



**DAYA ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN JARAK PAGAR
(*Jatropha Curcas L.*) TERHADAP PERTUMBUHAN *Enterococcus faecalis***

SKRIPSI

Oleh

Karina Saraswati Ichwani

NIM 131610101006

**BAGIAN MIKROBIOLOGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER**

2017

PERSETUJUAN PEMBIMBING

Proposal berjudul “Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas L.*) Terhadap Pertumbuhan *Enterococcus faecalis*” telah disetujui pada:

hari, tanggal : Selasa, 27 Desember 2016

tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

drg. Yani Corvianindya R.,M.KG

Dr. drg. Atik Kurniawati., M. Kes

NIP 197308251998022001

NIP.197102041998022002



**DAYA ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN JARAK PAGAR
(*Jatropha Curcas L.*) TERHADAP PERTUMBUHAN *Enterococcus faecalis***

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

Karina Saraswati Ichwani

NIM 131610101006

**BAGIAN MIKROBIOLOGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER**

2017

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT atas kemudahan, rahmat, dan berkah yang tiada habisnya sepanjang hidup;
2. Nabi Muhammad SAW, yang menjadi panutan dunia dan akhirat;
3. Ayahanda Suluh Ichwani dan Ibunda Endang Wardiningsih yang tersayang;
4. Adikku Widya Larasanti Ichwani yang tercinta;
5. Guru-guruku sejak taman kanak-kanak sampai dengan perguruan tinggi;
6. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

MOTO

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)*)

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

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

nama : Karina Saraswati Ichwani

NIM : 131610101006

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas L.*) terhadap Pertumbuhan *Enterococcus faecalis*” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, 27 Desember 2016

Yang menyatakan,

Karina Saraswati Ichwani

NIM 131610101006

SKRIPSI

**DAYA ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN JARAK PAGAR
(*Jatropha Curcas L.*) TERHADAP PERTUMBUHAN *Enterococcus faecalis***

Oleh

Karina Saraswati Ichwani

NIM 131610101006

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : drg. Yani Corvianindya R, M.KG

Dosen Pembimbing Pendamping : Dr. drg. Atik Kurniawati, M.Kes

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas L.*) terhadap Pertumbuhan *Enterococcus faecalis*” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada:

hari, tanggal : Selasa, 27 Desember 2016

tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Penguji Ketua,

Penguji Anggota,

drg. Pujiana Endah Lestari, M.Kes
NIP 197608092005012002

drg. H. A. Gunadi, M.S., Ph.D
NIP 195606121983031002

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

drg. Yani Corvianindya R., M.KG
NIP 197308251998022001

Dr. drg. Atik Kurniawati., M. Kes
NIP.197102041998022002

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Jember,

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

RINGKASAN

Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha Curcas L.*) Terhadap Pertumbuhan *Enterococcus faecalis*; Karina Saraswati Ichwani; 131610101006; 105 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Nekrosis pulpa adalah kematian pulpa yang dapat diakibatkan oleh pulpitis irreversibel yang tidak dirawat atau terjadi trauma yang dapat mengganggu suplai darah ke pulpa. Perawatan yang dapat dilakukan untuk merawat gigi dengan nekrosis pulpa adalah perawatan saluran akar. Salah satu tahap yang penting dalam perawatan saluran akar adalah sterilisasi. Sterilisasi saluran akar ini bertujuan untuk mematikan sisa kuman yang ada di saluran akar dan pada tubuli dentin yang tidak dapat dicapai pada saat preparasi kemomekanis saluran akar. Salah satu keberhasilan perawatan saluran akar sangat dipengaruhi oleh eliminasi bakteri. Bakteri yang biasa ditemukan dalam saluran akar dan tetap bertahan di dalamnya meskipun telah dilakukan perawatan adalah bakteri *E. faecalis*. Aplikasi dari medikamen intrakanal merupakan salah satu hal yang perlu dilakukan untuk mengeliminasi bakteri pada saluran akar. Pemberian obat-obatan saluran akar digunakan dengan tujuan untuk mengeliminasi bakteri yang tidak dapat dihilangkan dengan proses *chemo-mechanical*. Bahan yang biasanya digunakan adalah ChKM (Chlorophenol Kamfer Menthol). Saat ini sedang digalakkan penggunaan bahan alami sebagai bahan alternatif di kedokteran yang harganya semakin mahal dan sering menimbulkan efek samping. Salah satu tanaman yang belum terlalu dimanfaatkan adalah tanaman jarak pagar (*Jatropha Curcas L.*). Pada daun jarak pagar terdapat beberapa senyawa aktif berupa flavonoid, alkaloid, terpenoid dan tannin yang diketahui memiliki daya antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya antibakteri ekstrak etanol daun jarak pagar terhadap pertumbuhan *E. faecalis*

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *the post-test only control group design*. Sampel berjumlah 8 untuk setiap kelompok penelitian. Terdapat 7 kelompok penelitian, yaitu ekstrak daun jarak pagarkelompok 100 gr/daL, 50 gr/daL, 25 gr/daL, 12,5 gr/daL, 6,25 gr/daL, ChKM (kontrol positif), dan aquades steril (kontrol negatif). Bahan penelitian dari masing-masing kelompok tersebut diisikan masing-masing sebanyak 20 µL ke dalam lubang sumuran dengan diameter 5 mm pada 8 *petridish* yang berisi media BHI-A yang telah diinokulasi *E. faecalis* pada permukaan agarnya.

Semua *petridish* tersebut kemudian dimasukkan ke dalam *anaerobic jar* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah 24 jam, kemudian dilakukan pengukuran diameter zona hambat di sekitar sumuran menggunakan jangka sorong digital.

Data hasil penelitian kemudian ditabulasi dan dianalisis secara statistik. Hasil uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada seluruh kelompok penelitian dengan nilai signifikansi $p < 0,05$ yaitu 0,000. Hasil semua uji *Mann-Whitney* antar kelompok penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna, ditandai dengan nilai signifikansi dari semua hasil uji *Mann-Whitney* antar kelompok penelitian lebih kecil dari 0,05. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun jarak pagar kelompok 100 gr/daL memiliki kemampuan lebih besar dalam menghambat pertumbuhan *E. faecalis* dibandingkan ekstrak daun jarak pagar kelompok 50 gr/daL, 25 gr/daL, 12,5 gr/daL dan 6,25 gr/daL.

Perbedaan yang signifikan dari hasil analisis statistik menandakan bahwa terdapat zona hambat yang signifikan pada ekstrak daun jarak pagar terhadap pertumbuhan *E. faecalis*. Terbentuknya zona hambat disekitar sumuran menunjukkan bahwa ekstrak daun jarak pagar diduga mengandung senyawa antibakteri berupa flavonoid, alkaloid, terpenoid, tannin yang dapat bereaksi dengan membran sel, mengganggu penyerapan dan transportasi nutrisi bakteri, mengganggu mekanisme genetik bakteri, dan menghambat metabolisme energi bakteri yang pada akhirnya dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun jarak pagar memiliki daya antibakteri terhadap pertumbuhan *E. faecalis*.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT. atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas L.*) terhadap Pertumbuhan *Enterococcus faecalis*”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

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

1. Orang tua tersayang, Bapak Suluh Ichwani dan Ibu Endang Wardiningsih yang tidak pernah berhenti memberikan kasih sayang, doa, motivasi, dukungan, dan semangat;
2. Adik tercinta, Widya Larasanti Ichwani yang dengan tulus memberikan doa dan dukungan dalam setiap langkah kakaknya;
3. drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes., Sp.Prost., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, serta selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan bimbingan dan motivasi dalam perjalanan studi selama penulis menjadi mahasiswa;
4. Dr. drg. IDA Susilawati, M.Kes., selaku Pembantu Dekan I Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
5. drg. Sri Hernawati, M.Kes., selaku Pembantu Dekan II Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
6. drg. Izzata Barid, M.Kes., selaku Pembantu Dekan III Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
7. drg. Yani Corvianindya R., M.KG., selaku Dosen Pembimbing Utama dan Dr. drg. Atik Kurniawati, M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah meluangkan waktu dalam memberikan bimbingan dan motivasi dengan penuh kesabaran sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;

8. drg. Pujiana Endah L., M.Kes., selaku Dosen Penguji Ketua dan drg. H. A. Gunadi, MS., Ph.D., selaku Dosen Penguji Anggota yang telah memberikan kritik dan saran demi kesempurnaan skripsi ini;
9. Staf Laboratorium Bioscience RSGM Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
10. Staf Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
11. Staf Laboratorium Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember;
12. Staf Laboratorium Botani Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember;
13. Sahabat-sahabat tersayang Ceria (Berlian, Pipit, Tara, Randa, Irfan, Fiqi, Hardika, Oky), Lambe (Tita, Veda, Asti, Clara), Gomik (Wahyu, Jery, Iman, Dika, Adit, Tadjul, Nata) yang selalu mendukung dan memberikan semangat dalam mengerjakan skripsi ini;
14. Teman-teman seperjuangan skripsi Kos Queen Pink (Salma, Mifta, Atika) Terimakasih atas dukungan, doa dan kerjasamanya;
15. Seluruh teman-teman FKG 2013. Terima kasih atas motivasi, kerja sama, persaudaraan, dan kekompakkannya selama ini;
16. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.
17. Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, 27 Desember 2016

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
PERSETUJUAN PEMBIMBING.....	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	iii
HALAMAN MOTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN.....	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN.....	vi
HALAMAN PENGESAHAN.....	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL.....	xv
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Tinjauan Umum Jarak Pagar (<i>Jatropha curcas L.</i>)	6
2.1.1 Klasifikasi Jarak Pagar.....	7
2.1.2 Morfologi Jarak Pagar.....	7
2.1.3 Kandungan Daun Jarak Pagar	7

2.1.4 Manfaat Daun Jarak Pagar	9
2.2 Bakteri <i>Enterococcus faecalis</i>	10
2.2.1 Taksonomi <i>E. faecalis</i>	10
2.2.2 Morfologi <i>E. faecalis</i>	10
2.2.3 Habitat <i>E. faecalis</i>	11
2.2.4 Patogenitas <i>E. faecalis</i>	11
2.3 Mekanisme Kerja Antibakteri	15
2.4 ChKM	17
2.5 Metode Uji Daya Hambat Agar Plug Diffusion Methods	19
2.6 Metode Ekstraksi Tanaman Obat	19
2.7 Interaksi Kandungan Kimia Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar dengan <i>E. faecalis</i>	20
2.8 Kerangka Konsep Penelitian	23
2.9 Penjelasan Kerangka Konsep Penelitian	24
2.10 Hipotesis	24
BAB 3. METODE PENELITIAN	25
3.1 Jenis Penelitian	25
3.2 Rancangan Penelitian	25
3.3 Tempat dan Waktu Penelitian	25
3.4 Variabel Penelitian	25
3.4.1 Variabel Bebas	25
3.4.2 Variabel Terikat	25
3.4.3 Variabel Terkendali	26
3.5 Definisi Operasional	26
3.5.1 Ekstrak Daun Jarak Pagar	26

3.5.2 <i>E. faecalis</i>	26
3.5.3 Daya Hambat terhadap Pertumbuhan <i>E. faecalis</i>	26
3.6 Sampel Penelitian	27
3.6.1 Besar Sampel	27
3.6.2 Pengelompokan Sampel	27
3.7 Alat dan Bahan	27
3.7.1 Alat Penelitian	27
3.7.2 Bahan Penelitian	29
3.8 Prosedur Penelitian	29
3.8.1 Tahap Persiapan	29
3.8.2 Tahap Perlakuan	36
3.8.3 Tahap Pengukuran Diameter Zona Hambat	39
3.9 Analisis Data	40
3.10 Alur Penelitian	41
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	42
4.1 Hasil Penelitian	42
4.2 Pembahasan.....	46
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	53
5.1 Kesimpulan.....	53
5.2 Saran.....	53
DAFTAR PUSTAKA	54
LAMPIRAN	61

DAFTAR TABEL

	Halaman
4.1 Nilai rata-rata dan standar deviasi diameter zona hambat kelompok 100 gr/daL, 50 gr/daL, 25 gr/daL, 12,5 gr/daL, 6,25 gr/daL, K+, dan K- terhadap pertumbuhan <i>E. faecalis</i>	42
4.2 Hasil uji normalitas menggunakan uji <i>Kolmogorov-Smirnov</i>	44
4.3 Hasil uji homogenitas menggunakan <i>Levene test</i>	44
4.4 Hasil uji beda <i>Kruskal-Wallis</i>	45
4.5 Hasil uji beda <i>Mann-Whitney</i>	46

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Tanaman jarak pagar (buah, daun, dan biji)	7
2.2 Morfologi <i>E. faecalis</i>	11
2.3 Struktur bakteri gram positif	12
2.4 Struktur kimia ChKM	17
3.1 Daun jarak pagar segar, yang dikeringkan, dan hasil serbuk simplisia	30
3.2 Rendaman simplisia dalam etanol 96%	30
3.3 Filtrasi dan evaporasi ekstrak daun jarak pagar	31
3.4 Alur pengenceran ekstrak daun jarak pagar	32
3.5 Morfologi <i>E. faecalis</i> setelah pewarnaan gram.....	34
3.6 Pembuatan lubang sumuran pada media	36
3.7 Pemberian perlakuan pada media agar	38
3.8 Pengukuran zona hambat dengan jangka sorong	39
3.9 Diagram alur penelitian.....	41
4.1 Histogram nilai rata-rata diameter zona hambat pertumbuhan <i>E. faecalis</i> ...	43

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Perhitungan Jumlah Sampel Penelitian	61
B. Perhitungan Rendemen Ekstrak	61
C. Rumus Pengenceran	62
D. Analisis Data	62
D.1 Hasil Uji Normalitas Menggunakan Uji <i>Kolmogorov-Smirnov</i>	62
D.2 Hasil Uji Homogenitas Menggunakan <i>Levene Test</i>	63
D.3 Hasil Uji Beda <i>Kruskal-Wallis</i>	63
D.4 Hasil Uji Beda <i>Mann-Whitney</i>	64
E. Foto Hasil Penelitian	76
F. Foto Alat dan Bahan Penelitian	77
G. Surat Keterangan	80
G.1 Surat Hasil Identifikasi Daun Jarak Pagar	80
G.2 Surat Pembuatan Ekstrak Daun Jarak Pagar	81
G.3 Surat Hasil Uji Biokimia Bakteri <i>E. faecalis</i>	82
G.4 Surat Hasil Uji Identifikasi <i>E. faecalis</i> dengan pengecatan gram	83



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Nekrosis pulpa adalah kematian pulpa yang dapat diakibatkan oleh pulpitis irreversibel yang tidak dirawat atau terjadi trauma yang dapat mengganggu suplai darah ke pulpa (Tronstad, 2009). Perawatan yang dapat dilakukan untuk merawat gigi dengan nekrosis pulpa adalah perawatan saluran akar. Perawatan saluran akar adalah salah satu perawatan endodontik yang dilakukan dokter gigi dengan cara mengambil seluruh jaringan pulpa nekrosis, membentuk saluran akar gigi, membersihkan saluran akar gigi dan obturasi saluran akar gigi untuk mencegah infeksi berulang. Tujuan dari perawatan saluran akar adalah untuk mempertahankan gigi dan mengembalikan gigi agar dapat berfungsi kembali sebagaimana mestinya (Harty, 2004).

Perawatan saluran akar gigi meliputi tiga tahap yaitu preparasi, sterilisasi dan pengisian. Salah satu tahap yang penting dalam perawatan saluran akar adalah sterilisasi. Sterilisasi saluran akar ini bertujuan untuk mematikan sisa bakteri yang ada di saluran akar dan pada tubuli dentin yang tidak dapat dicapai pada saat preparasi kemomekanis saluran akar. Keberhasilan perawatan saluran akar sangat dipengaruhi oleh eliminasi bakteri. Sedangkan biomekanikal preparasi seringkali terbatas pada debridemen saluran akar. Hal ini disebabkan karena pada infeksi endodontik, bakteri dan produknya tidak hanya terdapat pada ruang pulpa namun juga pada saluran akar (Walton dan Torabinejad, 2008).

Enterococcus faecalis merupakan bakteri yang biasa ditemukan dalam saluran akar dan tetap bertahan di dalamnya meskipun telah dilakukan perawatan (Portenier I *et al.*, 2003; 6). Bakteri ini bertanggung jawab terhadap 80-90% infeksi saluran akar, biasanya merupakan satu-satunya spesies *Enterococcus* yang diisolasi dari saluran akar yang telah selesai dilakukan perawatan (Suchitra U dan Kundabala, 2006). Penelitian ini juga menyebutkan bahwa 63% dari kegagalan perawatan saluran akar yang mengalami infeksi ulang disebabkan oleh *E. faecalis* (Fisher K *et al.*, 2009; 155).

E. faecalis adalah bakteri gram positif, memiliki bentuk *coccus* dan merupakan bakteri fakultatif anaerob. Selain terdapat pada saluran akar gigi yang mengalami infeksi, *E. faecalis* juga terdapat pada sistem gastrointestinal dan saluran urinari manusia (Hope *et al.*, 2010; Lins *et al.*, 2013).

Aplikasi dari medikamen intrakanal merupakan salah satu hal yang perlu dilakukan untuk mengeliminasi bakteri pada saluran akar. Menurut Mustafa *et al.*, (2012) penggunaan medikamen intrakanal dapat mengurangi dan mengontrol inflamasi periapikal pada pulpa, juga dapat mempercepat proses penyembuhan dan mengontrol nyeri pasca perawatan.

Pemberian obat-obatan saluran akar digunakan dengan tujuan untuk mengeliminasi bakteri yang tidak dapat dihilangkan dengan proses *chemo-mechanical* seperti bakteri *E. faecalis*. Berdasarkan sifat kimianya, obat-obatan saluran akar dibagi menjadi golongan obat non spesifik dan golongan obat spesifik yaitu dapat berupa satu atau kombinasi beberapa antibiotik. Golongan obat non spesifik dapat menghancurkan bakteri dan jamur seperti protoplasma. Beberapa obat-obatan saluran akar selain relatif mahal juga memiliki beberapa kelemahan/keburukan, contohnya golongan obat non spesifik yang sudah lama dan biasa digunakan yaitu Chlorophenol Kamfer Menthol (ChKM). ChKM merupakan senyawa yang terdiri dari dua bagian paraklorofenoldan tiga bagian kamfer (Walton dan Torabinejad, 1998). Bahan ini berupa cairan berminyak berwarna putih kekuningan, berbau tajam dan rasanya pedas serta larut dalam alkohol dan sedikit air. ChKM dapat bersifat toksik, dapat menyebabkan iritasi dan nekrosis jaringan lunak jika pemakaian tidak hati-hati, berbau menyengat, rasanya tidak enak, serta dapat menimbulkan reaksi alergi (Alinis, 2011).

Saat ini sedang digalakkan penggunaan bahan alami sebagai bahan alternatif kedokteran, terutama bahan kedokteran gigi yang harganya semakin mahal dan sering menimbulkan efek samping. Obat yang dipakai dalam perawatan gigi dan sterilisasi saluran akar sampai saat ini berasal dari bahan kimia dan jarang menggunakan bahan obat daribahan alami (Rahardjo dan Chairah, 2006). Hal ini yang menjadi dasar

pemanfaatan tanaman obat dan perlu dikembangkan bahan medikamen saluran akar dari bahan alami yang memiliki kadar toksisitas rendah tetapi memiliki daya antibakteri yang baik.

Tanaman jarak pagar (*Jatropha Curcas L.*) adalah tanaman yang memiliki banyak manfaat. Masyarakat Indonesia mengenal tanaman ini sebagai bahan alternatif minyak jarak yang dapat digunakan sebagai bahan pembuat biodisel. Bagian-bagian tanaman ini yang digunakan yaitu daun, buah, batang, biji, dan getahnya. Di bidang kesehatan tanaman jarak pagar ini juga digunakan sebagai obat tradisional. Jenis penyakit yang dapat disembuhkan diantaranya adalah keputihan pada bayi, radang telinga, sakit gigi, sariawan, perut kembung-masuk angin, jamur, gatal-gatal, bengkak, luka, pendarahan, batuk, dan sebagai peluruh dahak (Ema Sarimole *et al.*, 2010).

Tanaman jarak pagar (*Jatropha Curcas L.*) mengandung senyawa bioaktif dan telah mendapatkan banyak perhatian karena manfaatnya sebagai antimikrobal, antiinflamasi, antikanker serta antioksidan (Irmalenny, 2010). Penelitian yang dilakukan oleh Sharma *et al.*, (2012) menunjukkan bahwa ekstrak etanol dari daun jarak pagar mengandung zat-zat berupa alkaloid, saponin, tannin, terpenoid, steroid, glikosida, senyawa fenol, dan flavonoid. Pada penelitian Nwokocha *et al.*, (2011) menjelaskan bahwa ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas*) memiliki kandungan tannin dan saponin yang paling tinggi. Konsentrasi tannin pada daun yang teramati yaitu sebesar 6,79% konsentrasi saponin pada daun dan biji 2,33%. Penelitian lain juga menjelaskan bahwa ada pengaruh daya antibakteri dari berbagai macam konsentrasi ekstrak daun jarak pagar dengan pelarut metanol terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yang termasuk gram positif dan *Eschericia coli* yang termasuk gram negatif, sehingga dapat disimpulkan ekstrak daun jarak pagar dalam penelitian tersebut mempunyai daya antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri gram positif (Dwi S *et al.*, 2009).

Berdasarkan latar belakang diatas, maka penulis tertarik untuk melakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh daya antibakteri dari ekstrak daun jarak

pagar terhadap pertumbuhan *E. faecalis* sebagai bahan alternatif sterilisasi saluran akar.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang diatas, maka rumusan masalah penelitian ini :

- a. Apakah ekstrak daun jarak pagar memiliki daya antibakteri terhadap pertumbuhan *E. faecalis*?
- b. Jika memiliki daya antibakteri, berapa konsentrasi minimal ekstrak daun jarak pagar yang mampu menghambat pertumbuhan *E. faecalis*?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah

- a. Mengetahui daya antibakteri ekstrak daun jarak pagar terhadap pertumbuhan *E. faecalis*.
- b. Mengetahui konsentrasi minimal ekstrak daun jarak pagar yang efektif dalam menghambat pertumbuhan *E. faecalis*

1.4 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat yang dapat diambil dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Dapat melengkapi informasi dan sebagai bahan pertimbangan bagi masyarakat mengenai daya antibakteri ekstrak daun jarak pagar terhadap pertumbuhan *E. faecalis*.
- b. Dapat digunakan sebagai dasar penelitian lebih lanjut tentang pengaruh ekstrak daun jarak pagar terhadap mikroflora rongga mulut yang dapat menjadi patogen dalam keadaan tertentu.
- c. Diharapkan dapat sebagai kajian pengembangan bahan alternatif sterilisasi saluran akar, setelah dilakukan penelitian lebih lanjut, yang diharapkan memiliki efek samping lebih kecil dibandingkan obat yang ada dipasaran.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Umum Jarak Pagar (*Jatropha curcas L.*)

Jarak Pagar (*Jatropha curcas L.*) telah lama dikenal masyarakat di berbagai daerah di Indonesia, yaitu sejak diperkenalkan oleh bangsa Jepang pada tahun 1942, dimana masyarakat di perintahkan untuk melakukan penanaman jarak sebagai pagar pekarangan. Beberapa nama daerah yang diberikan kepada tanaman jarak pagar ini antara lain: Sunda (jarak kosta, jarak budeg), Jawa (jarak gundul, jarak pager), Madura (kalakhe paghar), Sulawesi (jarak kosta, jarak wolanda, bindaio, bintalo, tondo utomene), Maluku (ai huwa kamala, balaci, kadoto) (Hariyadi, 2006).

Jarak Pagar merupakan jenis tanaman perdu atau pohon kecil, tinggi 2-5 meter, biasa ditanam sebagai tanaman pagar, terkadang liar. Tumbuh baik di tempat yang tanahnya tidak subur dan beriklim panas, dari dataran rendah sampai 300 meter diatas permukaan laut (Wijayakusuma *et al.*, 1993). Tanaman ini tahan terhadap kekeringan sehingga tahan hidup di daerah dengan curah hujan rendah. Tanaman dari keluarga Euphorbiaceae ini banyak ditemukan di Afrika Tengah dan Selatan, Asia Tenggara, dan India (Syah, 2006).

Tanaman ini mempunyai getah berwarna putih agak keruh, kulit pohonnya licin dan batangnya mempunyai tonjolan bekas daunnya gugur. Memiliki daun tunggal, permukaan atas helai daun berwarna hijau dan permukaan bawah lebih pucat. Memiliki bunga berwarna hijau kekuningan, berkelamin tunggal, berumah satu. Buah dari jarak pagar ini berbentuk bulat, dengan diameter 3-4 cm, bila masak berwarna kuning yang terbagi dalam 3 ruangan, masing – masing terdiri dari 1 biji berwarna hitam, bila kering akan retak – retak. Tanaman ini menghasilkan biji yang berkhasiat sebagai pencahar dan toksik lectin. Perkembangbiakannya dengan biji dan stek batang (Wijayakusuma *et al.*, 1993).

2.1.1 Klasifikasi Jarak Pagar

Tanaman jarak pagar mempunyai nama latin *Jatropha curcas* (Henning, 2005). Klasifikasinya adalah sebagai berikut:

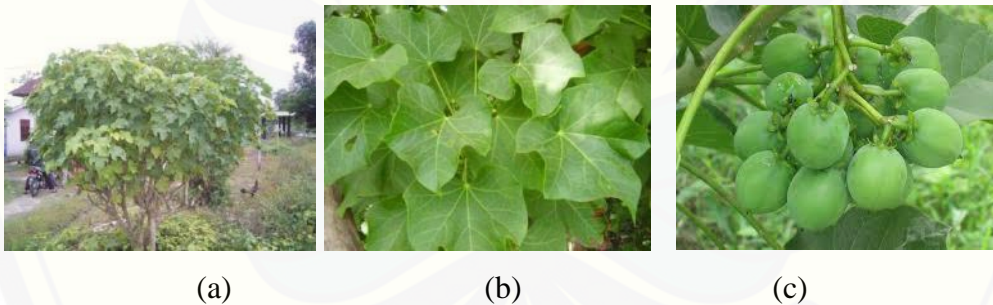
Kingdom	: <i>Plantae</i>
Subkingdom	: <i>Tracheobionta</i>
Superdivisio	: <i>Spermatophyta</i>
Divisio	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida (Dicotyledonae)</i>
Subkelas	: <i>Rosidae</i>
Ordo	: <i>Euphorbiales</i>
Famili	: <i>Euphorbiaceae</i>
Genus	: <i>Jatropha</i>
Spesies	: <i>Jatropha curcas L.</i>

2.1.2 Morfologi Daun Jarak Pagar

Jarak pagar berbentuk semak besar dengan tinggi dapat mencapai lebih 5m, sistem percabangan tidak teratur, batangnya berkayu berbentuk silindris, dan bergetah. Kulit batangnya berwarna keabu-abuan, apabila ditoreh, batang mengeluarkan getah seperti lateks yang berwarna putih atau kekuning-kuningan Daun jarak pagar cukup besar, panjang helai daun berkisar antara 6 – 16 cm dan lebar 5 – 15 cm. Helaian daun berbentuk bulat telur dengan pangkal berbentuk jantung, bersudut atau berlekuk 3 – 5, dan tepi daun gundul antara 3,5 – 15 cm Bunga jarak pagar muncul saat tanaman mulai berumur 3 – 4 bulan. Bunga tersusun pada sekumpulan bunga yang bercabang melebar berupa bunga-bunga tunggal. Panjang tangkai bunga antara 6 – 23 mm. Daun kelopak berjumlah 5 helai, berbentuk bulat telur, dengan ukuran panjang 4 mm. Bunga berbentuk lonceng dengan mahkota bunga berjumlah 5 helai. Bunga terdiri atas bunga jantan dan bunga betina. Buah dihasilkan setelah terjadi penyerbukan bunga betina oleh serbuk sari bunga jantan. Penyerbukan dapat terjadi secara alami atau dengan perantaraan serangga, termasuk

lebah madu. Buah tersusun dalam tandan buah. Bentuk buah bulat atau bulat telur, berukuran panjang 2 – 3 cm. Permukaan buahnya rata (halus). Apabila buah mengering akan pecah menurut ruang, dalam setiap buah terdapat 3 biji. Biji yang sudah tua berbentuk bulat panjang. Ukuran panjang rata-rata 18 mm dan lebar rata-rata 10 mm serta bercangkang tipis. Kulit atau cangkang yang sudah tua di bagian luar berwarna hitam kotor dan setelah kering penuh retak-retak kecil. Jika belum tua, warna biji lebih cerah atau kecoklat-coklatan dengan permukaan halus. Jika kulit buah telah kering, biji dapat terlepas sendiri dari buah. Biji matang ditandai dengan perubahan warna kulit buah dari hijau menjadi kuning.

Tanaman jarak pagar mempunyai 3 – 5 akar tunggang. Saat biji berkecambah, muncul 3 – 5 helai akar yang selanjutnya berkembang menjadi akar tunggang setelah tanaman dewasa. Dari akar tunggang muncul akar lateral yang melebar ke samping dan rambut-rambut akar yang cukup banyak. Umumnya akar-akar muda terletak di bawah lingkaran kanopi terluar dari tanaman (Ema Sarimole *et al.*, 2010).



Gambar 2.1 (a) Tanaman Jarak Pagar; (b) Daun Jarak Pagar; (c) Buah Jarak Pagar (Sumber: Muhammad Nurcholis, 2011)

2.1.3 Kandungan Daun Jarak Pagar

Kandungan kimia pada tumbuhan jarak yaitu triakontranol, alfa-amirin, kaempesterol, beta-sitosterol, 7-keto-betasitosterol, stigmasterol, stigmas-5-en-3-beta-7-alfadiol, viteksin, isoviteksin, dan asam sianida (HCN) (Erma S *et al.*, 2010). Pada

penelitian Sharma *et al.*, (2012) menunjukkan bahwa ekstrak daun jarak pagar mengandung zat-zat berupa alkaloid, tannin, terpenoid, steroid, glikosida, fenol dan flavonoid.

Senyawa fenol meliputi berbagai senyawa yang berasal dari tumbuhan yang memiliki ciri yang sama yaitu cincin aromatik yang mengandung satu atau dua gugus hidroksil. Senyawa fenol cenderung mudah larut dalam air karena umumnya berikatan dengan gula sebagai glikosida (Harborne, 1987). Senyawa fenol diantaranya adalah senyawa fenol sederhana seperti monofenol dengan satu cincin benzen yang banyak ditemukan pada kacang-kacangan, grup asam hidroksi sinamat (asam ferulat dan kafeat), flavonoid dan glikosidanya (katekin, proantosianin, antosianidin, dan flavonol) dan tanin yang merupakan senyawa fenol yang kompleks dengan berat molekul yang tinggi (Johnson, 2001).

Menurut Harborne (1987), flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol. Jenis utama flavonoid yang terdapat dalam tanaman antara lain dihidrokalkon, kalkon, katekin, leukoantosianidin, flavanon, flavon, flavonol, garam flavilium, antosianidin, dan auron. Flavonoid memiliki spektrum aktivitas antimikroba yang luas dengan mengurangi kekebalan pada organisme sasaran (Naidu, 2000). Tanin merupakan salah satu senyawa fenol kompleks yang terdapat pada kacang-kacangan (Meskin *et al.*, 2002). Tanin dapat bersifat sebagai antioksidan karena kemampuannya dalam menstabilkan fraksi lipid dan keaktifannya dalam penghambatan lipoksigenase (Zeuthen dan Sorensen, 2003).

Senyawa alkaloid umumnya mencakup senyawa bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen sebagai bagian dari sistem siklik. Senyawa alkaloid memiliki aktivitas fisiologi sehingga banyak digunakan dalam bidang pengobatan. Kuinin, morfin, dan striknin adalah alkaloid yang memiliki pengaruh fisiologis dan psikologis. Alkaloid pirolizidin diketahui memiliki aktivitas antikanker (Nurmillah O, 2010)

Terpenoid merupakan senyawa yang terbentuk dari satuan isoprena. Salah satu golongan terpenoid yang berpotensi sebagai antimikroba adalah triterpenoid.

Triterpenoid termasuk senyawa yang merupakan komponen aktif dalam tumbuhan obat yang telah digunakan untuk penyakit gangguan kulit, berfungsi sebagai antifungus, insektisida, antibakteri atau virus. Triterpenoid dapat dipilah menjadi sekurang-kurangnya empat golongan senyawa yaitu triterpena sebenarnya, steroid, saponin, dan glikosida. Triterpenoid adalah senyawa yang kerangka karbonnya berasal dari enam satuan isoprena dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon C_{30} asiklik, yaitu skualena (Harborne, 1987). Senyawa ini berstruktur siklik yang relatif rumit, kebanyakan berupa alkohol, aldehida atau asam karboksilat. Senyawa triterpenoid yang terdapat pada tumbuhan tingkat tinggi adalah fitosterol yang terdiri dari sitosterol (β - sitosterol), stigmasterol, dan kampesterol (Goldberg, 2003).

Steroid merupakan golongan dari senyawa triterpenoid. Senyawa steroid dapat diklasifikasikan menjadi steroid dengan atom karbon tidak lebih dari 21 (steroid sederhana) dan steroid dengan atom karbon lebih dari 21 seperti sterol, sapogenin, alkaloid steroid, dan vitamin D. Steroid alami berasal dari berbagai transformasi kimia dua triterpen yaitu lanosterol dan sikloartenol. Pada umumnya, steroid tumbuhan berasal dari sikloartenol. Senyawa steroid dapat digunakan sebagai dasar untuk pembuatan obat (Nurmillah O, 2010).

Saponin merupakan senyawa aktif permukaan yang dihasilkan dari grup steroid atau triterpen yang berikatan dengan gula, senyawa ini memiliki pengaruh biologis yang menguntungkan yaitu bersifat sebagai hipokolesterolemik dan antikarsinogen serta dapat meningkatkan sistem imun (Meskin *et al.*, 2002). Saponin menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroba dengan cara berinteraksi dengan membran sterol. Efek utama saponin terhadap bakteri adalah pelepasan protein dan enzim dari dalam sel-sel (Zablotowicz *et al.*, 1996).

2.1.4 Manfaat Daun Jarak Pagar

Semua bagian tanaman jarak pagar telah digunakan sejak lama dalam pengobatan tradisional. Minyaknya digunakan sebagai pembersih perut (pencahar), mengobati penyakit kulit dan untuk penyakit rematik. Sari pati cairan rebusan

daunnya digunakan sebagai obat batuk dan antiseptik pasca melahirkan. Bahan yang berfungsi meredakan luka dan peradangan juga telah diisolasi dari bagian tanaman jarak pagar. Berbagai ekstrak dari biji dan daun jarak pagar menunjukkan sifat antimoluska, antiserangga, dan antijamur (Syah, 2006). Menurut Onaolapo (2007) menjelaskan bahwa daun jarak pagar juga mempunyai manfaat untuk perut kembung, sembelit, gatal kaki, dan cacing kerami pada anak-anak .

2.2 Bakteri *Enterococcus faecalis*

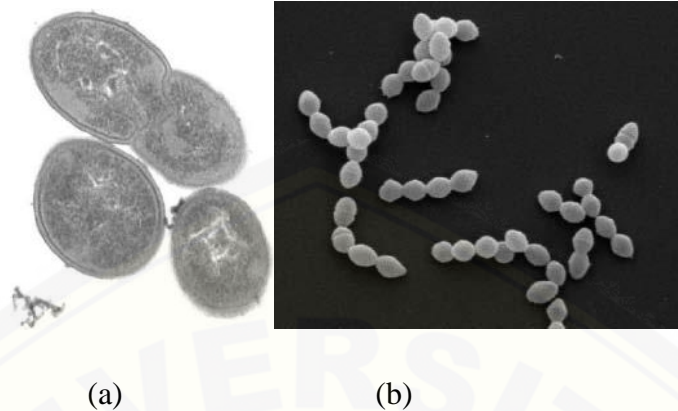
2.2.1 Taksonomi *E. faecalis*

Klasifikasi ilmiah dari *E. faecalis* (Taxonomy ID: 1201292) sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Bacteria</i>
Filum	: <i>Firmicutes</i>
Kelas	: <i>Bacili</i>
Ordo	: <i>Lactobacillales</i>
Famili	: <i>Enterococcaceae</i>
Genus	: <i>Enterococcus</i>
Species	: <i>Enterococcus faecalis</i> (NCBI, 2003)

2.2.2 Morfologi *E. faecalis*

E. faecalis merupakan bakteri kokus gram positif, fakultatif anaerobik, fermentative dan tidak membentuk spora. Bakteri ini berbentuk ovoid berdiameter antara 0,5 – 1 um yang dapat hidup sendiri, berpasangan, membentuk rantai pendek ataupun membentuk rantai yang panjang. Kebanyakan strainnya nonhemolitik dan nonmotile. Permukaan koloni agar darah berbentuk melingkar, halus dan menyeluruh. (Isabela N R *et al.*, 2004:30).



Gambar 2.2 (a) Potongan tipis *E. faecalis*, (b) Tampilan SEM dari *E. faecalis* (Portenier I *et al.*, 2003: 6).

2.2.3 Habitat *E. faecalis*

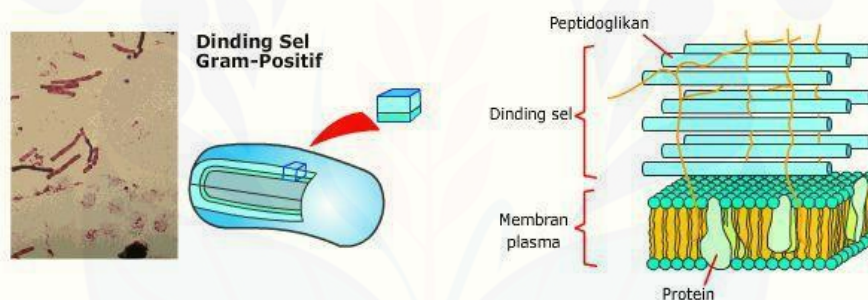
Sifat dari *E. faecalis* adalah fakultatif anaerob artinya mempunyai kemampuan untuk hidup dan berkembang biak dengan oksigen maupun tanpa oksigen. Pada kondisi oksigen yang kurang maka bakteri ini menghasilkan energi melalui jalur fermentasi. Bakteri ini mengkatabolisme berbagai sumber energi antara lain karbohidrat, gliserol, laktat, malate, sitrat, arginin, agmatin dan asam α keto lainnya. *E. faecalis* merupakan mikroorganisme yang dapat bertahan dalam lingkungan yang sangat ekstrim, termasuk pH yang sangat alkalis dan konsentrasi garam yang tinggi (6,9). Spesies *Enterococcus*, terutama *E. faecalis* adalah spesies yang paling sering terisolasi atau terdeteksi di infeksi oral rongga mulut, termasuk pada periodontitis marginalis, infeksi saluran akar dan pada abses periradikuler (Isabela N R *et al.*, 2004: 30).

2.2.4 Patogenitas *E. faecalis*

Pada studi invitro, *E. faecalis* menunjukkan kemampuan untuk menginvasi tubuli dentin, dimana tidak semua bakteri memiliki kemampuan tersebut. *E. faecalis* dapat memasuki fase *Viable But Non Culturable* (VBNC) suatu fase bakteri yang dapat bertahan hidup tetapi tidak berkembang biak (Lleo MM, 2001: 91).

Mekanisme pertahanan hidup ini dimiliki beberapa spesies bakteri ketika berada dalam lingkungan yang sulit. Kondisi ini akan terus berlangsung hingga lingkungan kembali normal. Habitat bakteri ini adalah pada saluran pencernaan, saluran kemih dan juga dapat berkoloni dalam rongga mulut manusia (Kundabala M dan Suchitra U, 2002; Rollins DM, 2009)

Dinding sel bakteri *E. faecalis* ini terdiri dari peptidoglikan 40%, sisanya merupakan *teichoic acid* dan polisakarida (Luis M *et al.*, 2004). Sintesis peptidoglikan dihasilkan oleh keseimbangan antara enzim polimerisasi dan hidrolitik. Peptidoglikan merupakan makromolekul utama yang terlibat dalam penentuan bentuk sel dan pemeliharannya. Zat ini juga berguna sebagai lapisan pelindung dari kerusakan oleh tekanan osmotik sitoplasma yang tinggi (Signoretto C. 2000: 66).



Gambar 2.3 Struktur bakteri kokus gram positif (terdiri dari membran plasma dan lapisan peptidoglikan yang tebal)

Faktor–faktor virulen yang dimiliki *E. faecalis* menyebabkan bakteri ini memiliki kemampuan untuk membentuk kolonisasi pada *host*, dapat bersaing dengan bakteri lain, resisten terhadap mekanisme pertahanan *host*, menghasilkan perubahan patogen baik secara langsung melalui produksi toksin atau secara tidak langsung melalui rangsangan terhadap mediator inflamasi. Faktor-faktor virulen tersebut adalah komponen *aggregation substance* (AS), *surface adhesins*, *sex pheromones*, *lipoteichoic acid* (LTA), *extraceluller superoxide production* (ESP), *gelatinase lytic enzyme*, *hyalurodinase*, dan *cytolysin toxin* (Kundabala M, Suchitra U, 2002 ;

Kayaoglu G, Ørstavik D. 2004: 15). Faktor-faktor virulensi ini berperan penting dalam patogenesis, sehingga *E. faecalis* dapat melekat pada sel hospes dan matrik ekstraselular, memudahkan invasi ke jaringan, mempunyai efek immunomodulasi, dan menimbulkan kerusakan melalui media toksinnya (Sundqvist G, Fidgor D.2003;6: 3-28 ; Distel JW *et al.*, 2002; 28: 689 - 93).

E. faecalis dapat berkolonisasi dalam saluran akar dan bertahan tanpa bantuan dari bakteri lain. Bakteri ini mengkontaminasi saluran akar dan membentuk koloni di permukaan dentin dengan bantuan LTA, sedangkan AS dan *surface adhesin* lainnya berperan pada perlekatan di kolagen. *Cytolysin*, AS-48 dan *bacteriosin* menghambat pertumbuhan bakteri lain. Hal ini menjelaskan rendahnya jumlah bakteri lain pada infeksi saluran akar yang persisten sehingga *E.faecalis* menjadi mikroorganisme dominan pada saluran akar (Kayaoglu G, Ørstavik D. 2004: 15).

Bakteri *E.faecalis* menghasilkan perubahan patogen baik secara langsung melalui produksi toksin atau secara tidak langsung dengan cara menginduksi proses inflamasi. *Sex pheromones*, LTA dan *peptide corresponding inhibitor* memodulasi proses inflamasi lokal dengan cara menstimulasi leukosit untuk melepas beberapa mediator yang ikut berperan dalam kerusakan periradikular. *Lipoteichoic Acid* (LTA) menstimulasi leukosit untuk melepas beberapa mediator inflamasi berupa TNF-, interleukin 1 beta (IL-1 β), interleukin 6 (IL-6), interleukin 8 (IL-8) dan *superoxide anion* yang dikultur dari monosit dan leukosit manusia (Kayaoglu G, Ørstavik D. 2004: 15).

Faktor-faktor virulensi *E. faecalis* ditemukan pada sampel periapikal dan diketahui dapat merusak serta menarik leukosit. Hal ini menyebabkan apoptosis pada sel-sel (osteoblas, osteoklas, jaringan ikat ligamen periodontal, makrofag dan neutrofil) sehingga berakibat terjadinya lesi periradikular. Faktor virulensi yang menyebabkan perubahan patogen secara langsung adalah gelatinase, *hyalurodinase*, *cytolysin* dan *extracelullar superoxide anion*. Gelatinase berperan terhadap terjadinya resorpsi tulang dan degradasi dentin matrik organik sehingga berkontribusi terhadap timbulnya inflamasi periapikal. *Hyaluronidase* membantu degradasi *hyaluronan* yang

terdapat pada dentin untuk menghasikan energi organisme, sedangkan *extracellular superoxide anion* dan *cytolysin* berperan aktif terhadap kerusakan jaringan. Selain berperan dalam perlekatan di kolagen, AS juga berfungsi sebagai pertahanan dalam melawan mekanisme pertahanan *host* (induk) melalui mekanisme media reseptor dengan cara pengikatan neutrofil sehingga *E. faecalis* menjadi tetap hidup walaupun mekanisme fagositosis aktif berlangsung (Kayaoglu G, Ørstavik D. 2004: 15).

E. faecalis resisten terhadap banyak antibiotik spektrum luas. Resistensi *E. faecalis* terhadap antimikroba diperoleh secara intrinsik maupun *acquired* (didapat) melalui transfer gen. Resistensi *acquired* diperoleh dari mutasi DNA atau dapat juga dari gen yang baru melalui transfer plasmid dan transposons (Kundabala M dan Suchitra U, 2002). Selain itu, adanya mekanisme yang mempertahankan level pH *cytoplasmic* tetap optimal menyebabkan bakteri tersebut juga resisten terhadap antimikroba kalsium hidroksida. Seperti diketahui bahwa dalam lingkungan alkali *E. faecalis* akan menjaga homeostasis melalui pH internal yang berfungsi untuk menjaga agar enzim dan protein berfungsi normal. Prinsip homeostasis terdiri dari dua komponen, yaitu fungsi pasif dan aktif. Fungsi pasif terdiri dari permeabilitas membran yang rendah dan kemampuan buffer sitoplasma. Sedangkan mekanisme aktif melalui kontrol transport kation (kalium, natrium dan proton) melalui membran sel. Pada lingkungan asam sistem *antiport* kation akan meningkatkan pH internal dengan keluarnya proton melalui membran sel. Pada keadaan basa kation/proton akan dipompa ke dalam sel agar pH internal lebih rendah. Fungsi pompa proton intraseluler merupakan faktor utama dari resistensi *E. faecalis* terhadap pH (Evan M *et al.*, 2002: 35).

Saluran akar yang terinfeksi merupakan salah satu kondisi di mana nutrisi kurang memadai, adanya toksin dari bakteri lain dan invasi dari bahan medikamen saluran akar. Kondisi ini dapat menyebabkan perubahan fisiologi spesifik dari *E. faecalis*. Pada kondisi ini bakteri kehilangan kemampuan untuk tumbuh dan berkembang tetapi tetap hidup dan bersifat patogen. Kondisi inilah yang disebut dengan fase VBNC. Pada kondisi VBNC ini, *E. faecalis* dapat memanjang, berbentuk

cocobacillary dengan permukaan yang tidak rata, terjadi peningkatan produksi *Penicillin Binding Protein* (PBP) yang bila diproduksi dalam jumlah banyak dapat menyebabkan resistensi terhadap penisilin, kuantitas LTA juga menjadi 2 kali lipat lebih tebal sehingga dinding sel lebih kuat dan lebih tahan terhadap kerusakan mekanis (Signoretto C *et al.*, 2000: 66). Tidak hanya dapat melakukan fermentasi untuk menghasilkan asam laktat, bakteri ini juga dapat mengkatabolisasi sumber energi dari karbohidrat, gliserol, laktat, malat dan sitrat (Luis M *et al.*, 2004). Hal ini sangat membantu ketika *E. faecalis* hidup di daerah yang minim nutrisi seperti saluran akar yang terinfeksi.

2.3 Mekanisme Kerja Antibakteri

Antimikroba merupakan obat pembasmi mikroba, khususnya mikroba yang bisa merugikan manusia. Obat yang akan digunakan untuk membasmi mikroba, penyebab infeksi pada manusia, harus memiliki sifat toksisitas selektif setinggi mungkin. Obat tersebut haruslah bersifat sangat toksik untuk mikroba tetapi relatif tidak toksik untuk hospes (Ganiswarna, 1995). Berdasarkan mekanisme kerjanya antimikroba dibagi dalam 4 kelompok, yaitu:

a. Antibakteri yang menghambat sintesis dinding sel bakteri

Bakteri mempunyai lapisan luar sel yang kaku, yaitu dinding sel. Dinding sel mempertahankan bentuk dan ukuran mikroorganisme, yang mempunyai tekanan osmotik internal tinggi. Cedera pada dinding sel (misal karena lisozim) atau inhibisi pada pembentukannya dapat menyebabkan sel menjadi lisis. Dalam lingkungan hipertonik (misal sukrosa 20%), kerusakan pembentukan dinding sel mengakibatkan terbentuknya “protoplas” bakteri sferis pada organisme gram positif atau “sferoplas” pada organisme gram negatif, bentuk-bentuk tersebut dilapisi oleh membran sitoplasma yang rapuh. Jika protoplas atau sferoplas tersebut ditempatkan pada lingkungan dengan tonisitas normal, keduanya akan mengambil cairan secara cepat, membengkak, dan dapat pecah. Contoh-contoh agen yang bekerja dengan cara

inhibisi sintesis dinding sel adalah penisilin, sefalosporin, vankomisin, dan sikloserin (Brooks *et al.*, 2007).

b. Antibakteri yang mengganggu permeabilitas membran sel mikroba

Sitoplasma membran sel yang hidup diikat oleh membran sitoplasma, yang akan bekerja sebagai barrier permeabilitas selektif, berfungsi sebagai transpor aktif, sehingga mengontrol komposisi internal sel. Jika integritas fungsional membran sitoplasma terganggu, makromolekul dan ion dapat keluar dari sel sehingga dapat menyebabkan kerusakan atau kematian sel. Membran sitoplasma bakteri dan jamur mempunyai struktur yang berbeda dari sel-sel hewan dan dapat mudah dirusak oleh agen tertentu. Oleh karenanya, kemoterapi selektif mungkin untuk dilakukan. Contoh agen yang bekerja dengan cara inhibisi fungsi membran sel adalah amfoterisin B, kolistin, dan imidazol (Brooks *et al.*, 2007).

c. Antibakteri yang menghambat sintesis protein sel bakteri

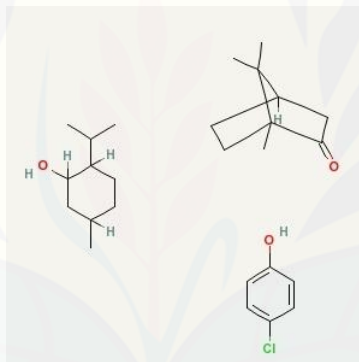
Untuk kehidupannya bakteri perlu mensintesis berbagai protein. Sintesis protein berlangsung di ribosom, dengan bantuan mRNA dan tRNA. Pada bakteri, organel ribosom terdiri dari dua sub unit, yang berdasarkan konstanta sedimentasinya dinyatakan sebagai ribosom 30s dan 50s. Pada sintesis protein kedua komponen ini bersatu pada pangkal rantai mRNA menjadi ribosom 70s. Apabila zat anti bakteri berikatan dengan komponen ribosom 30s pada mRNA akan dapat menyebabkan tRNA salah membaca kode tersebut sehingga akan terbentuk protein yang abnormal dan nonfungsional bagi sel bakteri. Contoh obat yang bekerja dengan cara menghambat sintesis protein adalah eritromisin, linkomisin, tetrasiklin, aminoglikosida, dan kloramfenikol (Brooks *et al.*, 2007).

d. Antibakteri yang menghambat sintesis asam nukleat sel bakteri

Asam nukleat merupakan bagian yang sangat vital bagi perkembangbiakan sel. Mekanisme kerjanya dengan cara berikatan dengan enzim polymerase-RNA (pada sub unit) sehingga menghambat sintesis RNA dan DNA. Contoh obat yang bekerja dengan cara inhibisi sintesis asam nukleat adalah kuinolon, pirimetamin, rifampin, sulfonamid, trimetoprim, dan trimetreksat (Brooks *et al.*, 2007)

2.4 ChKM

ChKM merupakan senyawa yang terdiri dari dua bagian paraklorofenol dan tiga bagian kamfer (Gambar 2.4). ChKM memiliki sifat desinfektan yang dapat mengiritasi jaringan lebih kecil daripada formokresol. Senyawa ini memiliki spektrum antibakteri yang luas dan sangat efektif sebagai antijamur. Bahan utamanya yaitu paraklorofenol dapat memusnahkan berbagai mikroorganisme yang ada dalam saluran akar. Bahan pendampingnya yaitu kamfer berfungsi sebagai bahan pelarut dan dapat mengurangi efek iritasi yang terdapat dalam paraklorofenol. Kamfer juga dapat memperpanjang efek antibakterial. Menthol dalam ChKM mampu mengurangi iritasi yang disebabkan oleh chlorophenol serta dapat mengurangi rasa sakit (Walton dan Torabinejad, 1998).



Gambar 2.4 Struktur kimia ChKM (Sumber: Alinis, 2011)

Senyawa fenol kamfer yang dikenal sebagai “dana bakteri” dalam medis sudah digunakan sejak tahun 1880. Dalam kedokteran gigi, digunakan pada tahun 1905 oleh Otto Walkhoff. Dia sudah menggunakan klorin sejak tahun 1882 untuk pengobatan fenol direkomendasikan untuk gangren pulpa. Aplikasi fenol untuk penanganan gangren dan periodontitis dalam bentuk batu bara dengan kapas yang diberi klorofenol dan timol sebagai bahan pengisi saluran akar. Campuran yang digunakan mengandung 30-40% fenol, dan kamfer 60-70% (Alinis, 2011).

Klorofenol cair dianggap sebagai desinfektan yang kuat. Bila digunakan dalam saluran akar dapat menembus jauh ke dalam dentin yang sudah terinfeksi

bakteri sebelumnya, tetapi juga ke foramen apikal dan ke jaringan periapikal. Pengaruh fenol terhadap antibakteri mungkin berdasarkan kemampuan lipid dalam menghancurkan bakteri untuk membran. Pada konsentrasi yang tinggi dapat mendenaturasi protein sel. Pada konsentrasi yang lebih rendah sangat penting pada sistem enzim yang sudah dilemahkan dan dinding sel bakteri terlarut, sehingga bisa diasumsikan penambahan kapur barus, yang korosif dan pengaruh klorin yang beracun dapat dinetralkan oleh fenol sebagian besar. Hanya dengan mencampur klorofenol : kapur barus dengan rasio 2 : 1 sekali lagi efek korosif menentukan. Hal ini dikarenakan kamper terlarut karena tambahan fenol. Akan tetapi bukti baru mengindikasikan kamper sendiri juga toksik dan dapat meningkatkan toksisitas (Alinis, 2011).

Timol ialah zat desinfektan yang memiliki kemampuan 30 kali lebih tinggi jika dibandingkan fenol, dengan toksisitas yang minimum, mutlak menunjukkan toksisitas timol mirip dengan fenol. Menurut Tronstad (dalam Alinis, 2011) efek antiseptik dari zat ini memiliki durasi yang relatif pendek. Hal ini dapat mengakibatkan jumlah dari mikroorganisme yang tersisa dalam saluran akar relatif cepat tumbuh lagi terutama ketika jaringan eksudat dan darah ada di sana (Alinis, 2011).

Diselidiki pada dentin manusia efek desinfektan terhadap *E. faecalis*. Hal ini terbukti ChKM merupakan desinfektan yang dapat mempengaruhi kalsium hidroksida. Kombinasi produk dan pengaruhnya terhadap *E. faecalis* (Ca(OH)_2), *faecalis* ($\text{Ca(OH)}_2 + \text{H}_2\text{O}_2$), $\text{Ca(OH)}_2 + 0,25\%$ Chlorhexidin, ($\text{Ca OH} + \text{CHKM}$). Kombinasi kalsium hidroksida dan CHKM dapat membunuh semua mikroorganisme ini. Dalam studi mereka, bahkan setelah satu minggu efektif terhadap *E. faecalis* dan *F. nucleatum* dan kombinasi produk ini mampu membunuh semua bakteri dalam waktu 24 jam. Studi lain diperiksa kemampuan beberapa deposito obat dalam mencegah saluran akar terkontaminasi ulang. Di sini juga, terbukti kombinasi Ca(OH)_2 -CHKM baik dan juga unggul sehingga reinfeksi saluran akar tidak lagi terjadi (Alinis, 2011)

2.5 Metode Uji Daya Hambat *Agar plug diffusion method*

Metode uji daya hambat pertumbuhan bakteri dilakukan untuk mengetahui respon mikroorganisme terhadap senyawa antibakteri yang diujikan, sehingga dapat dilakukan pengobatan yang efektif dan efisien. Saat ini terdapat tiga metode untuk mendeteksi aktivitas antibakteri dalam suatu produk alam, yaitu metode bioautografik, difusi, dan dilusi. Metode autobiografik dan difusi diketahui merupakan metode kualitatif yang hanya akan memberikan kepastian ada atau tidaknya zat antibakteri dalam suatu produk alam. Sedangkan, metode dilusi merupakan metode kuantitatif yang dapat menentukan konsentrasi hambat minimal dari suatu produk alam yang mengandung senyawa antibakteri (Valgas *et al.*, 2007).

Metode yang digunakan untuk mengetahui daya hambat ekstrak daun jarak pagar dalam penelitian ini adalah menggunakan metode *agar plug diffusion methods*. Metode ini hampir sama dengan *agar disk diffusion methods*. *Agar plug diffusion methods* yaitu membuat sumuran pada agar padat yang telah diberi bakteri hanya pada permukaan agar dan diisi dengan ekstrak daun jarak pagar dengan berbagai konsentrasi serta ChKM dan aquades steril pada masing-masing sumuran yang sudah dibuat. Metode ini memiliki sensitivitas tinggi dalam menguji kepekaan zat antibakteri. Zat-zat dari ekstrak tanaman akan lebih mudah berdifusi melewati media agar pada metode ini (Mounyr Balouiri *et al.*, 2015).

2.6 Metode Ekstraksi Tanaman Obat

Dalam buku Farmakope Indonesia Edisi V, disebutkan bahwa ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian rupa sehingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Kemenkes RI, 2013:42). Sedangkan Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan menggunakan pelarut cair (Depkes RI, 2000: 5).

Salah satu metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut dalam buku Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat adalah metode maserasi. Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Secara teknologi, maserasi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan (Depkes RI, 2000: 10). Pada metode maserasi ini, cairan pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif sehingga zat aktif akan terlarut. Karena adanya perbedaan konsentrasi zat aktif di dalam maupun di luar sel maka larutan yang terpekat akan terdesak keluar. Peristiwa ini terus berulang sampai terjadinya keseimbangan konsentrasi larutan antara di dalam dan di luar sel (Ditjen POM, 1986).

Cairan pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 96%. Etanol merupakan pelarut yang paling banyak digunakan untuk ekstraksi karena memiliki daya penyari yang luas. Hal ini didasarkan pada hasil *review* oleh Cowan (1999: 53) yang menyatakan bahwa pelarut etanol dapat mengekstraksi beberapa senyawa aktif seperti tanin, polifenol, flavonol, terpenoids, dan alkaloid. Selain itu diketahui juga bahwa etanol memiliki toksisitas rendah dibanding pelarut organik lain, seperti metanol, kloroform, heksana, dan lain-lain (Saifudin *et al.*, 2011: 72).

2.7 Interaksi Kandungan Kimia Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar dengan Bakteri Garam Positif

Ekstrak daun jarak pagar mengandung senyawa kimia berupa alkaloid, tannin, terpenoid, steroid, glikosida, fenol dan flavonoid (Sharma *et al.*, 2012). Penelitian lain juga menjelaskan bahwa senyawa kimia yang terkandung dalam daun jarak pagar terbukti memiliki daya antibakteri pada bakteri gram positif seperti *Staphylococcus aureus* (Dwi S *et al.*, 2009). Bakteri ini adalah bakteri Gram positif yang memiliki persamaan jumlah struktur selubung sel yang sama dengan bakteri *E.*

faecalis Mekanisme dari masing-masing senyawa kimia tersebut adalah sebagai berikut:

2.7.1 Flavonoid

Sebagian besar senyawa fenolik adalah milik flavonoid dan lignin (substansi utama dari kayu). Flavonoid sebagian besar adalah komponen yang larut dalam air dan dapat diekstraksi dengan etanol 70% serta tetap berada di lapisan berair, mengikuti partisi ekstrak ini dengan Petroleum ether. Struktur dasar flavonoid berasal dari tubuh utama C₁₅. Flavonoid berbeda dari zat fenolik lain di tingkat oksidasi pusat cincin pyrannya (Raaman, 2006: 225). Flavonoid adalah poliphenol kompleks bagian dari kelas metabolisme sekunder pada tumbuhan. Kandungannya mengatur beberapa aktivitas biologi dan berkontribusi memberikan manfaat kesehatan dalam pengkonsumsiannya setiap hari. Flavonoid terbukti memiliki sifat antioksidan, antidiabetik dan antibakteri (Nurliyana *et al.*, 2010; Omidizadeh, 2014). Senyawa fenol ini sebagai antibakteri bekerja dengan proses adsorpsi dengan ikatan hidrogen. Pada kadar rendah terbentuk ikatan protein fenol rendah yang menyebabkan presipitasi dan denaturasi protein. Pada kadar tinggi menyebabkan koagulasi protein sehingga sel membran sitoplasma lisis. Kecenderungan senyawa fenol seperti flavonoid yaitu menghambat enzim sampai mengganggu proses metabolisme (Nadhilla, 2014).

2.7.2 Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa organik yang terdapat dalam tumbuhan, bersifat basa dan struktur kimianya heterosiklis dengan nitrogen sebagai hetero atomnya. Unsur penyusunnya yaitu karbon, nitrogen, hidrogen dan oksigen. Unsur nitrogen ini memberikan sifat alkali sehingga disebut alkaloid (Sumardjo, 2009: 438). Alkaloid memiliki daya aktivitas antibakteri dengan mengganggu penyusunan dinding sel bakteri sehingga tidak terbentuk dinding sel yang sempurna dan dapat menyebabkan kematian sel bakteri.

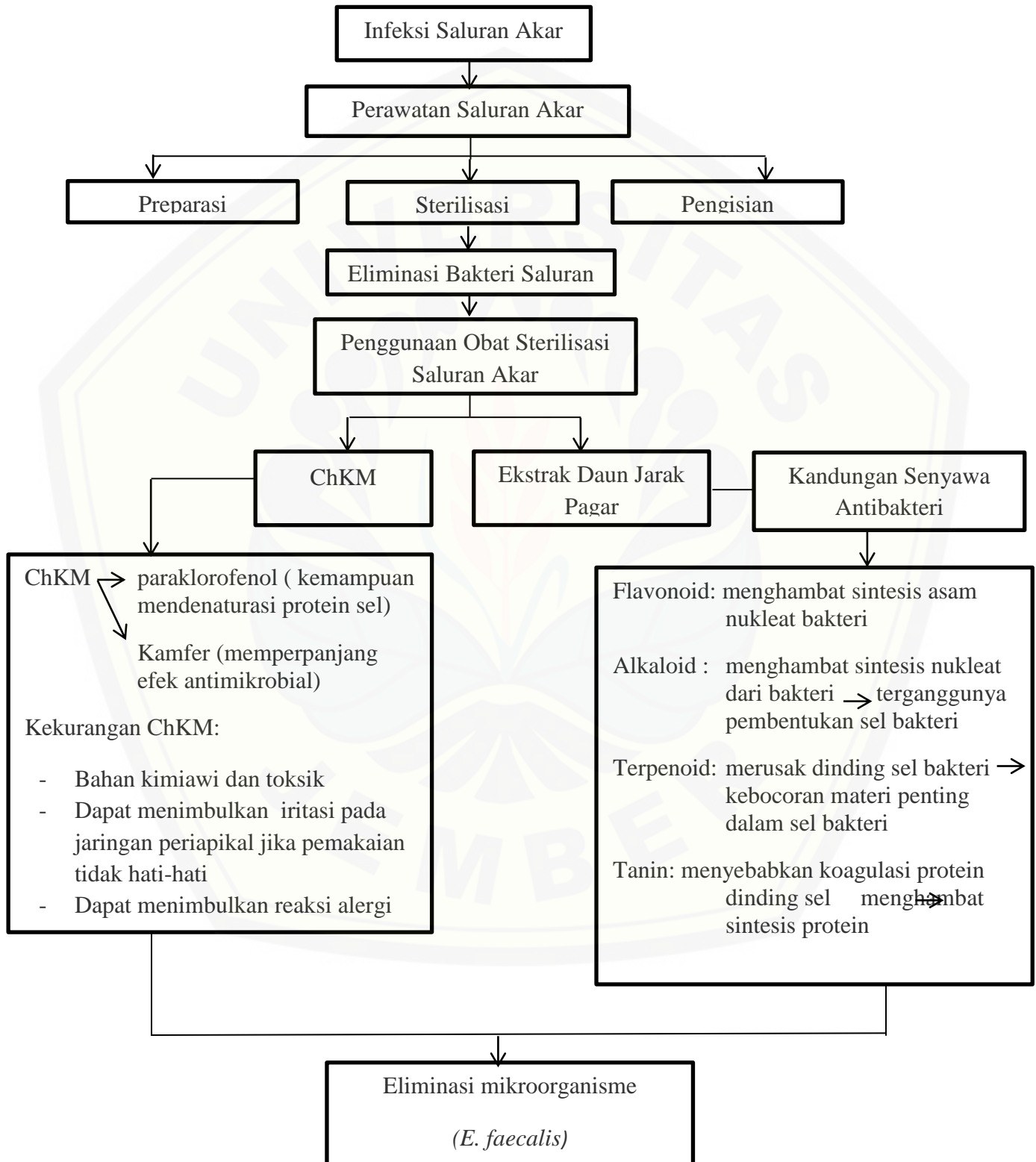
2.7.3 Terpenoid

Terpenoid merupakan sebuah fraksi besar dari minyak esensial tanaman yang terdiri dari struktur isoprena alam lipofilik (Lamothe *et al.*, 2009). Kemampuan terpenoid sebagai senyawa yang mempunyai sifat antibakteri dikaitkan dengan mekanisme kerja dari senyawa ini yang dapat bereaksi dengan protein transmembran (porin) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya nutrisi dan senyawa lain akan mengurangi permeabilitas dinding sel, sehingga pertumbuhan bakteri akan terhambat atau mati (Cowan, 1999).

2.7.4 Tanin

Tanin merupakan salah satu jenis senyawa yang termasuk ke dalam golongan polifenol. Senyawa tanin ini banyak dijumpai pada tumbuhan. Tanin memiliki aktivitas antibakteri, secara garis besar mekanisme yang diperkirakan adalah toksisitas tanin dapat merusak membran sel bakteri, senyawa astringent tanin dapat menginduksi pembentukan kompleks ikatan tanin terhadap ion logam yang dapat menambah daya toksisitas tanin itu sendiri. Mekanisme kerja tanin diduga dapat mengkerutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri. Akibat terganggunya permeabilitas, sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat dan mati (Ajizah, 2004). Tanin juga mempunyai daya antibakteri dengan cara mempresipitasi protein, karena diduga tanin mempunyai efek yang sama dengan senyawa fenolik. Efek antibakteri tanin antara lain melalui reaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim, dan destruksi atau inaktivasi fungsi materi genetik (Masduki, 1996).

2.8 Kerangka Konsep Penelitian



2.9 Penjelasan Kerangka Konsep Penelitian

Infeksi saluran akar dapat disebabkan oleh berbagai macam bakteri yang ada di saluran akar. Perawatan yang dapat dilakukan untuk merawat infeksi di saluran akar yaitu perawatan saluran akar. Perawatan saluran akar adalah salah satu perawatan endodontik yang dilakukan dokter gigi dengan cara mengambil seluruh jaringan pulpa nekrosis, membentuk saluran akar gigi, membersihkan saluran akar gigi dan obturasi saluran akar gigi untuk mencegah infeksi berulang (Harty, 2004).

Perawatan saluran akar gigi meliputi tiga tahap yaitu preparasi, sterilisasi dan pengisian. Salah satu tahap yang penting dalam perawatan saluran akar adalah sterilisasi. Sterilisasi saluran akar ini bertujuan untuk mematikan sisa kuman yang ada di saluran akar dan pada tubuli dentin yang tidak dapat dicapai pada saat preparasi kemomekanis saluran akar (Walton dan Torabinejad, 2008). ChKM merupakan pilihan obat yang biasa digunakan untuk sterilisasi saluran akar. Namun ada beberapa kekurangan dari bahan tersebut yaitu bersifat toksik, pada saat pemakaian harus hati-hati karena bersifat iritasi pada jaringan periapikal dan dapat menimbulkan inflamasi dan rasa sakit. Sehingga diperlukan bahan yang dapat digunakan sebagai bahan alternatif saluran akar yang mempunyai daya antibakteri tinggi dan tingkat toksisitas rendah. Salah satu tanaman obat yang diketahui memiliki daya antibakteri adalah daun jarak pagar yang mempunyai beberapa senyawa aktif antara lain flavonoid, alkaloid, terpenoid dan tanin. Mekanisme dari keempat senyawa ini sebagai antibakteri dapat berupa reaksi dengan merusak dinding sel dan menghambat enzim reverse transkriptase sehingga menyebabkan sel bakteri tidak terbentuk.

2.10 Hipotesis

1. Ekstrak daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas L.*) memiliki daya antibakteri terhadap pertumbuhan *E. faecalis*.
2. Konsentrasi 6,25 gr/daL yang terkecil pada penelitian ini mampu menghambat pertumbuhan *E. faecalis*.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris. Keuntungan dari eksperimental laboratoris adalah pengaruh perlakuan lebih terkendali, terukur dan lebih dapat dipercaya.

3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini menggunakan *the post-test only control group design*, yaitu dilakukan pengukuran atau pengamatan pada kelompok kontrol dan perlakuan pada waktu yang telah ditentukan setelah diberi suatu perlakuan.

3.3 Tempat dan Waktu Penelitian

3.3.1 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di bagian Biomedik laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, laboratorium Biosains RSGM Universitas Jember, laboratorium Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember dan laboratorium Botani Biologi FMIPA Universitas Jember

3.3.2 Waktu Penelitian

Pelaksanaan penelitian dilakukan pada bulan November 2016

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak daun jarak pagar (*Japthropa curcas L.*) dengan konsentrasi 6,25 gr/daL, 12,5 gr/daL, 25 gr/daL, 50 gr/daL dan 100 gr/daL.

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah zona hambat ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas L.*) terhadap pertumbuhan *Enterococcus faecalis*.

3.4.3 Variabel Terkendali

- a. Sterilisasi alat dan bahan
- b. Metode dan cara kerja
- c. Ekstraksi daun jarak pagar
- d. Suspensi *E. faecalis*
- e. Media pembiakan *E. faecalis*

3.5 Definisi Operasional

3.5.1 Ekstrak Daun Jarak Pagar

Ekstrak daun jarak pagar adalah hasil ekstrak yang diperoleh dari daun jarak pagar segar yang dikeringkan dengan cara diangin-anginkan selama 3 hari . Kemudian setelah kering dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 50°C selama 1 jam kemudian digiling dan dibuat serbuk hingga berbentuk serbuk simplisia lalu dimaserasi dengan larutan etanol 96 % selama 3 hari dan dilakukan pengadukan 2 kali sehari. Maserat diuapkan sampai didapat ekstrak kental dengan randemen 11,28 %. Pada penelitian ini dibuat pengenceran konsentrasi ekstrak daun jarak pagar hingga didapatkan ekstrak daun jarak pagar dengan konsentrasi 6,25 gr/daL, 12,5 gr/daL, 25 gr/daL, 50 gr/daL dan 100 gr/daL .

3.5.2 *E. faecalis*

Galur murni *E. faecalis* yang berasal dari Laboratorium Analis Medis Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga yang sudah diuji Biokimia Bakteri *E. faecalis* ATTC 29212 (Lampiran G.3), kemudian dibiakkan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember serta sudah dilakukan uji identifikasi (Lampiran G.4).

3.5.3 Daya Hambat terhadap Pertumbuhan *E. faecalis*

Daya hambat terhadap pertumbuhan *E. faecalis* adalah kemampuan suatu zat dalam menghambat pertumbuhan dan reproduksi *E. faecalis* dengan cara mengukur

diameter zona hambat di sekitar sumuran pada masing-masing kelompok penelitian menggunakan jangka sorong digital. Diameter zona hambat diukur dari tepi (*break point*) ke tepi (*break point*) zona hambat yang bersebrangan melewati pusat lubang sumuran. Diameter lubang sumuran sebesar 5 mm. Jika tidak terdapat zona hambat di sekitar lubang sumuran, maka diinterpretasikan nilai diameter zona hambat sebesar 5 mm.

3.6 Sampel Penelitian

3.6.1 Besar sampel Penelitian

Besar sampel didapat dengan penghitungan rumus dari Steel dan Torrie (1995:145), yaitu berjumlah minimal 8 sampel untuk setiap kelompok penelitian. Sehingga jumlah keseluruhan besar sampel dari 7 kelompok penelitian yang digunakan adalah sebanyak 56 sampel (Lampiran A)

3.6.2 Pengelompokan Sampel

Sampel dibagi menjadi 7 kelompok penelitian, yaitu sebagai berikut:

- a. Kelompok K+ : ChKM (kontrol positif)
- b. Kelompok K- : aquades steril (kontrol negatif)
- c. Kelompok 100 gr/daL : ekstrak daun jarak pagar konsentrasi 100 gr/daL
- d. Kelompok 50 gr/daL : ekstrak daun jarak pagar konsentrasi 50 gr/daL
- e. Kelompok 25 gr/daL : ekstrak daun jarak pagar konsentrasi 25 gr/daL
- f. Kelompok 12,5 gr/daL: ekstrak daun jarak pagar konsentrasi 12,5 gr/daL
- g. Kelompok 6,25 gr/daL: ekstrak daun jarak pagar konsentrasi 6,25 gr/daL

3.7 Alat dan Bahan

3.7.1 Alat Penelitian

- a. Wadah toples kaca bertutup
- b. Ayakan 80 mesh
- c. Blender (Miyako, Indonesia)

- d. Timbangan digital (Electronic Balance, BS 600 H, USA)
- e. *Beaker glass* (Pyrex, Japan)
- f. Tabung *erlenmeyer* (Pyrex, Japan)
- g. Gelas ukur (Pyrex, Japan)
- h. Corong kaca (Herma, Japan)
- i. *Petridish* tidak bersekat dengan diameter 9 cm (Pyrex, Germany)
- j. Bunsen (Pyrex, Japan)
- k. Kertas saring (Whatman No. 40, UK)
- l. Aluminium foil (Klin Pak, Indonesia)
- m. Spatula kaca
- n. *Borer stainless steel* dengan diameter 5 mm
- o. Ose
- p. Gigaskrin
- q. Mikropipet (Eppendorf, Germany)
- r. Tip kuning
- s. Jangka sorong digital dengan derajat ketelitian 0,01 mm (Inoki, Japan)
- t. Oven (Memmert GmbH + Co. KG, tipe 300, Germany)
- u. *Rotary evaporator* (Human , Huma roller, Germany)
- v. *Incubator* (WTC Binder, Germany)
- w. *Laminar flow* (Human Lab, Clean Bench CB-180-H))
- x. *Anaerobic jar* (OXOID CO2GEN 2,5 LT 10, Germany)
- y. *Hotplate* (Labtech, Shaker ,Korea)
- z. *Autoclave* (Hanshin Medical Co., Ltd., HS-85E, Korea)
- aa. *Object glass*
- bb. *Deck glass*
- cc. Mikroskop (Olympus, IX2-1 LL30, Japan)
- dd. *Vortex* (Human ,Huma Twist , Germany)
- ee. *Densicek*
- ff. *Centrifuge* (Labtech, Mikrocentrifuge, Korea)

3.7.2 Bahan Penelitian

- a. Brain Heart Infusion Agar/BHI-A (Merck, Germany)
- b. Brain Heart Infusion Broth/BHI-B (Merck, Germany)
- c. Aquades steril (Otsuka, Indonesia)
- d. ChKM
- e. Daun Tanaman Jarak Pagar
- f. Bakteri *E. faecalis*
- g. Etanol 96%
- h. Alkohol 70%
- i. Larutan PZ
- j. Pewarna Gram (*Carbol gentian violet*, Lugol, Safranin, *Selective decolorizer*)

3.8 Prosedur Penelitian

3.8.1 Tahap Persiapan

a. Sterilisasi Alat

Semua alat yang terbuat dari plastik dibersihkan terlebih dahulu dan disterilkan dengan menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Sedangkan alat yang terbuat dari kaca dicuci sampai bersih, kemudian dikeringkan dan disterilkan dengan menggunakan alkohol 70%.

b. Persiapan Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas L.*)

1. Identifikasi Tanaman

Daun jarak pagar yang digunakan dalam penelitian ini terlebih dahulu dilakukan uji identifikasi tanaman jarak pagar untuk mengetahui bahwa daun jarak pagar yang digunakan berasal dari spesies *Jatropha L.* Uji identifikasi ini dilakukan di Lab. Botani Biologi FMIPA Universitas Jember (Lampiran G.1).

2. Pembuatan Ekstrak

Pembuatan ekstrak, dilakukan di laboratorium Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember dengan beberapa tahapan. Pertama daun jarak pagar sebanyak 1 kg dicuci bersih setelah itu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan di tempat yang teduh selama 3 hari. Setelah dikeringkan, daun jarak pagar ditimbang dan diperoleh berat kering (Gambar 3.1). Daun yang sudah kering dihaluskan hingga menjadi serbuk dengan menggunakan blender. Serbuk kemudian diayak dengan menggunakan ayakan berukuran 80 mesh sehingga menjadi serbuk simplisia halus (Kemenkes RI, 2009:174). Setelah menjadi serbuk simplisia halus lalu ditimbang (Gambar 3.1).

Kemudian sediaan ekstrak dibuat dengan cara maserasi menggunakan etanol 96% sebagai pelarut.



(a)

(b)

(c)

Gambar 3.1 (a) Daun Jarak Pagar segar (b) Daun Jarak Pagar yang dikeringkan dengan cara diangin-anginkan (c) Hasil serbuk simplisia halus setelah dilakukan penghalusan dan diayak

Serbuk simplisia halus dimasukkan ke dalam toples lalu direndam dengan etanol 96% sesuai perbandingan 1:7,5 (b/v) antara banyaknya serbuk simplisia dengan pelarut. Perendaman dilakukan selama 3 hari di dalam wadah toples tertutup pada suhu ruangan dengan dilakukan pengadukan larutan 2 kali sehari (Gambar 3.2)



Gambar 3.2 Rendaman simplisia halus daun jarak pagar dalam etanol 96%

Serbuk simplisia yang sudah selesai direndam selama 3 hari kemudian disaring. Maserat dipisahkan dengan cara filtrasi menggunakan corong kaca yang diberi kertas saring. Hasil maserasi kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dengan kecepatan 180 rpm pada suhu 50°C selama 1 jam dan diuapkan kembali dengan cara *waterbath* di atas *hotplate* untuk menghilangkan sisa pelarut pada suhu 40-50°C selama 3 jam (Gambar 3.3). Diperoleh ekstrak kental daun jarak pagar kemudian dihitung hasil randemen ekstrak. Hasil ekstrak daun jarak pagar disimpan di dalam lemari es apabila tidak langsung digunakan.



(a)



(b)



(c)



(d)

(a) Penyaringan hasil maserasi; (b) Evaporasi dengan menggunakan *rotary evaporator*; (c) Evaporasi dengan cara diletakkan di atas *hotplate*; (d) Hasil ekstrak daun jarak pagar konsentrasi 100%.

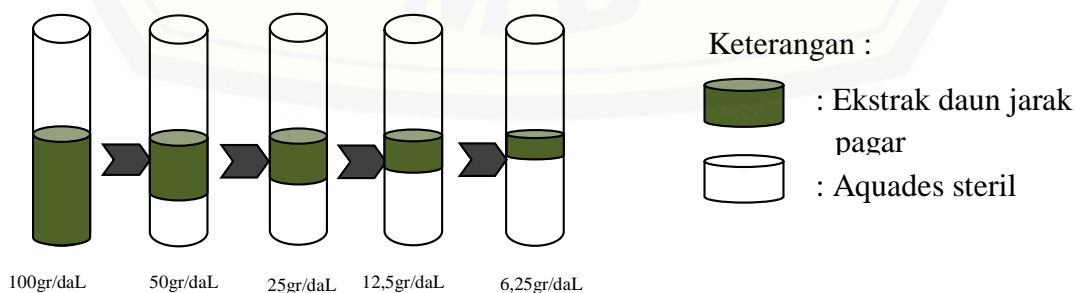
Gambar 3.3 Filtrasi dan evaporasi ekstrak daun jarak pagar

c. Pengenceran Ekstrak daun jarak pagar

Pengenceran dilakukan dengan menggunakan aquades steril untuk mendapatkan konsentrasi 50 gr/daL, 25 gr/daL, 12,5 gr/daL dan 6,25 gr/daL dari ekstrak daun jarak pagar konsentrasi 100 gr/daL. Ekstrak dengan konsentrasi 100 gr/daL diperoleh dari 1 gr ekstrak pekat ditambah dengan 100 ml aquades sehingga menjadi 1 gr/100 ml kemudian, dikonversi dalam satuan gr/daL. Pengenceran konsentrasi ekstrak ini dilakukan di dalam *laminar flow* menggunakan mikropipet yang diberi tip dan hasil pengenceran tersebut dimasukkan pada mikrotube (Gambar 3.4). Pengenceran ekstrak etanol daun jarak pagar menggunakan rumus pengenceran (Lampiran C) adalah sebagai berikut:

1. Ekstrak 100 gr/daL diambil sebanyak 100 gr ekstrak pekat, kemudian ditambahkan 1 daL aquades lalu dihomogenkan dengan menggunakan *vortex*.
2. Ekstrak 50 gr/daL diambil sebanyak 50 gr ekstrak pekat, kemudian ditambahkan 1 daL aquades lalu dihomogenkan dengan menggunakan *vortex*.
3. Ekstrak 25 gr/daL diambil sebanyak 25 gr ekstrak pekat, kemudian ditambahkan 1 daL aquades lalu dihomogenkan dengan menggunakan *vortex*.
4. Ekstrak 12,5 gr/daL diambil sebanyak 12,5 gr ekstrak pekat, kemudian ditambahkan 1 daL aquades lalu dihomogenkan dengan menggunakan *vortex*.
5. Ekstrak 6,25 gr/daL diambil sebanyak 6,25 gr ekstrak pekat, kemudian ditambahkan 1 daL aquades lalu dihomogenkan dengan menggunakan *vortex*.

Ekstrak daun jarak pagar setelah homogen lalu dimasukkan ke dalam *sentrifuge* selama 10 menit 1700 rpm untuk mendapatkan filtrat dari ekstrak.



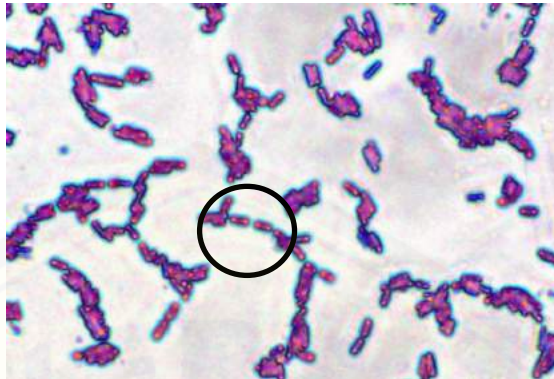


Gambar 3.4 Alur Pengenceran ekstrak daun jarak pagar

d. Pewarnaan Gram bakteri

Pewarnaan gram isolat bakteri *E. faecalis* yang berasal dari Laboratorium Analisis Medis Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga dilakukan di laboratorium Mikrobiologi FKG Universitas Jember untuk memastikan bahwa bakteri tersebut benar bakteri *E. faecalis*, tidak terkontaminasi dan siap digunakan untuk penelitian.

Tahap pewarnaan gram dimulai dengan cara meletakkan 1 ose biakan bakteri yang akan diperiksa pada *object glass* yang sudah bersih dan sudah ditetesi dengan 1-2 tetes larutan PZ, kemudian campur biakan dengan gerakan memutar dan sediaan difiksasi di atas api bunsen. Kemudian, pada sediaan dituangkan zat warna *carbol gentian violet* (I) selama 60 detik. *Carbol gentian violet* dibuang dengan cara disiram menggunakan air mengalir dan dituangi larutan *lugol* selama 60 detik. Selanjutnya, *lugol* dibilas dengan air mengalir dan sediaan dilunturkan dengan alkohol 70% selama 15 detik. Untuk menghilangkan sisa bahan peluntur yang mungkin masih tertinggal, maka sediaan kembali dibilas dengan air. Kemudian sediaan diwarnai dengan *safranin* (II) selama 60 detik, lalu sediaan dibilas dengan air untuk menghilangkan sisa-sisa zat warna dan dikeringkan. Setelah kering, sediaan diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000X dengan ditutup menggunakan *deck glass* dan diberi minyak emersi (Gunadi *et al.*, 2012: 22). Hasil pewarnaan menunjukkan bahwa biakan bakteri adalah benar *E. faecalis*. Bakteri *E. faecalis* tampak berwarna ungu kebiruan di bawah mikroskop, serta berbentuk ovoid bisa berpasangan dan berderet memanjang seperti rantai.



3.5 Morfologi *E.faecalis* dengan perbesaran 1000X

e. Persiapan Media Kultur

1. Pembuatan Media Cair *Brain Heart Infusion Borth (BHI-B)*

Media BHI-B dibuat dengan mencampur 3,7 gram BHI-B dan aquades steril sebanyak 100 ml kemudian diaduk hingga homogen dan dipanaskan di atas *hotplate* (Neogen, 2010). Campuran tersebut kemudian disterilkan dengan menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit (Hadioetomo, 1993:51). Media BHI-B kemudian di inkubasi selama 24 jam. Media BHI-B yang steril akan tetap berwarna jernih dan tidak muncul kekeruhan setelah diinkubasi.

2. Pembuatan Media *Brain Heart Infusion Agar (BHI-A)*

Pembuatan media BHI-A dilakukan dengan mencampur 10,4 gram BHI-A dan 200 ml aquades steril ke dalam tabung *erlenmeyer*. Campuran tersebut diaduk dan dipanaskan diatas *hotplate* sampai homogen. Media agar tersebut kemudian ditutup kapas dan disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit (Hadioetomo, 1993:51). Media BHI-A kemudian diinkubasi selama 24 jam untuk uji sterilisasi. Media BHI-A yang steril akan tetap jernih.

f. Persiapan Suspensi Bakteri

Suspensi *E. faecalis* dibuat dengan cara menambahkan 1 ose isolat *E. faecalis* ke dalam tabung reaksi yang berisi media cair BHI-B sebanyak 2 ml. Kemudian tabung reaksi tersebut ditutup dengan kapas lalu dimasukkan ke dalam *desicator* dan

diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam (Rahim dan Khan, 2006). Pertumbuhan *E. faecalis* ditandai dengan adanya kekeruhan pada media. Setelah 24 jam, suspensi *E. faecalis* dalam tabung reaksi divibrasi dengan menggunakan vortex dan diukur absorbansinya dengan standar Mc Farland 0,5 dengan absorbansi 0,05 dan panjang gelombang 560 nm dengan menggunakan densicheck (Nwadinigwe dan Onyeidu, 2012).

g. Pemberian Kode Label pada *Petridish*

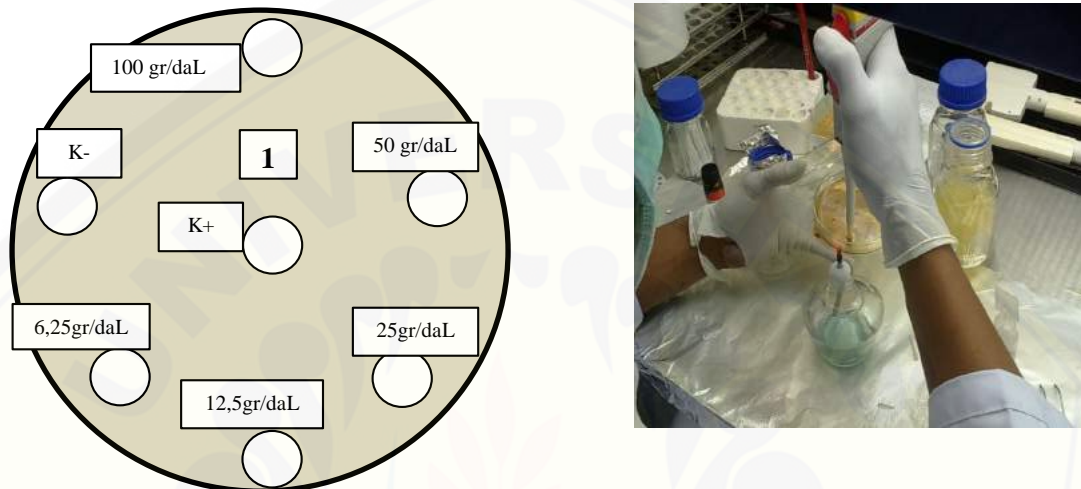
Pemberian kode label pada 8 *petridish* yang steril dilakukan dalam *laminar flow* untuk mencegah kontaminasi dengan lingkungan luar. Untuk membedakan 8 *petridish*, maka pada bagian tengah masing-masing *petridish* diberi kode label nomor urut *petridish* dari 1 sampai 8. Pada bagian bawah masing-masing *petridish*, diberi keterangan label yang terdiri dari 7 macam, yakni kode K- untuk kontrol negatif (aquades steril), K+ untuk kontrol positif (ChKM), 100 gr/daL untuk ekstrak daun jarak pagar dengan konsentrasi 100 gr/daL, 50 gr/daL untuk ekstrak dengan konsentrasi 50 gr/daL, 25gr/daL untuk ekstrak dengan konsentrasi 25gr/daL, 12,5 gr/daL untuk ekstrak dengan konsentrasi 12 gr/daL dan 6,25 gr/daL untuk ekstrak dengan konsentrasi 6,25 gr/daL.

h. Inokulasi Suspensi *E. faecalis* pada Media BHI-A

Ketika media BHI-A sudah hangat, kemudian dituang ke dalam 8 *petridish* steril masing-masing sebanyak 25 ml dengan ketebalan 6 mm dan ditunggu sampai padat. Kemudian 0,5 ml suspensi *E. faecalis* diinokulasikan diatas media BHI-A padat diratakan dengan gigaskrin agar suspensi dalam media menyebar secara merata (Mounyr Balouiri *et al.*, 2015: 71-79)

i. Pembuatan Lubang Sumuran

Pembuatan 7 lubang sumuran dilakukan ketika media yang sudah diinokulasi *E. faecalis* memadat, pembuatan lubang sumuran dilakukan dengan menggunakan *borer* yang terbuat dari *stainless steel* dan berdiameter 5 mm.



Gambar 3.6 (a) Lubang sumuran berjumlah 7; (b) Pembuatan lubang sumuran dengan menggunakan *borer*

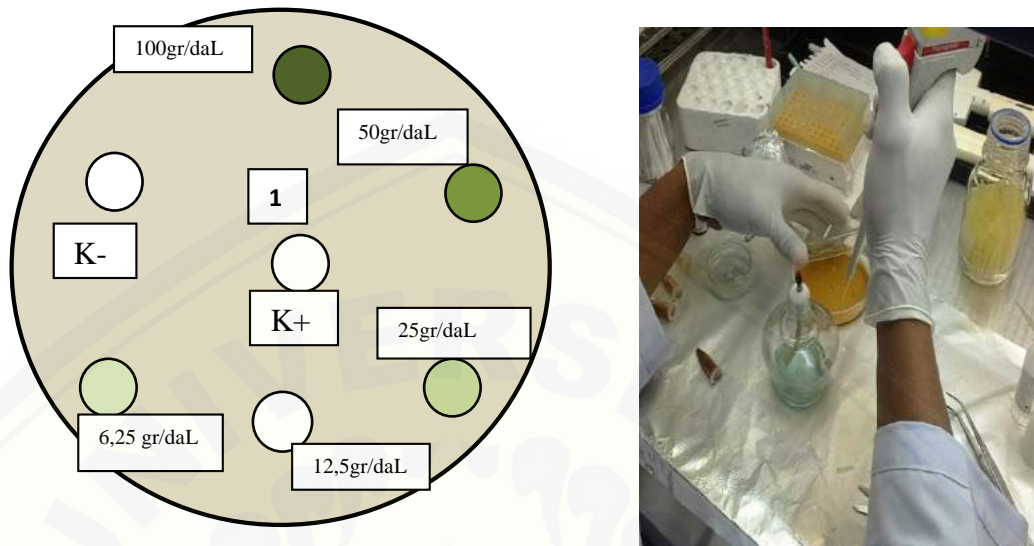
3.8.2 Tahap Perlakuan

Metode pengujian daya hambat yang digunakan adalah metode difusi sumuran. Semua perlakuan dilakukan di dalam *laminar flow* untuk menghindari kontaminasi. Setelah pembuatan 7 lubang sumuran pada 8 *petridish* selesai, dilanjutkan dengan pemberian ekstrak daun jarak pagar 6,25 gr/daL, 12,5 gr/daL, 25 gr/daL, 50 gr/daL, 100 gr/daL, kontrol positif, dan kontrol negatif pada masing-masing sumuran menggunakan mikropipet yang diberi tip. Tip ini selalu diganti setiap pergantian sampel.

1. Sumuran dengan keterangan label 100 gr/daL diisi dengan ekstrak daun jarak pagar konsentrasi 100 gr/daL sebanyak 20 μ L menggunakan mikropipet dengan tip nomor 1. Hal yang sama dilakukan pada *petridish* no 2 hingga nomor 8 menggunakan tip 1.

2. Sumuran dengan keterangan label 50 gr/daL diisi dengan ekstrak daun jarak pagar konsentrasi 50 gr/daL sebanyak 20 μ L menggunakan mikropipet dengan tip nomor 2. Hal yang sama dilakukan pada *petridish* no 2 hingga nomor 8 menggunakan tip 2.
3. Sumuran dengan keterangan label 25 gr/daL diisi dengan ekstrak daun jarak pagar konsentrasi 25 gr/daL sebanyak 20 μ L menggunakan mikropipet dengan tip nomor 3. Hal yang sama dilakukan pada *petridish* no 2 hingga nomor 8 menggunakan tip 3.
4. Sumuran dengan keterangan label 12,5 gr/daL diisi dengan ekstrak daun jarak pagar konsentrasi 12,5 gr/daL sebanyak 20 μ L menggunakan mikropipet dengan tip nomor 4. Hal yang sama dilakukan pada *petridish* no 2 hingga nomor 8 menggunakan tip 4.
5. Sumuran dengan keterangan label 6,25 gr/daL diisi dengan ekstrak daun jarak pagar konsentrasi 6,25 gr/daL sebanyak 20 μ L menggunakan mikropipet dengan tip nomor 4. Hal yang sama dilakukan pada *petridish* no 2 hingga nomor 8 menggunakan tip 4.
6. Sumuran dengan keterangan label K+ diisi dengan ChKM sebanyak 20 μ L menggunakan mikropipet dengan tip nomor 5. Hal yang sama dilakukan pada *petridish* no 2 hingga nomor 8 menggunakan tip 5.
7. Sumuran dengan keterangan label K- diisi dengan aquades steril sebanyak 20 μ L menggunakan mikropipet dengan tip nomor 6. Hal yang sama dilakukan pada *petridish* no 2 hingga nomor 8 menggunakan tip 6.

Delapan *petridish* yang telah diberi perlakuan dimasukkan ke dalam *anaerobic jar* lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

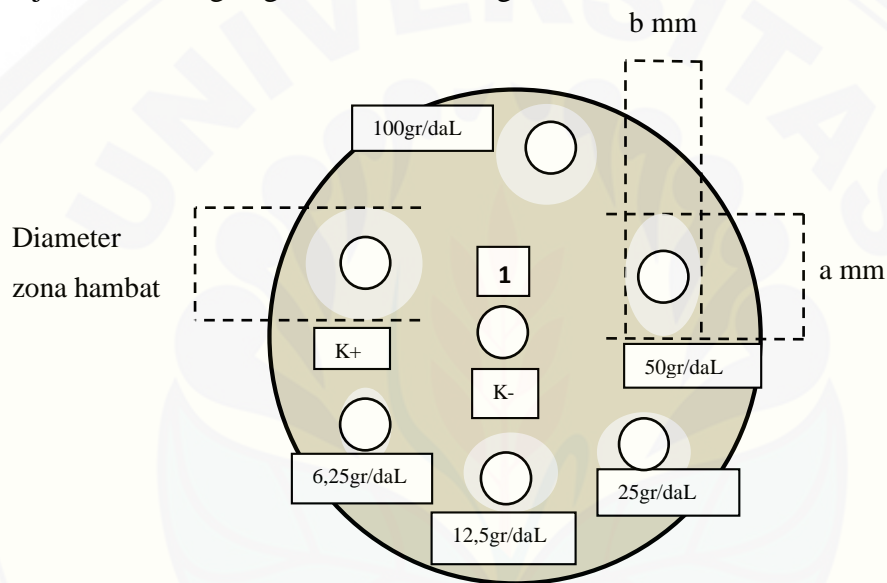


Gambar 3.7 (a) Pemberian kelompok ekstrak daun jarak pagar dan kelompok kontrol pada masing-masing lubang sumuran;
 (b) Pengisian lubang sumuran dengan menggunakan mikropipet dan tip

3.8.3 Tahap Pengukuran Diameter Zona Hambat

Setelah dilakukan inkubasi selama 24 jam, *petridish* dikeluarkan dari desikator dan akan terlihat zona hambat yang ditunjukkan dengan daerah yang terlihat jernih disekitar lubang sumuran. Kemudian dilakukan pengukuran diameter zona hambat di sekitar lubang sumuran pada masing-masing kelompok penelitian dengan menggunakan jangka sorong digital. Pengukuran diameter zona hambat pada *petridish* dilakukan pada posisi terbalik (Alcarno, 1983:168). Diameter zona hambat diukur dari tepi (*break point*) ke tepi (*break point*) zona hambat yang melewati pusat lubang sumuran. Jika tidak terdapat zona hambat di sekitar lubang sumuran, maka dapat dikatakan bahwa nilai diameter zona hambat sebesar 5,00 mm. Jika terdapat zona hambat yang saling tumpang tindih antar kelompok penelitian, maka zona hambat diukur dari pusat lubang sumuran ke tepi zona hambat sehingga didapatkan jari-jari zona hambat, kemudian pengukuran dikalikan dua untuk menentukan diameter zona

hambat (Hudzicki, 2009). Jika terdapat zona hambat yang berbentuk lonjong, maka pengukuran dilakukan pada diameter yang panjang (misalnya a mm) dan diameter yang pendek (misalnya b mm), kemudian keduanya dijumlah dan dibagi dua. Jadi diameter zona hambat $x = \frac{(a+b)}{2}$ (Wulandari, 2003:127). Pengukuran dilakukan sebanyak 3 kali oleh orang yang berbeda dan diambil rata-rata (Hardman, 2001:102). Tiga orang yang melakukan pengukuran, sebelumnya dilakukan penyamaan persepsi dan diberi penjelasan tentang bagaimana cara mengukur zona hambat

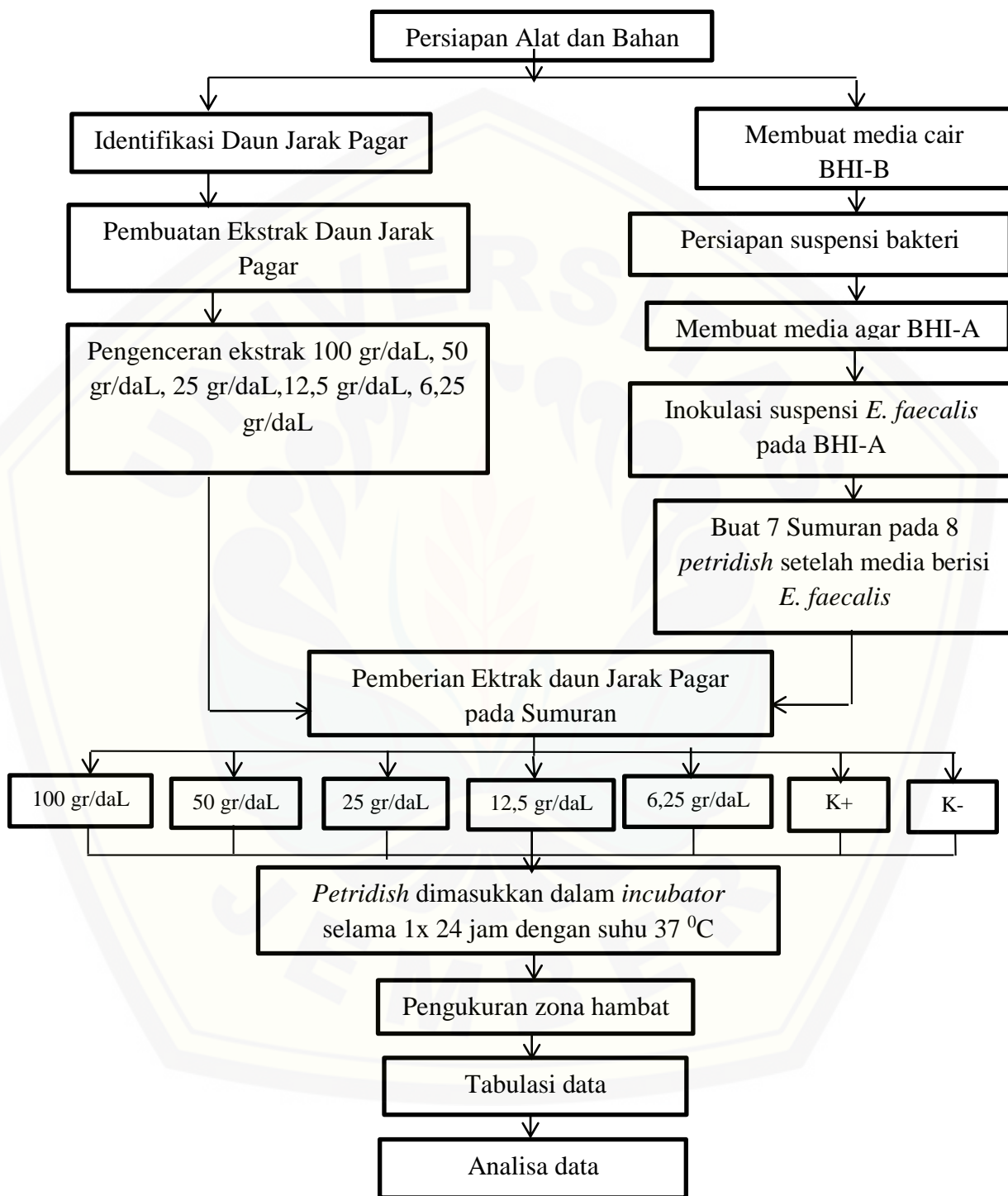


Gambar 3.8 Pengukuran zona hambat menggunakan jangka sorong

3.9 Analisis Data

Setelah data terkumpul dan disusun dalam bentuk tabel, selanjutnya dilakukan analisa data menggunakan program SPSS. Data yang diperoleh dilakukan uji normalitas menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov* dan uji homogenitas menggunakan *Levene Test*. Jika pada kedua uji tersebut menunjukkan data terdistribusi normal dan homogen ($p > 0,05$), maka dilanjutkan dengan uji statistik parametrik, yaitu *One Way ANOVA* dan dilakukan uji lanjut dengan *LSD (Least Significant Differences)*. Apabila data tidak terdistribusi normal dan/atau tidak homogen ($p < 0,05$), maka dilanjutkan dengan uji statistik nonparametrik, yaitu *Kruskal-Wallis* yang dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui apakah ada perbedaan yang bermakna antar kelompok penelitian.

3.10 Alur Penelitian



Gambar 3.9 Diagram alur penelitian

BAB. 5 KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan :

- a. Ekstrak etanol daun jarak pagar mempunyai daya hambat terhadap pertumbuhan *E. faecalis*.
- b. Konsentrasi 6,25 gr/daL ekstrak etanol daun jarak pagar yang terkecil dalam penelitian ini masih dapat menghambat pertumbuhan *E. faecalis*, tetapi konsentrasi dengan pengenceran bertingkat ke bawah (3,125 gr/daL, 1,563 gr/daL dan seterusnya) belum diketahui apakah masih dapat menghambat atau tidak.

5.2 Saran

- a. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai daya antibakteri ekstrak daun jarak pagar menggunakan metode ekstraksi berbeda yang lebih spesifik.
- b. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dari ekstrak daun jarak pagar dengan konsentrasi bertingkat kebawah (3,125 gr/daL, 1,563 gr/daL dan seterusnya).
- c. Perlu adanya uji biokompatibilitas daun jarak pagar terhadap jaringan rongga mulut sebelum diaplikasikan sebagai alternatif bahan sterilisasi saluran akar.
- d. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengetahui pengaruh ekstrak daun jarak pagar terhadap mikroflora patogen lain dalam rongga mulut.
- e. Perlunya sosialisasi pada masyarakat mengenai tanaman jarak pagar, terutama daun beserta manfaatnya dalam kesehatan gigi dan mulut.

DAFTAR PUSTAKA

- Ajizah, A. 2004. Sensitivitas *Salmonella Typhimurium* Terhadap Ekstrak Daun Psidium Guajava L. *Bioscientiae Journal*. 1(1) : 31-38
- Alcamo, I. J. 1983. *Laboratory Fundamental of Microbiology*. Farmingdale: Addison-Wesley Publishing.
- Athanassiadis B., Abbott PV., dan Walsh LJ. 2007. The use of calcium hydroxide, antibiotics and biocides as antimicrobial medicaments in endodontics. *Australian Dent Journal* . 52: 64-82.
- Alinis, A. A. 2011. ChKM (Chlorphenol Kamfer Menthol). <http://anisadealinis.blogspot.com/2011/11/chkm-chlorphenol-kamfer-menthol.html>. [Diakses pada 16 Agustus 2016].
- Baker NE, Liewehr FR, Buxton TB, dan Joyce AP. 2004. Antibacterial efficiency of calcium hydroxide, iodine potassium iodide, betadine, and betadine scrub with and without surfactant against *E. faecalis* in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 98: 359-364.
- Brooks, G. F., Butel, J. S., dan Morse, S. A. 2007. *Mikrobiologi Kedokteran Jawetz, Melnick, and Adelberg*. 23th ed. Jakarta: EGC.
- Chang, Raymond. 2005. *Kimia Dasar Konsep Konsep Inti*. Jakarta : Erlangga.
- Choiroh, N. 2006. Perbedaan rebusan daun sirih (*Piper Betle Linn*) dengan sodium hipoklorit sebagai bahan irigasi saluran akar dalam menghambat pertumbuhan *Streptococcus viridans*. *Skripsi*. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
- Cushnie, T. P. dan Lamb, A. J., 2005, Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 26: 343–356.
- Cowan, M. M. 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin. Microbiol. Review Journal*. 12 (4): 564-582.
- Dwi S ., Ovi Y., dan Sri W. 2009. Kajian Aktivitas Antioksidan dan Antimikroba Ekstrak Biji, Kulit Buah, Batang dan Daun Tanaman Jarak Pagar (*Jatropha curcas L.*). *Skripsi*. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor.

- Davidson, K., E. C. Robets, A. M. Wilson, dan E. Mitchell. 2005. The role of prey nutritional status in governing protozoan nitrogen regeneration efficiency. *Jurnal Protist.* 156: 45-62
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Materia Medika Indonesia.* Jilid VI. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. 1986. *Sediaan Galenik.* Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat.* Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Distel JW, Hatton JF, dan Gillerspie MJ. 2002. Biofilm formation in medicated root canals. *Journal Endodontic.* 28: 689-93.
- Ema Sarimole., Martanto Martosupono., Haryono Semangun., dan Jubhar C. Mangimbulude. 2014. Manfaat Jarak Pagar (*Jatropha Curcas L*) Sebagai Obat Tradisional. *Prosiding Seminar Nasional Raja Apat.* 12-13 Agustus 2014. Program Studi Magister Biologi Universitas Kristen Satya Wacana. B9- B11
- Evan M, Davies JK, Sundqvist G, dan Fidgor D. 2002. Mechanism Involved in the Resistance of *Enterococcus faecalis* to Calcium Hydroxide. *International Journal.* 35: 221-228.
- Fisher K, Phillips C. 2009. *The ecology, epidemiology and virulence of Enterococcus.* Microbiology 155: 1749–1757.
- Ganiswarna, S. G. 1995. *Farmakologi dan Terapi.* Edisi ke 4. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Goldberg, G. 2003. *Plants : Diet and Health.* I Owa State Press. Blackwell Publishing Company. USA: 2121 State Avenue .
- Gunadi, Praharani, Fatmawati, Wulandari, Lestari, dan Ernawati. 2012. *Buku Petunjuk Praktikum Mikrobiologi.* Jember: Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Hadioetomo, R. S. 1993. *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek.* Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Harborne, J. B. 1987. *Metode Fitokimia.* Bandung: Institut Teknologi Bandung.

- Hardman, J. G. 2001. *Goodman and Gillman's The Pharmacological Basic of Therapeutics*. 10th Edition. USA: The Mc Graw-Hill Companies, inc.
- Hariyadi. 2006. *Budidaya Tanaman Jarak Pagar (Jatropha curcas L.) sebagai Sumber Bahan Alternatif Biofuel*. Dikutip dari <http://www.ristek.go.id>
- Harmita dan Radji, M. 2008. *Buku Ajar Analisis Hayati*. Jakarta: EGC.
- Harty, F. J. 2004. *Endodontik klinis (terj)*. Edisi 3. Jakarta : Penerbit Hipokrates
- Heinrich, Michael., Barnes, Joanne., Gibbons, Simon., Williamso, Elizabeth M. 2004. *Fundamental of Pharmacognosy and Phytotherapi*. Amsterdam: Elsevier.
- Hope, C. K., Garton, S. G., Wang, Q., Burnside, G., dan Farrelly, P. J. 2010. A Direct Comparison Between Extracted Tooth and Filter-Membrane Biofilm Models of Endodontic Irrigation Using *Enterococcus faecalis*. *Arch Microbiol Journal*. 192 : 775- 781.
- Hudzicki, J. 2009. Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol. [serialonline]<http://www.microbelibrary.org/component/resource/laboratorytest/3189-kirby-bauer-disk-diffusion-susceptibility-test-protocol>. [Diakses pada 15April2016]
- Irmaleny. 2010. Pengembangan *Jatropha curcas L.* Menuju Obat Herbal Terstandar serta Pengaruhnya Terhadap Ekspresi Substance P (SP) dan COX-2 pada Hewan Coba (In Vivo). *Disertasi*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia.
- Isabela N R., Jose FS., dan Katia RNS. 2004. Association of *Enterococcus faecalis* with different forms of periradicular diseases. *Journals Endodontic*. 30 (5): 315 -320.
- Johnson, I. T. 2001. *Antioxidant and Antitumour Properties*. Cambridge: CRC Press.
- Karou, D., Savadogo, A., Canini, A., Yameogo, S., Montesano, C., Simpoire, J., Colizzi, V., dan Traore, A. S., 2005, Antibacterial activity of alkaloids from *Sida acuta*. *African Journal of Biotechnology*. 4 (12) :1452-1457 .
- Kayaoglu G., Ørstavik D. 2004. Virulence factors of *Enterococcus faecalis*: Relationship of endodontic disease. *Crit Rev Oral Biol Med Journal*. 15(5): 308-320.

- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2009. *Farmakope Herbal Indonesia*. Edisi Pertama. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Khasanah, I. 2014. Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura L.*) sebagai Antibakteri Terhadap *Streptococcus agalictiae* Penyebab Mastitis Subklinis Pada Sapi Perah. *Skripsi*. Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya. Malang
- Komala VV, Ratnavathi CV , Vijay Kumar BS dan Das IK . 2012. Inhibition of aflatoxin B1 production by an antifungal component, eugenol in stored sorghum grains. *Food Control Journals*. 26: 139-146.
- Kundabala M dan Suchitra U. 2002. *Enterococcus faecalis*: An endodontic pathogen. *Journal Endodontic* . 11-3.
- Lamothe., Mitchell., Gattuso., Diarra., Malouin., dan Bouarab. 2009. Plant Antimicrobial Agents and Their Effects on Plant and Human Pathogens. *Journal International Mol. Sci*. 10: 3400-3419.
- Lins, R. X., Andrade, A. D. O., Junior, R. H., Wilson, M. J., Lewis, M. A. O., Williams, D. W., dan Fidel, R. A. S. 2013. Antimicrobial Resistance and Virulence Traits of *Enterococcus faecalis* from Primary Endodontic Infections. *Journal of Dentistry*. 41 : 779-786.
- Lleo MM. 2001. Resuscitation rate in different enterococcal species in the viable but non culture state. *Journal Appl Microbiol*. 91: 1095-102.
- Luis M, Marie T dan Pezzlo. 2004. *Color Atlas of Medical Bacteriology*. Washington DC: American Society for Microbiology Press.
- Masduki. (1996). *Efek Antibakteri Ekstrak Biji Pinang (Areca catechu) terhadap S. aureus dan E. coli*. Jakarta: Penerbit Cermin Dunia Kedokteran. 21-24.
- Meskin, M. S., W. R. Bidlack, A. J. Davies., dan S. T. Omaye. 2002. *Phytochemicals in Nutrition and Health*. New York: CRC Press.
- Mounyr Balouiri, Moulay Sadiki, dan Saad Koraichi. 2015. Methods of in vitro evaluating antimicrobial activity. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. (6) 71-79.
- Nadhilla, Nyimas Farisa. 2014. The Activity of Antibacterial Agent of Honey Against *Staphylococcus aureus*. *Journal Majority*. 3: 94-101.
- Naidu, A. S. 2000. *Natural Food Antimicrobial System*. USA: CRC Press.

- NCBI. 2003. *Enterococcus faecalis*. [serial online] <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browse/wwwtax.cgi?id=226185>[Diakses pada 3 maret 2016]
- Neogen. 2010. *Brain Heart Infusion Broth*. [serial online] http://www.neogen.com/Acumedia/pdf/ProdInfo/7116_PI.pdf. [Diakses pada 14 Maret 2016].
- Nurcholis Muhammad dan Sri Sumarsih. 2011. *Jarak Pagar dan Pembuatan Biodisel*. Edisi 5. Yogyakarta: Kaninus.
- Nuria, Mulita C. 2009. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas L.*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *Salmonella typhi* ATCC 1408. *Media Agro Jurnal*. 5(2): 26-37.
- Nurliyana, R dan Syed Zahir, I. 2010. Mustapha Suleiman K.; Aisyah M.R. dan Kamarul Rahim, K. Antioxidant Study of Pulp and Peel of Dragon Fruits: A Comparative Study. *International Food Research Journal* 17: 367-375.
- Nurmillah O.Y. Kajian Aktivitas Antioksidan dan Antimikroba Ekstrak Biji, Kulit Buah , Batang dan Daun Tanaman Jarak Pagar (*Jatropha curcas L.*). 2009. *Skripsi*. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor.
- Nwadinigwe, A. O. dan Onyeidu, E. G. 2012. Bioremediation of Crude Oil-Polluted Soil Using Bacteria and Poultry Manure Monitors Through Soybean Productivity. *Pol. Journal Environ. Stud.* 21 (1):171-176.
- Nwokocha,A., Blessing,I.O., Agbagwa, dan Okoli,B.E., 2011. Comparative Phytochemical Screening of *Jatropha L.* Species in the Niger Delta. *Research Journal of Phytochemistry*.
- Omizadeh, Alireza, Yusof, R.M., Roohinejad, S., Ismail, A., Bakar, M.Z.A dan Bekhit, E.A. 2014. Anti-diabetic Activity of Red Pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) Fruit. *The Royal Society of Chemistry Journal*. November 2014: 62978-62986.
- Onaolapo, 2007. Manfaat Tanaman Jarak Pagar.[serial online] <http://www.jarakpagarsumba.com/p/manfaat-tanaman-pagar.html>. [Diakses pada 7 Agustus 2016]
- Parasuraman V, Bankers SM. 3 MIX MP In Endodontics-An Overview. *IOSR of Dental and Medical Science Journal*. (3) 1 : 36-43.

- Portenier I, Waltimo T M dan Haapsalo M. .2003. *Enterococcus faecalis*- the root canal survival and star in post treatment disease. *Endodontic Topics Journals*. 6: 135-59.
- Raaman, N. 2006. *Phytochemical Techniques*. New Delhi: New India Publishig Agency.
- Rahardjo, S. 2010. Pengaruh Hemodialisis Terhadap Kadar TNF- dan Prokalsitonin Pada Pasien Nefropati Diabetik Stadium V. *Tesis*. Surakarta: Program Pendidikan Dokter Spesialis I Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Negeri Surakarta.
- Rollins DM, Joseph SW. BSCI 424 - Pathogenic Microbiology – *Enterococcus* Summary. (23 Agt 2009).
- Saifudin, A., Rahayu, V., dan Teruna, H.Y. 2011. *Standarisasi Bahan Obat Alam*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Sharma, A.K., Gangwar, M., Tilak, R., Nath, G., Sinha, A.S.K., Tripathi, Y.B. dan Kumar, D. 2012. Comparative in vitro antimicrobial and phytochemical evaluation of methanolic extract of root, stem and leaf of *Jatropha curcas L*. *Journal of Pharmacognosy*. 4(30): 34-4.
- Signoretto C., Lleo MM, dan Tafi MC,*et al*. 2000. Cell wall chemical composition of *Enterococcus faecalis* in the viable but nonculturable state. *Journal Environment Microbiology*. 66
- Steel, R.G.D. dan Torrie, J. H. 1995 *Prinsip dan Prosedur Statistika Suatu Pendekatan Biometrik*. Edisi Kedua. Jakarta: Gramedia Pustaka.
- Suchitra U dan Kunbdabala M. 2006. *Enterococcus faecalis*: An Endodontic pathogen. *Med IND Journals*.11-13
- Sundqvist G dan Fidgor D. 2003. Life as an endodontic pathogen: ecological difference between untreated and filled root canal. *Endodontic Topics Journal*. 6: 3-28.
- Sumardjo, Damin. 2009. *Pengantar Kimia: Buku Panduan Kuliah Mahasiswa Kedokteran dan Program Strata I Fakultas Bioeksakta*. Jakarta: EGC.
- Syah, A. 2006. *Biodiesel Jarak Pagar: alternatif yang ramah lingkungan*. Jakarta: Agro Media Pustaka.

- Tronstad, L. 2009. *Clinical Endodontics : a Textbook*. 3rd rev ed. Stuttgart: George Thieme Verlag.
- Valgas, Cleidson. 2007. Screening Methods to Determine Antibacterial Activity of Natural Products. *Brazilian Journal of Microbiology*. 38: 369-380.
- Walton, R. E., dan Torabinejad, M . 2008. *Prinsip & Praktik Ilmu Endodonsia*. Ed 3 (Terj). Jakarta: EGC . 267; 324; 528.
- Wijayakusuma, H., Dalimartha S., dan Wirian A.S. 1993. *Tanaman Obat di Indonesia*. Jilid 2. Jakarta: Pustaka Kartini.
- Wulandari, E. 2003. Daya Antibakteri Sodium Hipoklorit dan Buah Nanas (*Ananas Comosus*) terhadap *Streptococcus viridans*. *Journal ID*. 4 (2):125-129.
- Zablotowicz, R. M., R. E. Hoagland., dan S. C. Wagner. 1996. *Effect of Saponin on The Growth and activity of Rizosphere Bacteria*. USA: CRC Press.
- Zeuthen, P. dan L. B. Sorensen. 2003. *Food Preservation Techniques*. Cambridge: CRC Press.

LAMPIRAN

A. Perhitungan Jumlah Sampel Penelitian

Jumlah sampel didapat dengan perhitungan rumus dari Steel dan Torrie (1995:145), yakni :

$$n = \frac{(z\alpha + z\beta) \sigma\rho^2}{\delta^2}$$

Keterangan :

n : Besar sampel minimal

z_α : Batas atas nilai konversi pada tabel distribusi normal untuk batas atas kemaknaan (1,96)

z_β : Batas bawah nilai konversi pada tabel distribusi normal untuk batas bawah kemaknaan (0,85)

$\sigma\rho^2$: Diasumsikan $\sigma\rho^2 = \delta^2$

Perhitungan :

$$n = \frac{(z\alpha + z\beta) \sigma\rho^2}{\delta^2}$$

$$n = \frac{(1,96 + 0,85) \sigma\rho^2}{\delta^2} = 7,8961 \approx 8$$

Dari hasil penghitungan tersebut, jumlah sampel dalam penelitian ini sebanyak 8 untuk setiap kelompok perlakuan

B. Perhitungan Rendemen Ekstrak

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{\text{berat ekstrak (gr)}}{\text{berat simplisia (gr)}} \times 100\% \\ &= \frac{23,14 \text{ gr}}{205,01 \text{ gr}} \times 100\% \\ &= 11,28 \% \text{ (b/b)} \end{aligned}$$

Jadi hasil rendemen ekstrak daun jarak pagar sebesar 11,28 % (b/b) (Ditjen POM, 2000:10).

C. Rumus Pengenceran Kelompok 100 gr/daL, 50 gr/daL, 25 gr/daL, 12,5 gr/daL, 6,25 gr/daL

Pengenceran ekstrak daun jarak pagar menggunakan rumus pengenceran adalah sebagai berikut:

$$(b/v) = \frac{gr}{100ml \text{ zat pelarut}}$$

Keterangan :

gr : berat ekstrak daun jarak yang diambil

100 ml zat pelarut : zat pelarut yang dibutuhkan pada tiap konsentrasi
(aquades)

D. Analisa Data

D.1 Hasil Uji Normalitas Menggunakan Uji *Kolmogorov-Smirnov*

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Ekstrak 100 gr/daL	Ekstrak 50 gr/daL	Ekstrak 25 gr/daL	Ekstrak 12,5 gr/daL	Ekstrak 6,25 gr/daL	Kontrol+ (ChKM)	Kontrol - (Aquadest steril)
N		8	8	8	8	8	8	8
Normal Parameters ^a	Mean	12,6125	10,2162	9,1175	7,4738	5,7512	16,4125	5,00
	Std. Deviation	,16977	,09257	,09852	,33321	,31827	,18668	,000 ^c
Most Extreme Differences	Absolute	.231	.193	.174	.209	.253	.218	
	Positive	.148	.193	.159	.209	.253	.168	
	Negative	-.231	-.147	-.174	-.133	-.161	-.218	
Kolmogorov-Smirnov Z		.654	.547	.492	.592	.716	.616	
Asymp. Sig. (2-tailed)		.785	.926	.969	.875	.684	.843	

a. Test distribution is Normal.

c. The distribution has no variance for this variable. One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test cannot be performed.

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Zona Hambat Ekstrak Daun Jarak Pagar
N		56
Normal Parameters ^a	Mean	9,5120
	Std. Deviation	3,75223
Most Extreme Differences	Absolute	.125
	Positive	.125
	Negative	-.115
Kolmogorov-Smirnov Z		.935
Asymp. Sig. (2-tailed)		.347

a. Test distribution is Normal.

D.2 Hasil Uji Homogenitas Menggunakan *Levene Test***Test of Homogeneity of Variances**

Zona Hambat Ekstrak Daun Jarak Pagar

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
5.402	6	49	.000

D.3 Hasil Uji Beda Non-Parametrik Menggunakan Uji *Kruskal-Wallis***Ranks**

		Perlakuan	N	Mean Rank
Zona Hambat Ekstrak Daun Jarak Pagar	ekstrak 100 gr/daL		8	44.50
	ekstrak 50 gr/daL		8	36.50
	ekstrak 25 gr/daL		8	28.50
	ekstrak 12,5 gr/daL		8	20.50
	ekstrak 6,25 gr/daL		8	12.50
	kontrol+(ChKM)		8	52.50
	kontrol - (aquades steril)		8	4.50
	Total		56	

Test Statistics^{a,b}

	Zona Hambat Ekstrak Daun Jarak Pagar
Chi-Square	54.054
Df	6
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Perlakuan

D.4 Hasil Uji Beda Antar Kelompok Perlakuan Menggunakan Uji *Mann-Whitney*

D.4.1 Ekstrak Daun Jarak Pagar Kelompok 100 gr/daL: 50 gr/daL

Ranks

Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona Hambat Ekstrak Daun ekstrak 100 gr/daL	8	12.50	100.00
Jarak Pagar ekstrak 50 gr/daL	8	4.50	36.00
Total	16		

Test Statistics^b

	Zona Hambat Ekstrak Daun Jarak Pagar
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	36.000
Z	-3.363
Asymp. Sig. (2-tailed)	.001
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

D.4.2 Ekstrak Daun Jarak Pagar Kelompok 100 gr/daL : 25 gr/daL

Ranks

Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona Hambat Ekstrak Daun ekstrak 100 gr/daL	8	12.50	100.00
Jarak Pagar ekstrak 25 gr/daL	8	4.50	36.00
Total	16		

Test Statistics^b

	Zona Hambat Ekstrak Daun Jarak Pagar
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	36.000
Z	-3.361
Asymp. Sig. (2-tailed)	.001
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

D.4.3 Ekstrak Daun Jarak Pagar Kelompok 100 gr/daL: 12,5 gr/daL

Ranks

Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona Hambat Ekstrak Daun ekstrak 100 gr/daL	8	12.50	100.00
Jarak Pagar Ekstrak12,5 gr/daL	8	4.50	36.00
Total	16		

Test Statistics^b

	Zona Hambat Ekstrak Daun Jarak Pagar
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	36.000
Z	-3.361
Asymp. Sig. (2-tailed)	.001
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

D.4.4 Ekstrak Daun Jarak Pagar Kelompok 100 gr/daL : 6,25 gr/daL

Ranks

Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona Hambat Ekstrak Daun Jarak Pagar ekstrak 100 gr/daL	8	12.50	100.00
ekstrak 6,25 gr/daL	8	4.50	36.00
Total	16		

Test Statistics^b

	Zona Hambat Ekstrak Daun Jarak Pagar
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	36.000
Z	-3.363
Asymp. Sig. (2-tailed)	.001
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

D.4.5 Ekstrak Daun Jarak Pagar Kelompok 100 gr/daL : K+ (ChKM)

Ranks

Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona Hambat Ekstrak Daun Jarak Pagar ekstrak 100 gr/daL	8	4.50	36.00
kontrol+(ChKM)	8	12.50	100.00
Total	16		

Test Statistics^b

	Zona Hambat Ekstrak Daun Jarak Pagar
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	36.000
Z	-3.361
Asymp. Sig. (2-tailed)	.001
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

D.4.6 Ekstrak Daun Jarak Pagar Kelompok 100 gr/daL : Kontrol - (Aquades steril)

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona Hambat Ekstrak Daun Jarak Pagar	ekstrak 100 gr/daL	8	12.50	100.00
	kontrol - (aquades steril)	8	4.50	36.00
	Total	16		

Test Statistics^b

	Zona Hambat Ekstrak Daun Jarak Pagar
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	36.000
Z	-3.590
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

D.4.7 Ekstrak Daun Jarak Pagar Kelompok 50 gr/daL : 25 gr/daL

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona Hambat Ekstrak Daun Jarak Pagar	ekstrak 50 gr/daL	8	12.50	100.00
	ekstrak 25 gr/daL	8	4.50	36.00
	Total	16		

Test Statistics^b

	Zona Hambat Ekstrak Daun Jarak Pagar
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	36.000
Z	-3.363
Asymp. Sig. (2-tailed)	.001
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

D.4.8 Ekstrak Daun Jarak Pagar Kelompok 50 gr/daL : 12,5 gr/daL

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona Hambat Ekstrak Daun Jarak Pagar	ekstrak 50 gr/daL	8	12.50	100.00
	Ekstrak 12,5 gr/daL	8	4.50	36.00
	Total	16		

Test Statistics^b

	Zona Hambat Ekstrak Daun Jarak Pagar
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	36.000
Z	-3.363
Asymp. Sig. (2-tailed)	.001
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

D.4.9 Ekstrak Daun Jarak Pagar Kelompok 50 gr/daL : 6,25 gr/daL

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona Hambat Ekstrak Daun Jarak Pagar	ekstrak 50 gr/daL	8	12.50	100.00
	ekstrak 6,25 gr/daL	8	4.50	36.00
	Total	16		

Test Statistics^b

	Zona Hambat Ekstrak Daun Jarak Pagar
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	36.000
Z	-3.366
Asymp. Sig. (2-tailed)	.001
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

D.4.10 Ekstrak Daun Jarak Pagar Kelompok 50 gr/daL : Kontrol +(ChKM)

Ranks

Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona Hambat Ekstrak Daun Jarak Pagar ekstrak 50 gr/daL	8	4.50	36.00
kontrol+(ChKM)	8	12.50	100.00
Total	16		

Test Statistics^b

	Zona Hambat Ekstrak Daun Jarak Pagar
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	36.000
Z	-3.363
Asymp. Sig. (2-tailed)	.001
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

D.4.11 Ekstrak Daun Jarak Pagar Kelompok 50 gr/daL : K- (Aquades steril)

Ranks

Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona Hambat Ekstrak Daun Jarak Pagar ekstrak 50 gr/daL	8	12.50	100.00
kontrol - (aquades steril)	8	4.50	36.00
Total	16		

Test Statistics^b

	Zona Hambat Ekstrak Daun Jarak Pagar
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	36.000
Z	-3.593
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

D.4.12 Ekstrak Daun Jarak Pagar Kelompok 25 gr/daL : 12,5 gr/daL

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona Hambat Ekstrak Daun Jarak Pagar	ekstrak 25 gr/daL	8	12.50	100.00
	Ekstrak 12,5 gr/daL	8	4.50	36.00
	Total	16		

Test Statistics^b

	Zona Hambat Ekstrak Daun Jarak Pagar
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	36.000
Z	-3.363
Asymp. Sig. (2-tailed)	.001
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

D.4.13 Ekstrak Daun Jarak Pagar Kelompok 25 gr/daL : 6,25 gr/daL

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona Hambat Ekstrak Daun Jarak Pagar	ekstrak 25 gr/daL	8	12.50	100.00
	ekstrak 6,25 gr/daL	8	4.50	36.00
	Total	16		

Test Statistics^b

	Zona Hambat Ekstrak Daun Jarak Pagar
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	36.000
Z	-3.363
Asymp. Sig. (2-tailed)	.001
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

D.4.14 Ekstrak Daun Jarak Pagar Kelompok 25 gr/daL : Kontrol + (ChKM)

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona Hambat Ekstrak Daun Jarak Pagar	ekstrak 25 gr/daL	8	4.50	36.00
	kontrol+(ChKM)	8	12.50	100.00
	Total	16		

Test Statistics^d

	Zona Hambat Ekstrak Daun Jarak Pagar
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	36.000
Z	-3.361
Asymp. Sig. (2-tailed)	.001
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

D.4.15 Ekstrak Daun Jarak Pagar Kelompok 25 gr/daL : Kontrol – (Aquades steril)

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona Hambat Ekstrak Daun Jarak Pagar	ekstrak 25 gr/daL	8	12.50	100.00
	kontrol - (aquades steril)	8	4.50	36.00
	Total	16		

Test Statistics^b

	Zona Hambat Ekstrak Daun Jarak Pagar
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	36.000
Z	-3.590
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

D.4.16 Ekstrak Daun Jarak Pagar Kelompok 12,5 gr/daL : 6,25 gr/daL

Ranks

Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona Hambat Ekstrak Daun Jarak Pagar Ekstrak 12,5 gr/daL	8	12.50	100.00
ekstrak 6,25 gr/daL	8	4.50	36.00
Total	16		

Test Statistics^b

	Zona Hambat Ekstrak Daun Jarak Pagar
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	36.000
Z	-3.363
Asymp. Sig. (2-tailed)	.001
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

D.4.17 Ekstrak Daun Jarak Pagar Kelompok 12,5 gr/daL : Kontrol + (ChKM)

Ranks

Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona Hambat Ekstrak Daun Jarak Pagar Ekstrak 12,5 gr/daL	8	4.50	36.00
kontrol+(ChKM)	8	12.50	100.00
Total	16		

Test Statistics^b

	Zona Hambat Ekstrak Daun Jarak Pagar
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	36.000
Z	-3.361
Asymp. Sig. (2-tailed)	.001
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

D.4.18 Ekstrak Daun Jarak Pagar Kelompok 12,5 gr/daL : Kontrol - (Aquades steril)

Ranks

Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona Hambat Ekstrak Daun Jarak Pagar Ekstrak12,5 gr/daL	8	12.50	100.00
kontrol - (aquades steril)	8	4.50	36.00
Total	16		

Test Statistics^b

	Zona Hambat Ekstrak Daun Jarak Pagar
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	36.000
Z	-3.590
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

D.4.19 Ekstrak Daun Jarak Pagar Kelompok 6,25 gr/daL : Kontrol + (ChKM)

Ranks

Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona Hambat Ekstrak Daun Jarak Pagar ekstrak 6,25 gr/daL	8	4.50	36.00
kontrol+(ChKM)	8	12.50	100.00
Total	16		

Test Statistics^b

	Zona Hambat Ekstrak Daun Jarak Pagar
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	36.000
Z	-3.363
Asymp. Sig. (2-tailed)	.001
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

D.4.20 Ekstrak Daun Jarak Pagar Kelompok 6,25 gr/daL : Kontrol - (Aquades steril)

Ranks				
Perlakuan		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona Hambat Ekstrak Daun Jarak Pagar	ekstrak 6,25 gr/daL	8	12.50	100.00
	kontrol - (aquades steril)	8	4.50	36.00
Total		16		

Test Statistics ^b	
	Zona Hambat Ekstrak Daun Jarak Pagar
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	36.000
Z	-3.593
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

D.4.21 Ekstrak Daun Jarak Pagar Kontrol +(ChKM) : Kontrol - (Aquades steril)

Ranks				
Perlakuan		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona Hambat Ekstrak Daun Jarak Pagar	kontrol+(ChKM)	8	12.50	100.00
	kontrol - (aquades steril)	8	4.50	36.00
Total		16		

Test Statistics ^b	
	Zona Hambat Ekstrak Daun Jarak Pagar
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	36.000
Z	-3.590
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 ^a

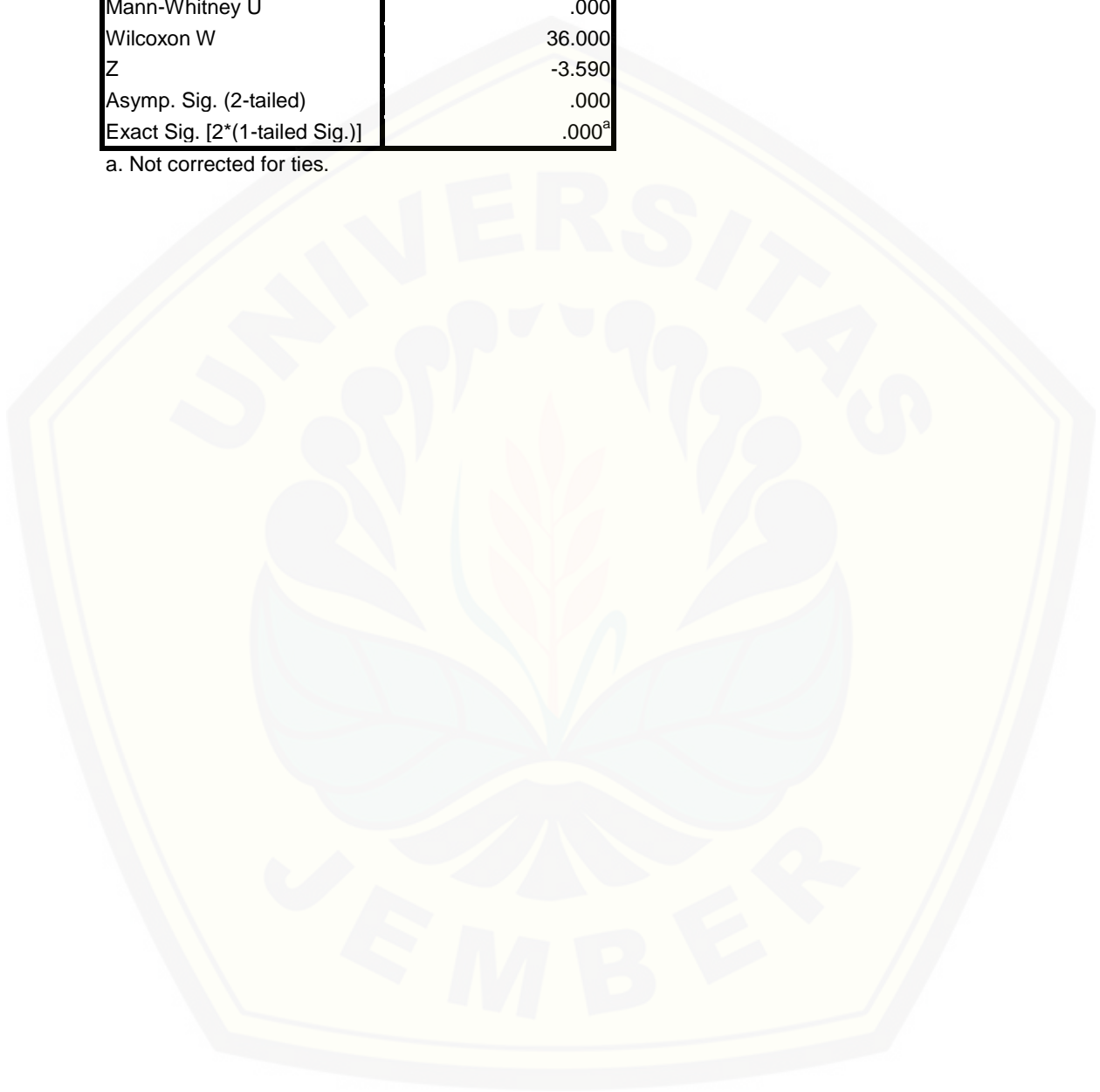
a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

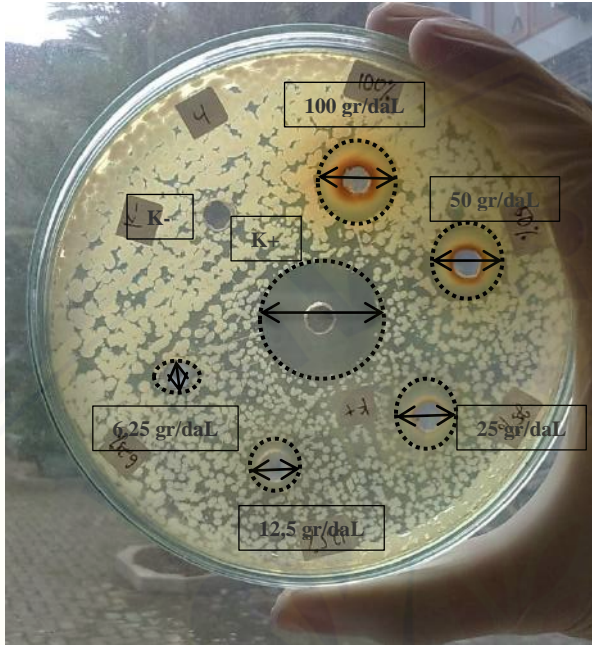
Test Statistics^a

	Zona Hambat Ekstrak Daun Jarak Pagar
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	36.000
Z	-3.590
Asymp. Sig. (2-tailed)	.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.000 ^a

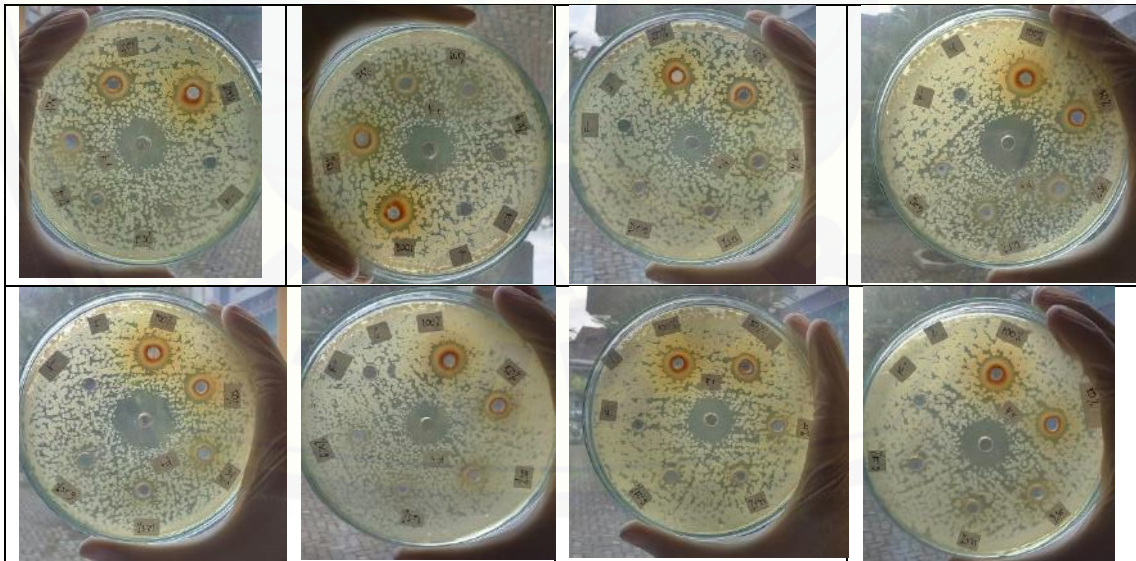
a. Not corrected for ties.



E. Foto Hasil Penelitian



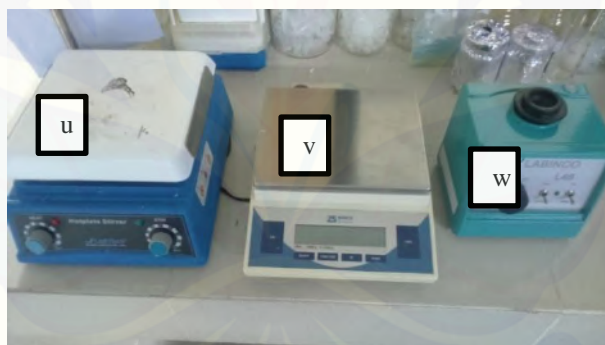
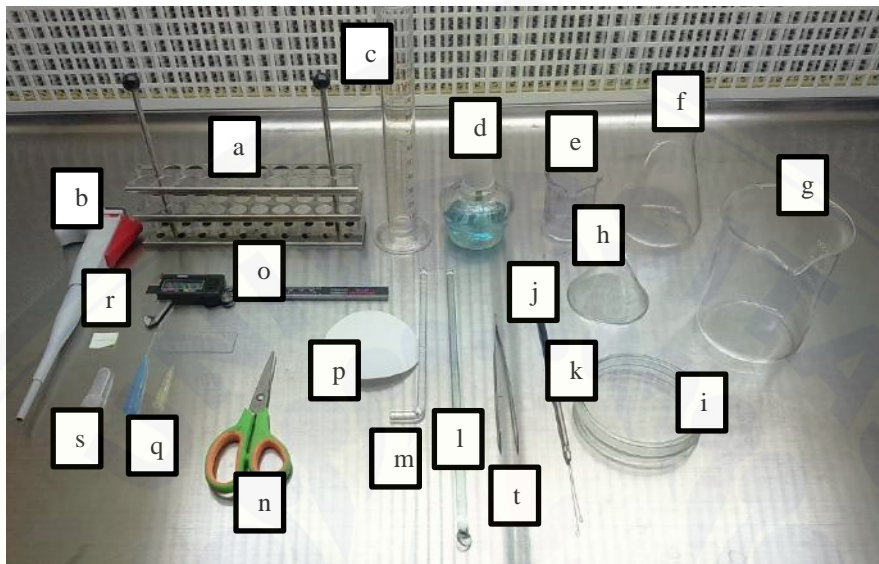
Zona hambat di sekeliling lubang sumuran



Dokumentasi hasil penelitian

F. Foto Alat dan Bahan Penelitian

F.1 Foto Alat Penelitian



Keterangan:

- | | | |
|------------------------------|--------------------------------|----------------------|
| a. Rak tabung reaksi | j. Ose | s. Mikrotube |
| b. Mikropipet | k. Spatula kaca | t. Pinset |
| c. Gelas ukur | l. Gigaskrin | u. Hotplate |
| d. Bunsen | m. Kertas saring | v. Timbangan digital |
| e. Beaker glass | n. Gunting | w. Vortex |
| f. Tabung erlenmeyer | o. Jangka sorong digital | |
| g. Beaker glass ukuran 400ml | p. Object glass dan deck glass | |
| h. Corong kaca | q. Tip | |
| i. Petridish tidak bersekat | r. Label | |



Laminar flow



Autoclave



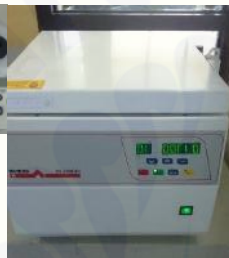
Anaerobic jar



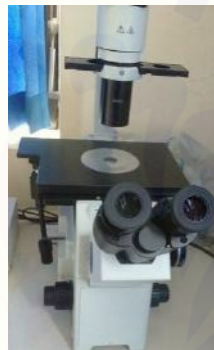
Rotary evaporator



Densitometer



Sentrifuge



Mikroskop



Oven



Incubator



Panel Filter



Wadah stainless steel & Ayakan



Blender

F.2 Foto Bahan Penelitian



Keterangan:

- a. Aquades steril
- b. ChKM
- c. Bakteri *Enterococcus faecalis*
- d. Pewarna Gram
- e. Alkohol
- f. BHI-B
- g. BHI-A
- h. Etanol 96%
- i. Anaero Gen

G. Surat Keterangan

G.1 Surat Hasil Identifikasi Tanaman Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L)



1242

KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
 Jl. Kalimantan 37 Jember Jawa Timur
 Telp 0331-330225

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI

No. 1242/UN25.1.9/TU/2016

Berdasarkan hasil pengamatan pada spesimen tumbuhan yang dikirimkan ke Herbarium Jemberiense, Laboratorium Botani dan Kultur Jaringan, Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Jember oleh :

Nama : Karina Saraswati I
 NIM : 131610101006
 Jur./Fak./PT : Kedokteran Gigi/ Universitas Jember

maka dapat disampaikan hasilnya bahwa spesimen tersebut adalah :
Jatropha curcas L. {Syn. *Curcas adansonii* Endl.; *Jatropha acerifolia* Salisb.; *Manihot curcas* (L.) Crantz.; *Ricinus jarak* Thunb.; Family – Euphorbiaceae; Vernacular name – Jarak pagar (Ind.); Jarak Kosta, Jarak Budeg (Sund.); Jarak Gundul, Jarak Pager (Jav.); Kalekhe paghar (Mad.); Jarak pager (Bal.)}


Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Jember, 9 Mei 2016

Mengetahui,
 Pembantu Dekan I,

 Drs. Achmad Sjaifullah, M.Sc, Ph.D.
 NIP 195910091986021001

a.n Ketua Laboratorium
 Sekretaris Jurusan


 Eva Tyas Utami, S.Si., M.Si.
 NIP. 197306012000032001

G.2 Surat Pembuatan Ekstrak Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas L.*)

KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS FARMASI

Jl. Kalimantan 1/2 Kampus Tegal Boto. Telp./ Fax. (0331) 324736 Jember 68121.

SURAT KETERANGAN PEMBUATAN EKSTRAK

Data Pemohon :

Nama : Karina Saraswati Ichwani
NIM : 131610101006
Fakultas : Kedokteran Gigi Universitas Jember

Bahan : Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas L.*)

Metode ekstraksi : Maserasi

Prosedur : Serbuk simplisia daun jarak pagar sebanyak 205,01 gram dimaserasi dengan etanol 96% sebanyak 7,5 kali berat serbuk selama tiga hari. Maserat dipekatkan dengan *rotary evaporator*.

Hasil : Ekstrak etanol daun jarak pagar daun dengan rendemen 11,28 % (b/b)


Tanggal Pembuatan : 27 Mei 2016

Jember, 03 Juni 2016

Ketua Bagian Biologi Farmasi,

Endah Puspitasari, S.Farm., M.Sc., Apt.
NIP. 198107232006042002


G.3 Surat Hasil Uji Biokimia Bakteri *E. faecalis*


KEMENTERIAN KESEHATAN RI
DIREKTORAT JENDERAL BINA UPAYA KESEHATAN
BALAI BESAR LABORATORIUM KESEHATAN SURABAYA
 Jalan Karangmenjangan No. 18 Surabaya - 60286
 Telepon Pelayanan : (031) 5020306, TU : (031) 5021451 Faksimili : (031) 5020388
 Website : bbksurabaya.com : Surat elektronik : bbksub@yahoo.co.id

Surabaya, 29 Juni 2015

Hasil Uji Biokimia bakteri *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 :

No.	Jenis Uji Biokimia	Hasil
1.	Pengecatan Gram	Gram positif coccus berderet
2.	Haemolisa pada Blood Agar	Non haemolytic
3.	Esculin	Positif (+)
4.	Arginin	Positif (+)
5.	Arabinose	Negatif (-)
6.	Mannitol	Positif (+)
7.	Sorbitol	Positif (+)
8.	Motyl	Negatif (-)


 Kepala Seksi Lab. Klinik dan Uji Kesehatan
 dr. Evelyn Irawan
 Nip 195912061988022001

G.4 Surat Hasil Uji Identifikasi *E. faecalis* dengan Pengecatan Gram

LABORATORIUM MIKROBIOLOGI
BAGIAN BIOMEDIK KEDOKTERAN GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER

SURAT KETERANGAN

No. 0108/MIKRO/S.KET.2016

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

Nama : Karina Saraswati Ichwani

NIM : 131610101006

Fakultas : Kedokteran Gigi

Keperluan : Penelitian Skripsi

Telah melakukan uji identifikasi terhadap isolat *Enterococcus faecalis* ; hasil uji identifikasi dengan pengecatan gram dan mikroskopis menunjukkan bakteri tersebut *Streptococcus*, gram positif dan tidak terkontaminasi.

Jember, 25 Oktober 2016

Mengetahui,

Kepala Bagian Biomedik Kedokteran Gigi

Penanggung Jawab Lab.Mikrobiologi

(Prof. Dr. drg. I. Dewa Ayu Ratna D, M.Si)

NIP.196705021997022001

(drg. Pujiana Endah Lestari, M.Kes)

NIP.197608092005012002