



**PENGARUH EKSTRAK FLAVONOID RENDAH NIKOTIN LIMBAH  
DAUN TEMBAKAU KASTURI (*Nicotiana tabacum* L.) TERHADAP  
PERTUMBUHAN MIKROBA RONGGA MULUT**

**SKRIPSI**

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

Oleh:

**Ika Ayu Fatimah**  
**NIM 121610101032**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI**  
**UNIVERSITAS JEMBER**

**2016**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Bangsa dan Negaraku yang kujunjung tinggi serta Almamaterku yang selalu kujaga nama baiknya.
2. Ayahku tercinta, Suwito, S.H., M.H. dan ibuku tercinta, Dra. Reni Susana, S.Pd. dan adikku tersayang Widya Ayu Satya Pratiwi.
3. Guru-guruku sejak taman kanak-kanak hingga perguruan tinggi.
4. Sahabat-sahabatku yang selalu memberi dukungan dan motivasi.

**MOTO**

Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya  
(Q.S. Al Baqarah: 286)<sup>\*)</sup>

Dan mohonlah pertolongan (kepada Allah) dengan sabar dan salat. Dan (salat) itu  
sungguh berat, kecuali bagi orang-orang yang khusyuk  
(Q.S. Al Baqarah: 45)<sup>\*)</sup>

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

(Q.S. Al Insyirah : 6-8)<sup>\*)</sup>

<sup>\*)</sup>Departemen Agama republic Indonesia. 2011. Al-‘Alim Al-Quran dan terjemahnya.  
Bandung: PT. Mizan Bunaya Kreativa

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Ika Ayu Fatimah

NIM : 121610101032

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi saya yang berjudul: “Pengaruh Ekstrak Flavonoid Rendah Nikotin Limbah Daun Tembakau Kasturi (*Nicotiana Tabacum* L.) Terhadap Pertumbuhan Mikroba Rongga Mulut” adalah benar-benar karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang dijunjung tinggi.

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

Jember, 14 Juni 2016

Yang Menyatakan,

Ika Ayu Fatimah

NIM 121610101032

**SKRIPSI**

**PENGARUH EKSTRAK FLAVONOID RENDAH NIKOTIN LIMBAH  
DAUN TEMBAKAU KASTURI (*Nicotiana tabacum* L.) TERHADAP  
PERTUMBUHAN MIKROBA RONGGA MULUT**

Oleh:

**Ika Ayu Fatimah**

**NIM 121610101032**

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Dr. drg. Banun Kusumawardani, M.Kes

Dosen Pembimbing Pendamping : drg. Zahara Meilawaty, M.Kes

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Pengaruh Ekstrak Flavonoid Rendah Nikotin Limbah Daun Tembakau Kasturi (*Nicotiana Tabacum* L.) Terhadap Pertumbuhan Mikroba Rongga Mulut” telah diuji dan dilaksanakan pada:

Hari, tanggal : 14 Juni 2016

Tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

DosenPenguji Utama

Dosen Penguji Anggota

drg. Ekiyantini Widyowati

NIP 195809191993032001

drg. Suhartini, M.Biotech

NIP 197909262006042002

DosenPembimbing Utama

Dosen Pembimbing Anggota

Dr. drg. Banun Kusumawardani, M.Kes

NIP197005091999032001

drg. Zahara Meilawaty, M.Kes

NIP198005272008122002

Mengesahkan  
Dekan Fakultas Kedokteran Gigi  
Universitas Jember,

drg Rahardyan Parnaadji, M.Kes, Sp.Pros

NIP196901121996011001

## RINGKASAN

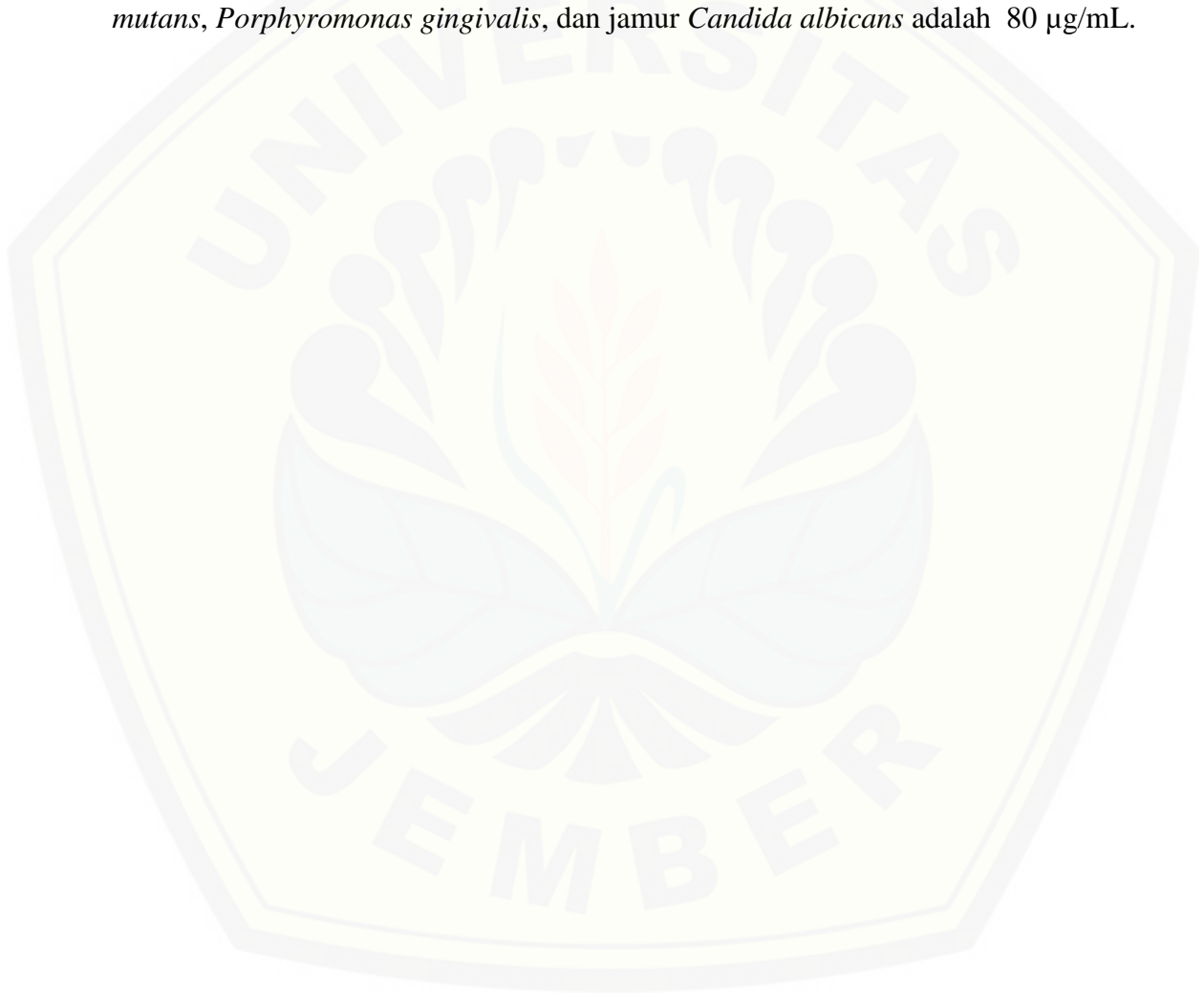
**Pengaruh Ekstrak Flavonoid Rendah Nikotin Limbah Daun Tembakau Kasturi (*Nicotiana tabaccum L.*) terhadap Pertumbuhan Mikroba Rongga Mulut:** Ika Ayu Fatimah; 121610101032; 2016; 86 Halaman; Fakultas Kedokteran Gigi universitas jember

Penyakit gigi dan mulut masih menjadi permasalahan kesehatan yang cukup besar di Indonesia. Berdasarkan RISKESDAS tahun 2013 terdapat 25,9% penduduk Indonesia mengalami penyakit gigi dan mulut. Penyakit gigi dan mulut tersebut sebagian besar diakibatkan oleh infeksi mikroba, diantaranya bakteri *Streptococcus mutans*, *Porphyromonas gingivalis* dan jamur *Candida albicans*. Salah satu upaya yang digunakan untuk mengurangi mikroba yang merugikan dalam rongga mulut adalah dengan obat kimia. Dampak negatif yang banyak ditimbulkan oleh obat kimia menyebabkan masyarakat banyak beralih ke bahan alam. Penelitian tentang bahan alam yang banyak dilakukan adalah tentang daun tembakau (*Nicotiana tabaccum L.*). Daun tembakau mengandung bahan aktif yang bermanfaat sebagai antibakteri dan antijamur, salah satunya adalah flavonoid. Daun tembakau juga memiliki kandungan nikotin yang bersifat toksik.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *the post test only control group design* yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak flavonoid bebas nikotin limbah daun tembakau Kasturi (*Nicotiana tabaccum L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Candida albicans*. Pengekstrakan flavonoid dilakukan dengan metode hidrolisis dan refluks yang dimodifikasi, kemudian diencerkan hingga konsentrasi 320 µg/mL, 160 µg/mL, dan 80 µg/mL menggunakan DMSO 0,25%. Kontrol negatif adalah DMSO 0,25%, kontrol positif menggunakan Metronidazol 30 µg/mL pada bakteri *Porphyromonas gingivalis*, Tetrasiklin 30 µg/mL pada bakteri *Streptococcus mutans*, dan Ketokonazol 0,5 µg/mL pada jamur *Candida albicans*. Uji antimikroba dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram (*disc diffusion*), pada media TSA dengan 5% *sheep blood* untuk bakteri *Porphyromonas gingivalis*, BHIA untuk bakteri *Streptococcus mutans*, dan SDA untuk jamur *Candida albicans*. Kertas cakram dengan diameter 6 mm ditetesi dengan ekstrak dan kontrol positif maupun negatif 20 µL tiap *disc*, ditempelkan pada media yang telah terdapat bakteri inokulasi dan inkubasi pada suhu 37°C dalam suasana anaerobik selama 24 dan 48 jam. Pengamatan dilakukan dengan mengukur diameter zona hambat jangka sorong digital sebanyak tiga kali oleh tiga orang pengamat, dan diambil rata-ratanya.

Hasil penelitian ini adalah ekstrak flavonoid rendah nikotin limbah daun tembakau inkubasi 24 jam dengan konsentrasi 80 µg/mL memiliki zona hambat terbesar pada pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis*, *Streptococcus mutans*, dan jamur *Candida albicans* jika dibandingkan dengan konsentrasi 320 µg/mL dan 160 µg/mL. Diameter zona hambat hasil dari inkubasi 48 jam semakin berkurang, dikarenakan zona hambat sudah ditumbuhi mikroba. Data yang diperoleh dilakukan

analisis menggunakan uji normalitas *Kolmogorov Smirnov* dan homogenitas *Levene*, dan menunjukkan data normal dan homogen ( $p > 0,05$ ). Uji ANOVA ( $p < 0,05$ ) menunjukkan  $p < 0,05$ , sehingga dilanjutkan dengan uji LSD ( $p < 0,05$ ) dan diketahui beberapa kelompok konsentrasi pada masing-masing bakteri memiliki perbedaan yang signifikan. Ekstrak flavonoid rendah nikotin limbah daun tembakau kasturi (*Nicotiana tabaccum* L.) memiliki daya hambat yang lemah terhadap bakteri *Streptococcus mutans*, daya hambat yang kuat terhadap bakteri *Porphyromonas gingivalis*, serta daya hambat yang lemah terhadap jamur *Candida albicans*. Konsentrasi ekstrak flavonoid rendah nikotin yang paling efektif sebagai antimikroba terhadap bakteri *Streptococcus mutans*, *Porphyromonas gingivalis*, dan jamur *Candida albicans* adalah 80  $\mu\text{g/mL}$ .





## PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala anugerah dan rahmat-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Ekstrak Flavonoid Rendah Nikotin Limbah Daun Tembakau Kasturi (*Nicotiana Tabacum* L.) Terhadap Pertumbuhan Mikroba Rongga Mulut”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

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

1. drg. Rahardian Parnaadji, M.Kes, Sp.Pro., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
2. Dr. drg. IDA Susilawati, M.Kes, selaku Pembantu Dekan I Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
3. Dr. drg. Banun Kusumawardani, M.Kes, selaku Dosen Pembimbing Utama (DPU) dan drg. Zahara Meilawaty, M.Kes, selaku Dosen Pembimbing Pendamping (DPP) yang telah memberikan banyak waktu, perhatian, bimbingan, ilmu, nasehat, saran, masukan, motivasi, dukungan, dan semangat dalam penyusunan skripsi ini;
4. drg. Ekiyantini Widyowati, selaku Dosen Penguji Ketua dan drg. Suhartini, M.Biotech, selaku Dosen Penguji Anggota yang telah memberikan banyak masukan, saran, dan bimbingan demi kesempurnaan skripsi ini;
5. Dr. drg. FX Ady Soesetijo, M.Kes, selaku Dosen Pembimbing Akademik (DPA) atas bimbingan, semangat, dan motivasi yang diberikan selama masa perkuliahan;
6. drg. Agustin Wulan DS, M.DSc dan drg. Dwi Warna Ayu, M.Kes, selaku anggota proyek penelitian dosen bersama, serta Riria Hendarto, S.Kg. selaku peneliti pendahulu;

7. Seluruh dosen dan staf pengajar serta karyawan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember atas ilmu, kerjasama dan bantuannya selama ini;
8. Kedua orang tuaku, ayahanda tercinta Suwito, S.H., M.H., dan ibunda Dra. Reni Susana, S.Pd., yang telah berjuang demi keberhasilan ananda;
9. Adikku tercinta, Widya Ayu Satya Pratiwi yang telah memberikan semangat dan keceriaan;
10. Keluarga bapak Soemardi, yang telah meberikan doa, nasehat, dan dukungan;
11. Keluarga besar Ponorogo dan Ngawi;
12. Bapak Kaliawan, selaku staf Laboratorium Teknik Kimia Politeknik Negeri Malang, seluruh staf Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Univversitas Jember, seluruh staf Laboratorium Bioscience RSGM Universitas Jember dan bapak Abdurrahman selaku pemilik kebun tembakau.
13. Teman sepenelitian dan seperjuangan skripsiku, Faisal, Haris, Prita, Intan, Meidi, Wulan. Terimakasih atas doa, dukungan, semangat, motivasi, kekuatan dan bantuan yang telah diberikan selama ini;
14. Sahabat-sahabatku Dika, Ceha, Lona, Diol, drg Yulia, Mbak Rere, teman-teman Kos Ceria, KPMP BK, KKN 94, PKM HWM-Kit;
15. Teman-teman seperjuangan FKG UNEJ 2012 yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu;

Pada kesempatan ini penulis juga ingin menyampaikan bahwa penyusunan skripsi ini masih banyak kekurangan, oleh karena itu, kritik serta saran yang bersifat membangun sangat diharapkan demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Jember, Juni 2016

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PERSEMBAHAN .....	ii
HALAMAN MOTTO .....	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN.....	v
HALAMAN PENGESAHAN.....	vi
RINGKASAN .....	vii
PRAKATA .....	ix
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL .....	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvi
<b>BAB 1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Latar Belakang.....</b>	<b>1</b>
<b>1.2 Rumusan Masalah.....</b>	<b>3</b>
<b>1.3 Tujuan Penelitian.....</b>	<b>4</b>
<b>1.4 Manfaat Penelitian.....</b>	<b>4</b>
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>5</b>
<b>2.1 Tembakau (<i>Nicotiana tabaccum</i>) .....</b>	<b>5</b>
2.1.1 Klasifikasi Tembakau.....	5
2.1.2 Morfologi Tembakau .....	5
2.1.3 Tembakau Kasturi.....	7
2.1.4 Kandungan Daun Tembakau.....	8
<b>2.2 Flavonoid.....</b>	<b>9</b>
<b>2.3 Nikotin.....</b>	<b>11</b>
2.3.1.Farmakodinamik Nikotin .....	12

2.3.2.Intoksinasi Nikotin .....	13
<b>2.4 Streptococcus mutans</b> .....	13
2.4.1 Klasifikasi <i>Streptococcus mutans</i> .....	13
2.4.2 Morfologi <i>Streptococcus mutans</i> .....	14
<b>2.5 Porphyromonas gingivalis</b> .....	15
2.5.1 Klasifikasi <i>Porphyromonas gingivalis</i> .....	15
2.5.2 Morfologi <i>Porphyromonas gingivalis</i> .....	16
<b>2.6 Candida albicans</b> .....	17
2.6.1 Klasifikasi <i>Candida albicans</i> .....	17
2.6.2 Morfologi <i>Candida albicans</i> .....	17
<b>2.7 Hipotesis Penelitian</b> .....	18
<b>2.8 Kerangka Konsep Penelitian</b> .....	20
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN</b> .....	<b>22</b>
<b>3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian</b> .....	22
<b>3.2 Tempat Penelitian</b> .....	22
<b>3.3 Waktu Penelitian</b> .....	22
<b>3.4 Variabel Penelitian</b> .....	22
<b>3.5 Definisi Operasional</b> .....	23
<b>3.6 Subjek Penelitian</b> .....	24
<b>3.7 Kriteria Daun Tembakau</b> .....	24
<b>3.8 Alat dan Bahan Penelitian</b> .....	25
3.8.1 Alat penelitian .....	25
3.8.2 Bahan Penelitian.....	27
<b>3.9 Prosedur Penelitian</b> .....	28
3.9.1 Tahap Persiapan .....	28
3.9.2 Proses Pemisahan Nikotin dan Ekstraksi .....	28
3.9.3 Pengenceran Ekstrak Flavonoid.....	30
3.9.4 Pembuatan Media Kultur .....	32
3.9.5 Pembuatan Suspensi Bakteri dan Jamur .....	33

3.9.6 Inokulasi Bakteri dan Jamur .....	34
3.9.7 Uji Daya Hambat Antibakteri dan Antijamur .....	34
3.9.8 Pengukuran Zona Hambat.....	36
<b>3.10 Analisis Data .....</b>	<b>37</b>
<b>3.11 Bagan Alur Penelitian .....</b>	<b>38</b>
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>39</b>
4.1 Hasil Penelitian.....	39
4.2 Analisis Data.....	43
4.3 Pembahasan .....	45
<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>50</b>
5.1 Kesimpulan.....	50
5.2 Saran .....	50
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>51</b>

**DAFTAR TABEL**

	Halaman
Tabel 2.1 Karakteristik Tembakau Kasturi .....	8
Tabel 2.2 Susunan Kimia Daun Tembakau .....	9
Tabel 4.1 Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Pertumbuhan <i>Streptococcus mutans</i> , <i>Porphyromonas gingivalis</i> , dan <i>Candida albicans</i> Inkubasi 24 Jam .....	40
Tabel 4.2 Hasil Uji <i>Least Significance Difference</i> Bakteri <i>Porphyromonas gingivalis</i> Inkubasi 24 Jam .....	44
Tabel 4.3 Hasil Uji <i>Least Significance Difference</i> Bakteri <i>Streptococcus mutans</i> 24 Jam .....	45
Tabel 4.4 Hasil Uji <i>Least Significance Difference</i> Jamur <i>Candida albicans</i> 24 Jam .....	45

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Tanaman Tembakau dan Klasifikasi Daun Tembakau .....	7
Gambar 2.2 Tembakau Kasturi .....	8
Gambar 2.3 Struktur Senyawa Flavonoid .....	10
Gambar 2.4 Bakteri <i>Streptococcus mutans</i> .....	14
Gambar 2.5 Bakteri <i>Porphyromonas gingivalis</i> .....	17
Gambar 2.6 Jamur <i>Candida albicans</i> .....	18
Gambar 2.7 Kerangka Konsep Penelitian .....	20
Gambar 3.1 Gambar Limbah Daun Tembakau Kasturi .....	25
Gambar 3.2 Pengukuran Zona Hambat dan Desain Peletakan Disc .....	36
Gambar 3.3 Alur Penelitian.....	37
Gambar 4.1 Hasil Pertumbuhan Bakteri <i>Porphyromonas gingivalis</i> Inkubasi 24 Jam.....	41
Gambar 4.2 Hasil Pertumbuhan Bakteri <i>Streptococcus mutans</i> Inkubasi 24 Jam.....	42
Gambar 4.3 Hasil Pertumbuhan Jamur <i>Candida albicans</i> Inkubasi 24 Jam.....	43

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran A. Klasifikasi Flavonoid.....	59
Lampiran B. Pengenceran Ekstrak Flavonoid Limbah Daun Tembakau.....	60
Lampiran C. Hasil Uji Statistik.....	62
Lampiran D. Alat dan Bahan Penelitian .....	71
Lampiran E. Surat Keterangan Etik Penelitian .....	77
Lampiran F. Surat Keterangan Identifikasi Tumbuhan.....	78
Lampiran G. Surat Izin Penelitian.....	79
Lampiran H. Surat Identifikasi Bakteri <i>Streptococcus mutans</i> .....	80
Lampiran I. Surat Identifikasi Bakteri <i>Porphyromonas gingivalis</i> .....	81
Lampiran J. Surat Identifikasi Jamur <i>Candida albicans</i> .....	82
Lampiran K. Data Hasil Penelitian .....	83





## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1.Latar Belakang

Penyakit gigi dan mulut masih menjadi permasalahan kesehatan yang cukup besar di Indonesia. Berdasarkan RISKESDAS tahun 2013 terdapat 25,9% penduduk Indonesia mengalami penyakit gigi dan mulut. Penyakit gigi dan mulut tersebut sebagian besar diakibatkan oleh infeksi mikroba. Hal ini dikarenakan rongga mulut merupakan pintu masuk dan sarang bagi mikroba. Mikroba rongga mulut yang paling banyak terlibat dalam terjadinya berbagai penyakit rongga mulut diantaranya adalah bakteri *Streptococcus mutans*, *Porphyromonas gingivalis* dan jamur *Candida albicans* (Lamont dan Jenkinson, 2010). Bakteri *Streptococcus mutans* merupakan bakteri penyebab utama karies gigi, yang mampu mensintesis polisakarida ekstraseluler yang tidak larut dari sukrosa dan memproduksi asam laktat (Sabir, 2005). Sedangkan bakteri *Porphyromonas gingivalis* berperan penting dalam virulensi biofilm dan inflamasi jaringan, serta menjadi patogen utama dari jaringan periodontal (Hajishengallis, 2011; 2012). Jamur *Candida albicans* merupakan flora normal rongga mulut dan dapat menjadi patogen apabila daya tahan tubuh menurun, baik lokal maupun sistemik (Tortora, *et al.*, 2004).

Salah satu upaya yang digunakan untuk mengurangi mikroba yang merugikan dalam rongga mulut adalah dengan obat kimia. Obat kimia yang banyak direkomendasikan untuk antibakteri dan antijamur diantaranya adalah Ketokonazole untuk *Candida albicans*, Tetrasiklin untuk bakteri *Streptococcus mutans*, dan Metronidazole untuk bakteri *Porphyromonas gingivalis*. Ketokonazole bekerja dengan menghambat enzim sitokrom P450 jamur sehingga sintesa ergosterol jamur terganggu dan kerusakan membrane sel terjadi. Tetrasiklin dapat menghambat sintesis protein bakteri pada ribosomnya, sedangkan Metronidazole sangat baik apabila digunakan untuk membunuh bakteri gram negatif anaerob. Obat-obat tersebut memiliki beberapa efek samping, diantaranya rasa pusing, mual dan rasa kecap logam

untuk Metronidazole, hepatotoksin untuk Ketokonazol, dan perubahan warna serta disgenesis gigi untuk efek samping Tetrasiklin (Gunawan, 2007).

Dampak negatif yang banyak ditimbulkan oleh obat kimia menyebabkan masyarakat banyak beralih ke bahan alam. Hal ini dikarenakan pemanfaatan bahan alam yang digunakan sebagai obat jarang menimbulkan efek samping yang merugikan dibandingkan dengan obat yang terbuat dari bahan sintesis (Sabir, 2005).

Penelitian bahan alam yang banyak dilakukan adalah tentang daun tembakau (*Nicotiana tabaccum L*). Daun tembakau merupakan hasil pertanian yang menjadi komoditi ekspor Kabupaten Jember, dengan angka produksi pada tahun 2012 mencapai 31.284 Ton (BPS, 2012). Tembakau jenis Kasturi merupakan jenis tembakau yang banyak dibudidayakan di daerah Jember dan Bondowoso (Jawa Timur) (Susilowati, 2006). Pemanfaatan daun tembakau yang selama ini dilakukan masyarakat adalah sebagai bahan baku rokok dan cerutu untuk daun yang dinilai baik kualitasnya, sedangkan daun tembakau limbah atau kusiran memiliki nilai jual yang amat rendah. Daun tembakau mengandung bahan aktif yang bermanfaat sebagai antibakteri dan antijamur (Taiga dan Friday, 2009; Bakht *et al.*, 2012; Putri, *et al.*, 2015). Hasil penelitian pendahuluan yang dilakukan oleh Putri (2015) menunjukkan ekstrak kasar daun tembakau Kasturi memiliki daya antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dan *Porphyromonas gingivalis* dengan konsentrasi 80%, serta pada jamur *Candida albicans* dengan konsentrasi 100%. Salah satu bahan aktif yang terkandung dalam tembakau yang dapat digunakan sebagai antibakteri dan antijamur adalah flavonoid. Flavonoid merupakan golongan terbesar dari fenol yang mampu mendenaturasi protein dan berfungsi sebagai antibakteri dan antijamur (Taiga dan Friday, 2009; Bakh *et al.*, 2012). Antibakteri pada flavonoid bekerja sebagai bakterisidal dengan merusak membran sitoplasma (Tsuchiya, 2000; Dzoyem, *et al.*, 2013), menghambat sintesis asam nukleat (Plaper, 2003; Dzoyem, *et al.*, 2013), menghambat metabolisme energi (Dzoyem, *et al.*, 2013). Sedangkan sebagai antifungi, flavonoid bekerja menghambat geminasi spora serta berefek toksik pada sel jamur (Lenny, 2006; Jupriadi, 2011).

Daun tembakau juga memiliki kandungan nikotin. Kadar nikotin dalam daun tembakau berkisar sekitar 4 % dan pada tanaman tembakau jenis tertentu yang baik kadar nikotin di daunnya dapat mencapai 8 % (Gloria, 2008). Dosis fatal pada manusia dewasa diperkirakan sekitar 60 mg serta merupakan racun yang amat berbahaya dan menyamai sianida dalam kecepatan kerjanya (Gunawan, 2007). Nikotin dapat memberikan efek pada sistem kardiovaskuler yaitu hipertensi, takikardi, dan vasokonstriksi perifer, dan pada sistem pencernaan dan saluran kemih menimbulkan gejala mual, muntah, diare, dan peningkatan pembentukan urin (Gayatri, 2012).

Penelitian mengenai pengaruh ekstrak flavonoid daun tembakau rendah nikotin terhadap mikroba rongga mulut belum pernah dilakukan. Berdasarkan latar belakang tersebut, penulis ingin meneliti pengaruh ekstrak flavonoid rendah nikotin dengan memanfaatkan limbah daun tembakau Kasturi terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*, *Porphyromonas gingivalis* dan jamur *Candida albicans*. Hasil penelitian ini diharapkan dapat dimanfaatkan dan dikembangkan sebagai acuan bahan dasar pembuatan obat kumur antimikroba untuk pencegahan penyakit karies gigi, penyakit periodontal, dan kandidiasis.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang penelitian yang telah diuraikan, maka dapat dirumuskan permasalahan, yaitu:

1. Apakah ekstrak flavonoid rendah nikotin limbah daun tembakau Kasturi (*Nicotiana tabaccum L*) berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*?
2. Apakah ekstrak flavonoid rendah nikotin limbah daun tembakau Kasturi (*Nicotiana tabaccum L*) berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis*?

3. Apakah ekstrak flavonoid rendah nikotin limbah daun tembakau Kasturi (*Nicotiana tabaccum L*) berpengaruh terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans*?

### 1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui pengaruh ekstrak flavonoid rendah nikotin limbah daun tembakau Kasturi (*Nicotiana tabaccum L*) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*.
2. Mengetahui pengaruh ekstrak flavonoid rendah nikotin limbah daun tembakau Kasturi (*Nicotiana tabaccum L*) terhadap pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis*.
3. Mengetahui pengaruh ekstrak flavonoid rendah nikotin limbah daun tembakau Kasturi (*Nicotiana tabaccum L*) terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans*.

### 1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah :

- a. Memberikan pengetahuan mengenai daya antibakteri ekstrak flavonoid rendah nikotin limbah daun tembakau Kasturi (*Nicotiana tabaccum L*) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dan *Porphyromonas gingivalis*.
- b. Memberikan pengetahuan mengenai daya antijamur ekstrak flavonoid rendah nikotin limbah daun tembakau Kasturi (*Nicotiana tabaccum L*) terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans*.
- c. Sebagai acuan bahan dasar pembuatan obat kumur antimikroba untuk mencegah penyakit karies gigi, kandidiasis, dan penyakit periodontal.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tembakau (*Nicotiana tabaccum L*)

Tembakau merupakan tanaman perkebunan yang tidak termasuk dalam kelompok tanaman pangan. Secara umum tembakau dimanfaatkan bagian daunnya sebagai bahan utama dalam pembuatan rokok .

#### 2.1.1 Klasifikasi Tembakau

Klasifikasi tanaman tembakau adalah sebagai berikut :

Klas : *Dycotyledoneae*

Ordo : *Personatae*

Familia : *Solanaceae*

Sub Familia : *Nicotianae*

Genus : *Nicotiana*

Spesies : *Nicotiana tabaccum L* dan *Nicotiana rustica*

Tanaman tembakau termasuk dalam famili *solanaceae*, yang memiliki 85 genus, yang terdiri dari  $\pm 1800$  spesies. *Nicotiana tabaccum L* merupakan tanaman yang paling banyak dibudidayakan (Matnawi, 1997).

#### 2.1.2 Morfologi Tembakau

##### 2.1.2.1 Akar (*Radix*)

Tanaman tembakau memiliki akar tunggang apabila tumbuh bebas pada tanah yang subur, bukan berasal dari bibit cabutan. Akar tunggang yang terdapat pada tumbuhan tembakau mencapai 0,75 m. Banyaknya serabut akar yang dimiliki tanaman tembakau dipengaruhi beberapa macam faktor, seperti jenis tanah dan kesuburan tanah (Matnawi, 1997).

#### 2.1.2.2 Batang (*Caulis*)

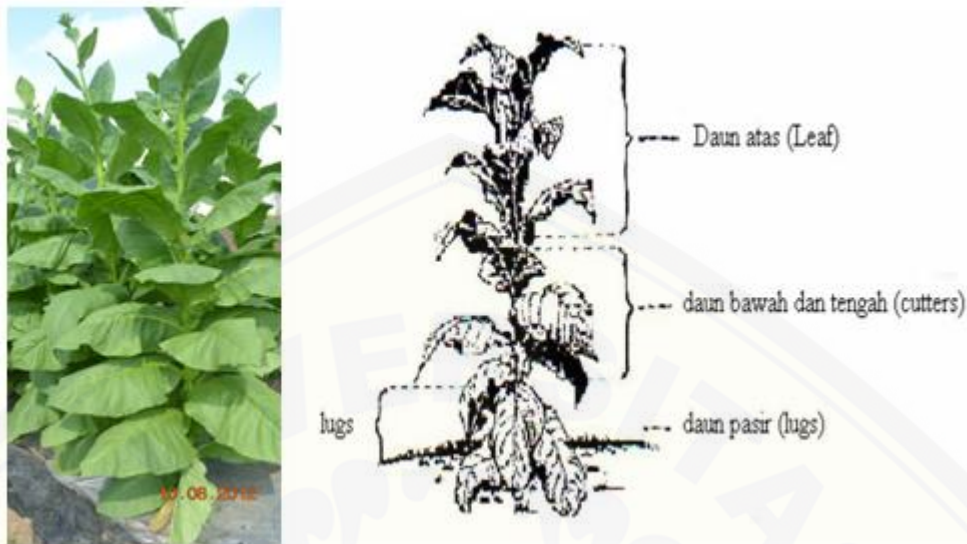
Batang tanaman tembakau sangat beragam mulai dari ukuran satu meter sampai empat meter, dengan bentuk agak bulat, bertekstur agak lunak tetapi kuat dan semakin ke ujung semakin kecil. Batang tanaman tembakau tidak bercabang kecuali kwitika mendekati waktu berbunga. Pada tiap ruas batang, selain ditumbuhi daun, juga ditumbuhi tunas ketiak daun. Diameter batang tanaman tembakau adalah sekitar 5 cm. (Usmadi, *et al.* 2007).

#### 2.1.2.3 Daun (*Folium*)

Daun tembakau ada yang berbentuk ovalis, oblongus, orbicularis, dan ovatus. Daun-daun tersebut memiliki tangkai yang langsung menempel pada batang (Matnawi, 1997). Jumlah daun yang dapat dipetik setiap batang ada 18-32 helai daun, yang mengelilingi batang. Ukuran tebal tipis serta besar kecilnya berbeda-beda, tergantung jenis daun, varietas tanaman, kesuburan tanah dan perawatan. Daun tembakau secara umum diklasifikasikan berdasarkan letaknya pada batang, yang dimulai dari urutan bawah ke atas, yaitu : daun pasir (*zand blad/lugs*), kaki (*voet blad/cutters*), tengah (*midden blad/leaf*), dan atas (*top blad/tips*) (Susilowati, 2006). Gambar mengenai daun tembakau dapat dilihat pada gambar 2.1.

#### 2.1.2.4 Bunga (*flos*) dan Buah (*fructus*)

Tanaman tembakau memiliki bunga terminal dengan susnan bunga karang berbentuk malai. Bunga memiliki kelopak berwarna hijau yang berbentuk seperti lonceng dengan kelopak yang saling bertautan, dan memiliki benang sari berjumlah lima batang. Kepala sari memiliki bentuk lonjong dan memiliki celah yang memanjang. (Usmadi, *et al.* 2007).



Gambar 2.1 Tanaman tembakau dan klasifikasi daun tembakau berdasarkan letak daun pada batang (Sumber: <http://litbangjember.wordpress.com/2012/10/10/morfologi-tanaman-tembakau/>; Susilowati, 2006).

### 2.1.3 Tembakau Kasturi

Tembakau jenis Kasturi merupakan jenis tembakau yang banyak dibudidayakan di daerah Jember dan Bondowoso (Jawa Timur) (Susilowati, 2006). Tembakau Kasturi merupakan jenis tembakau yang diolah secara krosok (*leaf type*) atau lembaran-lembaran daun dan dibudidayakan pada musim kemarau atau dikenal dengan istilah *Voor Oogst* (VO). Tembakau Kasturi berdasarkan cara pengeringannya termasuk dalam tipe Burley karena proses pengeringannya menggunakan bantuan sinar matahari secara langsung (*sun cured*). Tembakau Kasturi ini memiliki ciri khas yang tidak dimiliki oleh tembakau lain yaitu memiliki aroma coklat.

Kandungan nikotin pada tembakau Kasturi mencapai 3,21%, sedangkan pada jenis Naus maksimal hanya mencapai 1,75% (Sholeh *et al.*, 2000). Gambar tembakau Kasturi dapat dilihat pada gambar 2.2. Jenis Tembakau Kasturi yang umumnya diusahakan di Kabupaten Jember adalah Tembakau Kasturi 1 dan Kasturi 2. Kasturi 1 dan Kasturi 2 merupakan hasil pemuliaan tanaman yang dilakukan pada tahun 2007 berdasarkan SK Mentan No:132/Kpts/SR.120/2/ 2007 dan No:



33/Kpts/SR.120/2/2007 (Herminingsih, 2014). Deskripsi kedua varietas tersebut secara lengkap tersaji pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1. Karakteristik Tembakau Kasturi 1 dan Kasturi 2 di Kabupaten Jember

Karakteristik	Kasturi 1	Kasturi 2
Asal varietas	Seleksi massa postif Kasturi Mawar, jember	Seleksi massa positif Kasturi Ledokombo
Bentuk daun	Lonjong	Lonjong
Ujung daun	Meruncing	Meruncing
Tepi daun	Rata	Licin
Permukaan daun	Rata	Rata
Phylotaxi	2/5, putar ke kiri	2/5, putar ke kiri
Indeks daun	0,486	0,529
Jumlah daun	16-19 lembar	17-19 lembar
Produksi	1,75 ton krosok/ha	1,75 ton krosok/ha
Indeks mutu	81,75 + 0,98	82,40 + 1,03
Kadar nikotin	3,21 + 0,08	3,54 + 0,04

Sumber: balittas.go.id, 2012



Gambar 2.2 Tembakau Kasturi (Sumber: <http://Kasturiradia.blogspot.com/>).

#### 2.1.4 Kandungan Daun Tembakau

Daun tembakau mengandung bahan aktif yang bermanfaat sebagai antibakteri dan antijamur (Bakht dkk., 2012; Taiga dan Friday, 2009). Bahan aktif tersebut antara lain golongan fenol berupa flavonoid, golongan alkaloid berupa nikotin, golongan saponin berupa steroid dan juga mengandung golongan minyak atsiri

berupa terpenoid (Fathiazad, 2005; Susilowati, 2006; Rusli *et al.*, 2011). Daftar kandungan daun tembakau dijelaskan dalam tabel 2.2.

**Tabel 2.2** Susunan kimia daun tembakau menurut Cahyono (1998)

Uraian	Jumlah (%)
Abu	20
Gula	0,4-2,5
Fenol	0,0-0,5
Nitrat	1,0-2,0
Nikotin:	
a. Pada daun bawah	0,16-2,89
b. Pada daun tengah	0,3-3,75
c. Pada daun atas	0,5-4,0
Kandungan N total	2,18-3,58

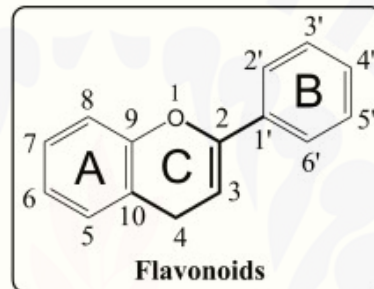
## 2.2. Flavonoid

Flavonoid berasal dari kata flavon atau fenil 2 kromon yang mempunyai kerangka dasar g piron. Flavonoid digunakan untuk menamakan golongan senyawa yang memiliki struktur kerangka dasar C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>. Setiap bagian C<sub>6</sub> merupakan cincin benzona yang digunakan dengan atom (C<sub>3</sub>) yang merupakan rantai alifatis yang dapat pula membentuk cincin ketiga (Sabir, 2003).

Flavonoid terdapat pada tumbuhan dan produk terkait seperti propolis dan madu (Havsteen, 2002). Pada daun, flavonoid berguna sebagai fungsi fisiologis tumbuhan, yaitu menjaganya dari jamur dan radiasi UV-B. Flavonoid juga berguna dalam fotosintesis, transfer energi, kinerja hormon pertumbuhan, mengontrol respirasi, morfogenesis, dan penentuan jenis kelamin tumbuhan (Cushnie, 2005).

Terdapat 14 kelas dari keseluruhan flavonoid, yang dibedakan berdasarkan pada bentuk dasarnya di alam dan posisi dari cincin A, B, dan C (Heendrich, 2006) (Gambar 2.3). Flavonoid dapat diklasifikasikan berdasarkan asal biosintesisnya, seperti flavones, isoflavones, dan flavonols (lampiran A). Flavonoid memiliki

banyak manfaat dalam aktivitas biologis, seperti antibakteri, antifungi, antivirus, anti alergi, anti-inflamasi, antiploriveratif, dan antioksidan (Garcia-Mediavilla, *et al.* 2007; Chusnie, *et al.* 2005; Hendrich, 2006). Potensi flavonoid yang banyak diteliti saat ini adalah sebagai bahan tambahan (Stapleton, 2007) untuk pengobatan infeksi bakteri, obat-obatan untuk mengobati menghambat racun penyakit (Choi, 2007), terapi virulensi (Vandeputte, 2010) dan *molekul capture* untuk menghapus endotoksin dari sediaan farmasi (Delehanty, 2007).



Gambar 2.3. Struktur Senyawa Flavonoid (Tarahovsky, *et al.* 2014)

Flavonoid merupakan golongan terbesar dari fenol yang mampu mendenaturasi protein dan berfungsi sebagai antibakteri dan antijamur (Taiga dan Friday, 2009; Bakh *et al.*, 2012). Selama beberapa dekade, aktivitas antibakteri produk alami kaya flavonoid telah dilaporkan dalam literatur ilmiah. Penelitian ini terus dilakukan beberapa tahun terakhir, dengan hasil beberapa tanaman dan ekstrak propolis teridentifikasi mampu menghambat dengan konsentrasi hambat minimum <100 µg/ml (Koru, 2007; Fabri, 2009; Aremu, 2010) dan penelitian Uzel (2015) <10 µg/ml.

Flavonoid mengakibatkan kerusakan membran sitoplasma dengan mengurangi fluiditas dari membran (Tsuchiya, 2000), menyebabkan kebocoran, serta dengan menghasilkan hidrogen peroksida (Arakawa, *et al.* 2004). Sedangkan sistem kerjanya dalam menghambat sintesis asam nukleat adalah dengan menghambat topoisomerase (Navaro, *et al.* 2005; Gradisar, *et al.* 2007). Metabolisme energi pada bakteri juga

dihambat dengan menghambat sintesis ATP (Chinnam, *et al.* 2010).

Flavonoid juga berfungsi menghambat pembentukan spora jamur patogen. Flavonoid juga efektif dalam menghambat proses pertumbuhan *Candida albicans*. Flavonoid berperan dalam merusak dinding sel jamur (Obongoya *et al.*, 2010). Flavonoid dapat berikatan dengan dinding sel jamur melalui sebuah kompleks protein-fenol, yang melibatkan adanya ikatan hidrogen antara protein dan fenol. Kompleks ini nantinya yang mengakibatkan kerusakan (denaturasi) ikatan hidrogen dalam protein pada dinding sel. Selanjutnya, kerusakan ini menyebabkan matriks intraseluler jamur keluar dan terjadi kematian sel (Cushnie dan Lamb, 2005).

### 2.3. Nikotin

Nikotin adalah suatu alkaloid dengan nama kimia *3-(1-metil-2-pirolidil) piridin*, mempunyai rumus molekul  $C_{10}H_{14}N$ . Saat diekstraksi dari daun tembakau, nikotin tak berwarna, tetapi segera menjadi coklat ketika bersentuhan dengan udara dan mempunyai kenampakan seperti minyak, larut dalam air dan juga larut dalam pelarut organik pada umumnya, seperti etanol, petroleum eter, kloroform. Nikotin dapat menguap dan dapat dimurnikan dengan cara penyulingan uap dari larutan yang dibasakan (Suhenny, 2010).

Nikotin adalah bahan alkaloid toksik yang merupakan senyawa amin tersier, bersifat basa lemah dengan PH 8,0. Pada PH tersebut, sebanyak 31% nikotin berbentuk bukan ion dapat melewati membran secara cepat sehingga di mukosa pipi hanya terjadi sedikit absorpsi nikotin dari asap rokok. Pada tanaman tembakau, nikotin terutama terdapat pada daunnya. Kadar nikotin dalam daun tembakau berkisar sekitar 4% dan pada tanaman tembakau jenis tertentu yang baik kadar nikotin dalam daunnya dapat mencapai 8% (Gloria, 2008).

#### 2.3.1. Farmakodinamik Nikotin

Perubahan dalam tubuh setelah pemberian nikotin sangat rumit. Hal ini disebabkan karena kerja nikotin yang luas terhadap ganglion simpatis maupun

parasimpatis dan efek bifasiknya terhadap ganglion (merangsang dan menghambat). Takikardia misalnya, dapat terjadi karena perangsangan ganglion simpatis atau hambatan ganglion parasimpatis, hal yang sebaliknya mendasari terjadinya bradikardi. Selain itu, nikotin dapat merangsang medula adrenal dengan akibat pelepasan katekolamin yang menimbulkan takikardia dan kenaikan tekanan darah. Efek yang terlihat merupakan resultan dari berbagai mekanisme tersebut, ditambah lagi dengan kenaikan tonus jaringan sewaktu obat diberikan dan refleks-refleks kompensasi tubuh (Gunawan, 2007).

Perangsangan pada ganglion terjadi dengan dosis kecil nikotin, sehingga timbul EPSP (*Excitatory Postsynaptic Potential*) awal yang mencapai ambang rangsang dan menimbulkan potensial aksi. Apabila dosis yang diberikan besar, maka terjadi EPSP (depolarisasi) yang persisten, yang menimbulkan desensitisasi reseptor sehingga menjadi penghambatan ganglion. Efek bifasik ini juga terlihat pada medula adrenal yang secara embriologik merupakan suatu ganglion simpatis. Terdapat pula perubahan pada otot rangka yang mirip dengan apa yang terjadi pada ganglion karena juga terdapat 2 fase. Tetapi efek perangsangan dengan cepat tertutup oleh efek paralisis yang terjadi akibat desensitisasi reseptor. Sedangkan pada sistem saraf pusat nikotin berperan sebagai suatu perangsang SSP yang kuat, yang akan menimbulkan tremor serta konvulsi pada dosis besar. Perangsangan respirasi juga sangat jelas terlihat apabila nikotin diberikan dengan dosis besar pada medula oblongata, diikuti dengan depresi, kematian akibat paralisis pusat pernapasan dan paralisis otot-otot pernapasan (perifer) (Gunawan, 2007).

Efek pada sistem kardiovaskuler juga terjadi. Efek ini merupakan resultan dari perangsangan ganglion simpatis dan medula adrenal serta pelepasan katekolamin dari ujung saraf simpatis. Setelah pemberian nikotin, biasanya tonus simpatis lebih jelas sehingga terlihat takikardia dan vasokonstriksi. Berlainan terhadap efek sistem kardiovaskular, nikotin menyebabkan perangsangan ganglion parasimpatis dan ujung saraf kolinergik pada usus, sehingga tonus usus dan peristalsis meninggi. Mual,

muntah, dan kadang-kadang diare terlihat pada orang yang belum pernah terpapar nikotin sebelumnya (Gunawan, 2007).

### 2.3.2. Intoksikasi Nikotin

Intoksikasi akut dilaporkan terjadi karena tidak sengaja menelan insektisida yang mengandung nikotin atau pada anak-anak karena menelan produk tembakau. Dosis fatal pada manusia dewasa diperkirakan sekitar 60 mg (Gunawan, 2007).

Nikotin merupakan racun yang amat berbahaya dan menyamai sianida dalam kecepatan kerjanya. Pertama-tama timbul mual dan salivasi disertai dengan kolik usus, muntah, dan diare. Selanjutnya timbul keringat dingin, sakit kepala, pusing, pendengaran dan penglihatan terganggu, serta otot-otot menjadi lemah. Pupil menunjukkan miosis dan selanjutnya berubah menjadi midriasis, nadi lemah, cepat, dan tidak teratur, serta tekanan darah turun dan pernapasan menjadi dangkal akibat depresi sentral dan kelumpuhan otot respirasi, yang berakhir dengan kematian (Gunawan, 2007).

## 2.4 *Streptococcus mutans*

*Streptococcus mutans* merupakan bakteri yang bersifat  $\alpha$ -hemolitik dan komensal oportunistik (Samaranayake, 2002; Jawetz *et al.*, 2005; Regina, 2007; Arora, 2009).

### 2.4.1 Klasifikasi *Streptococcus mutans*

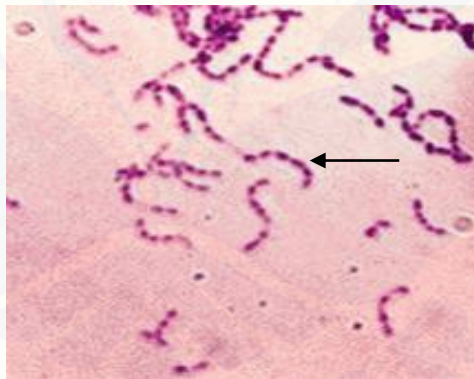
Kedudukan *Streptococcus mutans* dalam taksonomi menurut Bergey dan Boone (2009) adalah sebagai berikut:

Kingdom : *Monera*  
Divisio : *Firmicutes*  
Class : *Bacilli*  
Order : *Lactobacilales*

Family : *Streptococcaceae*  
Genus : *Streptococcus*  
Species : *Streptococcus mutans*

#### 2.4.2 Morfologi *Streptococcus mutans*

*Streptococcus mutans* termasuk bakteri Gram-positif yang bersifat *nonmotil* (tidak bergerak) dan merupakan bakteri anaerob fakultatif. *Streptococcus mutans* berbentuk kokus, bulat atau bulat telur dan tersusun dalam suatu rantai. *Streptococcus mutans* merupakan penyebab utama penyakit karies gigi karena bersifat asidogenik atau penghasil asam, asidurik, mampu bertahan hidup di lingkungan asam, dan menghasilkan suatu polisakarida lengket yang disebut *dextran* dan *levan* (Stevens dan Kaplan, 2000). Gambaran bakteri *Streptococcus mutans* dapat dilihat pada gambar 2.4.



Gambar 2.4 Bakteri *Streptococcus mutans* (Sumber: <http://queenofsheeba.wordpress.com/2008/07/22/bakteri-streptococcus-mutans/> )

*Streptococcus mutans* tumbuh optimal pada suhu sekitar 18°-40° C (Stevens dan Kaplan, 2000). Media yang dapat digunakan untuk menumbuhkan *Streptococcus mutans* diantaranya adalah *brain heart infusion broth* (BHIB), *trypticase yeast-extract cystine* (TYC), dan agar darah (Sukanto *et al.*, 2002).

## 2.5 *Porphyromonas gingivalis*

*Porphyromonas gingivalis* adalah bakteri anaerob gram-negatif yang terlibat dalam patogenesis periodontitis, suatu penyakit inflamasi yang merusak jaringan periodontal dan dapat menyebabkan kehilangan gigi. Diantara lebih dari 500 spesies bakteri yang hidup di rongga mulut, kelompok bakteri bernama "kompleks merah", yang terdiri dari *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* dan *Tannerella forsythia* sangat terkait dengan pembentukan lesi periodontal (Bodet, *et al.* 2007).

*Porphyromonas gingivalis* dapat menyerang jaringan periodontal secara lokal dan menghindari mekanisme pertahanan *host*. Dalam melakukannya, *Porphyromonas gingivalis* memanfaatkan faktor virulensi yang menyebabkan deregulasi respon imun dan inflamasi bawaan (Bostanci, *et al.* 2012). Pada saat berkontak langsung dengan epitel di sulkus periodontal, *Porphyromonas gingivalis* menghasilkan berbagai macam faktor virulensi patogenik, seperti lipopolisakarida yang dapat menginduksi inang untuk melepaskan mediator pro inflamasi seperti *IL-1 $\beta$* , *IL-6*, *IL-8*, yang dapat menyebabkan kerusakan jaringan periodontal (Mysak, *et al.* 2014).

### 2.5.1 Klasifikasi *Porphyromonas gingivalis*

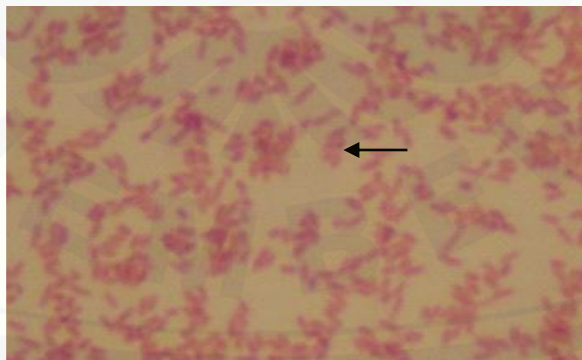
*Porphyromonas gingivalis* diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom	: <i>Bacteria</i>
Superphylum	: <i>Bacteroidetes/chlorobi group</i>
Phylum	: <i>Bacteroidetes</i>
Class	: <i>Bacteroides</i>
Ordo	: <i>Bacteroidales</i>
Family	: <i>Porphyromonadaceae</i>
Genus	: <i>Porphyromonas</i>
Species	: <i>Porphyromonas gingivalis</i> (Boone, <i>et al.</i> 2002).



### 2.5.2 Morfologi *Porphyromonas gingivalis*

*Porphyromonas gingivalis* merupakan bakteri melanogenik, nonsakarolitik, bentuk batang pleomorfik, mempunyai fimbriae, non-motil (tidak mempunyai alat gerak), koloni bakteri berpigmen hitam, gram negatif, obligat anaerob. Bakteri ini tumbuh dalam media kultur membentuk koloni berdiameter 1-2 mm, konveks, halus dan mengkilat, yang ditengahnya menunjukkan gambaran lebih gelap karena memproduksi protoheme, yaitu suatu substansi yang bertanggung jawab terhadap warna khas koloni ini (Shad dan Collins dalam Kusumawardani *et al.*, 2010, Samaranayake, 2011). Gambaran bakteri *Porphyromonas gingivalis* terdapat pada gambar 2.5. Suhu maksimal untuk pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis* yaitu 37° C. Pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis* yang signifikan dapat dipengaruhi oleh adanya karbohidrat. *Porphyromonas gingivalis* dapat tumbuh pada media agar darah (*blood agar*) yang terbuat dari *Trypton Soya Agar* + 5% darah domba (*sheep blood*) dan akuades (Ashshobirin *et al.*, 2014). Selain itu, media ini juga dapat dikultur pada media Brain Keart Infusion (BHI) yang diperkaya hemin, sistein, vitamin K, dan ekstrak *yeast* (Kadowaki *et al.*, 2004).



Gambar 2.5 *Porphyromonas gingivalis* (Sumber: Kusumawardani, 2012).

### 2.6 *Candida albicans*

*Candida albicans* merupakan jamur dimorfik karena mampu tumbuh dalam

dua bentuk yang berbeda yaitu sebagai sel tunas yang akan berkembang menjadi blastospora dan menghasilkan kecambah hingga akhirnya terbentuk hifa semu. Blastospora berbentuk bulat, lonjong atau bulat lonjong dan berukuran  $2-5 \mu \times 3-6 \mu$  sampai  $2-5,5 \mu \times 5-28 \mu$  (Hendrawati, 2007).

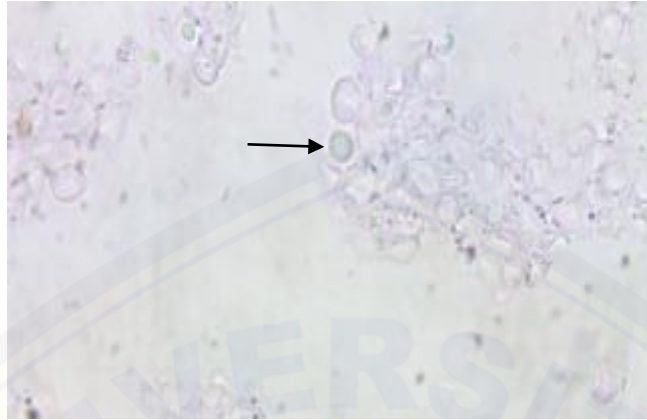
#### 2.6.1 Klasifikasi *Candida albicans*

Klasifikasi *Candida albicans* sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Fungi</i>
Divisi	: <i>Eurocophyta</i>
Kelas	: <i>Deuteromycetes</i>
Ordo	: <i>Saccharomycetales</i>
Famili	: <i>Saccharomycetaceae</i>
Genus	: <i>Candida</i>
Spesies	: <i>Candida albicans</i> (Treagan, 2011)

#### 2.6.2 Morfologi *Candida albicans*

*Candida albicans* memperbanyak diri dengan membentuk tunas yang akan terus memanjang membentuk hifa semu. Hifa semu tersebut terbentuk dengan banyak kelompok blastospora yang berbentuk bulat atau lonjong. Pada beberapa *strain*, blastospora ada yang berukuran besar, berbentuk bulat atau seperti botol dan dalam jumlah yang tidak banyak. Blastospora dapat berkembang menjadi klamidospora yang memiliki dinding tebal dan berdiameter sekitar  $8-12 \mu$ . Gambaran jamur *Candida albicans* terdapat pada gambar 2.6.



Gambar 2.6 Jamur *Candida albicans* (Sumber: Dokumentasi Pribadi)

*Candida albicans* pada medium padat *sabouraud dekstroza agar* (SDA) umumnya berbentuk bulat dan memiliki permukaan yang sedikit cembung, halus, licin dan terkadang sedikit berlipat-lipat. Koloni *Candida albicans* berwarna putih kekuningan dan aromanya asam seperti tape. *Candida albicans* tumbuh di dasar tabung pada medium cair seperti *glucose yeast* dan *extract pepton* (Tjampakasari, 2006).

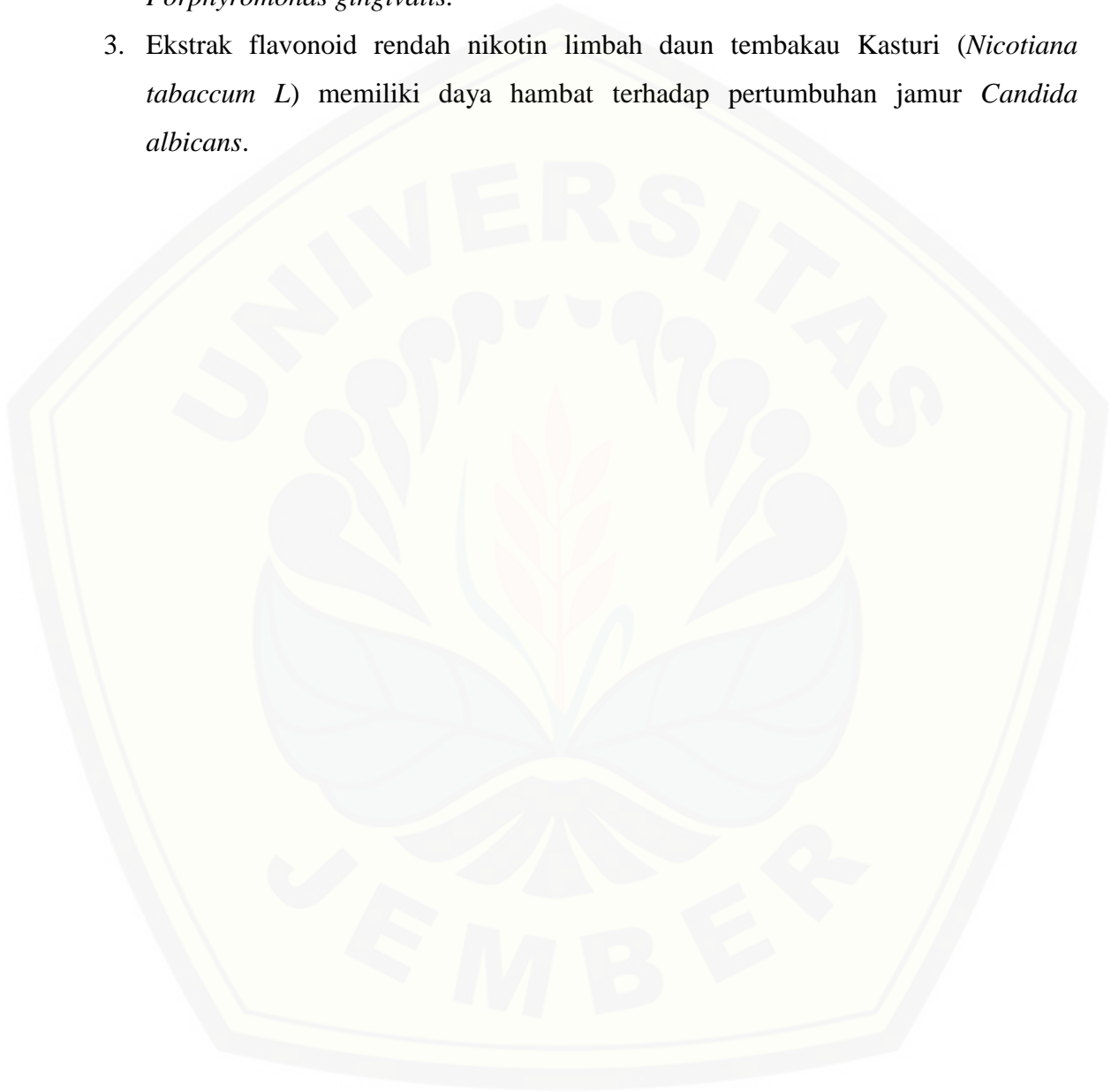
*Candida albicans* pada media SDA dengan pengeraman pada suhu 37° C selama 24 jam menghasilkan koloni-koloni halus berwarna krem dan beraroma seperti ragi. Pertumbuhan permukaannya terdiri dari sel-sel bertunas lonjong. Pertumbuhan di bawah sel-sel bertunas lonjong terdiri dari pseudohifa yang membentuk blastokonidia pada nodus-nodus dan terkadang di bagian ujungnya terdapat klamidokonidia (Simatupang, 2009).

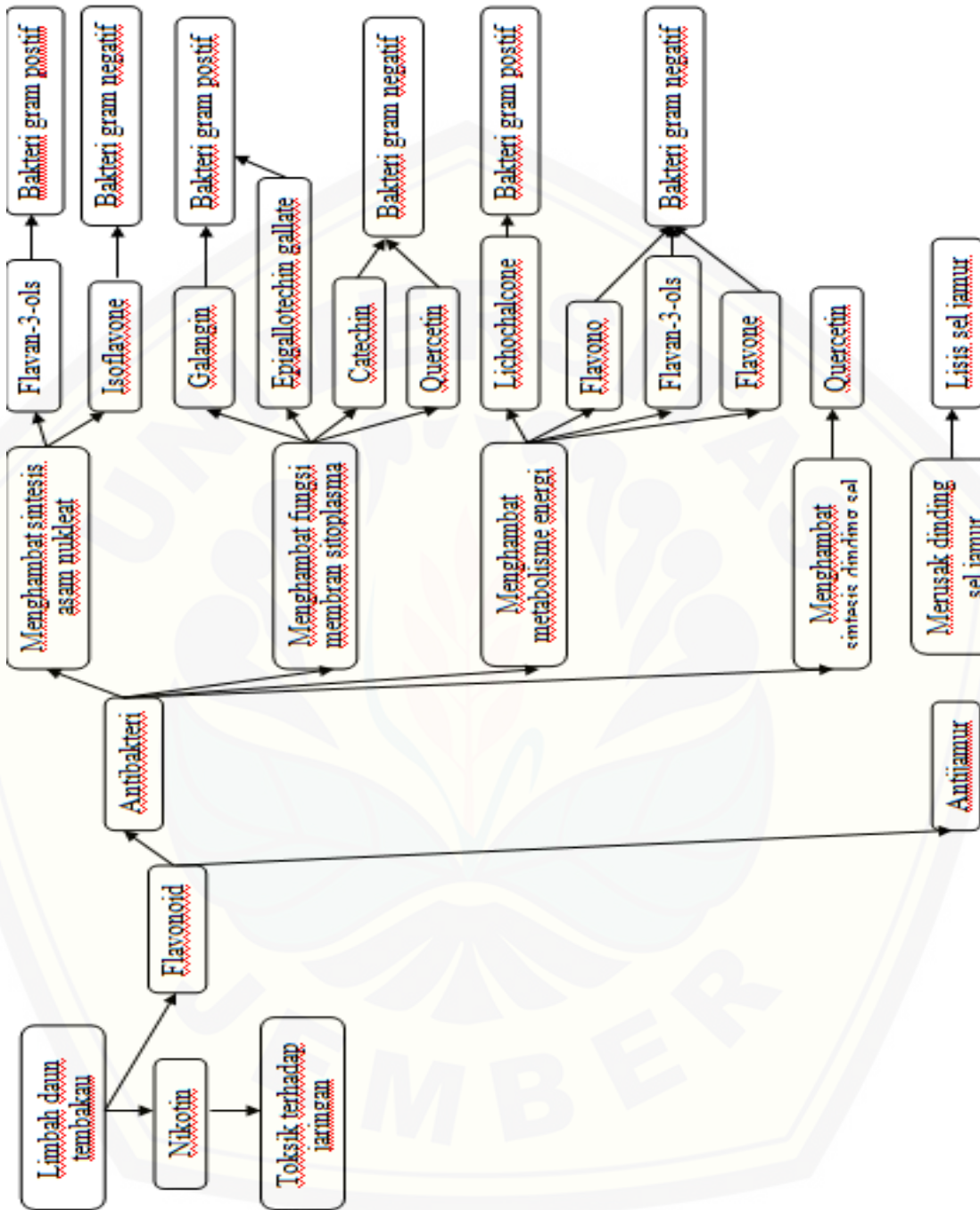
## 2.7 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah :

1. Ekstrak flavonoid rendah nikotin limbah daun tembakau Kasturi (*Nicotiana tabaccum L*) memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*.

2. Ekstrak flavonoid rendah nikotin limbah daun tembakau Kasturi (*Nicotiana tabaccum L*) memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis*.
3. Ekstrak flavonoid rendah nikotin limbah daun tembakau Kasturi (*Nicotiana tabaccum L*) memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans*.





Keterangan :

Daun tembakau memiliki kandungan nikotin dan flavonoid. Nikotin toksik terhadap jaringan, sehingga harus dieliminasi, sedangkan flavonoid dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri dan antifungi. Sintesis asam nukleat bakteri dihambat oleh flavonoid jenis Flavan-3-ols (gram positif) dan isovlavone (gram negatif). Fungsi membran sitoplasma dihambat oleh Galangin (gram positif), epigallotechin gallate (gram positif), catechin (gram negatif), dan quercetin (gram negatif). Licochalchone (aktif pada bakteri gram positif), Flavonol (aktif pada bakteri gram negatif), Flavan-3-ols (aktif pada bakteri gram negatif), flavones (aktif pada bakteri gram negatif), sebagai antibakteri bekerja dengan menghambat metabolisme energi bakteri. Quercetin bekerja dengan menghambat sintesis dinding sel bakteri. Flavonoid sebagai antijamur bekerja dengan merusak dinding sel jamur sehingga menyebabkan lisisnya sel jamur.

## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris yaitu penelitian yang dilakukan dengan mengadakan manipulasi terhadap objek penelitian dan disertai adanya kontrol (Nazir, 2005). Rancangan penelitian yang digunakan adalah *the post test only control group design* untuk mengetahui perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan dan kontrol.

### 3.2 Tempat Penelitian

- a. Fakultas Farmasi Universitas Jember untuk melakukan pengeringan daun tembakau Kasturi.
- b. Ekstraksi flavonoid rendah nikotin limbah daun tembakau Kasturi dilakukan di Laboratorium Teknik Kimia, Politeknik Negeri Malang.
- c. Penimbangan dan pengenceran ekstrak flavonoid rendah nikotin limbah daun tembakau dilakukan Laboratorium Bioscience, RSGM Universitas Jember.
- d. Uji aktivitas antibakteri dan antijamur dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember.

### 3.3 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April-Mei 2016, yang telah memperoleh perizinan dan persetujuan layak etik dari Unit Etika dan Advokasi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Gajah Mada.

### 3.4 Variabel Penelitian

- a. Variabel bebas

Ekstrak flavonoid rendah nikotin limbah daun tembakau Kasturi (*Nicotiana tabaccum L*) dengan konsentrasi 320 µg/ml, 160 µg/ml, 80 µg/ml.

b. Variabel terikat

Diameter zona hambat bakteri *Streptococcus mutans*, *Porphyromonas gingivalis*, dan jamur *Candida albicans*.

c. Variabel terkendali

Diameter kertas cakram (6 mm), volume ekstrak flavonoid rendah nikotin limbah daun tembakau Kasturi yang diteteskan pada kertas cakram (20  $\mu$ L), waktu pengamatan (24 dan 48 jam), suhu inkubasi (37°C), kriteria limbah daun tembakau Kasturi dan sterilisasi alat dan bahan.

### 3.5 Definisi Operasional

a. Ekstrak flavonoid rendah nikotin limbah daun tembakau Kasturi (*Nicotiana tabaccum L.*)

Ekstrak flavonoid rendah nikotin limbah daun tembakau Kasturi (*Nicotiana tabaccum L.*) diekstrak dari daun tembakau Kasturi menggunakan metode ekstraksi hidrolisis dan refluks yang dimodifikasi.

b. Diameter Zona Hambat Mikroba Rongga Mulut

Pertumbuhan mikroba rongga mulut diukur dengan menggunakan pengukuran diameter zona hambat. Zona hambat adalah daerah atau wilayah jernih yang tampak di sekeliling kertas cakram yang diukur menggunakan jangka sorong dalam skala milimeter untuk mengetahui kekuatan daya hambat ekstrak flavonoid rendah nikotin limbah daun tembakau Kasturi (*Nicotiana tabaccum L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dan *Porphyromonas gingivalis*, serta jamur *Candida albicans*.



### 3.6 Subjek Penelitian

Terdapat tiga jenis bakteri yang akan menjadi subjek penelitian. Terdapat 5 kelompok perlakuan dengan tiga kali pengulangan pada masing-masing bakteri, yaitu:

- a. Kelompok I : kontrol negatif dimetil sulfoksida/DMSO 0,25% sebanyak 3 kertas cakram pada tiap sampel bakteri,
- b. Kelompok II : kontrol positif (Metronidazol konsentrasi 30  $\mu\text{g/ml}$  bakteri *Porphyromonas gingivalis*, Tetrasiklin konsentrasi 30  $\mu\text{g/ml}$  untuk bakteri *Streptococcus mutans*, dan Ketokonazol konsentrasi 0,5  $\mu\text{g/ml}$  untuk jamur *Candida albicans*), masing-masing 3 kertas cakram pada tiap kelompok bakteri,
- c. Kelompok III : ekstrak flavonoid rendah nikotin limbah daun tembakau Kasturi konsentrasi 320  $\mu\text{g/ml}$  sebanyak 3 kertas cakram pada masing-masing kelompok bakteri,
- d. Kelompok IV : ekstrak flavonoid rendah nikotin limbah daun tembakau Kasturi konsentrasi 160  $\mu\text{g/ml}$  sebanyak 3 kertas cakram pada masing-masing kelompok bakteri,
- e. Kelompok V : ekstrak flavonoid rendah nikotin limbah daun tembakau Kasturi konsentrasi 80  $\mu\text{g/ml}$  sebanyak 3 kertas cakram pada masing-masing kelompok bakteri,

Sehingga jumlah sampel kertas cakram yang akan digunakan pada penelitian adalah sebanyak 45 kertas cakram. Konsentrasi masing-masing ekstrak didapat dari trial yang sebelumnya telah dilaksanakan.

### 3.7 Kriteria Daun Tembakau Kasturi

- a. Daun tembakau Kasturi dalam keadaan tidak baik dan berlubang,
- b. Daun tembakau Kasturi berwarna kuning namun tidak kering coklat keseluruhan,

- c. Daun tembakau Kasturi lembar ke 5-10.



Gambar 3.1 Limbah Daun tembakau Kasturi (*Nicotiana tabacum L*)  
(Sumber: Dokumentasi pribadi)

### 3.8 Alat dan Bahan Penelitian

#### 3.8.1 Alat Penelitian

Alat untuk pembuatan ekstrak flavonoid daun tembakau Kasturi, yaitu :

- a. Toples kaca dilengkapi dengan tutupnya,
- b. *Thermometer*,
- c. *Balance*,
- d. *Statif*,
- e. *Hot Plate*,
- f. Labu alas bulat,
- g. *Kondensor*,
- h. *Spatula*,
- i. Blender (Miyako, Indonesia),
- j. Gelas ukur,
- k. Neraca (Cent-O-Cram, Ohaus, USA),
- l. *Vacuum filter* (kertas saring Whatman 40),
- m. Tabung reaksi,

- n. Oven (merek Memmert),
- o. *Triple quadrupole LC-MS* (Thermo),

Alat untuk pengenceran konsentrasi ekstrak, yaitu :

- a. Mikropipet (Eppendorf, Germany),
- b. Tabung reaksi,
- c. *Thermolyne*,
- d. Timbangan *millimeter* (Ernest Adam),
- e. Mikrotip,
- f. Tabung *erpendorf*,
- g. *Mikrofilter 0,22 μm milliphore* (MA 01730, USA),
- h. *Syringe*.

Alat untuk uji antibakteri dan antijamur, yaitu :

- a. Tabung *Erlenmeyer* (Schott Duran, Germany),
- b. *Petridish* tidak bersekat,
- c. Ose (Nikrom, Indonesia),
- d. Bunsen (Pyrex, Japan),
- e. Tabung reaksi (Pyrex, Japan),
- f. Jangka sorong (Medesy, Italy) dengan derajat ketelitian 0,5 mm,
- g. Mikropipet (Eppendorf, Germany),
- h. Kompur listrik (Maspion, Indonesia),
- i. *Spektrofotometer* (Milton Roy, Spectronic 20+, Germany),
- j. *Laminar flow* (tipe HF-100, Korea),
- k. *Incubator* (Binder, tipe 175053099003100, Germany),
- l. *Autoclave* (Mettler, Germany),
- m. Sterilisator panas kering (Oven),
- n. Pinset (Dentica, Stainless steel, France),
- o. *Stopwatch*,

- p. Desikator,

### 3.8.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut ini:

- a. Daun tembakau Kasturi diperoleh dari Kecamatan Pakusari, Kabupaten Jember, Jawa Timur,
- b. Bakteri *Streptococcus mutans* ATCC 25175
- c. Bakteri *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 (ATCC US)
- d. Jamur *Candida albicans* ATCC 10231
- e. DMSO 100%,
- f. Media BHIB
- g. Media SDB
- h. Media SDA
- i. Media BHIA
- j. HCl 1250 ml,
- k. Petroleum eter 50 ml,
- l. Asetonitril 20 ml,
- m. Etanol 80% 700 ml,
- n. *Aquadest*,
- o. Kertas saring kimia,
- p. Alkohol 70% (One med, Indonesia),
- q. *Blank disc* 6mm (Oxoid, UK)
- r. Spidol dan kertas label,
- s. Masker dan sarung tangan (One Med, Indonesia),
- t. Larutan fisiologi (PZ),
- u. Tetrasiklin 500 mg (Kimia Farma, Indonesia),
- v. Ketokonazole 200 mg (Kalbe, Indonesia),
- w. Metronidazole 500 mg (Novapharin, Indonesia).

### 3.9 Prosedur Penelitian

#### 3.9.1 Tahap Persiapan

##### a. Identifikasi tanaman

Pada tahap awal penelitian, dilakukan identifikasi daun tembakau Kasturi (*Nicotiana tabaccum L*) di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi, Jl. Raya Surabaya – Malang Km. 65 Purwodadi – Pasuruan.

##### b. Sterilisasi alat

Semua alat yang terbuat dari gelas atau kaca seperti gelas ukur, *petridish*, tabung reaksi disterilkan menggunakan sterilisator panas kering atau oven dengan suhu 160° C selama 120 menit, sedangkan semua alat yang terbuat dari plastik dicuci bersih dan dikeringkan kemudian diulas menggunakan alkohol 70% (Cappucino dan Sherman, 2005).

#### 3.9.2 Proses Pemisahan Nikotin dan Ekstraksi Flavonoid Limbah Daun Tembakau Kasturi

a. Proses mengekstrak diawali dengan menyediakan limbah daun tembakau Kasturi segar yang telah dicuci bersih dan dikeringkan dengan cara kering angin selama tiga hari pada suhu kamar,

b. Limbah daun tembakau Kasturi yang sudah dikeringkan tersebut kemudian dioven menggunakan oven merek Memmert, selama 16 jam dengan suhu 50°C.

c. Limbah daun tembakau Kasturi yang sudah kering dihaluskan menggunakan blender.

d. Limbah daun tembakau Kasturi yang sudah dihaluskan ditimbang sebanyak 100 gram, lalu dimasukkan ke dalam labu alas bulat.

e. Dilakukan pemisahan nikotin dan pemecahan komponen polisakarida menjadi gula sederhana dengan menambahkan 500 ml HCl 1M. Metode ini dinamakan hidrolisis yang telah dimodifikasi. Hidrolisis yang dilakukan

- menggunakan metode ekstraksi refluks selama 2 jam pada suhu 80°C. Metode ekstraksi refluks merupakan metode ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut yang ralatif konstan dengan adanya pendingin balik (Depkes RI, 2000).
- f. Hasil disaring menggunakan *vacuum filter*. Bagian yang lolos penyaringan, atau bagian yang lebih kecil molekulnya dibuang. Bahan yang berbentuk padat atau komponen yang lebih besar molekulnya disebut Slurry.
  - g. Slurry ditambahkan lagi ke dalam labu alas bulat dan ditambahkan lagi dengan HCl 500 ml serta dilakukan pengadukan.
  - h. Penyaringan dilakukan kembali menggunakan *vacuum filter*.
  - i. Slurry selanjutnya dicuci dengan menggunakan HCl 250 ml, dan dimasukkan lagi ke dalam labu bulat.
  - j. Selanjutnya dilakukan pengambilan ekstrak flavonoid, yaitu dengan cara slurry ditambahkan etanol 80% sebanyak 500 ml, dan dilakukan metode reflux pada suhu 80°C selama 1 jam. Setelah satu jam dilakukan reflux, hasil disaring dengan menggunakan *vacuum filter* dan dicuci dengan menggunakan etanol 80% sebanyak 200 ml.
  - k. Cairan hasil reflux dan pencucian tadi selanjutnya didiamkan selama 8 jam.
  - l. Cairan yang telah didiamkan selama 8 jam akan memisah menjadi endapan dan bagian cair. Selanjutnya, bagian cair dilakukan lagi pengekstrakan untuk memisahkan lateks dan gum dengan pelarut petroleum eter sebanyak 50ml. Lapisan paling atas dibuang, dan ekstraksi diulang sebanyak 3 kali. Metode ini dinamakan metode ekstraksi cair-cair/LLE (*Liquid Liquid Extraction*), yaitu metode pemisahan secara kimia-fisika dimana zat yang akan diekstraksi dipisahkan dari fasa airnya menggunakan pelarut organik, yang tidak larut dalam fasa air, secara kontak langsung baik kontinyu maupun diskontinyu (Putranto, 2012).
  - m. Hasil ekstraksi kemudian dikeringkan sampai volume  $\pm 10$  ml, lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi dengan ditambahkan acetonitril

sebanyak 20 ml. Metode ini digunakan untuk membersihkan komponen gula dan komponen pengotor yang masih tertinggal.

- n. Centrifugasi dilakukan selama 10 menit pada 400 rpm.
- o. Lapisan paling atas hasil dari centrifugasi diambil dan dikeringkan, untuk kemudian dilakukan pengujian menggunakan metode *LC-MS/MS*. *LC-MS/MS* merupakan teknik kromatografi cair dengan detektor spektrometer massa, menggunakan *ion source* dan *mass analyze* yang dapat disesuaikan dengan kepolaran senyawa yang akan dianalisa (Ginting 2012; Agilent Technology, 2001).
- p. Proses ekstraksi selesai dan diperoleh ekstrak flavonoid rendah nikotin limbah daun tembakau Kasturi.

### 3.9.3 Pengenceran Ekstrak Flavonoid Daun Tembakau Kasturi

Penelitian ini menggunakan ekstrak flavonoid limbah daun tembakau Kasturi dengan konsentrasi 320 µg/ml, 160 µg/ml, dan 80 µg/ml, yang diencerkan di dalam *laminar flow* dan dalam keadaan steril. Pengenceran dilakukan dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$V1.M1=V2.M2$$

V1 : Volume awal ekstrak flavonoid daun tembakau

M2 : Konsentrasi awal ekstrak flavonoid daun tembakau

V2 : Volume akhir ekstrak flavonoid daun tembakau

M2 : Konsentrasi akhir ekstrak flavonoid daun tembakau (Rohaya, 2014).

Langkah-langkah pengenceran:

- a. Melakukan penghitungan (lampiran B).
- b. Kontrol negatif merupakan larutan DMSO 0,25%, dibuat dengan mencampurkan aquades steril 9,975 ml dengan 0,025 ml DMSO 100%. Aquades steril 9,975 ml diambil dengan menggunakan *syringe* dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang kemudian dicampurkan dengan

0,025 ml DMSO yang dipindahkan menggunakan mikropipet, lalu dicampurkan menggunakan vortex.

- c. Pengenceran ekstrak flavonoid konsentrasi 320  $\mu\text{g/mL}$  sebanyak 1 ml dilakukan dengan mencampurkan 320  $\mu\text{g}$  ekstrak flavonoid yang telah ditimbang dengan DMSO 0,25% hingga 1 mL di dalam tabung erpendorf. Pencampuran dilakukan dengan menggunakan vortex, lalu disterilkan menggunakan 0,22 $\mu\text{m}$  Milliphore (MA 01730, USA), dan ditempatkan kembali ke dalam tabung erpendorf untuk digunakan sebagai stok. Ekstrak flavonoid konsentrasi 160  $\mu\text{g/mL}$  didapatkan dengan melakukan metode serial dilusi, yaitu dengan mencampurkan 0,5 ml ekstrak flavonoid konsentrasi 320  $\mu\text{g/mL}$  ke dalam 0,5 ml larutan DMSO 0,25%, lalu di vortex. Pengenceran ekstrak flavonoid konsentrasi 80  $\mu\text{g/mL}$  dilakukan dengan mencampurkan 0,5 ml ekstrak flavonoid konsentrasi 160  $\mu\text{g/mL}$  dengan 0,5 ml larutan DMSO 0,25% dalam tabung erpendorf dan dicampurkan menggunakan vortex.
- d. Setiap bakteri maupun jamur memiliki kontrol yang berbeda. *Streptococcus mutans* memiliki kontrol positif Tetrasiklin 30  $\mu\text{g/mL}$ . Pengenceran Tetrasiklin 30  $\mu\text{g/mL}$  dilakukan dengan terlebih dahulu membuat Tetrasiklin konsentrasi 300  $\mu\text{g/mL}$ , yaitu dengan menghaluskan Tetrasiklin 500 mg, dan ditimbang sebanyak 0,3 mg, lalu diencerkan ke dalam  $9997 \cdot 10^{-4}$  ml aquades. Tetrasiklin 30  $\mu\text{g/mL}$  dibuat dari tetrasiklin konsentrasi 300  $\mu\text{g/mL}$  sebanyak 100  $\mu\text{l}$  diencerkan ke dalam 900  $\mu\text{l}$  aquades, kemudian divortex. Bakteri *Porphyromonas gingivalis* memiliki kontrol positif Metronidazol 30  $\mu\text{g/mL}$ . Pengenceran Metronidazol 30  $\mu\text{g/mL}$  dilakukan dengan terlebih dahulu membuat Metronidazol dengan konsentrasi 300  $\mu\text{g/mL}$ , yaitu dengan menghaluskan Metronidazol 500 mg, dan ditimbang sebanyak 0,3 mg, lalu diencerkan ke dalam  $9997 \cdot 10^{-4}$  ml aquades. Metronidazol 30  $\mu\text{g/mL}$  dibuat dari Metronidazol konsentrasi 300  $\mu\text{g/mL}$  sebanyak 100  $\mu\text{l}$  diencerkan ke dalam 900  $\mu\text{l}$  aquades, kemudian divortex. Jamur *Candida albicans* memiliki



kontrol positif Ketokonazol 0,5 µg/mL. Pengenceran Ketokonazol 0,5 µg/mL dilakukan dengan terlebih dahulu membuat Ketokonazol dengan konsentrasi 100 µg/mL, yaitu dengan menghaluskan Ketokonazol 200 mg, dan ditimbang sebanyak 0,1mg, lalu diencerkan ke dalam  $9999.10^{-4}$  ml aquades. Ketokonazol 0,5 µg/mL dibuat dari 0,5 ml Ketokonazol konsentrasi 100 µg/mL diencerkan ke dalam 0,5 ml aquades, lalu setelah tercampur rata, diambil sebanyak 10 µl dan diencerkan ke dalam 990 µl aquades, kemudian divortex.

#### 3.9.4 Pembuatan Media Kultur

##### a. Media Kultur Bakteri *Porphyromonas gingivalis*

Pada penelitian ini digunakan media kultur TSA yang ditambahkan hemin, vitamin k dan 5% *sheep blood* yang siap digunakan dan sudah dikemas dalam *petridish*. Media kultur TSA dengan 5% *sheep blood* digunakan untuk pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis*,

##### b. Media Kultur Bakteri *Streptococcus mutans*

Membuat media kultur BHIA untuk media pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dengan cara mencampur 5,2 gram bubuk BHIA dan 110 mL aquades kemudian disterilkan dengan *autoclave* 121° C selama 15 menit dan dibiarkan dingin hingga mencapai suhu 50°C. Selanjutnya dituangkan ke dalam 4 *petridish*, dilakukan di dalam *laminar flow*, dan dimasukkan ke lemari pendingin.

##### c. Media Kultur Jamur *Candida albicans*

Membuat media kultur SDA untuk media pertumbuhan jamur *Candida albicans* dengan cara mencampur 6,82 gram bubuk SDA dan 136,5 ml aquades kemudian disterilkan dengan *autoclave* 121° C selama 15 menit dan dibiarkan dingin hingga mencapai suhu 50°C. Selanjutnya dituangkan ke dalam 4 *petridish*, dilakukan di dalam *laminar flow*, dan dimasukkan ke lemari pendingin.

### 3.9.5 Pembuatan Suspensi Bakteri dan Jamur

#### a. Suspensi *Streptococcus mutans*

Bakteri *Streptococcus mutans* yang digunakan dalam penelitian adalah ATCC 25175 yang didapat dari Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya. Suspensi dibuat dengan mengambil 1 ose bakteri *Streptococcus mutans* dari sediaan biakan serta dilarutkan dalam 0,5 *brain heart infusion broth* (BHIB) cair pada tabung reaksi, yang dilakukan di dalam *laminar flow*. Setelah itu, suspensi tersebut dimasukkan ke dalam desikator terlebih dahulu untuk mendapatkan suasana anaerob. Kemudian suspensi tersebut diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37° C. Setelah itu, suspensi tersebut dilarutkan kembali dengan media BHIB sampai mencapai 0,5 *Mc Farland* atau sebanding dengan jumlah bakteri  $1,5 \times 10^8$  CFU/mL.

#### b. Pembuatan Suspensi *Porphyromonas gingivalis*

Bakteri *Porphyromonas gingivalis* yang digunakan dalam penelitian ini adalah ATCC 33277 (ATCC US), berasal dari Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gajah Mada yang kemudian dikultur dalam media TSA dengan 5% *sheep blood*, dan diinkubasikan dalam desikator dengan 5% CO<sub>2</sub> di dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 2-3 hari sebelum pembuatan suspensi dengan tujuan sebagai prosedur penyaringan. Suspensi kemudian dibuat dengan mengambil 1 ose bakteri *Porphyromonas gingivalis* dari sediaan biakan dan dilarutkan dalam 1cc larutan saline/PZ pada tabung reaksi hingga mencapai 0,5 *Mc farland* atau sebanding dengan jumlah bakteri  $1,5 \times 10^8$  CFU/mL dihomogenkan menggunakan *thermolyne*, dan harus digunakan dalam 30 menit. Tahap pembuatan suspensi *Porphyromonas gingivalis* dilakukan di dalam *laminar flow*, sehingga steril.

c. Suspensi *Candida albicans*

Jamur *Candida albicans* yang digunakan dalam penelitian ini adalah ATCC 10231 yang didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Suspensi dibuat dengan mengambil 1 ose jamur *Candida albicans* dan dimasukkan pada media SDA dengan volume 5 mL yang dilakukan di dalam *laminar flow*, kemudian diinkubasi selama 48 jam pada 37° C di inkubator. Setelah dikeluarkan dari inkubator, suspensi *Candida albicans* disesuaikan dengan kekeruhan menurut larutan standar *Mc Farland* 1 atau sebanding dengan jumlah jamur  $3 \times 10^8$  CFU/mL.

### 3.9.6 Inokulasi Bakteri dan Jamur

- a. Inokulasi bakteri dan jamur dilakukan menggunakan teknik *spread plate* pada media kultur TSA dengan 5% *sheep blood* pada bakteri *Porphyromonas gingivalis*, media kultur SDA pada jamur *Candida albicans*, serta media kultur BHIA untuk bakteri *Streptococcus mutans*. Masing-masing media kultur terlebih dahulu dibagi menjadi empat bagian menggunakan spidol,
- b. Suspensi inokulum bakteri *Streptococcus mutans* dan *Porphyromonas gingivalis* serta jamur *Candida albicans* diambil sebanyak 100 µL kemudian diteteskan pada masing-masing media kultur dan diratakan di atas permukaan media kultur menggunakan swab steril hingga merata. Tahapan inokulasi dilakukan di dalam *laminar flow*.

### 3.9.7 Uji Daya Hambat Antibakteri dan Antijamur

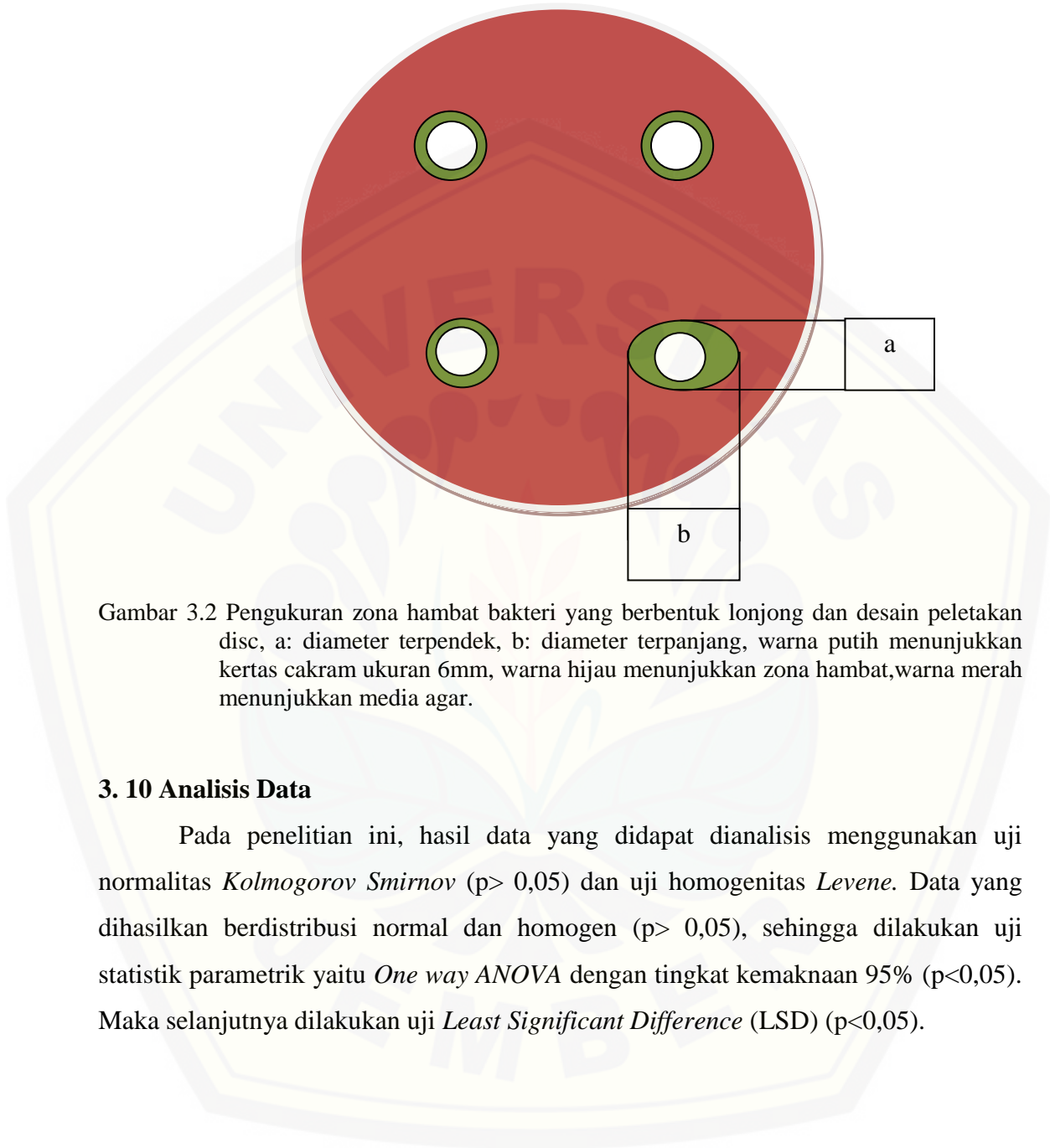
- a. Uji daya hambat antibakteri dan antijamur dilakukan dengan menggunakan metode *disc-diffusion* pada media kultur TSA dengan 5% *sheep blood* pada bakteri *Porphyromonas gingivalis*, media kultur SDA

pada jamur *Candida albicans*, dan media kultur BHIA untuk bakteri *Streptococcus mutans*.

- b. Kertas cakram steril 6mm ditetesi dengan ekstrak flavonoid daun tembakau Kasturi konsentrasi 320 µg/ml, 160 µg/ml, dan 80 µg/ml sebanyak 20 µL menggunakan mikropipet. Sebagai kontrol negatif kertas cakram steril 6mm ditetesi dengan DMSO 0,25% sebanyak 20 µL, dan sebagai kontrol positif kertas cakram ditetesi dengan Metronidazole konsentrasi 30 µg/ml untuk bakteri *Porphyromonas gingivalis*, Tetrasiklin konsentrasi 30 µg/ml untuk bakteri *Streptococcus mutans*, dan Ketokonazole konsentrasi 0,5 µg/ml untuk jamur *Candida albicans*, dengan masing-masing sebanyak 20 µL menggunakan mikropipet. Cakram kemudian didiamkan selama satu menit sampai menyerap dan kering. Kemudian kertas cakram tersebut ditempelkan di atas masing-masing permukaan media kultur yang telah diinokulasi dengan biakan bakteri dan jamur menggunakan pinset steril. Setelah itu, kertas cakram ditekan secara perlahan menggunakan pinset steril untuk memastikan bahwa kertas cakram sudah benar-benar menempel pada masing-masing media kultur yang digunakan. Cara peletakan kertas cakram pada media kultur untuk kontrol positif dan kontrol negatif dilakukan seperti pada kelompok perlakuan. Tahapan uji antibakteri dan antijamur dilakukan di dalam *laminar flow*,
- c. Masing-masing sampel dibuat tiga kali ulangan,
- d. Media kultur dibalik supaya uap pada permukaan tutup media kultur tidak jatuh mengenai permukaan media kultur,
- e. Dilakukan inkubasi selama 24 jam dan 48 jam pada suhu 37° C dengan kondisi anaerobik.

### 3.9.8 Pengukuran Zona Hambat

- a. Pengukuran diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dan *Porphyromonas gingivalis* serta jamur *Candida albicans* dilakukan menggunakan jangka sorong digital sebanyak 3 kali oleh 3 orang pengamat yang berbeda dan diambil rata-rata. Pengukuran dilakukan setelah inkubasi bakteri selama 24 dan 48 jam. Zona hambat adalah daerah atau wilayah jernih yang tampak di sekeliling kertas cakram. Konsentrasi dikatakan memiliki aktivitas terhadap mikroorganisme apabila diameter zona hambat lebih dari 7mm.
- b. Cara pengukuran zona hambat yaitu apabila zona hambat berbentuk lingkaran maka pengukuran dilakukan dengan mengukur diameter dari zona hambat. Apabila zona hambat berbentuk lonjong, maka pengukuran dilakukan pada diameter zona hambat yang panjang (misal a mm) dan diameter zona hambat yang pendek (misal b mm) kemudian keduanya dijumlah dan dibagi dua. Jadi diameter zona hambatnya =  $\frac{a+b}{2}$  (Majidah, 2014) (Gambar 3.2).
- c. Hasil pengukuran dikelompokkan ke dalam klasifikasi Rauha (2000), yaitu:
  - Tidak memiliki aktivitas antimikroba apabila pertambahan diameternya < 1mm,
  - Rendah jika pertambahan diameternya 1–3 mm,
  - Sedang apabila pertambahan diameternya 3–4 mm,
  - Baik apabila pertambahan diameternya 4–10 mm, dan
  - Kuat apabila pertambahan diameternya > 10mm.

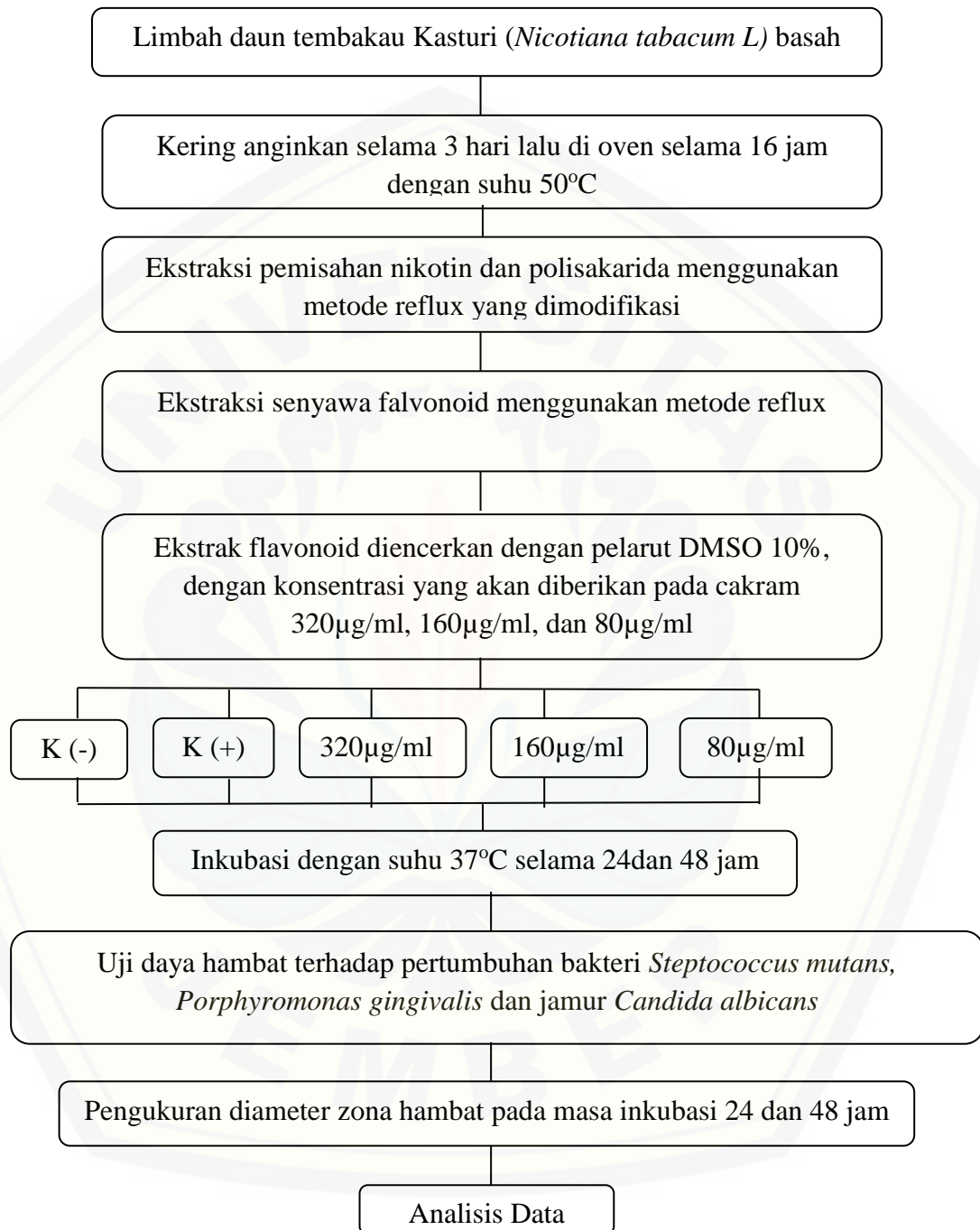


Gambar 3.2 Pengukuran zona hambat bakteri yang berbentuk lonjong dan desain peletakan disc, a: diameter terpendek, b: diameter terpanjang, warna putih menunjukkan kertas cakram ukuran 6mm, warna hijau menunjukkan zona hambat, warna merah menunjukkan media agar.

### 3. 10 Analisis Data

Pada penelitian ini, hasil data yang didapat dianalisis menggunakan uji normalitas *Kolmogorov Smirnov* ( $p > 0,05$ ) dan uji homogenitas *Levene*. Data yang dihasilkan berdistribusi normal dan homogen ( $p > 0,05$ ), sehingga dilakukan uji statistik parametrik yaitu *One way ANOVA* dengan tingkat kemaknaan 95% ( $p < 0,05$ ). Maka selanjutnya dilakukan uji *Least Significant Difference* (LSD) ( $p < 0,05$ ).

### 3.10 Alur penelitian



Gambar 3.3. Alur Penelitian

## BAB 5 PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

1. Ekstrak flavonoid rendah nikotin limbah daun tembakau Kasturi (*Nicotiana tabaccum* L.) memiliki daya hambat yang lemah terhadap pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans*.
2. Ekstrak flavonoid rendah nikotin limbah daun tembakau Kasturi (*Nicotiana tabaccum* L.) memiliki daya hambat yang kuat terhadap pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis*.
3. Ekstrak flavonoid rendah nikotin limbah daun tembakau Kasturi (*Nicotiana tabaccum* L.) memiliki daya hambat yang lemah terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans*.

### 5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian uji toksisitas ekstrak flavonoid rendah nikotin limbah daun tembakau Kasturi (*Nicotiana tabaccum* L.) terhadap sel-sel rongga mulut, sehingga dapat digunakan sebagai bahan dasar obat kumur.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas antimikroba paling optimum pada fraksi ekstrak flavonoid rendah nikotin limbah daun tembakau Kasturi (*Nicotiana tabaccum* L.).



**Daftar Pustaka**

- Agilent Technologies. 2001. Agilent LS-MS Peimer U.S.A. 5988-2045 EN.
- Arakawa, H., Maeda, M., Akabo, S., Shimamura, T. 2004. Role Of Hidrogen Peroxide In Bacterial Action Of Catechin, *Bio Pharm Bull*: 27: 277-81.
- Aremu AO, Fawole OA, Chukwujekwu JC, Light ME, Finnie JF, Van Staden J. 2010. In Vitro Antimicrobial, Anthelmintic and Cyclooxygenase-Inhibitory Activities and Phytochemical Analysis of *Leucosidea sericea*. *J Ethnopharmacol*;131:22-7.
- Arora, D., dan Arora, B. 2009. *Streptococcus, Text Book Of Microbiology for Dental Student*. Alkem Company: 170-178.
- Ashshobirin, A., Dhartono, A.P., Ramadhany, C.A., dan Taqwim, A. 2014. Efektivitas Antibakteri Ekstrak Kayu Siwak (*Salvadora persica*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Porphyromonas gingivalis*. *BIMKGI*, 2 (1): 12-23.
- Badan Pusat Statistik, <http://jatim.bps.go.id/linkTabelStatis/view/id/89> (diakses 18/12/2015).
- Bakht, J., Azra., dan Shafi, M. 2012. *Antimicrobial Activity of Nicotiana Tabacum Using Different Solvents Extracts*. Pakistan: Khyber Pukhtum Khwa Agricultural University.
- Balittas. 2012. Tembakau Kasturi. <http://balittas.deptan.go.id>. Diakses pada 16 Juni 2016.
- Bergey, D. H., dan Boone, D. R. 2009. *Bergey's Manual of Systemic Bacteriology*. New York: Springer.
- Bodet, C. F. Chandad, D. Greiner. 2007. Pathogenic Potencial Of *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, and *Tannerella forsythia*, *The Red Bacterial Complex Associated With Periodontitis, Pathologic Biologic*, Vol 55 No.3-4 PP 154-169.
- Bonev, Boyan, Hooper, James, Parisot, Judicael. 2008. Principles Of Assessing Bacterial Susceptibility To Antibiotics Using The Agar Diffusion Method. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 61, 1295-1301.

- Boone, D. R., Castenholtz, R. W. 2002. *Manual Of Systematic Bacteriology 2<sup>nd</sup> Vol 1*, New York: Springer-Verlag.
- Bostanci N., dan G.N. Belibasakis. 2012. *Porphyromonas gingivalis* An Invasive and Evansive Opportunistic Oral Pathogen, *FEMS Microbiology Letters* Vol. 333 No. 1 PP 1-9.
- Cahyono, B. 1998. *Tembakau, Budidaya dan Analisis Tani*. Yogyakarta: Kaninus.
- Candrasari, Anika, Romas ,M. Amin, Hasbi, Masna, Astuti, Ovi Rizky. 2012. Uji Daya Antimikroba Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum* Ruiz & Pav.) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Eschericia coli* ATCC 11229 DAN *Candida albicans* ATCC 10231 Secara In Vitro. *Biomedika*, Volume 4 Nomor 1. Hal. 9-16.
- Cappucino, J. G., dan Sherman, N. 2005. *Microbiology: A Laboratory Mannual*. San Fransisco: Person Benjamin Cumming.
- Chinnam, N., Dadi,P. K., Sobri, S. A., Ahmad, M., Kabir, M. A., Ahmad, Z. 2010. Dietary Bioflavonoids Inhibit *Escherichia Coli* ATP Synthase In A Differential Manner, *Int J Bio Macromol*: 46: 478-86.
- Choi O, Yahiro K, Morinaga N, Miyazaki M, Noda M. 2007. Inhibitory Effects of Various Plant Polyphenols On The Toxicity of *Staphylococcal* - Toxin. *Microb Pathog* ;42: 215-24.
- Choiroh, N. 2006. Perbedaan Rebusan Daun Sirih (*Piper betle* Linn.) dengan Sodium Hipoklorit Sebagai Bahan Irigasi Saluran Akar Dalam Menghambat Pertumbuhan *Streptococcus viridians*. Skripsi :Universitas Jember.
- Chopra, Ian, Roberts, Marilyn. 2001. Tetracycline Antibiotics: Mode of Action, Applications, Molecular Biology, and Epidemiology of Bacterial Resistance. *Microbiology And Molecular Biology Reviews*, June 2001, p. 232–260.
- Cushnie, T.P., dan Lamb, A. J. 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. *Journal of Antimicrobial Agents*, 26: 343–345.
- Cushnie TPT, Lamb AJ. 2005. Detection Of Galangin-Induced Cytoplasmic Membrane Damage In *Staphylococcus Aureus* By Measuring Potassium Loss. *J Ethnopharmacol* 101:243–8.
- Delehanty JB, Johnson BJ, Hickey TE, Pons T, 2007. Ligler FS. Binding and Neutralization of Lipopolysaccharides by Plant Proanthocyanidins. *J Nat Prod* ;70:1718–24.

- Depkes RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Jakarta: Depkes RI, hal 10-11.
- Dzoyem, J.P., Hamamoto, H., Ngameni, B., Ngadjui, B.T., Sekimizu, K. 2013. Antimicrobial Actions Mechanism of Flavonoids from *Dorstenia species*. *Drug Discoveries and Therapeutics*, 7(2):66-72.
- Fathiazad, F., Delazar, A., Amiri, R., dan Sarker, S. D. 2005. Extraction of Flavonoids and Quantification of Rutin from waste Tobacco Leaves. *IJPR*, 3: 222-227.
- Fabri RL, Nogueira MS, Braga FG, Coimbra ES, Scio E. 2009. *Mitracarpus frigidus* Aerial Parts Exhibited Potent Antimicrobial, Antileishmanial, and Antioxidant Effects. *Bioresour Technol* ;100:428–33.
- Gayatri, A., Susanto, A.D., Setiawati, A. 2012. Nicotine Replacement Therapy. *CDK 189*. Vol. 39 no.1, h : 25-30.
- Ginting, Maris Karisma. 2012. Validasi Metode LC-MS/MS untuk Penentuan Senyawa Asam Trans, Trans-mukonat, Asam Hippurat, Asam 2-metil Hippurat, Asam 3-metil Hippurat, Asam 4-metil Hippurat dalam Urin sebagai Biomarker Paparan Benzena, Toluena, dan Xilena. Skripsi. Jakarta : *Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia*.
- Gloria. 2008. " Rokok dan Bahaya Merokok", diakses dari www. Gloria. Com pada tanggal 23Oktober 2015.
- Garcia-Mediavilla, I. Crespo, P. S. Collado, A. Esteller, S. Sanchez-Compos, M. J. Tunon, J. Gonzalez-Gallego. 2007. The Anti-inflammatory Flavones, Quercetin, and Kaempferol Cause Cause Inhibition Of Inducible Nitric Oxide Synthase, Cyclooxygenase-2 and Reactive C-Protein, and Down-regulation Of The Nuclear Factor Kappa  $\beta$  Pathway In Chang Liver Cells, *Eur. J. Pharmacol* 557, 211-229.
- Gradisar, H., Pristovsek, P., Plaper, A., Jeralar, R. 2007. Greentea Catechins Inhibit Bacterial DNA Gyrase by Interaction With Its ATP Binding Site. *J Med Chem*: 50: 264-71.
- Gunawan, S. G., 2007. *Farmakologi dan Terapi Edisi 5*. Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. h : 117-119.
- Hajishengallis, G. 2011. Immune Evasion Strategies of *Porphyromonas gingivalis*. *J Oral Biosci*, 53(3):233–240.

- Hajishengallis G., Darveau, R.P., Curtis, M.A. 2012. The Keystone-pathogen Hypothesis. *Nat Rev Microbiol*, 10(10):717–725.I
- Harborne JB, Williams CA. 2000. Advances In Flavonoid Research Since 1992. *Phytochemistry*; 55:481–504.
- Havsteen, B. H. 2002. The Biochemistry and Medical Significance Of The Flavonoids, *Pharmacol Ther*: 29: 67-202.
- Heendric, A. B. 2006. Flavonoid-Membrane Interaction : Possible Consequences For Biological Effect Of Some Polyphenolic Compounds. *Acta Pharmacol Sin* : 27 : 27-40.
- Hendrawati, D. Y., 2007. *Candida albicans*. <http://mikrobia.files.wordpress.com/200805-yosephine-dian-hendrawati-078114110.pdf> [diakses 23 Oktober 2015].
- Herminingsih, Hesti. 2014. Hubungan Adaptasi Petani Terhadap Perubahan Iklim Dengan Produktivitas Tembakau pada Lahan Sawah dan Tegalan di Kabupaten Jember. *JSEP Vol. 7 No. 2 November 2014*, P: 31-44.
- Jawetz, Melnick, dan Adelberg's. 2005. *Medical Microbiology*. Mc Graw-Hill Companies: 327 -329.
- Jupriadi, L. 2011. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Waru (*Hibicustilaceus L.*) terhadap Jamur *Malassezia furfur*. Skripsi. Malang: *Program Studi Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya*.
- Kadowaki, T., Baba, A., Abe, N., Takii, R., Hashimoto, M., Tsukuda, T., Okazaki, S., Suda, Y., Asao., dan Yamamoto, K. 2004. Supression Of Pathogenicity Of *Porphyromonas gingivalis* by Newly Developed Gingipain Inhibitors. *Mol Pharmacol*, 66(6):1599-1606.
- Koru O, Toksoy F, Acikel CH, Tunca YM, Baysallar M, Uskudar Guclu A, et al. 2007. In Vitro Antimicrobial Activity of Propolis Samples From Different Geographical Origins Against Certain Oral Pathogens. *Anaerobe*;13:140–5.
- Kusumawardani, B. 2012. Dampak Infeksi *Porphyromonas gingivalis* pada Jaringan Periodontal Maternal terhadap Pertumbuhan Janin. Disertasi. Jogjakarta: *Fakultas Kedokteran UGM*.
- 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.

- Lamont, R. J., dan Jenkinson, H.S. 2010. *Oral Microbiology at A Glance*. Singapore: Willey-Blackwell: 30-39.
- Lenny, S. 2006. Isolasi dan Uji Bioaktifitas Kimia Utama Puding Merah dengan Metode Uji Brine Shrimp: <http://library.usu.ac.id/download/fmipa/06000441.pdf> a10.
- Majidah D., Fatmawati D.W.A., dan Gunadi, A. 2014. Daya Anti Bakteri Ekstrak Daun Seledri (*Apium graveolens L.*) terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans* sebagai Alternatif Obat Kumur. *Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa*.
- Matnawi, Hudi. 1997. *Budidaya Tembakau Bawah Naungan*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Mickel, Andre´ K. DDS, MSD, Priya Sharma, BDS, and Sami Chogle, BDS, MSD. 2003. Effectiveness of Stannous Fluoride and Calcium Hydroxide Against *Enterococcus faecalis*. *JOE* vol. 29, no. 4:259-260.
- Mysak, Jaroslav, Stepan Podzimek, Pavla Sommerova, Yelena Lyuya-Mi, Jirina Bartova, Tatjana Janatova, Jarmila Prochazkova, Jana Duskova. 2014. *Porphyromonas gingivalis*: Major Periodontopathic Pathogen Overview, *J Immunol Res* Vol 2014, Article ID 476068 : 1-8.
- Navaro-Martinez, M. D., Navaro, Peran E., Cabezas-Herrera J., Ruiz-Gomez, J., Garcia-Canovas, F., Rodriguez-Lopez, J. N. 2005. Antifolate Activity of Epigallocatechin Gallate Against *Stenotrophomonas maltophilia*, *Anti-microb Agent Chemother*: 49: 2941-20.
- Nazir. 2005. *Metode Penelitian*. Jakarta: Ghalia Indonesia.
- Obongoya, B.O., Wagai, S.O., dan Odhiambo, G. 2010. Phytotoxic Effect of Selected Crude Plant Extracts on Soil-Borne Fungi of Common Bean. *African Crop Sci. Journal*: 18 (1): 15–22.
- Plaper A, Golob M, Hafner I, Oblak M, Solmajer T, Jerala R. 2003. Characterization of quercetin binding site on DNA gyrase. *Biochem Biophys Res Commun* : 306:530–6.
- Putranto, Agus M.H. 2012. Metoda Ekstraksi Cair-Cair Sebagai Alternatif untuk Pembersihan Lingkungan Perairan dari Limbah Cair Industri Kelapa Sawit. *Jurnal Gradien* Vol.8 No.1 Januari 2012 : 746-751

- Putri, R. H., 2015. Daya hambat Ekstrak Etanol Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum*) Terhadap Pertumbuhan Mikroba Rongga Mulut. Skripsi. *Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember*.
- Rauhaa Jussi-Pekka, Remes, Susanna, Heinonen, Marina, Hopia Anu, Ka'hko'nen Marja, Kujala Tytti, Pihlaja Kalevi, Vuorela Heikki, Vuorela Pia. 2000. Antimicrobial Effects Of Finnish Plant Extracts Containing Flavonoid And Other Phenolic Compounds. *Int J Food Microbiol* 56 (2000) 3–12.
- Regina, R. A. 2007. The Effect of Mouthwash Containing Cetylpyridinium Chloride on Salivary Level of *Streptococcus mutans*. *Jurnal PDGI*, 57 (1): 19-24.
- Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS). 2013. *Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Kementerian Kesehatan Republik Indonesia*.
- Rohaya, Syarifah, Hariwati, W., Lely Retno, Sujuti, Hidayat. 2014. Efek Pemberian Ekstrak Kulit Jeruk Keprok (*Citrus reticulata*) Terhadap Cell-Cycle G1 Arrest dan Apoptosis Pada Sel Kultur Retinoblastoma, *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, No. 28, No. 2.
- Rusli, M. S., Suryani., dan Puspita, P. E. 2011. Antibacterial Activity of Temanggung Tobacco Extract Variety Genjah Kemloko. Bogor: *Institut Pertanian Bogor*.
- Sabir, Ordo. 2003. Manfaat Flavonoid di Bidang Kedokteran Gigi, *Dent J. Edisi Khusus Temu Ilmiah Nasional III*, 81-87.
- Sabir, Ardo. 2005. Aktivitas Antibakteri Flavonoid Propolis *Trigona sp* Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans* (in vitro). *Maj. Ked. Gigi (Dent. J.)* Vol 38. No 3 Juli-September 2005 : 135-141.
- Samaranayake, L. P. 2002. *Essential Microbiology For Detistry*. W.B. Saunders Company: Philadelphia: 175, 217-223, 425-426, 719-720.
- Samaranayake, L. 2011. *Essensial Microbiology for Dentistry. 4<sup>rd</sup> Edition*. Edinburgh: Churcill Livingstone.
- Scheffers, Dirk-Jan dan Pinho, Mariana G. 2005. Bacterial Cell Wall Synthesis: New Insights from Localization Studies. *MMBR*, Dec. P. 585–607.
- Sholeh, M., Rachman, A., dan Machfudz. 2000. Pengaruh Komposisi Pupuk Ks, Za, dan Urea, Serta Dosis N terhadap Mutu Tembakau Besuki. *Jurnal Littri*, 6 (3): 80-87.

- Simatupang, M.M. 2009. *Candida albicans*. Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran USU.
- Soares, Geisla Mary Silva , Figueiredo, Luciene Cristina, Faveri, Marcelo, Cortelli, Sheila Cavalca, Duarte, Poliana Mendes , Feres, Magda. 2012. Mechanisms Of Action Of Systemic Antibiotics Used In Periodontal Treatment And Mechanisms Of Bacterial Resistance To These Drugs. *J Appl Oral Sci*;20(3):295-309.
- Stapleton PD, Shah S, Ehlert K, Hara Y, Taylor PW. 2007. The  $\beta$ -Lactam-Resistance Modifier (-)-Epicatechin Gallate Alters The Architecture of The Cell Wall of *Staphylococcus aureus*. *Microbiology*;153:2093–103.
- Stevens, D. L., dan Kaplan, E. L., 2000. *Streptococcal Infection : Clinical Aspects. Microbiology, and Molecular Pathogenesis*. New York: Oxford University Press.
- Suhenry, Sri. 2010. Pengambilan Nikotin dari Batang Tembakau, *EKSERGI*: 45-48.
- Sukanto, Pradopo, S., dan Yulianti, A. 2002. Daya Hambat Ekstrak Kulit Buah Delima Putih terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *Dent. J*, (3): 35.
- Suresh, A.K. 2015. Analytical and Physical Characterization Techniques Employed to Assess Microbial Toxicity of Nanoparticles. *Springer Briefs in Biometals*. Hal 15-26.
- Susilowati, E. Y. 2006. Identifikasi Nikotin dari Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum*) Kering dan Uji Efektifitas Ekstrak Daun Tembakau sebagai Insektisida Penggerak Batang Padi (*Scirpophaga Innonata*). Semarang: Universitas Negeri Semarang.
- Taiga, A., dan Friday, E. 2009. Variations in Phytochemical Properties of Selected Fungicidal Aqueous Extracts of Some Plant Leaves in Kogi State, Nigeria. *AENSI*, 3 (3): 407-409.
- Tamba Y, Ohba S, Kubota M, Yoshioka H, Yoshioka H, Yamazaki M. 2007. Single GUV Method Reveals Interaction Of Tea Catechin (-)-epigallocatechin gallate With Lipid Membranes. *Biophys J*;92:3178–94.
- Tarahovsky, Yury S., Yuri, A. Kim, Yagolnik, Elna A., Muzafarov, Eugeny N. 2014. Flavonoid-Membrane Interaction: Involvement Of Flavonoid-Metal Complexes In Raff Signaling, *BBA* :1838: 1235-1246.

- Tjampakasari, C.R. 2006. Karakteristik *Candida albicans*. [on line]. <http://www.optimalhealthnetwork.com/Candida-Albicans-s/202.htm>. [ 23 Oktober 2014].
- Treagan, Lucy. 2011. Candida and Its Role In Opportunistic Mycoses, *California Association For Medical Laboratory Technology*, P: 2-3.
- Tortora, G.J., Funke, B.R., & Case, C.I. 2004. *Microbiology an Introduction*. Eighth Edition, San Fransisco, Benjamin Cummings: 606-7.
- Tsuchiya, H., Iinuma, M., 2000. Reduction Of Membrane Fluidity by Antibacterial Sophoraflavanone G Isolated from *Sophora exigua*. *Phytomedicine* Volume 7, Issue 2, April 2000, Elsevier : Pages 161–165.
- Ulanowska K, Tkaczyk A, Konopa G, Węgrzyn G. 2006. Differential Antibacterial Activity Of Genistein Arising From Global Inhibition Of DNA, RNA And Protein Synthesis In Some Bacterial Strains. *Arch Microbiol*;184:271–8.
- Usmadi dan Hartana. 2007. *Budidaya Tanaman Tembakau*, Universitas Jember.
- Uzel A, Sorkun K, Oncag O, Cogulu D, Gencay M, Salih B. 2005. Chemical Compositions and Antimicrobial Activities of Four Different Anatolian Propolis Samples. *Microbiol Res*;160:189-95.
- Vandeputte OM, Kiendrebeogo M, Rajaonson S, Diallo B, Mol A, El Jaziri M, et al. 2010. Identification of Catechin As One of The Flavonoids From *Combretum albiflorum* bark Extract That Reduces The Production of Quorum-Sensing-Controlled Virulence Factors in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *Appl Environ Microbiol*;76:243–53.
- Wang Q, Wang H, Xie M. 2010. Antibacterial Mechanism Of Soybean Isoflavone On *Staphylococcus aureus*. *Arch Microbiol*;192:893–8.
- Wu D, Kong Y, Han C, Chen J, Hu L, Jiang H, et al. 2008. D-Alanine:D-Alanine Ligase As A New Target For The Flavonoids Quercetin And Apigenin. *Int J Antimicrob Agents*;32:421–6.



Lampiran A. Klasifikasi Flavonoid

Compound	Substituents at carbon position:											
	2	3	4	5	6	7	8	2'	3'	4'	5'	6'
<b>Flavones and their glycosides</b>												
Acacetin	-	-	-	OH	-	OH	-	-	-	OCH <sub>3</sub>	-	-
Apigenin	-	-	-	OH	-	OH	-	-	-	OH	-	-
Baicalin	-	-	-	OH	OH	OR1	-	-	-	-	-	-
Baicalein	-	-	-	OH	OH	OH	-	-	-	-	-	-
Chrysin	-	-	-	OH	-	OH	-	-	-	-	-	-
Gardenin A (demethylated)	-	-	-	OH	OH	OH	OH	-	OH	OH	OH	-
Genkwanin	-	-	-	OH	-	OCH <sub>3</sub>	-	-	-	OH	-	-
Luteolin	-	-	-	OH	-	OH	-	-	OH	OH	-	-
Luteolin 7-glucoside	-	-	-	OH	-	OR2	-	-	OH	OH	-	-
7,8-Dihydroxyflavone	-	-	-	-	-	OH	OH	-	-	-	-	-
5,5'-Dihydroxy-8,2',4'-trimethoxyflavone	-	-	-	OH	-	-	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	-	OCH <sub>3</sub>	OH	-
5-Hydroxy-7,4'-dimethoxyflavone	-	-	-	OH	-	OCH <sub>3</sub>	-	-	-	OCH <sub>3</sub>	-	-
5,7,4'-Trihydroxy-3',5'-dimethoxyflavone	-	-	-	OH	-	OH	-	-	CH <sub>3</sub>	OH	CH <sub>3</sub>	-
6,7,4'-Trihydroxy-3',5'-dimethoxyflavone	-	-	-	-	OH	OH	-	-	CH <sub>3</sub>	OH	CH <sub>3</sub>	-
<b>Isoflavones</b>												
6,8-Diprenylgenistein	-	-	-	OH	R3	OH	R3	-	-	OH	-	-
Sophoraisoflavone A	-	-	-	OH	-	OH	-	*	*	OH	-	-
<b>Flavonols and their glycosides</b>												
Galangin	-	OH	-	OH	-	OH	-	-	-	-	-	-
Kaempferol	-	OH	-	OH	-	OH	-	-	-	OH	-	-
3-O-methylquercetin	-	OCH <sub>3</sub>	-	OH	-	OH	-	-	OH	OH	-	-
Morin	-	OH	-	-	-	OH	-	OH	-	OH	OH	-
Myricetin	-	OH	-	OH	-	OH	-	-	OH	OH	OH	-
Quercetagenin	-	OH	-	OH	OH	OH	-	-	OH	OH	-	-
Quercetagenin-7-arabinosyl-galactoside	-	OH	-	OH	OH	OR4	-	-	OH	OH	-	-
Quercetin	-	OH	-	OH	-	OH	-	-	OH	OH	-	-
Quercetin-3-O-(2"-galloyl)-α-L-arabinopyranoside	-	OR5	-	OH	-	OH	-	-	OH	OH	-	-
Quercetin	-	OR6	-	OH	-	OH	-	-	OH	OH	-	-
Robinetin	-	OH	-	-	-	OH	-	-	OH	OH	OH	-
Rutin	-	OR7	-	OH	-	OH	-	-	OH	OH	-	-
3,2'-Dihydroxyflavone	-	OH	-	-	-	-	-	OH	-	-	-	-
3,6,7,3',4'-Pentahydroxyflavone	-	OH	-	-	OH	OH	-	-	OH	OH	-	-
<b>Flavan-3-ols</b>												
Catechin	-	OH	OH	-	-	OH	-	-	OH	-	OH	-
Epicatechin gallate	-	R8	-	OH	-	OH	-	-	OH	OH	-	-
Epigallocatechin	-	OH	-	OH	-	OH	-	-	OH	OH	OH	-
Epigallocatechin gallate	-	R8	-	OH	-	OH	-	-	OH	OH	OH	-
3-O-octanoyl(+)-catechin	-	R9	-	OH	-	OH	-	-	OH	OH	-	-
3-O-octanoyl(-)-epicatechin	-	R9	-	OH	-	OH	-	-	OH	OH	-	-
<b>Flavanon-3-ols</b>												
Dihydrofisetin	-	OH	-	-	-	OH	-	-	OH	OH	-	-
Dihydroquercetin	-	OH	-	OH	-	OH	-	-	OH	OH	-	-
<b>Flavones and their glycosides</b>												
Lonchocarpol A	-	-	-	OH	R3	OH	R3	-	-	OH	-	-
Naringenin	-	-	-	OH	-	OH	-	-	-	OH	-	-
Naringin	-	-	-	OH	-	OR7	-	-	-	OH	-	-
Pinocembrin	-	-	-	OH	-	OH	-	-	-	-	-	-
Ponciretin	-	-	-	OH	-	OH	-	-	-	OCH <sub>3</sub>	-	-
Sophoraflavanone G	-	-	-	OH	-	OH	R10	OH	-	OH	-	-
3-Methylene flavanone	-	CH <sub>2</sub>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5,7,4'-Trihydroxy-8-methyl-6-(3-methyl[2-butenyl])-(2S)-flavanone	-	-	-	OH	R3	OH	CH <sub>3</sub>	-	-	OH	-	-
<b>Chalcones</b>												
Licochalcone A	-	R11	OH	-	OCH <sub>3</sub>	-	-	-	-	OH	-	-
Licochalcone C	-	-	OH	R3	OCH <sub>3</sub>	-	-	-	-	OH	-	-
2,4,2'-Trihydroxychalcone	OH	-	OH	-	-	-	-	OH	-	-	-	-
2,4,2'-Trihydroxy-5'-methylchalcone	OH	-	OH	CH <sub>3</sub>	-	-	-	OH	-	-	-	-
<b>Flavan-3,4-diols and anthocyanidins</b>												
Leucocyanidin	-	OH	OH	OH	-	OH	-	-	OH	OH	-	-
Pelargonidin chloride	-	Cl	-	OH	-	OH	-	-	-	OH	-	-
<b>Flavans</b>												
6,4'-Dichloroflavan	-	-	-	-	-	Cl	-	-	-	Cl	-	-
7-Hydroxy-3',4'-(methylenedioxy)flavan	-	-	-	-	-	-	OH	-	#	#	-	-

R1: Glucuronic acid; R2: glucose; R3: prenyl group; R4: arabinose-galactose; R5: (2"-galloyl)-α-L-arabinopyranoside; R6: rhamnose; R7: rhamnose-glucose; R8: gallic acid; R9: octanoyl; R10: lavandulyl; R11: 3-methyl-1-butene.

-, no substitution; \*, pyran ring between positions 2' and 3'; #, O-CH<sub>2</sub>-O between positions 3' and 4'.

Note: Hinokiflavone and robustaflavone are biflavonoids (also known as biflavonyls) consisting of two apigenin molecules joined through I-6-O-II-4' and I-6-II-3' linkages, respectively.

**Lampiran B Pengenceran Ekstrak Flavonoid Limbah Daun Tembakau****Pengenceran DMSO 0,25%**

Pengenceran DMSO 0,25% dilakukan berdasarkan penghitungan berikut :

$$V1.N1 = V2.N2$$

$$V1.100\% = 10 \text{ ml} \cdot 0,25\%$$

$$V1 = 2,5 : 100$$

$$V1 = 0,025 \text{ ml}$$

$$\text{Volume aquades} = \text{volume total} - \text{volume DMSO} 100\%$$

$$\text{Volume aquades} = 10 \text{ ml} - 0,025 \text{ ml}$$

$$\text{Volume aquades} = 9,975 \text{ ml}.$$

**Pembuatan ekstrak flavonoid konsentrasi 320 µg/ml**

Menimbang ekstrak flavonoid yang akan diencerkan sebanyak 320 µg lalu diencerkan dalam DMSO 0,25% hingga 1 ml.

**Pembuatan ekstrak flavonoid konsentrasi 160 µg/ml**

Banyak ekstrak flavonoid konsentrasi 320 µg/ml untuk membuat ekstrak flavonoid konsentrasi 160 µg/ml

$$V1.N1 = V2.N2$$

$$V1.320 \text{ µg/ml} = 1 \text{ ml} \cdot 160 \text{ µg/ml}$$

$$V1 = 160 \text{ µg/ml} : 320 \text{ µg/ml}$$

$$V1 = 0,5 \text{ ml}.$$

Banyak aquades untuk pengenceran ekstrak flavonoid konsentrasi 320 µg/ml menjadi ekstrak flavonoid konsentrasi 160 µg/ml

= 1 ml ekstrak flavonoid konsentrasi 160  $\mu\text{g/ml}$  – 0,5ml ekstrak flavonoid 320  $\mu\text{g/ml}$   
= 0,5 ml aquades

**Pembuatan ekstrak flavonoid konsentrasi 80  $\mu\text{g/ml}$**

Banyak ekstrak flavonoid konsentrasi 160  $\mu\text{g/ml}$  untuk membuat ekstrak flavonoid konsentrasi 80  $\mu\text{g/ml}$

$$V1.N1 = V2.N2$$

$$V1.160 \mu\text{g/ml} = 1 \text{ ml} . 80 \mu\text{g/ml}$$

$$V1 = 80 \mu\text{g/ml} : 160 \mu\text{g/ml}$$

$$V1 = 0,5\text{ml}.$$

Banyak aquades untuk pengenceran ekstrak flavonoid konsentrasi 160  $\mu\text{g/ml}$  menjadi ekstrak flavonoid konsentrasi 80  $\mu\text{g/ml}$

= 1 ml ekstrak flavonoid konsentrasi 80  $\mu\text{g/ml}$  – 0,5ml ekstrak flavonoid 160  $\mu\text{g/ml}$

= 0,5 ml aquades.

## Lampiran C. Hasil Uji Statistik

## Hasil Uji Normalitas Kolmogorov-Smirnov

1. Data 24 jam bakteri *Porphyromonas gingivalis*

## One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Zona_ Hambat_ Flavonoid_P_ gingivalis_24
N		15
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	11.1007
	Std. Deviation	4.07004
Most Extreme Differences	Absolute	.266
	Positive	.266
	Negative	-.166
Kolmogorov-Smirnov Z		1.029
Asymp. Sig. (2-tailed)		.240

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

2. Data 24 jam bakteri *Streptococcus mutans*

## One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Zona_ Hambat_ Flavonoid_S_ mutans_24
N		15
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	7.3473
	Std. Deviation	.64170
Most Extreme Differences	Absolute	.313
	Positive	.313
	Negative	-.180
Kolmogorov-Smirnov Z		1.212
Asymp. Sig. (2-tailed)		.106

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

3. Data 24 jam jamur *Candida albicans***One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		Zona_ Hambat_ Flavonoid_C_ albicans_24
N		15
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	7.2374
	Std. Deviation	.30588
Most Extreme Differences	Absolute	.111
	Positive	.111
	Negative	-.087
Kolmogorov-Smirnov Z		.431
Asymp. Sig. (2-tailed)		.992

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

**Hasil Uji Homogenitas *Levene-Statistic***

1. Data 24 jam bakteri *Porphyromonas gingivalis*

**Test of Homogeneity of Variances**

Zona\_Hambat\_Flavonoid\_P\_gingivalis\_24

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.181	4	10	.063

2. Data 24 jam bakteri *Streptococcus mutans*

**Test of Homogeneity of Variances**

Zona\_Hambat\_Flavonoid\_S\_mutans\_24

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.904	4	10	.186

3. Data 24 jam jamur *Candida albicans*

**Test of Homogeneity of Variances**

Zona\_Hambat\_Flavonoid\_C\_albicans\_24

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.566	4	10	.103

**Hasil Uji One-Way ANOVA**1. Data 24 jam bakteri *Porphyromonas gingivalis***ANOVA**Zona Hambat Flavonoid *P. gingivalis* 24

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	184.011	4	46.003	9.604	.002
Within Groups	47.902	10	4.790		
Total	231.913	14			

2. Data 24 jam bakteri *Streptococcus mutans***ANOVA**Zona Hambat Flavonoid *S. mutans* 24

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5.658	4	1.414	132.150	.000
Within Groups	.107	10	.011		
Total	5.765	14			

3. Data 24 jam bakteri *Candida albicans***ANOVA**Zona Hambat Flavonoid *C. albicans* 24

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.012	4	.253	8.508	.003
Within Groups	.297	10	.030		
Total	1.310	14			

### Hasil Uji *Post-Hoc Multiple Comparison LSD*

#### 1. Data 24 jam bakteri *Porphyromonas gingivalis*

##### Multiple Comparisons

Dependent Variable: Zona\_Hambat\_Flavonoid\_P\_gingivalis\_24

LSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Limbah Konsentrasi 320 (P gingivalis)	Limbah Konsentrasi 160 (P gingivalis)	-2.98667	1.78703	.126	-6.9684	.9951
	Limbah Konsentrasi 80 (P gingivalis)	-9.29000*	1.78703	.000	-13.2717	-5.3083
	Kontrol DMSO (P gingivalis)	.30000	1.78703	.870	-3.6817	4.2817
	Kontrol Metronidazole (P gingivalis)	-1.46000	1.78703	.433	-5.4417	2.5217
Limbah Konsentrasi 160 (P gingivalis)	Limbah Konsentrasi 320 (P gingivalis)	2.98667	1.78703	.126	-.9951	6.9684
	Limbah Konsentrasi 80 (P gingivalis)	-6.30333*	1.78703	.005	-10.2851	-2.3216
	Kontrol DMSO (P gingivalis)	3.28667	1.78703	.096	-.6951	7.2684
	Kontrol Metronidazole (P gingivalis)	1.52667	1.78703	.413	-2.4551	5.5084
Limbah Konsentrasi 80 (P gingivalis)	Limbah Konsentrasi 320 (P gingivalis)	9.29000*	1.78703	.000	5.3083	13.2717
	Limbah Konsentrasi 160 (P gingivalis)	6.30333*	1.78703	.005	2.3216	10.2851
	Kontrol DMSO (P gingivalis)	9.59000*	1.78703	.000	5.6083	13.5717
	Kontrol Metronidazole (P gingivalis)	7.83000*	1.78703	.001	3.8483	11.8117
Kontrol DMSO (P gingivalis)	Limbah Konsentrasi 320 (P gingivalis)	-.30000	1.78703	.870	-4.2817	3.6817
	Limbah Konsentrasi 160 (P gingivalis)	-3.28667	1.78703	.096	-7.2684	.6951
	Limbah Konsentrasi 80 (P gingivalis)	-9.59000*	1.78703	.000	-13.5717	-5.6083
	Kontrol Metronidazole (P gingivalis)	-1.76000	1.78703	.348	-5.7417	2.2217
Kontrol Metronidazole (P gingivalis)	Limbah Konsentrasi 320 (P gingivalis)	1.46000	1.78703	.433	-2.5217	5.4417
	Limbah Konsentrasi 160 (P gingivalis)	-1.52667	1.78703	.413	-5.5084	2.4551
	Limbah Konsentrasi 80 (P gingivalis)	-7.83000*	1.78703	.001	-11.8117	-3.8483
	Kontrol DMSO (P gingivalis)	1.76000	1.78703	.348	-2.2217	5.7417

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



2. Data 24 jam bakteri *Streptococcus mutans*

## Multiple Comparisons

Dependent Variable: Zona Hambat Flavonoid S mutans 24

LSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Limbah Konsentrasi 320 (S mutans)	Limbah Konsentrasi 160 (S mutans)	.39111*	.08447	.001	.2029	.5793
	Limbah Konsentrasi 80 (S mutans)	-.05741	.08447	.512	-.2456	.1308
	Kontrol DMSO (S mutans)	.25333*	.08447	.013	.0651	.4416
	Kontrol Tetrasiklin (S mutans)	-1.33296*	.08447	.000	-1.5212	-1.1447
Limbah Konsentrasi 160 (S mutans)	Limbah Konsentrasi 320 (S mutans)	-.39111*	.08447	.001	-.5793	-.2029
	Limbah Konsentrasi 80 (S mutans)	-.44852*	.08447	.000	-.6367	-.2603
	Kontrol DMSO (S mutans)	-.13778	.08447	.134	-.3260	.0504
	Kontrol Tetrasiklin (S mutans)	-1.72407*	.08447	.000	-1.9123	-1.5359
Limbah Konsentrasi 80 (S mutans)	Limbah Konsentrasi 320 (S mutans)	.05741	.08447	.512	-.1308	.2456
	Limbah Konsentrasi 160 (S mutans)	.44852*	.08447	.000	.2603	.6367
	Kontrol DMSO (S mutans)	.31074*	.08447	.004	.1225	.4990
	Kontrol Tetrasiklin (S mutans)	-1.27556*	.08447	.000	-1.4638	-1.0873
Kontrol DMSO (S mutans)	Limbah Konsentrasi 320 (S mutans)	-.25333*	.08447	.013	-.4416	-.0651
	Limbah Konsentrasi 160 (S mutans)	.13778	.08447	.134	-.0504	.3260
	Limbah Konsentrasi 80 (S mutans)	-.31074*	.08447	.004	-.4990	-.1225
	Kontrol Tetrasiklin (S mutans)	-1.58630*	.08447	.000	-1.7745	-1.3981
Kontrol Tetrasiklin (S mutans)	Limbah Konsentrasi 320 (S mutans)	1.33296*	.08447	.000	1.1447	1.5212
	Limbah Konsentrasi 160 (S mutans)	1.72407*	.08447	.000	1.5359	1.9123
	Limbah Konsentrasi 80 (S mutans)	1.27556*	.08447	.000	1.0873	1.4638
	Kontrol DMSO (S mutans)	1.58630*	.08447	.000	1.3981	1.7745

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

3. Data 24 jam bakteri *Candida albicans*

## Multiple Comparisons

Dependent Variable: Zona\_Hambat\_Flavonoid\_C\_albicans\_24

LSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Limbah Konsentrasi 320 (C albicans)	Limbah Konsentrasi 160 (C albicans)	-.46815*	.14083	.008	-.7819	-.1544
	Limbah Konsentrasi 80 (C albicans)	-.76333*	.14083	.000	-1.0771	-.4495
	Kontrol DMSO (C albicans)	-.23741	.14083	.123	-.5512	.0764
	Kontrol Ketokonazole (C albicans)	-.21444	.14083	.159	-.5282	.0993
Limbah Konsentrasi 160 (C albicans)	Limbah Konsentrasi 320 (C albicans)	.46815*	.14083	.008	.1544	.7819
	Limbah Konsentrasi 80 (C albicans)	-.29519	.14083	.062	-.6090	.0186
	Kontrol DMSO (C albicans)	.23074	.14083	.132	-.0830	.5445
	Kontrol Ketokonazole (C albicans)	.25370	.14083	.102	-.0601	.5675
Limbah Konsentrasi 80 (C albicans)	Limbah Konsentrasi 320 (C albicans)	.76333*	.14083	.000	.4495	1.0771
	Limbah Konsentrasi 160 (C albicans)	.29519	.14083	.062	-.0186	.6090
	Kontrol DMSO (C albicans)	.52593*	.14083	.004	.2121	.8397
	Kontrol Ketokonazole (C albicans)	.54889*	.14083	.003	.2351	.8627
Kontrol DMSO (C albicans)	Limbah Konsentrasi 320 (C albicans)	.23741	.14083	.123	-.0764	.5512
	Limbah Konsentrasi 160 (C albicans)	-.23074	.14083	.132	-.5445	.0830
	Limbah Konsentrasi 80 (C albicans)	-.52593*	.14083	.004	-.8397	-.2121
	Kontrol Ketokonazole (C albicans)	.02296	.14083	.874	-.2908	.3367
Kontrol Ketokonazole (C albicans)	Limbah Konsentrasi 320 (C albicans)	.21444	.14083	.159	-.0993	.5282
	Limbah Konsentrasi 160 (C albicans)	-.25370	.14083	.102	-.5675	.0601
	Limbah Konsentrasi 80 (C albicans)	-.54889*	.14083	.003	-.8627	-.2351
	Kontrol DMSO (C albicans)	-.02296	.14083	.874	-.3367	.2908

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

## Deskripsi Data

### 1. Data 24 jam bakteri *Porphyromonas gingivalis*

#### Descriptives

Zona Hambat Flavonoid P. gingivalis\_24

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Limbah Konsentrasi 320 (P gingivalis)	3	8.4133	.28589	.16506	7.7031	9.1235	8.10	8.66
Limbah Konsentrasi 160 (P gingivalis)	3	11.4000	.07810	.04509	11.2060	11.5940	11.31	11.45
Limbah Konsentrasi 80 (P gingivalis)	3	17.7033	4.40153	2.54122	6.7693	28.6373	13.17	21.96
Kontrol DMSO (P gingivalis)	3	8.1133	1.46483	.84572	4.4745	11.7522	7.16	9.80
Kontrol Metronidazole (P gingivalis)	3	9.8733	1.53102	.88394	6.0701	13.6766	8.27	11.32
Total	15	11.1007	4.07004	1.05088	8.8468	13.3546	7.16	21.96

### 2. Data 24 jam bakteri *Streptococcus mutans*

#### Descriptives

Zona Hambat Flavonoid S. mutans\_24

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Limbah Konsentrasi 320 (S mutans)	3	7.1981	.12047	.06956	6.8989	7.4974	7.09	7.33
Limbah Konsentrasi 160 (S mutans)	3	6.8070	.04940	.02852	6.6843	6.9297	6.76	6.86
Limbah Konsentrasi 80 (S mutans)	3	7.2556	.02655	.01533	7.1896	7.3215	7.23	7.28
Kontrol DMSO (S mutans)	3	6.9448	.18182	.10497	6.4932	7.3965	6.76	7.12
Kontrol Tetrasiklin (S mutans)	3	8.5311	.05293	.03056	8.3996	8.6626	8.47	8.56
Total	15	7.3473	.64170	.16569	6.9920	7.7027	6.76	8.56




3. Data 24 jam bakteri *Candida albicans*

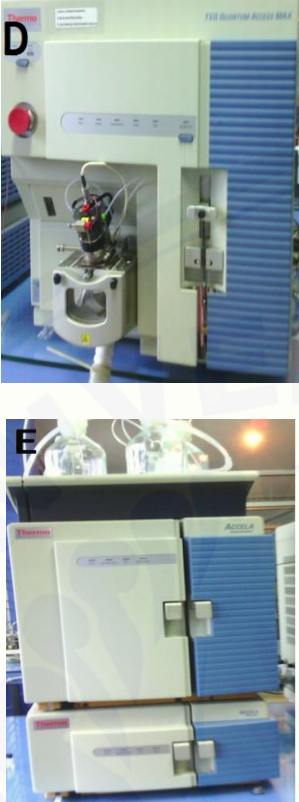

## Descriptives



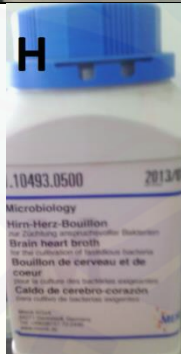

Zona Hambat Flavonoid *C. albicans* 24


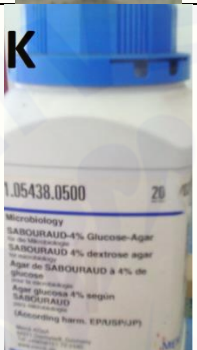
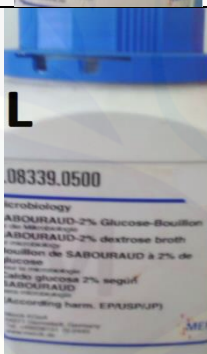

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Limbah Konsentrasi 320 (C albicans)	3	6.9007	.02667	.01540	6.8345	6.9670	6.87	6.93
Limbah Konsentrasi 160 (C albicans)	3	7.3689	.12204	.07046	7.0657	7.6720	7.27	7.50
Limbah Konsentrasi 80 (C albicans)	3	7.6641	.16773	.09684	7.2474	8.0808	7.55	7.86
Kontrol DMSO (C albicans)	3	7.1381	.29336	.16937	6.4094	7.8669	6.82	7.40
Kontrol Ketokonazole (C albicans)	3	7.1152	.13764	.07946	6.7733	7.4571	7.00	7.27
Total	15	7.2374	.30588	.07898	7.0680	7.4068	6.82	7.86

**D. Lampiran Alat dan Bahan Penelitian**





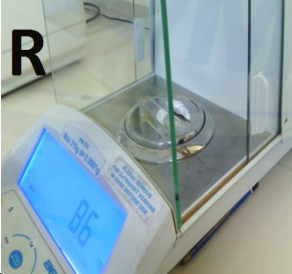
No	Gambar	Keterangan
1		Blender
2		Bubuk Daun Tembakau
3		Oven


4		Alat LC-MS/MS
5		Autoclave

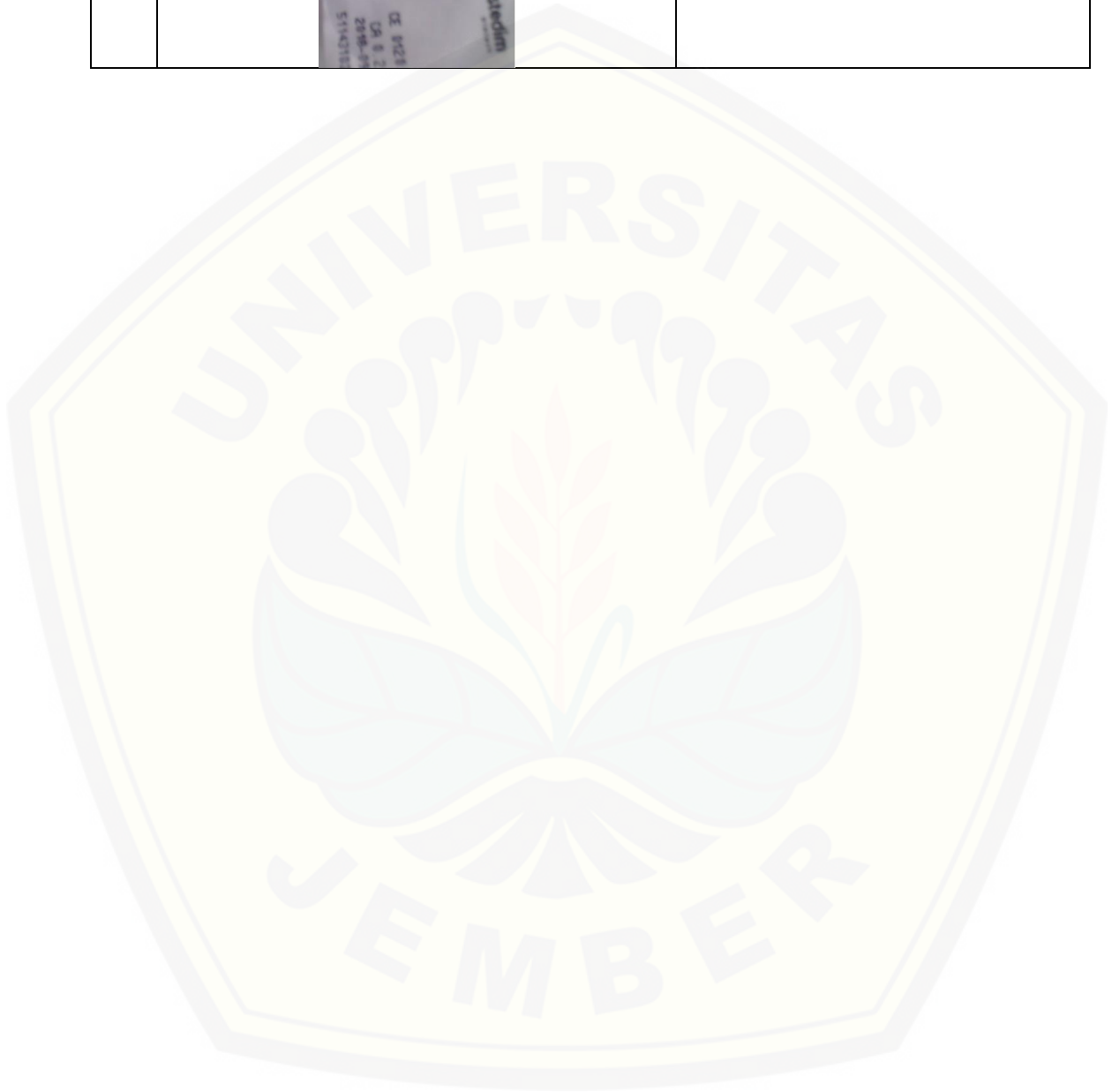
<p>6</p>		<p><i>Laminar Flow</i></p>
<p>6</p>	<p><b>G</b></p> 	<p>BHIA</p>
<p>7</p>	<p><b>H</b></p> 	<p>BHIB</p>
<p>8</p>	<p><b>I</b></p> 	<p>Blank Disc</p>

<p>9</p>		<p>Cotton Bud Steril</p>
<p>10</p>		<p>SDA</p>
<p>11</p>		<p>SDB</p>
<p>12</p>		<p>Spektrofotometri, Bunsen, Thermolyne</p>




13	 A photograph of an open laboratory incubator and desiccator. Inside, a white ceramic dish sits on a metal tray, with a glowing orange light source positioned above it. A large black letter 'N' is overlaid on the top left of the image.	Inkubator dan Desikator
14	 A photograph of several white packets of Tetracycline capsules. The packets are labeled 'TETRACYCLINE' and 'CAPSULE'. A large black letter 'O' is overlaid on the top left of the image.	Tetrasiklin
15	 A photograph showing a white mortar and pestle containing a white powder. Next to it is a packet of Metronidazole tablets, labeled 'METRONIDAZOL'. A large black letter 'P' is overlaid on the top left of the image.	Metronidazol dan mortal pastel
16	 A photograph of a vertical laboratory micropipette. A large black letter 'Q' is overlaid on the top left of the image.	Mikropipet
17	 A photograph of a digital analytical scale. The scale's display shows the number '0.00'. A large black letter 'R' is overlaid on the top left of the image.	Timbangan Digital (mg)

18		Mikrofilter syringe
----	---	---------------------



**E. Surat Keterangan Kelaikan Etik Penelitian**

	<b>UNIT ETIKA DAN ADVOKASI</b> <b>FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI UNIVERSITAS GADJAH MADA</b> Sekretariat: Fakultas Kedokteran Gigi UGM Jl. Denta Sekip Utara Yogyakarta Telp. (0274) 902671
---	--

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK PENELITIAN**  
**("ETHICAL CLEARANCE")**

No.00616/KKEP/FGK-UGM/EC/2016

Setelah Tim Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada mempelajari dengan seksama rancangan penelitian yang diusulkan:

Judul : **PENGARUH EKSTRAK FLAVONOID RENDAH NIKOTIN LIMBAH DAUN TEMBAKAU KASTURI (*Nicotiana tabacum L.*) TERHADAP PERTUMBUHAN MIKROBA RONGGA MULUT**

Peneliti Utama : Ika Ayu Fatimah

Penanggung Jawab Medis : Dr. drg. Banun Kusumawardani, M.Kes

Unit/Lembaga : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember



Lokasi Penelitian : Lab. Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Waktu Penelitian : April – Mei 2016


Maka dengan ini menyatakan bahwa penelitian tersebut telah memenuhi syarat atau laik etik.

Yogyakarta, 6 April 2016

Wakil Dekan Bidang Akademik dan Kemahasiswaan	Ketua Komisi Etik Penelitian FKG UGM
---	--------------------------------------


 

drg. Dianti Nari Ratih, M.Kes., Sp. KG, Ph.D.





drg. Suryono, S.H, Ph.D

## F. Surat Keterangan Identifikasi Tumbuhan



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

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



**SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI**

No.1309 /IPH.6/HM/IX/2015

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

**drg. Agustin Wulan Suci D, MDSC NIP : 197908142008122003**

Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, datang di UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi pada tanggal 10 September 2015, berdasarkan buku PROSEA ( Plants Resources of South-East Asia ) No 16; Stimulants, editor H.A.M. van der Vossen dan M. Wessel, tahun 2000, halaman 91 nama ilmiahnya adalah :

Genus : *Nicotiana*  
 Species : *Nicotiana tabacum L.*

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

Divisio : *Magnoliophyta*  
 Class : *Magnoliopsida*  
 Subclass : *Asteridae*  
 Ordo : *Solanales*  
 Family : *Solanaceae*

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Purwodadi, 14 September 2015  
 An. Kepala  
 Kepala Seksi Konservasi Ex-situ,



Deden Mudiana, S.Hut, M.Si

## G. Surat Ijin penelitian

KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
Jl. Kalimantan No. 37 Jember 65133133336, Fax. 311991

Nomor : 046/UN25.8/TL/2015  
Perihal : Ijin Penelitian

Kepada Yth.  
Kepala Laboratorium Biologi Farmasi  
Fakultas Farmasi Universitas Jember  
di  
Jember

Dalam rangka pengumpulan data penelitian guna penyusunan skripsi maka, dengan hormat kami mohon bantuan dan kesediaannya untuk memberikan ijin penelitian bagi mahasiswa di bawah ini :

1. Nama	: Faisal Rizki
2. NIM	: 121610101015
3. Tahun Akademik	: 2015/2016
4. Fakultas	: Kedokteran Gigi Universitas Jember
5. Alamat	: PBN Cluster Pondok Indah B 5 Jember
6. Judul Penelitian	: Potensi Ekstrak Flavanoid Bebas Nikotin Limbah Daun Tembakau Kasturi (Nicotiana Tobaccum) Terhadap Viabilitas Sel Fibroblas Gingiva Manusia Secara Invitro
7. Lokasi Penelitian	: Lab. Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember
8. Data/alat yang dipinjam	: -
9. Waktu	: September 2015 s/d Selesai
10. Tujuan Penelitian	: Untuk Mengetahui Potensi Ekstrak Flavanoid Bebas Nikotin Limbah Daun Tembakau Kasturi (Nicotiana Tobaccum) Terhadap Viabilitas Sel Fibroblas Gingiva Manusia Secara Invitro
11. Dosen Pembimbing	: 1. drg. Zahara Meilawaty, M.Kes 2. drg. Agustin Wulan Suci D, MDSc

Demikian atas perkenan dan kerjasama yang baik disampaikan terima kasih.

Jember, 28 SEP 2015  
an Dekan  
Pembantu Dekan I

  
Dr. drg. IDA Susilawati, M.Kes  
NIP. 196109031986022001

**Lampiran H. Surat Identifikasi Bakteri *Streptococcus mutans***

LABORATORIUM MIKROBIOLOGI  
BAGIAN BIOMEDIK KEDOKTERAN GIGI  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS JEMBER

**SURAT KETERANGAN**

No.079/MIKRO/SKET/2015

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

Nama : Ika Ayu Fatimah  
Nim : 121610101032  
Fakultas : Kedokteran Gigi, Universitas Jember  
Keperluan : Identifikasi bakteri (pengecatan gram)

Telah melakukan uji identifikasi terhadap isolat *Streptococcus mutans*, hasil uji identifikasi secara mikroskopis dengan pengecatan Gram menunjukkan *streptococcus* gram positif dan tidak ada kontaminasi.

Jember, 19 Maret 2016

Mengetahui,

Ketua Bagian Biomedik Kedokteran Gigi

Penanggung Jawab Laboratorium Mikrobiologi

(Prof. Dr. drg. I.D.A Ratna Dewanti, M.Si.)  
NIP. 196705021997022001

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

Lampiran I. Surat Identifikasi Bakteri *Porphyromonas gingivalis*

LABORATORIUM MIKROBIOLOGI  
BAGIAN BIOMEDIK KEDOKTERAN GIGI  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS JEMBER

SURAT KETERANGAN

No.092/MIKRO/SKET/2016

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

Nama : Ika Ayu Fatimah  
Nim : 121610101032  
Fakultas : Kedokteran Gigi, Universitas Jember  
Keperluan : Identifikasi bakteri (pengecatan gram)

Telah melakukan uji identifikasi terhadap isolat *Porphyromonas gingivalis*, hasil uji identifikasi secara mikroskopis dengan pengecatan Gram menunjukkan *coccobacillus* gram negatif dan tidak ada kontaminasi.

Jember, 19 Maret 2016

Mengetahui,

Ketua Bagian Biomedik Kedokteran Gigi

Penanggung Jawab Laboratorium Mikrobiologi

(Prof. Dr. drg. I.D.A. Ratna Dewanti, M.Si.)  
NIP. 196705021997022001

(drg. Pujianda Endah Lestari, M.Kes.)  
NIP. 197608092005012002

**Lampiran J. Surat Identifikasi Jamur *Candida albicans***

LABORATORIUM MIKROBIOLOGI  
BAGIAN BIOMEDIK KEDOKTERAN GIGI  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS JEMBER

**SURAT KETERANGAN**

No.080 /MIKRO/SKET/2015

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

Nama : Ika Ayu Fatimah  
Nim : 121610101032  
Fakultas : Kedokteran Gigi, Universitas Jember  
Keperluan : Identifikasi jamur (uji *germ tube*)

Telah melakukan uji identifikasi terhadap isolat *Candida albicans*, hasil uji identifikasi secara mikroskopis dengan menggunakan uji *germ tube* dan diamati mikroskopis menunjukkan presumtive *Candida albicans*.

Jember, 19 Maret 2016

Mengetahui,

Ketua Bagian Biomedik Kedokteran Gigi

Penanggung Jawab Laboratorium Mikrobiologi

(Prof.Dr.drg.I.D.A Ratna Dewanti, M.Si.)  
NIP. 196705021997022001

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



### Lampiran K. Data Hasil Penelitian

Tabel K. 1 Hasil Pengukuran diameter zona hambat (skala mm) pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* inkubasi 24 jam

Konse ntrasi	Pengamat 1			Pengamat 2			Pengamat 3			Rata -rata Peng amat 3	Rata -rata Peng amat 1,2,3		
L320	8,05	7,89	8,04	7,99	6,39	7,06	6,12	6,52	6,74	6,69	6,81	6,75	7,09
L320	8,03	8,04	8,06	8,04	6,95	7,43	7,10	7,16	6,82	6,72	6,79	6,78	7,33
L320	8,04	8,06	8,03	8,04	6,12	7,10	6,95	6,72	6,81	6,79	6,72	6,77	7,18
L160	7,90	7,99	7,82	7,90	6,15	6,32	6,30	6,26	6,42	6,44	6,40	6,42	6,86
L160	7,32	7,64	7,65	7,53	6,67	6,00	6,15	6,27	6,56	6,61	6,59	6,59	6,80
L160	7,82	7,05	7,64	7,50	6,3	6,13	6,32	6,25	6,40	6,59	6,61	6,53	6,76
L80	7,37	7,43	7,45	7,41	6,66	7,29	7,43	7,13	7,18	7,16	7,12	7,15	7,23
L80	7,50	7,54	7,56	7,53	7,76	6,97	6,71	7,15	7,17	7,20	7,15	7,17	7,28
L80	7,45	7,56	7,37	7,46	7,43	6,71	7,29	7,14	7,12	7,15	7,17	7,15	7,25
DMSO	6,98	6,59	6,76	6,78	6,00	6,03	6,34	6,12	7,45	7,64	7,04	7,38	6,76
DMSO	6,91	7,07	7,11	7,03	6,36	6,78	6,26	6,47	7,81	7,83	7,97	7,87	7,12
DMSO	6,76	7,11	6,91	6,93	6,34	6,26	6,36	6,32	7,04	7,97	7,83	7,61	6,95
Tetra	8,64	8,76	8,95	8,78	9,46	9,80	9,09	9,45	7,06	7,69	7,61	7,45	8,56
Tetra	9,21	9,22	8,90	9,11	9,23	8,75	8,57	8,85	7,61	7,59	7,97	7,72	11,32
Tetra	8,59	8,90	9,21	8,90	9,09	8,57	9,23	8,96	7,61	7,97	7,06	7,55	10,03

Tabel K. 2 Hasil Pengukuran diameter zona hambat (skala mm) pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* inkubasi 48 jam

Konsentrasi	Pengamat 1			Rata-rata Pengamat 1	Pengamat 2			Rata-rata Pengamat 2	Pengamat 3			Rata-rata Pengamat 3	Rata-rata Pengamat 1,2,3
L320	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00
L320	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00
L320	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00
L160	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00
L160	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00
L160	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00
L80	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00
L80	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00
L80	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00
DMSO	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00
DMSO	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00
DMSO	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00
Tetra	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00
Tetra	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00
Tetra	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00

Tabel K. 3 Hasil Pengukuran diameter zona hambat (skala mm) pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* inkubasi 24 jam

Konsentrasi	Pengamat 1			Rata-rata Pengamat 1	Pengamat 2			Rata-rata Pengamat 2	Pengamat 3			Rata-rata Pengamat 3	Rata-rata Pengamat 1,2,3
L320	9,76	8,60	9,63	9,33	7,74	9,10	7,79	8,21	8,76	8,26	8,31	8,44	8,66
L320	8,90	8,70	8,28	8,63	8,34	6,19	8,19	7,57	8,09	8,12	8,09	8,10	8,10
L320	9,63	8,28	8,90	8,94	7,79	8,19	8,34	8,11	8,31	8,09	8,76	8,39	8,48
L160	11,59	11,12	12,55	11,75	10,60	11,50	10,70	10,93	12,79	10,31	11,82	11,64	11,44
L160	12,55	12,01	11,67	12,08	10,50	10,60	10,55	10,55	11,02	11,25	11,63	11,30	11,31
L160	12,55	11,67	11,59	11,94	10,70	10,55	11,50	10,92	11,82	11,63	11,02	11,49	11,45
L80	21,66	21,69	21,79	21,71	23,25	21,06	22,05	22,12	20,47	22,82	22,84	22,04	21,96
L80	14,01	14,39	15,26	14,55	12,70	12,75	11,65	12,37	11,93	13,15	12,71	12,60	13,17
L80	21,79	15,26	14,39	17,15	22,05	11,65	21,06	18,25	22,48	12,71	20,47	18,55	17,98
DMSO	6,10	6,49	6,25	6,28	11,35	10,50	11,35	11,07	6,36	22,90	6,94	12,07	9,80
DMSO	6,44	6,41	6,17	6,34	9,45	8,70	8,30	8,82	6,33	6,25	6,39	6,32	7,16
DMSO	6,25	6,10	6,17	6,17	11,35	8,30	8,70	9,45	6,94	6,39	6,25	6,53	7,38
Metro	8,38	8,07	8,82	8,42	8,10	8,30	7,40	7,93	8,38	8,51	8,43	8,44	8,27
Metro	10,49	11,54	10,50	10,84	10,50	14,20	11,70	12,13	10,89	11,56	10,51	10,99	11,32
Metro	8,82	10,50	11,54	10,29	7,40	11,70	10,50	9,87	8,43	10,51	10,89	9,94	10,03

Tabel K. 4 Hasil Pengukuran diameter zona hambat (skala mm) pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis* inkubasi 48 jam

Konsentrasi	Pengamat 1			Rata-rata Pengamat 1	Pengamat 2			Rata-rata Pengamat 2	Pengamat 3			Rata-rata Pengamat 3	Rata-rata Pengamat 1,2,3
L320	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00
L320	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00
L320	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00
L160	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00
L160	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00
L160	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00
L80	7,53	7,20	7,53	7,42	7,59	7,58	7,58	7,58	7,46	7,45	7,59	7,50	7,50
L80	7,59	7,58	7,58	7,58	7,59	7,60	7,60	7,60	7,47	6,99	6,38	6,95	7,38
L80	7,53	7,58	7,52	7,54	7,58	7,60	7,59	7,59	7,59	7,38	7,47	7,48	7,54
DMSO	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00
DMSO	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00
DMSO	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00
Metro	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00
Metro	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00
Metro	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00

Tabel K. 5 Hasil Pengukuran diameter zona hambat (skala mm) pertumbuhan jamur *Candida albicans* inkubasi 24 jam

Konsentrasi	Pengamat 1			Rata-rata Pengamat 1	Pengamat 2			Rata-rata Pengamat 2	Pengamat 3			Rata-rata Pengamat 3	Rata-rata Pengamat 1,2,3
L320	7.97	7.30	7.44	7.57	6.25	6.31	6.47	6.34	6.72	6.94	6.70	6.79	6.90
L320	7.30	7.36	7.19	7.28	6.48	6.61	6.18	6.42	7.07	7.10	7.06	7.08	6.93
L320	7.44	7.19	7.30	7.31	6.47	6.18	6.46	6.37	6.70	7.06	7.07	6.94	6.87
L160	8.58	8.26	8.41	8.42	6.68	7.03	7.14	6.95	7.15	7.11	7.18	7.15	7.50
L160	7.85	7.81	7.07	7.58	7.65	6.36	7.12	7.04	7.19	7.18	7.18	7.18	7.27
L160	8.41	7.07	7.07	7.52	7.14	7.12	7.65	7.30	7.18	7.19	7.18	7.18	7.33
L80	7.62	9.23	8.01	8.29	7.43	7.27	8.45	7.72	7.93	7.22	7.55	7.57	7.86
L80	8.49	8.25	8.46	8.40	7.34	7.13	7.13	7.20	7.06	7.03	7.06	7.05	7.55
L80	8.01	7.46	8.25	7.91	8.45	6.13	7.43	7.34	7.55	7.06	7.93	7.51	7.59
DMSO	7.63	7.94	8.13	7.90	6.32	6.10	6.12	6.18	6.29	6.61	6.25	6.38	6.82
DMSO	8.20	7.95	8.65	8.27	6.90	7.36	6.30	6.85	6.91	7.29	7.04	7.08	7.40
DMSO	8.13	8.65	7.63	8.14	6.12	6.30	7.36	6.59	6.25	7.04	7.26	6.85	7.19
Keto	8.73	8.59	8.81	8.71	6.66	6.23	6.00	6.30	6.79	6.69	6.92	6.80	7.27
Keto	7.90	8.51	7.77	8.06	6.23	6.26	6.00	6.16	6.88	6.76	6.72	6.79	7.00
Keto	8.81	7.77	7.90	8.16	6.00	6.00	6.66	6.22	6.92	6.72	6.88	6.84	7.07

