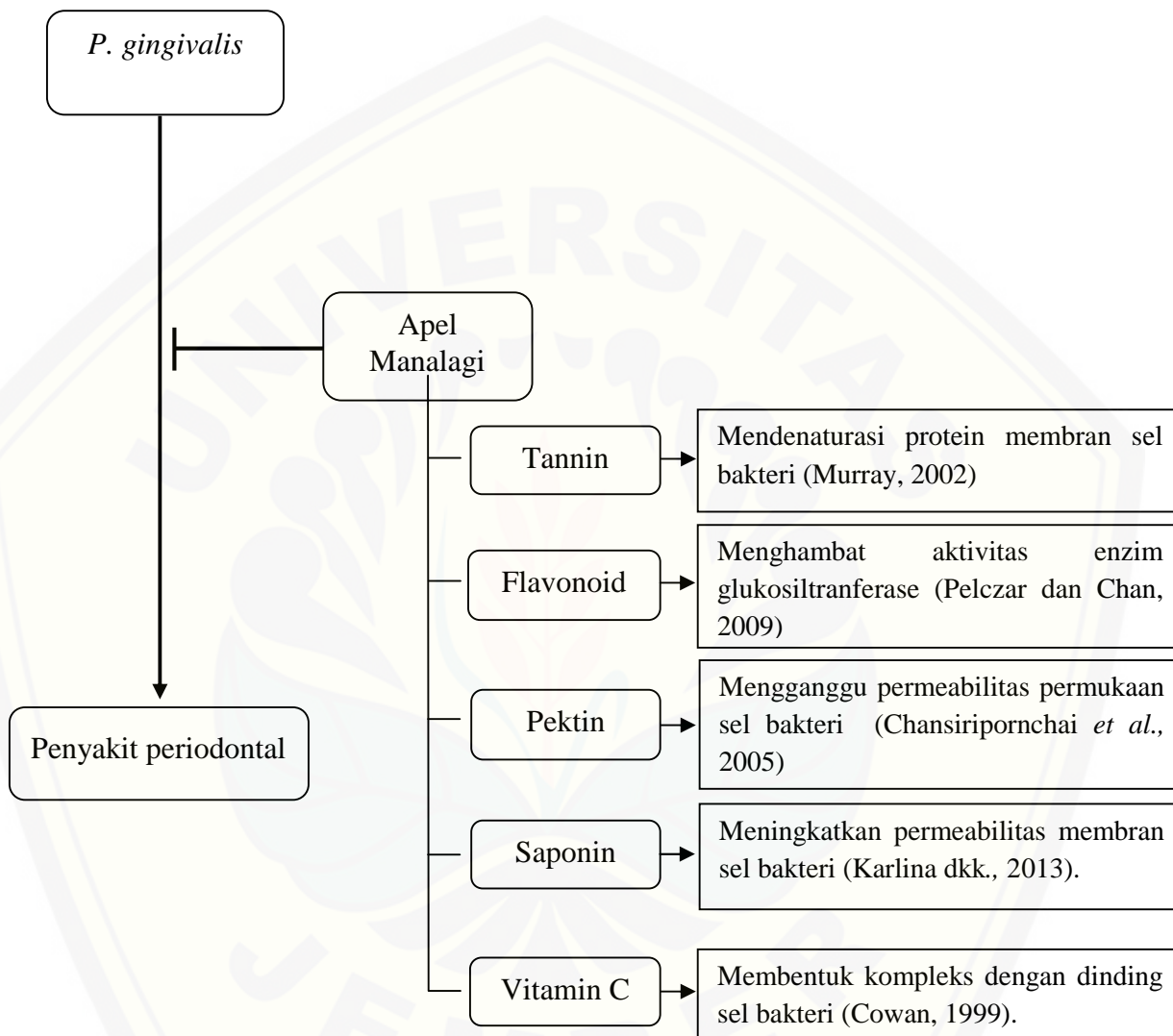
5. Vitamin C

Vitamin C merupakan antioksidan yang berfungsi meningkatkan kekebalan tubuh dari serangan radikal bebas (Hemila, 1994). Antioksidan juga diketahui berperan dalam mekanisme pertahanan terhadap mikroorganisme. Aktivitas ini dimiliki karena kemampuannya dapat membentuk kompleks dengan dinding sel bakteri, sehingga dapat berfungsi sebagai antibakteri (Cowan, 1999).

2.5 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah ekstrak apel Manalagi dapat menghambat pertumbuhan *P. gingivalis*.

2.6 Kerangka Konsep



Keterangan:

— : Menghambat

← : Menyebabkan

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris *in vitro*, yaitu penelitian dengan pemberian perlakuan terhadap variabel yang diteliti dan dilakukan di laboratorium.

3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini adalah *post test only control group design* yaitu dilakukan pengukuran terhadap variabel yang diteliti setelah diberikan perlakuan, kemudian dibandingkan dengan kelompok kontrol (Notoatmodjo, 2010).

3.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium *Bio Science*, Rumah Sakit Gigi dan Mulut Universitas Jember pada Agustus 2015.

3.4 Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak apel Manalagi konsentrasi 100%, 50%, dan 25%.

2. Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah terhambatnya pertumbuhan *P. gingivalis*.

3. Variabel Terkendali

Variabel terkendali pada penelitian ini adalah suspensi *P. gingivalis* (Mc. Farland 0,5), media pertumbuhan *P. gingivalis* (*Brain Heart Infusion*/BHI), suhu inkubasi (37°C), dan lama inkubasi (2x24 jam).

3.5 Definisi Operasional

1. Ekstrak apel Manalagi

Ekstrak apel Manalagi adalah apel Manalagi yang diekstrak menggunakan metode maserasi yaitu proses pengestrakan yang menggunakan pelarut kemudian diuapkan.

2. Terhambatnya pertumbuhan *P. gingivalis*

Terhambatnya pertumbuhan *P. gingivalis* adalah terhentinya pertumbuhan *P. gingivalis* yang disebabkan oleh pemberian ekstrak apel Manalagi. Metode yang digunakan adalah difusi *paper disc* dimana terhambatnya pertumbuhan *P. gingivalis* ditandai dengan adanya zona hambat yaitu daerah jernih di sekeliling *paper disc*.

3.6 Sampel Penelitian

Sampel penelitian adalah *paper disc* yang diletakkan pada media yang telah diinokulasi *P. gingivalis*.

3.6.1 Pengelompokan Sampel

a. Kelompok kontrol yang terdiri dari:

- 1) Kelompok K(-) : kontrol negatif (aquadest steril)
- 2) Kelompok K(+) : kontrol positif (*chlorhexidine* 0,2%)

b. Kelompok perlakuan yang terdiri dari:

- 1) Kelompok P1 : ekstrak apel Manalagi konsentrasi 100%
- 2) Kelompok P2 : ekstrak apel Manalagi konsentrasi 50%
- 3) Kelompok P3 : ekstrak apel Manalagi konsentrasi 25%

3.6.2 Jumlah Sampel

Jumlah sampel dari tiap kelompok dihitung menggunakan rumus menurut Federer (Wahyuni, 2008).

(n-1) (t-1) 15

Keterangan:

n : jumlah sampel

t : jumlah kelompok sampel

Penghitungan jumlah sampel yang dibutuhkan untuk penelitian ini adalah:

$$(n-1) (9-1) = 15$$

$$(n-1) (8) = 15$$

$$(8n) - (8) = 15$$

$$8n = 23$$

$$n = 23/8$$

$$n = 3$$

Berdasarkan penghitungan tersebut, maka jumlah sampel yang diperlukan untuk setiap kelompok adalah 3. Sehingga jumlah total sampel penelitian adalah 15.

3.7 Alat dan Bahan Penelitian

3.7.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah: *petridish*, *ose*, *object glass*, *gigaskrin*, *bunsen* (Pyrex, Japan), *tabung reaksi* (Pyrex, Japan), *timbangan/neraca* (Cento-gram® balance, Polandia), *tabung Erlenmeyer* (Pyrex, Japan), *beaker glass* (Pyrex, Japan), *jangka sorong/digital caliper* dengan derajat ketelitian 0,5 mm (Inoki, Japan), *mikropipet* (Eppendorf, Germany), *mikroskop cahaya* (Olympus, Japan), *spatula kaca*, *blender* (Maspion, Indonesia), *kompur listrik* (Maspion, Indonesia), *spektrofotometer* (Milton Roy, Germany), *laminar flow cabinet* (tipe HF-100, Korea), *autoclave* (Mommert, Germany), *desicator* (Kartell, Italy), *inkubator* (WTC Binder, Germany), *vacuum rotary evaporator*, *gelas ukur*, *spuit 2,5 cc* (Terumo, Philipines), *thermolyne* (Maxi Mix II, Dubuque, Iowa, USA), *dry heat oven* (Mommert, Germany) dan *perforator*.

3.7.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: aquadest steril, alkohol 70%, BHI-B/*Brain Heart Infusion Broth* (Merck, *Germany*), BHI-A/*Brain Heart Infusion Agar* (Merck, *Germany*), apel Manalagi (Balai Materia Medica, Batu), etanol 70%, *P. gingivalis* ATCC 33277 (Laboratorium *Bio Science*, Rumah Sakit Gigi dan Mulut Universitas Jember), hemin (MP Biomedicals, *France*), vitamin K/*menadione* (MP Biomedicals, *France*), ekstrak *yeast* (Merck, *Germany*), obat kumur *chlorhexidine* 0,2% (Minosep, Indonesia), kertas saring *Whatman* no.42, NaOH, kapas dan larutan standar Mc. Farland 0,5.

3.8 Prosedur Penelitian

3.8.1 Tahap Persiapan

a. Identifikasi apel Manalagi

Identifikasi apel Manalagi dilakukan di Balai Materia Medica, Batu.

b. Identifikasi *P. gingivalis*

Identifikasi *P. gingivalis* dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

c. Sterilisasi alat

Semua alat yang digunakan dalam penelitian ini dibersihkan dan disterilkan terlebih dahulu. Untuk alat-alat yang terbuat dari gelas disterilkan dalam *dry heat oven* selama 15 menit dengan suhu 110°C.

d. Pembuatan ekstrak apel Manalagi

Daging buah apel Manalagi seberat 1 kg, dipotong-potong tipis dan dikeringkan dengan oven pada suhu 40°C selama 24 jam kemudian dihaluskan dengan *blender*, sehingga diperoleh serbuk daging buah apel. Selanjutnya 300 gr serbuk dimasukkan ke dalam botol dan ditambahkan 2000 ml etanol 70%, botol ditutup dan dikocok berulang-ulang di atas *shaker*, disimpan selama 2x24 jam kemudian disaring dengan kertas saring. Hasil filtratnya diuapkan dengan *rotary evaporator*

dengan suhu 45°C, sehingga didapatkan ekstrak konsentrasi 100% sebanyak 140 ml.

e. Pengenceran ekstrak apel Manalagi

Ekstrak apel Manalagi diencerkan secara serial, yaitu pengenceran ekstrak dengan kelipatan yang sama dari konsentrasi sebelumnya. Sediaan ekstrak konsentrasi 50% dibuat dengan cara mengambil 1 ml sediaan 100% yang dicampur 1ml aquadest steril. Sediaan ekstrak konsentrasi 25% dibuat dengan cara mengambil 1 ml sediaan 50% yang dicampur 1 ml aquadest steril.

f. Pembuatan media pertumbuhan *P. gingivalis*

Media pertumbuhan *P. gingivalis* dibuat dengan cara sebagai berikut:

1) Persiapan hemin

50 ml hemin ditambah cairan NaOH 1N 1 ml dan aquadest steril 100ml.

2) Persiapan vitamin K

0,15 ml vitamin K ditambah cairan etanol sebanyak 30 ml.

3) Persiapan ekstrak *yeast*

3,5 gr ekstrak *yeast* ditambah 100 ml aquadest steril kemudian dipanaskan.

4) Pembuatan media BHI-B diperkaya

0,37 gr BHI-B diberikan pelarut 10 ml aquadest steril, kemudian ditambah 1 µl vitamin K, 5 µl hemin, dan 50 µl ekstrak *yeast* dalam tabung Erlenmeyer, diaduk dengan spatula kaca dan dipanaskan di atas kompor listrik sampai homogen. Selanjutnya ditutup kapas dan disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121 °C selama 15 menit. Uji sterilisasi dilakukan dengan memasukkan media ke dalam inkubator selama 24 jam. Setelah 24 jam jika media tidak berubah warna atau menjadi keruh, maka media dapat dikatakan steril.

5) Pembuatan media BHI-A diperkaya

3,7 gr BHI-A diberikan pelarut 100 ml aquadest steril, kemudian ditambah 10 µl vitamin K, 50 µl hemin, dan 500 µl ekstrak *yeast* dalam tabung erlenmeyer, diaduk dengan spatula kaca dan dipanaskan di atas kompor listrik sampai homogen. Selanjutnya ditutup kapas dan disterilkan dalam *autoclave* pada

suhu 121 °C selama 15 menit. Uji sterilisasi dilakukan dengan memasukkan media ke dalam inkubator selama 24 jam. Setelah 24 jam jika media tidak berubah warna atau menjadi keruh, maka media dapat dikatakan steril.

g. Pembuatan suspensi *P. gingivalis*

Suspensi *P. gingivalis* dibuat dengan cara sebagai berikut:

- 1) Satu ose *P. gingivalis* dari galur murni dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi media BHI-B yang diperkaya sebanyak 2 ml, kemudian tabung reaksi tersebut ditutup kapas dan dimasukkan dalam *desicator* untuk mendapatkan suasana fakultatif anaerob. Selanjutnya *desicator* dimasukkan ke dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 2x24 jam untuk mempertahankan suhu luar *desicator*.
- 2) Suspensi *P. gingivalis* dalam tabung reaksi tersebut dikocok menggunakan *thermolyne* dan diukur tingkat kekeruhannya menggunakan spektrofotometer dengan larutan standar Mc. Farland 0,5 secara visual.
- 3) Skala absorban dari suspensi *P. gingivalis* tersebut harus sesuai skala absorban dengan larutan standar Mc. Farland 0,5 (Mc. Farland 0,5 setara dengan suspensi bakteri yang mengandung $1,5 \times 10^8$ cfu/ml).

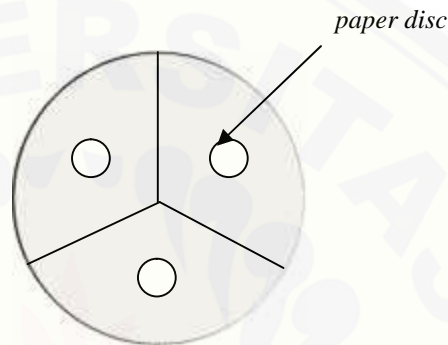
h. Persiapan *paper disc*

Paper disc dibuat dari kertas saring yang dipotong menggunakan perforator berdiameter 6 mm. Kemudian disterilisasi dengan sinar ultra violet selama 15 menit.

3.8.2 Tahap Perlakuan

- a. Disiapkan 9 *Petridish*. Setiap *Petridish* dibagi 3 daerah pada bagian dasar menggunakan spidol (Gambar 3.1).
- b. Tuang media BHI-A hangat ke dalam setiap *Petridish* hingga mencapai ketebalan 4 mm, inokulasikan 0,1 ml suspensi *P. gingivalis* dengan *sputit* pada media tersebut, ratakan dengan gigaskrin, ditunggu sampai padat sehingga didapatkan media lempeng BHI-A.

- c. Pada setiap media lempeng BHI-A yang telah diinokulasi dengan *P. gingivalis* tersebut diletakkan 3 *paper disc* yang masing-masing ditetesi bahan sesuai kelompoknya sebanyak 10 μ l dengan mikropipet (Gambar 3.1).
- d. Selanjutnya dimasukkan dalam *desicator* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 2x24 jam.



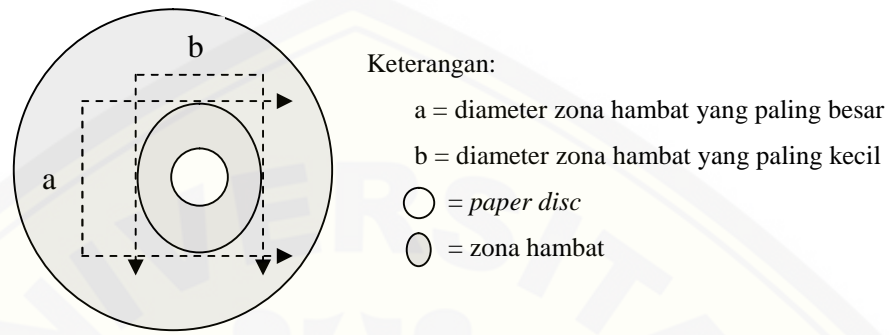
Gambar 3.1 Pembagian daerah dan peletakkan *paper disc*

3.8.3 Tahap pengukuran

Setelah diinkubasi selama 2x24 jam pada suhu 37°C, dilakukan pengukuran diameter zona hambat dengan cara sebagai berikut:

- a. *Petridish* dibalik sehingga terlihat zona hambatnya yaitu daerah jernih di sekeliling *paper disc*.
- b. Diameter zona hambat diukur dengan ketentuan sebagai berikut:
 - 1) Diameter zona hambat adalah lebar diameter daerah jernih di sekeliling *paper disc* (termasuk lebar diameter *paper disc*) dan diukur dengan jangka sorong dalam milimeter (mm).
 - 2) Apabila ada diameter zona hambat yang besar dan kecil maka keduanya dijumlah kemudian dibagi dua dan dicatat. Misalnya didapatkan daerah jernih berbentuk lonjong, maka dilakukan pengukuran diameter yang paling besar (misal a mm) dan diameter yang paling kecil (misal b mm) kemudian keduanya dijumlah dan dibagi dua (Gambar 3.2). Jadi diameter zona hambat $(x) = (a + b)/2$

- 3) Pengukuran dilakukan sebanyak 3 kali oleh orang yang berbeda dan diambil rata-rata (Hardman *et al.*, 2001).

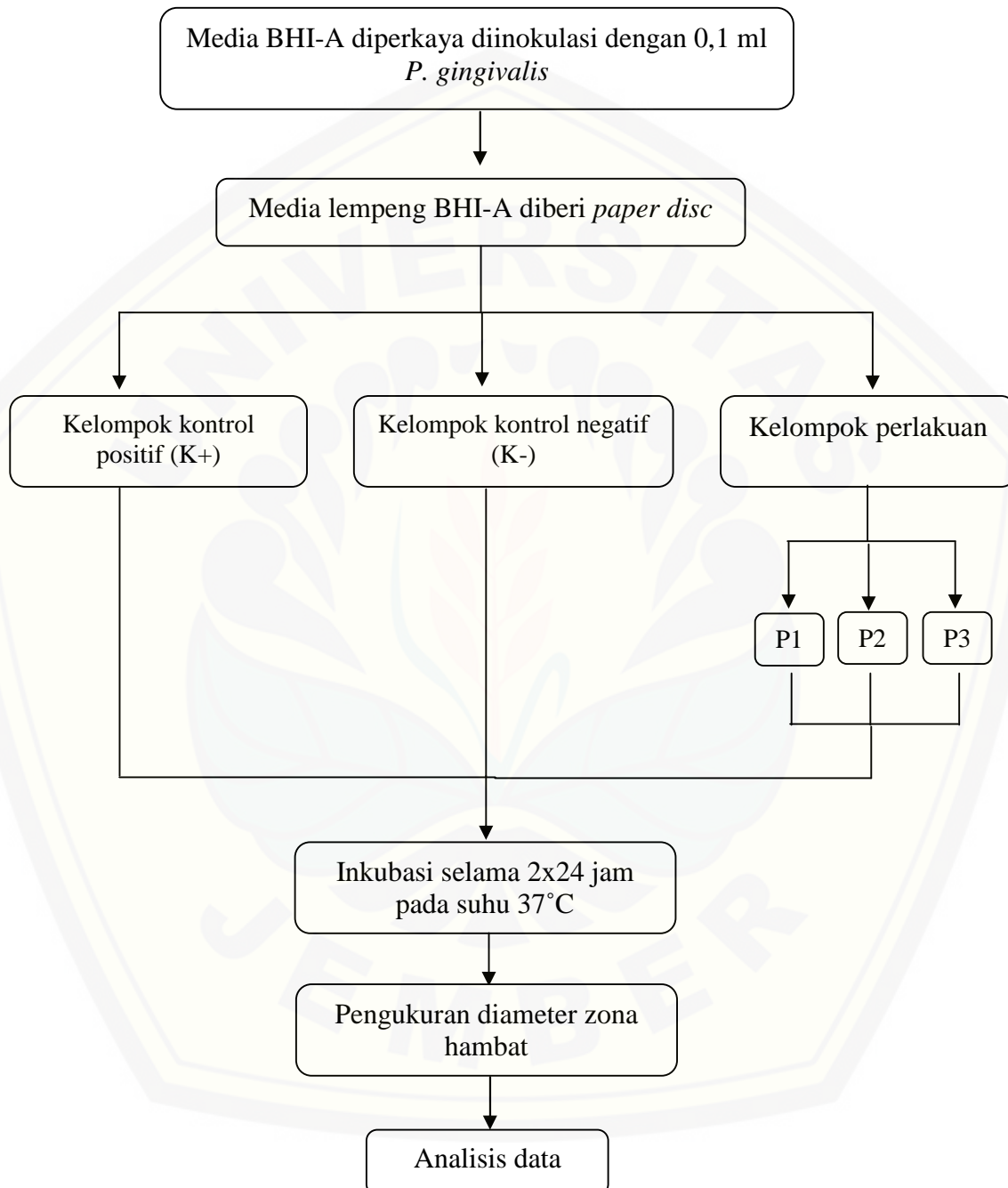


Gambar 3.2 Cara pengukuran diameter zona hambat

3.9 Analisis Data

Analisis data didahului dengan uji normalitas dan homogenitas untuk mengetahui bahwa data terdistribusi normal dan homogen sebagai prasyarat dalam pengujian statistik parametrik. Uji normalitas data dilakukan dengan menggunakan uji Kolmogorov-Smirnov. Uji selanjutnya adalah uji homogenitas data menggunakan uji Levene. Apabila hasil uji menunjukkan data normal dan homogen maka dilakukan uji *one way* ANOVA untuk mengetahui adanya perbedaan antar kelompok. Jika terdapat perbedaan, kemudian dilanjutkan dengan uji LSD (*Least Significant Different*) untuk mengetahui besarnya perbedaan antar kelompok. Tetapi jika datanya tidak terdistribusi normal dilanjutkan dengan uji statistik non parametrik Kruskal-Wallis ($p < 0,05$) dan dilanjutkan dengan uji statistik Mann-Whitney ($p < 0,05$).

3.10 Alur Penelitian



Keterangan:

P1 : ekstrak apel Manalagi konsentrasi 100%

P2 : ekstrak apel Manalagi konsentrasi 50%

P3 : ekstrak apel Manalagi konsentrasi 25%

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian yang telah dilakukan adalah ekstrak apel Manalagi mampu menghambat pertumbuhan bakteri *P. gingivalis* dan konsentrasi terkecil ekstrak apel Manalagi yang masih dapat menghambat pertumbuhan *P. gingivalis* pada penelitian ini adalah konsentrasi 50%.

5.2 Saran

Saran-saran yang dapat diberikan berdasarkan hasil dari penelitian ini adalah:

1. Perlu adanya penelitian lebih lanjut untuk mengetahui konsentrasi ekstrak apel Manalagi dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen lainnya dalam rongga mulut.
2. Perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai bentuk sediaan ekstrak apel manalagi yang dapat diaplikasikan secara efektif di dalam rongga mulut sebagai bahan antibakteri.
3. Perlu adanya penelitian lanjutan mengenai kemampuan apel Manalagi sebagai antibakteri secara *in vivo*.

DAFTAR PUSTAKA

- Agbor, V.O., Ma'ori, L., and Opajobi, S.O. 2011. Bacterial Resistance to Cephalosporins in Clinical Isolates in Jos University Teaching Hospital (JUTH). *New York Science Journal*. 4 (9): 46-55.
- Agromedia, Redaksi. 2008. *Buku Pintar Tanaman Obat*. Jakarta: PT. Agromedia Pustaka.
- Brooks, G.F., Butel J.S., and Morse, S.A.. 2005. *Medical Microbiology*. New York: Mc Graw Hill.
- Chansiripornchai, P., Pramatwinai, C., Rungsipipat, A., Pongsamart, S., and Nakchat, O. 2005. The Efficiency of Polysaccharide Gel Extracted from Fruit-Hulls of Durian (*Durio zibethinus L.*) for Wound Healing in Pig Skin. *Acta Horti*. 5 (679): 37-43.
- Chen, F., Duncan, M., Dewhurst, F., and Tsute, C. 1994. *Genome Project*. Boston: The Forsyth Institute.
- Cowan, M.M. 1999. Plants Product as Antimicrobial Agent. *Journal of American Society for Microbiology*. 12(4): 564-582.
- Departemen Kesehatan. 2010. Laporan Riset Kesehatan Dasar (Riskesda) 2010 Bidang Biomedis. Jakarta: Badan Litbangkes.
- Farah, C.S., McIntosh, L., and McCullough, M.J. 2009. Mouthwashes. *Australian Prescriber*. 31(6): 162-164.
- Geidam, Y.A., Ambali, A.G., and Onyeyili, P.A. 2007. Preliminary Phytochemical and Antibacterial Evaluation of Crude Aqueous Extract of *Psidium guajava* Leaf. *Journal of Applied Sciences*. 7 (4): 511-514.
- Grenier, D., Imbeault, S., Plamondon, P., Grenier G., Nakayama, K., and Mayrand, D. 2001. Role of Gingipains in Growth of *Porphyromonas gingivalis* in the Presence of Human Serum Albumin. *Infect Immun*. 69 (8): 5166-5172.
- Grenier, G.V and Mayrand, D. 2001. The Capacity of *Porphyromonas gingivalis* to Multiply under Iron-Limiting Conditions Correlates with Its Pathogenicity in an Animal Model. *Journal of Dental Research*. 80 (7): 1678-1682.

- Gupta, R., Chandavarkar, V., Galgali, S.R., and Mishra, M. 2012. Chlorhexidine, A Medicine for All The Oral Disease. *Global J. Med and Public Health*, 1(2): 43-48.
- Hardman, J.G., Gilman, G.A., limbird, L., and Rall, T.W. 2001. *Goodman and Gillman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 10th Edition. USA: The McGraw-Hill Companies, Inc.
- Hembing. 2006. *Ramuan Lengkap Herbal Taklukan Penyakit*. Jakarta: Pustaka Bunda Universitas.
- Hemila, H. 1994. Does Vitamin C Alleviate The Symptoms of The Common Cold? A Review of Current Evidence. *J. Infect.* 26:1-6.
- Hogg, S. 2005. *Essential Microbiology*. West Sussex: John Wiley & Sons Ltd.
- Jannata, Rabbani H., Gunadi, Ahmad, dan Ermawati, Tantin. 2014. Daya Antibakteri Ekstrak Kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris Mill.*) terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *e-Jurnal Pustaka Kesehatan*. Vol. 2 (1): 23-28.
- Jawetz, M., dan Adelberg. 2008. *Mikrobiologi Kedokteran*. Cetakan I Edisi 23. Diterjemahkan oleh: Huriwati Hartanto dkk. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Karlina, C.Y., Ibrahim, M., dan Trimulyono, G. 2013. Aktifitas Antibakteri Ekstrak Herba Krokot (*Portulaca oleracea L.*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Lentera Bio*. 2(1): 87-89.
- Koneman, E.W. 2006. *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 6th Edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Kumala, S., Pasanema, D.A.M., dan Mardiasuti. 2010, Pola Resistensi Antibiotik terhadap Isolat Bakteri Sputum penderita Tersangka Infeksi Saluran Nafas Bawah. *J. Farmasi Indonesia*, 1(5): 24-32.
- Kusumawardani, B., Pujiastuti, P., dan Sari, D.S. 2010, Uji Biokimiawi Sistem API 20 A Mendeteksi *Porphyromonas gingivalis* Isolat Klinik dari Plak Subgingiva Pasien Periodontitis Kronis. *Jurnal PDGI*. 59(3): 110-114.
- Murray, R.K. 2002. *Biokimia Harper*. Edisi 25. Diterjemahkan oleh: Andry. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.

- Naito, M., Hirakawa, H., Yamashita A., Ohara, N., Shoji, M., Yukitake, H., Nakayama, K., Toh, H., Yoshimura, F., Kuhara, S., Hattori, M., M., Hayashi, T., and Nakayama, K. 2008. Determination of the Genome Sequence of *Porphyromonas gingivalis* Strain ATCC 33277 and Genomic Comparison with Strain W83 Revealed Extensive Genome Rearrangements in *P. gingivalis*. *DNA Res.* 15 (4): 215–225.
- Nasution, R.D.T., Syarmalina, dan Harsojo. 2009. Pengaruh Lama Penyimpanan Beberapa Ekstrak Produk Angkak terhadap Pertumbuhan Bakteri *Esecherchia coli*, *Salmonella typhimurium* dan *Staphylococcus aureus* Menggunakan Laju Pertumbuhan Spesifik. Jakarta: Fakultas Farmasi Universitas Pancasila.
- Newman, M.G., Takei, H.H., Kokkevoid, P.R., and Carranza, F.A. 2012, *Carranza's Clinical Periodontology*. 11th Edition. St. Louis: Sanders Elsevier.
- Notoatmodjo, S. 2010. *Metodologi Penelitian*. Edisi Revisi. Jakarta: Rineka Pustaka.
- Pelczar, M.J dan Chan E.C.S. 2009. *Dasar-dasar Mikrobiologi 2*. Diterjemahkan oleh: Hadioetomo, Tejaimas, Sutarmi Tjitrosomo, dan Sri Lestari Angka. Jakarta: UI Press.
- Rahardjo, I.B., Effendie, K., dan Marwoto, B. 2005. *Profil Komoditas Tanaman Hias Menunjang Strategi Penelitian untuk Pengembangan Agribisnis Florikultura*. Laporan Akhir. Bogor: Balai Penelitian Tanaman Hias, Pusat Penelitian dan Pengembangan Hortikultura.
- Richard, J.L. and Howard, F.J. 1998. Life Below the Gum Line: Pathogenic Mechanisms of *Porphyromonas gingivalis*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews.* 62 (4): 1244-1262.
- Ryan, K.J. and Ray C.G. 2004. *Sherris Medical Microbiology*. 4th Edition. New York: McGraw Hill.
- Samaranayake, L. 2002. *Essential Microbiology for Dentistry*. 2nd Edition. Philadelphia: Elsevier Ltd.
- Soelarso. 1996. *Budidaya Apel*. Yogyakarta: Kanisius.
- Susanto, D., Sudrajat, dan Ruga, R. 2012. Studi Kandungan Bahan Aktif Tumbuhan Meranti Merah (*Shorea leprosula Miq*) sebagai Sumber Senyawa Antibakteri. *Jurnal Mulawarman Scientific.* 11 (2) : 1412-4980.

- Syamsuhidayat, S.S. dan Hutapea, J.R. 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*. Departemen Kesehatan RI. Jakarta.
- Wahyuni, Arlinda Sari. 2008. *Statistika Kedokteran*. Jakarta: Bamboedoea Communication.
- Wulandari, Adisti. 2012. Daya Antibakteri Ekstrak Buah Apel Manalagi terhadap Bakteri *Salmonella typhosa*. *Journal Healthy Science*. 2 (1). 60-75.
- Yoshimura, F., Murakami, Y., Nishikawa, K., Hasegawa, Y., and Kawaminami, S. 2009, Surface Components of *Porphyromonas gingivalis*. *J Periodontol*. 44 (1): 1-12.
- Yudhaningtyas, R.D.M. 2008. Pengaruh Level Pemberian BHT (*Buthyl Hidroxy Toluene*) dan Lama Penyimpanan terhadap Kadar Air, Kadar Asam Lemak Bebas, dan Angka Peroksida Bungkil Kelapa. Malang: Universitas Brawijaya Malang.
- Yulianti, S., Irlansyah, Junaedi, E., dan Mufatis, W. 2012. *Khasiat dan Manfaat Apel*. Jakarta: Agromedia.
- Yulianti, S. dan Sitanggang, M. 2006. *30 Ramuan Penakluk Hipertensi*. Edisi 1. Jakarta: Agromedia.

Lampiran A. Surat keterangan identifikasi *Porphyromonas gingivalis*

LABORATORIUM MIKROBIOLOGI
BAGIAN BIOMEDIK KEDOKTERAN GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER

SURAT KETERANGAN

No. 073/MIKRO/SKET/2015

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

Nama : Anugerah Nur Yuhyi
Nim : 111610101063
Fakultas : Kedokteran Gigi
Keperluan : identifikasi mikroorganisme

Telah melakukan uji identifikasi terhadap isolat *Porphyromonas gingivalis*, hasil uji identifikasi dengan pengecatan Gram dan mikroskopis menunjukkan bakteri bacillus Gram negatif dan tidak terkontaminasi.

Jember, 23 Juni 2015

Mengetahui,

Ketua Bagian Bomedik Kedokteran Gigi

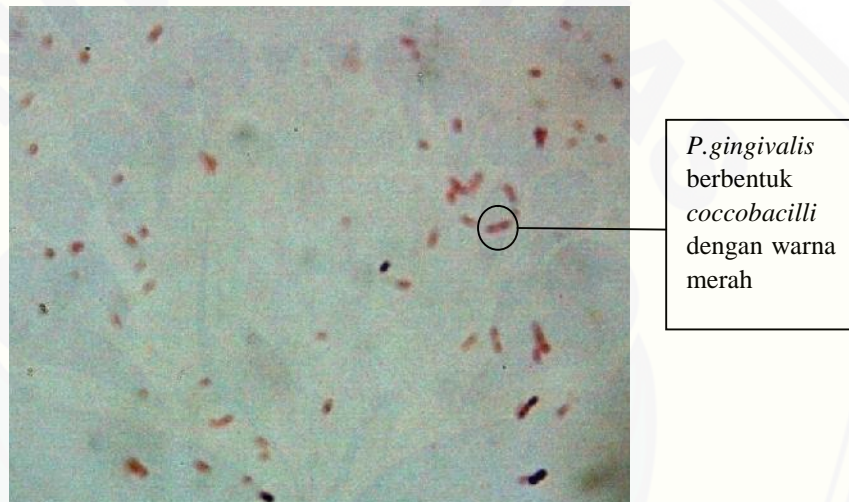
Penanggung Jawab Laboratorium Mikrobiologi

Prof. Dr. drg. I dewa Ayu Ratna d. M. Si
NIP. 196705021997022001

drg. Pujiana Endah Lestari M.kes
NIP. 197608092005012002

Lampiran B. Hasil identifikasi *Porphyromonas gingivalis*

Penelitian ini menggunakan bakteri *P. gingivalis* strain ATCC 33277 yang dibiakkan terlebih dahulu dan selanjutnya dilakukan identifikasi morfologi bakteri. Hasil identifikasi secara mikroskopis menunjukkan gambaran bakteri berbentuk batang pendek (*coccobacilli*) dan memiliki bercak hitam sebagai karakteristik khususnya. Warna merah menunjukkan bahwa bakteri merupakan bakteri golongan Gram negatif.



Gambar *P. gingivalis* dilihat melalui mikroskop cahaya dengan pembesaran 1000x.

Lampiran C. Surat keterangan identifikasi apel Manalagi



DINAS KESEHATAN PROPINSI JAWA TIMUR
UPT MATERIA MEDICA

Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396 Batu (65313)

KOTA BATU

Nomor : 074/266/101.8/2015
Sifat : Biasa
Perihal : **Determinasi Tanaman Apel Manalagi**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : ANUGRAH NUR YUHYI
NIM : 111610101063
Instansi : FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER

1. Perihal determinasi tanaman apel manalagi
 - Kingdom : Plantae
 - Sub Kingdom : Tracheobionta (berpembuluh)
 - Super Divisi : Spermatophyta
 - Divisi : Magnoliophyta
 - Kelas : Dicotyledonae
 - Bangsa : Rosales
 - Suku : Rosaceae
 - Marga : *Malus*
 - Jenis : *Malus domestica* Borkh.
 - Sinonim : *Pyrus malus*
 - Nama Umum : Apel manalagi, apel hijau.
 - Kunci Determinasi : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14b-15b-197b-208b-219b-220b-224a.
2. Deskripsi : Habitus: Perdu, tinggi 3-5 m. Batang: Berkayu, bulat, bercabang, putih kehijauan. Daun: Tunggal, bulat telur, ujung dan pangkal runcing, tepi bergerigi, berbulu, berseling, di ujung cabang, panjang 3-15 cm, lebar 2-6 cm, pertulangan menyirip, hijau. Bunga: Majemuk, bentuk malai, di ujung cabang di ujung cabang, kelopak hijau, berbulu, berbagi lima, benang sari banyak, putih, kepala sari kuning kecoklatan, putik satu, putih kekuningan, putih. Buah: Buni, bulat, ujung dan pangkal berlekuk, hijau, kadang agak kekuningan. Biji: Kecil, pipih, coklat kehitaman. Akar: Tunggang, putih kecoklatan
3. Nama Simplisia : *Pylia Malii Fructus*/ Buah Apel Manalagi.
4. Kandungan kimia : Buah dan daun mengandung saponin dan flavonoida, di samping itu buahnya juga mengandung polifenol. Buah apel selain mempunyai kandungan senyawa pektin juga mengandung zat gizi, antara lain vitamin A, B1, B2, B3, B5, B6, dan vitamin C. Terdapat pula sejumlah mineral seperti potassium, magnesium, kalsium, zat besi, dan zinc, juga mengandung asam tartar, ellagic, asam caffeic, dan klorogenic.
5. Penggunaan : Penelitian
6. Daftar Pustaka
 - Anonim. <http://www.iptek.net.id/apel>, diakses tanggal 25 Oktober 2010.
 - Anonim. <http://www.plantamor.com/apel>, diakses tanggal 12 Desember 2010.
 - Anonim. <http://www.warintek.ristek.go.id/apel>, diakses tanggal 22 Desember 2010.
 - Syamsuhidayat, S.S. dan Hutapea, J.R. 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia I*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Badan Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan.
 - Van Steenis, CGGJ. 2008. *FLORA*. Pradnya Paramita, Jakarta.

Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 18 Mei 2015
Kepala UPT Materia Medica Batu

Dr. Husin RM. Apt. MKes.
 NIP.19611102-199103 1 003

Lampiran D. Surat keterangan pembuatan ekstrak apel Manalagi



DINAS KESEHATAN PROVINSI JAWA TIMUR
UPT MATERIA MEDICA
 Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396 Batu (65313)
KOTA BATU

Nomor : 074 / 267 / 101.8 / 2015
 Sifat : Biasa
 Perihal : Surat Keterangan Ekstrak Tanaman Apel Manalagi

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : ANUGRAH NUR YUHYI
 NIM : 111610101063
 Fakultas : FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
 UNIVERSITAS JEMBER

Kami menerangkan bahwa yang bersangkutan telah melakukan ekstraksi untuk bahan penelitian dari tanaman Apel Manalagi (*Malus domestica*, Borkh). Adapun proses pembuatan dilakukan di Laboratorium Fitokimia UPT Materia Medica Batu dengan perincian sebagai berikut :

BAHAN	: Buah apel manalagi Etanol 70% Kertas saring	
ALAT	: Toples bertutup Corong gelas Timbangan analitik Gelas ukur Botol	Erlenmeyer Rotary evaporator Beaker glass Shaker digital Water bath


Cara Kerja :


1. Timbang serbuk buah apel manalagi sebanyak 300 g.
2. Lakukan pembasahan serbuk dengan pelarut etanol 70% sebanyak 500 mL.
3. Masukkan serbuk buah apel manalagi yang telah dibasahi dengan pelarut ke dalam toples, diratakan dan sambil ditambahkan pelarut sampai bahan terendam, total yang digunakan sebanyak 500 mL. Tutup toples dengan rapat selama 24 jam. Dan dishaker di atas shaker digital 50 rpm.
4. Saring ekstrak cair dengan penyaring kain. Tampung ekstrak dalam erlenmeyer.
5. Lakukan remaserasi pada ampas dengan cara dimasukkan kembali dalam toples dan ditambahkan pelarut sampai terendam (minimal 5 cm diatas permukaan serbuk). Kemudian biarkan semalam / 24 jam dan dishaker. Remaserasi menggunakan pelarut etanol 70% sebanyak 1.000 mL.
6. Hasil ekstrak cair pertama sampai dengan terakhir, dijadikan satu dan diuapkan dengan menggunakan rotary evaporator. Diperlukan waktu 2 jam untuk evaporasi.
7. Ekstrak cair yang dihasilkan dievaporasi / diuapkan diatas water bath selama 2 jam.

Hasil :

1. Dari serbuk buah apel manalagi 300 g dan diekstraksi menggunakan pelarut etanol 70% sebanyak 2.000 mL dihasilkan ekstrak cair sebanyak 140 mL.

Demikian keterangan ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.



Batu, 18 Mei 2015
 Kepala UPT Materia Medica Batu

 Drs. Husin RM. Apt. M.Kes.
 NIP.19611102 199103 1 003

Lampiran E. Foto alat dan bahan penelitian

1. Foto alat-alat penelitian



Laminar flow cabinet



Oven



Incubator



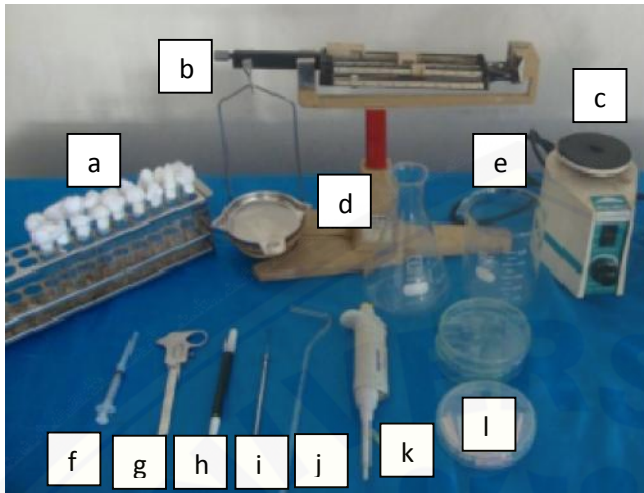
Autoclave



Desicator



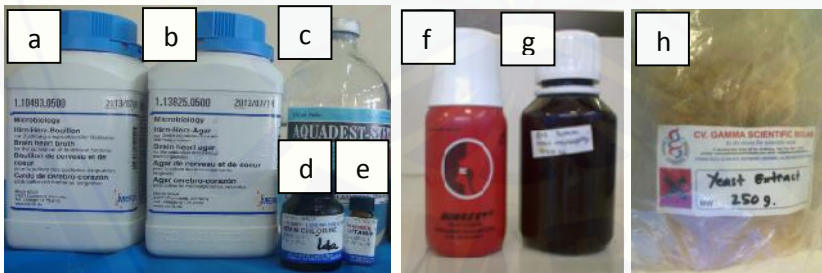
Kompur listrik



Keterangan:

- | | |
|------------------------|---------------------|
| a. Tabung reaksi | g. Jangka sorong |
| b. Neraca | h. Spidol |
| c. <i>Thermolyne</i> | i. Ose |
| d. Tabung erlenmeyer | j. Gigaskrin |
| e. <i>Beaker glass</i> | k. Mikropipet |
| f. <i>Spuit</i> | l. <i>Petridish</i> |

2. Foto bahan penelitian



Keterangan:

- | | |
|---------------------------|---|
| a. BHI-B | e. Vitamin K |
| b. BHI-A | f. Obat kumur <i>chlorhexidine</i> 0,2% |
| c. <i>Aquadest steril</i> | g. Ekstrak apel Manalagi |
| d. Hemin | h. Ekstrak <i>yeast</i> |

Lampiran F. Data hasil pengamatan

	K-	K+	P1	P2	P3
Pengamat I	6	17,13	8,61	7,45	6
	6	17,96	8,82	7,46	6
	6	17,60	8,08	6,90	6
Pengamat II	6	17,10	8,25	7,55	6
	6	17,40	9,35	7,65	6
	6	17,70	8,15	7,50	6
Pengamat III	6	17,35	8,10	7,84	6
	6	18,19	8,79	7,43	6
	6	18,17	8,05	7,13	6
Mean	6	17,63	8,49	7,42	6

Keterangan :

K- : kontrol negatif

K+ : kontrol positif

P1 : ekstrak apel Manalagi konsentrasi 100%

P2 : ekstrak apel Manalagi konsentrasi 50%

P3 : ekstrak apel Manalagi konsentrasi 25%

Mean : nilai rata-rata diameter zona hambat

Lampiran G. Analisis data

1. Uji Kolmogorov-Smirnov

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Observasi
N		15
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	,0000000
	Std. Deviation	1,38167635
Most Extreme Differences	Absolute	,261
	Positive	,154
	Negative	-,261
Test Statistic		,261
Asymp. Sig. (2-tailed)		,007 ^c

2. Uji Levene

Test of Homogeneity of Variances

Observasi

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
6,601	4	10	,007

3. Uji Kruskal-wallis

Test Statistics^{a,b}

	Observasi
Chi-Square	13,706
Df	4
Asymp. Sig.	,008

4. Uji Mann-Whitney

Ranks

	PLATE	N	Mean Rank	Sum of Ranks
PERLAKUAN	1,00	3	2,00	6,00
	2,00	3	5,00	15,00
	Total	6		

Test Statistics^a

	PERLAKUAN
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-2,121
Asymp. Sig. (2-tailed)	,034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

a. Grouping Variable: PLATE

b. Not corrected for ties.

Ranks

	PLATE	N	Mean Rank	Sum of Ranks
PERLAKUAN	1,00	3	2,00	6,00
	3,00	3	5,00	15,00
	Total	6		

Test Statistics^a

	PERLAKUAN
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-2,087
Asymp. Sig. (2-tailed)	,037
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

a. Grouping Variable: PLATE

b. Not corrected for ties.

Ranks

	PLATE	N	Mean Rank	Sum of Ranks
PERLAKUAN	1,00	3	2,00	6,00
	4,00	3	5,00	15,00
	Total	6		

Test Statistics^a

	PERLAKUAN
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-2,087
Asymp. Sig. (2-tailed)	,037
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

a. Grouping Variable: PLATE

b. Not corrected for ties.

Ranks

	PLATE	N	Mean Rank	Sum of Ranks
PERLAKUAN	1,00	3	3,50	10,50
	5,00	3	3,50	10,50
	Total	6		

Test Statistics^a

	PERLAKUAN
Mann-Whitney U	4,500
Wilcoxon W	10,500
Z	,000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1,000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1,000 ^b

a. Grouping Variable: PLATE

b. Not corrected for ties.

Ranks

	PLATE	N	Mean Rank	Sum of Ranks
PERLAKUAN	2,00	3	5,00	15,00
	3,00	3	2,00	6,00
	Total	6		

Test Statistics^a

	PERLAKUAN
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,993
Asymp. Sig. (2-tailed)	,046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

a. Grouping Variable: PLATE

b. Not corrected for ties.

Ranks

	PLATE	N	Mean Rank	Sum of Ranks
PERLAKUAN	2,00	3	5,00	15,00
	4,00	3	2,00	6,00
	Total	6		

Test Statistics^a

	PERLAKUAN
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,993
Asymp. Sig. (2-tailed)	,046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

a. Grouping Variable: PLATE

b. Not corrected for ties.

Ranks

	PLATE	N	Mean Rank	Sum of Ranks
PERLAKUAN	2,00	3	5,00	15,00
	5,00	3	2,00	6,00
	Total	6		

Test Statistics^a

	PERLAKUAN
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-2,121
Asymp. Sig. (2-tailed)	,034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

a. Grouping Variable: PLATE

b. Not corrected for ties.

Ranks

	PLATE	N	Mean Rank	Sum of Ranks
PERLAKUAN	3,00	3	5,00	15,00
	4,00	3	2,00	6,00
	Total	6		

Test Statistics^a

	PERLAKUAN
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

a. Grouping Variable: PLATE

b. Not corrected for ties.

Ranks

	PLATE	N	Mean Rank	Sum of Ranks
PERLAKUAN	3,00	3	5,00	15,00
	5,00	3	2,00	6,00
	Total	6		

Test Statistics^a

	PERLAKUAN
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-2,087
Asymp. Sig. (2-tailed)	,037
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

a. Grouping Variable: PLATE

b. Not corrected for ties.

Ranks

	PLATE	N	Mean Rank	Sum of Ranks
PERLAKUAN	4,00	3	5,00	15,00
	5,00	3	2,00	6,00
	Total	6		

Test Statistics^a

	PERLAKUAN
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-2,087
Asymp. Sig. (2-tailed)	,037
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

a. Grouping Variable: PLATE

b. Not corrected for ties.