



**EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN PACAR AIR
(*Impatiens balsamina* L.) TERHADAP PERTUMBUHAN
*Aggregatibacter actinomycetemcomitans***

SKRIPSI

Oleh

Arofah Noor Berliana

NIM 141610101075

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2018**



**EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN PACAR AIR
(*Impatiens balsamina* L.) TERHADAP PERTUMBUHAN
*Aggregatibacter actinomycetemcomitans***

SKRIPSI

Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan di Fakultas Kedokteran Gigi (S1) dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran Gigi

Oleh

Arofah Noor Berliana

NIM 141610101075

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2018**

SKRIPSI

**EFEKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN PACAR AIR
(*Impatiens balsamina L.*) TERHADAP PERTUMBUHAN
*Aggregatibacter actinomycetemcomitans***

Oleh:

Arofah Noor Berliana

NIM 141610101075

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama : drg. Peni Pujiastuti, M.Kes

Dosen Pembimbing Pendamping : drg. Berlian Prihatiningrum, M.DSc. Sp. KGA

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2018**

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 Nawawi dan Ibunda Sri Haryati Murdaningrum;
4. Kakakku Sofyan Hamid Kurniatama dan Syamsul Arifin Agusta;
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 : Arofah Noor Berliana

NIM : 141610101075

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Pacar Air (*Impatiens balsamina* L.) terhadap Pertumbuhan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*” adalah benar hasil karya saya sendiri, kecuali kutipan yang saya sebut sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Dengan 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, 16 April 2018

Yang menyatakan,

Arofah Noor Berliana

141610101075

PENGESAHAN

Karya ilmiah skripsi berjudul “Aktivitas Antioksidan Seduhan Bubuk Kopi Robusta (*Coffea canephora*) terhadap Produksi Radikal Superoksida Monosit In Vitro” telah diuji dan disahkan pada :

hari, tanggal : Senin, 16 April 2018

tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Tim Penguji

Penguji Ketua

Penguji Anggota

Drg. Rendra Chriestedy P. MD. Sc
NIP. 198305312008011003

drg. Tantin Ermawati, M.Kes
NIP. 198003222008122000

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping

drg. Peni Pujiastuti, M.Kes
NIP. 196705171996012001

drg. Berlian P., M.DSc., Sp. KGA
NIP. 198402032015042001

Mengesahkan

Dekan,

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

RINGKASAN

Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Pacar Air (*Impatiens balsamina* L.) terhadap Pertumbuhan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*; Arofah Noor Berliana; 141610101075; 2018; 65 halaman; Jurusan Pendidikan Dokter Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Penyakit periodontal merupakan penyakit yang masih membutuhkan perhatian khusus oleh tenaga kesehatan, baik dokter gigi maupun perawat gigi. Salah satu penyakit periodontal adalah periodontitis agresif. Periodontitis agresif merupakan penyakit periodontal destruktif dan berkembang cepat, ditandai dengan kerusakan dari ligamen periodontal dan tulang alveolar, kehilangan gigi, dan respons minim terhadap terapi periodontal. Patogenesis dari penyakit ini disebabkan adanya interaksi antara *host* dan bakteri, dimana bakteri yang paling dominan adalah *A.actinomycetemcomitans*. Terapi yang dapat dilakukan untuk menghambat pertumbuhan bakteri penyebab periodontitis agresif adalah kontrol plak yang dapat dibantu dengan penggunaan obat kumur yang mengandung antimikroba seperti *chlorhexidine*. Namun penggunaan *chlorhexidine* dalam jangka waktu lama dapat menimbulkan efek samping. Oleh karena itu dapat dikembangkan obat kumur dengan bahan dasar tanaman obat yang diyakini mempunyai khasiat antibakteri dengan efek samping minimal, salah satunya adalah pacar air. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya daun pacar air mengandung flavonoid, tanin, saponin, steroid, glikosida, kumarin dan kuinon. Senyawa-senyawa tersebut memiliki kemampuan sebagai antimikroba yang efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri.

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji efektivitas antibakteri ekstrak daun pacar air pertumbuhan *A.actinomycetemcomitans*. 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 8 kelompok penelitian, yaitu ekstrak daun pacar air konsentrasi 6,25% (P6,25), 12,5% (P12,5), 25% (P25), 50% (P50), 75% (P75), 100% (P100),

chlorhexidine 0,2% (kontrol positif), dan aquades steril (kontrol negatif). Bahan penelitian dari masing-masing kelompok tersebut diteteskan masing-masing sebanyak 20 μ L ke paper disc dengan diameter 5 mm pada 8 *petridish* yang berisi media BHI-A yang telah diinokulasi *A.actinomycetemcomitans*. Semua *petridish* tersebut kemudian dimasukkan ke dalam *desicator* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah 24 jam, kemudian dilakukan pengamatan. Data hasil penelitian kemudian ditabulasi dan dianalisis secara statistik.

Hasil uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov* menunjukkan data berdistribusi normal, sedangkan uji homogenitas *Levene test* menunjukkan data tidak homogen sehingga dilanjutkan uji nonparametrik. Uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada seluruh kelompok penelitian. Hasil uji *Mann-Whitney* menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna pada hampir seluruh kelompok penelitian kecuali antara kelompok K+ dengan P25, kelompok P50 dengan P75 dan kelompok P75 dengan P100.

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data yang diperoleh ekstrak daun pacar air mengandung antibakteri yang efektif terhadap pertumbuhan *A.actinomycetemcomitans* dan konsentrasi 100% (P100) merupakan konsentrasi yang paling efektif terhadap pertumbuhan *A.actinomycetemcomitans*.

PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Pacar Air (*Impatiens balsamina* L.) terhadap Pertumbuhan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan tak lepas dari bimbingan, bantuan, serta dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan ucapan terimakasih kepada :

1. Kedua orang tua penulis, Bapak H. Nawawi, S.Kep dan Ibu Hj. Sri Haryati Murdaningrum terimakasih atas untaian doa, kasih sayang, nasehat, serta semangat yang selalu terurai senantiasa menjadikan motivasi.
2. drg. Rahardyan Panaadji, M.Kes., Sp.Pros., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember yang telah memberikan bimbingan, saran, dan meluangkan waktunya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
3. drg. Peni Pujiastuti, M.Kes selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah memberikan bimbingan, saran, dan meluangkan waktunya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
4. drg. Berlian Prihatiningrum, M.DSc., Sp. KGA selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah memberikan bimbingan, saran, dan meluangkan waktunya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
5. drg. Rendra Chriestedy Prasetya MD.Sc selaku Dosen Penguji Utama yang telah memberikan bimbingan, saran, kritik, dan meluangkan waktunya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan
6. drg. Tantin Ermawati, M.Kes selaku Dosen Penguji Pendamping yang telah memberikan bimbingan, saran, kritik, dan meluangkan waktunya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan
7. drg. Hafiedz Maulana, M.Biomed selaku Dosen Pembimbing Akademik yang

selalu memberikan motivasi, perhatian dan membimbing saya dari awal semester hingga terselesaikannya skripsi ini;

8. Seluruh dosen Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember yang mendidik dan memberikan bekal ilmu kepada penulis;
9. Teknisi laboratorium Bioscience dan Laboratorium Mikrobiologi Universitas Jember yang telah membantu dalam proses penelitian;
10. Teman-teman yang membantu terlaksananya penelitian ini Nadiya, Firdiana, Puti, Maqdisi, Anisa N.H., Aini, Lintang, Sandy, Umil, Dhila, dan Paramita yang selalu menemani saat skripsi berlangsung;
11. Sahabat-sahabat 67-77 Iga, Yuniko, Bimbi, Firdiana, Maqdisi, Nadiya, Egi, Luli, Puti dan Calvin terimakasih atas segala dukungan dan motivasi sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
12. Sahabat KKN UMD 89 yang selalu memberi motivasi dan dukungan;
13. Seluruh pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis berharap, semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi kita semua.

DAFTAR ISI

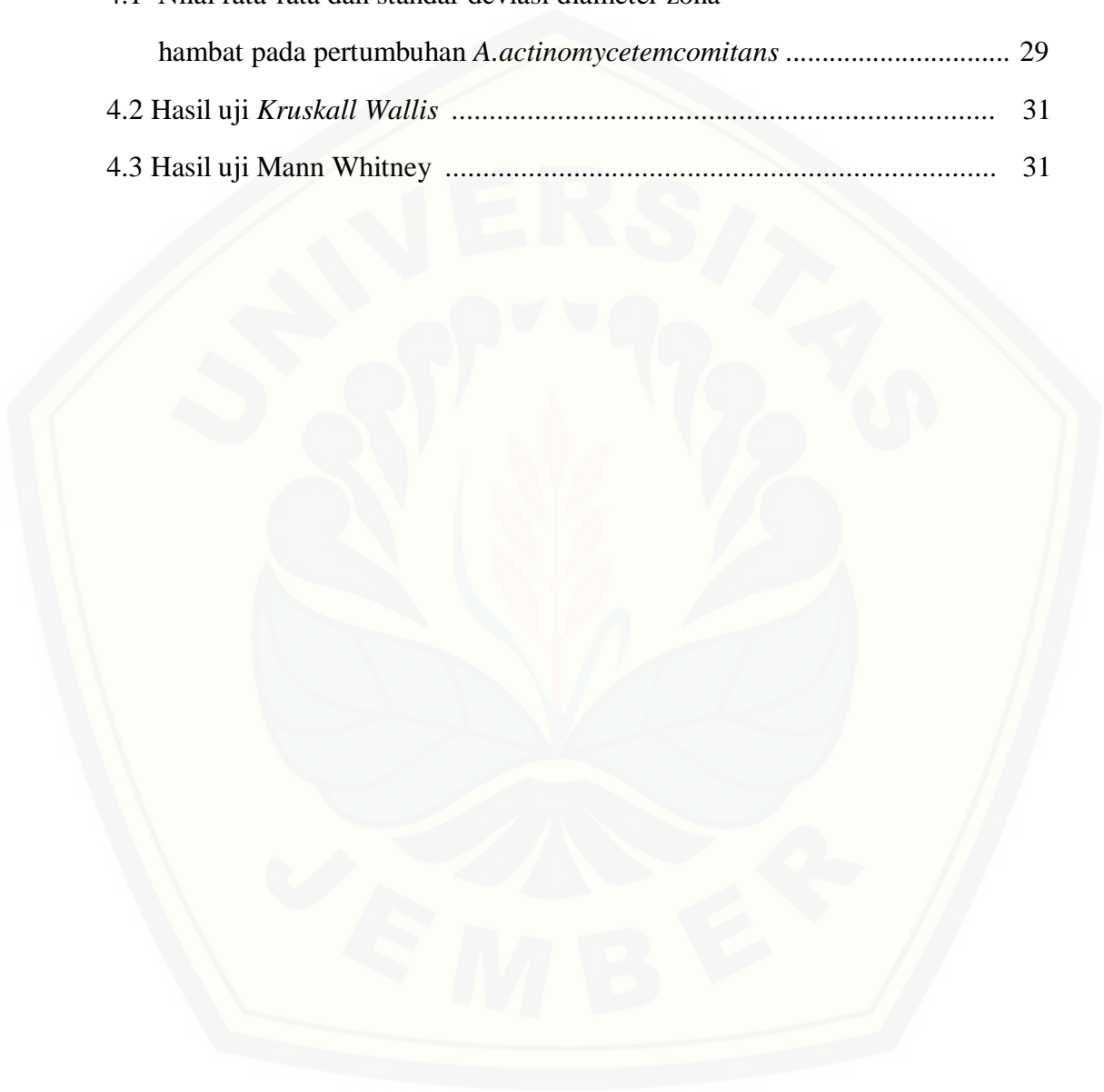
	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PEMBIMBING	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
HALAMAN MOTO	v
HALAMAN PERNYATAAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Periodontitis Agresif	4
2.1.1 Definisi Periodontitis Agresif	4
2.1.2 Klasifikasi Periodontitis Agresif	4
2.1.3 Etiologi Periodontitis Agresif	5

2.1.4 Patogenesis Periodontitis Agresif	5
2.2 <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	6
2.2.1 Taksonomi <i>A.actinomycetemcomitans</i>	6
2.2.2 Morfologi <i>A.actinomycetemcomitans</i>	6
2.2.3 Patogenitas <i>A.actinomycetemcomitans</i>	7
2.3 Pacar Air	8
2.3.1 Klasifikasi Pacar Air	8
2.3.2 Morfologi Pacar Air	8
2.3.3 Kandungan Pacar Air	9
2.4 Chlorhexidine	11
2.5 Mekanisme Antibakteri	12
2.6 Metode Pengujian Aktivitas Antibakteri	12
2.7 Metode Ekstraksi Tanaman Obat	13
2.8 Kerangka Konsep	15
2.9 Hipotesis	16
BAB 3. METODE PENELITIAN	17
3.1 Jenis Penelitian	17
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	17
3.3 Variabel Penelitian	17
3.3.1 Variabel Bebas	17
3.3.2 Variabel Terikat	17
3.3.3 Variabel Terkendali	17
3.4 Definisi Operasional	18
3.4.1 Ekstrak Daun Pacar Air	18
3.4.2 Daya Hambat Pertumbuhan <i>A.actinomycetemcomitans</i>	18
3.4.3 <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	18
3.5 Sampel Penelitian	18

3.5.1 Besar Sampel	18
3.5.2 Pengelompokan Sampel	19
3.5.3 Kriteria Sampel	20
3.6 Alat dan Bahan	20
3.6.1 Alat Penelitian	20
3.6.2 Bahan	21
3.7 Prosedur Penelitian	22
3.7.1 Tahap Persiapan	22
3.7.2 Tahap Uji Daya Antibakteri	25
3.7.3 Tahap Pengukuran Zona Hambat	26
3.8 Analisis Data	27
3.9 Alur Penelitian	28
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	29
4.1 Hasil Penelitian	29
4.2 Pembahasan	31
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	35
5.1 Kesimpulan	35
5.2 Saran	35
DAFTAR PUSTAKA	36
LAMPIRAN	42

DAFTAR TABEL

	Halaman
4.1 Nilai rata-rata dan standar deviasi diameter zona hambat pada pertumbuhan <i>A.actinomyetemcomitans</i>	29
4.2 Hasil uji <i>Kruskall Wallis</i>	31
4.3 Hasil uji Mann Whitney	31



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Gambaran klinis periodontitis agresif moderate	4
2.2 <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	7
2.3 Pacar Air	9
2.4 Kerangka Konsep	15
3.1 Daun yang dipetik nomor 4 atau 5 ke atas	20
3.2 Cara pengukuran zona hambat.....	27
3.3 Alur Penelitian	28
4.1 Histogram rata-rata diameter zona hambat pertumbuhan <i>A.actinomycetemcomitans</i>	30

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
3.1 Rumus Pengenceran Ekstrak	42
3.2 Surat Keterangan Identifikasi Tumbuhan	44
3.3 Surat Keterangan Identifikasi Bakteri	45
3.4 Alat dan Bahan Penelitian	47
3.4.1 Alat Penelitian	47
3.4.2 Bahan Penelitian	49
4.1 Hasil Penelitian	50
4.2 Analisis Data	51
4.2.1 Hasil Uji Normalitas <i>Kolmogorov Smirnov</i>	51
4.2.2 Hasil Uji Homogenitas <i>Levene Test</i>	51
4.2.3 Hasil Uji <i>Kruskal-Wallis</i>	52
4.2.4 Hasil Uji <i>Mann-Whitney</i>	52

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit periodontal merupakan penyakit yang masih membutuhkan perhatian khusus oleh tenaga kesehatan, baik dokter gigi maupun perawat gigi. Berdasarkan profil kesehatan Indonesia tahun 2011 terdapat 92.979 masyarakat yang berkunjung ke rumah sakit umum milik Kementerian Kesehatan dan Pemerintah Daerah karena menderita penyakit periodontal (Departemen Kesehatan RI, 2012). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Cho, Indonesia merupakan salah satu negara dengan prevalensi periodontitis yang cukup tinggi yaitu antara 3% sampai dengan 10% (Cho dkk., 2011).

Periodontitis agresif merupakan penyakit periodontal destruktif dan berkembang cepat, ditandai dengan kerusakan dari ligamen periodontal dan tulang alveolar, kehilangan gigi, dan respons minim terhadap terapi periodontal (Gehrig dkk., 2011). Periodontitis agresif berbeda dari periodontitis kronis terutama pada pesatnya laju perkembangan penyakit, minimalnya akumulasi plak dan kalkulus, dan riwayat keluarga terkait genetik (Newman dkk., 2015). Patogenesis dari penyakit ini disebabkan adanya interaksi antara *host* dan bakteri, dimana bakteri yang paling dominan adalah *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Ridwan, 2012).

Aggregatibacter actinomycetemcomitans atau disingkat *A.actinomycetemcomitans* umumnya ditemukan pada plak gigi, poket periodontal dan sulkus gingiva. Bakteri ini mempunyai sejumlah faktor virulensi yang membantu progresifitas penyakit periodontitis agresif, yaitu memodulasi jaringan, menginduksi kerusakan jaringan dan menghambat perbaikan jaringan (Ragavendran dkk., 2015). Bakteri ini memproduksi leukotoksin yang destruktif terhadap neutrofil, monosit dan limfosit-T yang mengakibatkan imunosupresi pada daerah supragingiva dan endotoksin yang juga berperan menyerang sistem imun dan mengakibatkan kerusakan jaringan periodontal (Kesic dkk., 2009).

Terapi yang dapat dilakukan untuk menghambat pertumbuhan bakteri penyebab periodontitis agresif antara lain kontrol plak, *scaling* dan *root planning* serta pemberian antibiotik seperti metronidazole, tetracyclines, amoxicillin, clindamycin dan ciprofloxacin (Andriani, 2012). Kontrol plak dapat dibantu dengan penggunaan obat kumur yang mengandung antimikroba seperti *chlorhexidine*. Namun penggunaan *chlorhexidine* dalam jangka waktu lama dapat menimbulkan efek samping seperti adanya perubahan persepsi rasa, perubahan warna pada gigi dan menimbulkan reaksi hipersensitivitas (Kaplowitz dan Marilyn C., 2008). Oleh karena itu dapat dikembangkan obat kumur dengan bahan dasar tanaman obat yang diyakini mempunyai khasiat antibakteri dengan efek samping minimal, salah satunya adalah daun pacar air.

Tanaman pacar air (*Impatiens balsamina* L.) adalah famili *balsaminaceae*. Penduduk Indonesia biasanya menggunakan tanaman ini sebagai tanaman hias dan kadang tumbuh sebagai tanaman liar. Sebagian masyarakat telah memanfaatkan tanaman ini sebagai obat luka potong, bengkak-bengkak, koreng, obat panas dalam dan susah kencing bagi anak kecil (Adfa, 2008). Secara tradisional masyarakat memanfaatkan pacar air dengan cara direbus dan digiling untuk dioleskan pada bagian tubuh yang mengalami infeksi (Ismarani dkk., 2014).

Salah satu bagian dari tanaman pacar air yang dapat dimanfaatkan adalah daunnya. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya daun pacar air mengandung flavonoid, tanin, saponin, steroid, glikosida, kumarin dan kuinon (Adfa, 2008; Sapara dkk., 2016). Senyawa-senyawa aktif tersebut memiliki kemampuan sebagai antimikroba yang efektif untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya oleh Lolongan dkk, ekstrak daun pacar air dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S.mutans* dimulai pada konsentrasi 6,25% (Lolongan dkk., 2016).

Berdasarkan latar belakang tersebut penulis tertarik untuk melakukan penelitian tentang efektivitas antibakteri ekstrak daun pacar air terhadap pertumbuhan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* yang merupakan salah satu bakteri penyebab penyakit periodontal yaitu periodontitis agresif.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan di atas maka masalah yang dapat dirumuskan adalah :

1.2.1 Bagaimana efektivitas antibakteri ekstrak daun pacar air terhadap pertumbuhan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ?

1.2.2 Berapa konsentrasi ekstrak daun pacar air yang efektif terhadap pertumbuhan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan umum

Untuk mengkaji efektivitas antibakteri ekstrak daun pacar air terhadap pertumbuhan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

1.3.2 Tujuan khusus

Untuk mengkaji konsentrasi ekstrak daun pacar air yang efektif terhadap pertumbuhan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat untuk masyarakat

Sebagai tambahan informasi kepada masyarakat mengenai pemanfaatan daun pacar air sebagai alternatif antibakteri alami.

1.4.2 Manfaat untuk IPTEK

Sebagai data dan informasi untuk melakukan penelitian selanjutnya tentang efektivitas daya antibakteri ekstrak daun pacar air.

1.4.3. Manfaat untuk klinisi

Sebagai salah satu alternatif tanaman yang dapat dikembangkan sebagai obat kumur, setelah dilakukan penelitian lebih lanjut, yang diharapkan memiliki efek samping lebih kecil dibandingkan obat yang ada di pasaran.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Periodontitis Agresif

2.1.1 Definisi Periodontitis Agresif

Periodontitis agresif merupakan penyakit periodontal destruktif dan berkembang cepat, ditandai dengan kerusakan dari ligamen periodontal dan tulang alveolar, kehilangan gigi, dan respons minim terhadap terapi periodontal (lihat gambar 2.1) (Gehrig dkk., 2011). Gambaran radiografis menunjukkan kerusakan tulang mengenai hampir seluruh gigi, dapat berbentuk vertikal atau horisontal atau kedua-duanya. (Andrena dkk., 2008). Periodontitis agresif berbeda dari periodontitis kronis terutama pada pesatnya laju perkembangan penyakit, akumulasi plak dan kalkulus minimal, dan riwayat keluarga terkait genetik (Newman dkk., 2015).



Gambar 2.1 Gambaran klinis periodontitis agresif moderate (Newman dkk., 2015)

2.1.2 Klasifikasi Periodontitis Agresif

Periodontitis diklasifikasikan menjadi dua yaitu *Localized aggressive periodontitis* (LAP) dan *Generalized aggressive periodontitis* (GAP). LAP merupakan peradangan yang sering terjadi pada usia awal pubertas dimana gigi yang terlibat adalah molar pertama atau insisivus serta melibatkan kehilangan perlekatan pada interproksimal dua gigi permanen (Vaidya dkk., 2012). Sedangkan GAP ditandai dengan adanya kehilangan perlekatan interproksimal

yang melibatkan setidaknya 3 gigi permanen selain gigi molar pertama dan gigi insisivus (Joshiyura dkk., 2015).

2.1.3 Etiologi Periodontitis Agresif

Periodontitis agresif adalah penyakit multifaktorial yang penyebabnya merupakan hasil dari interaksi antara faktor mikrobiologi dan respon spesifik host. Bakteri patogen yang berperan dalam periodontitis agresif adalah bakteri anaerob Gram negatif terutama *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* yang memiliki leukotoksin, endotoksin dan enzim lainnya yang berperan dalam merusak sel imun seperti PMN, leukosit dan lain-lain. Selain itu, faktor dari luar seperti kebiasaan merokok dan faktor genetik juga merupakan faktor predisposisi dari penyakit ini (Singh dkk., 2013; Noack dan Hoffman, 2004).

2.1.4 Patogenesis Periodontitis Agresif

Pada tahap awal, pertahanan pada jaringan periodontal disediakan oleh respon sel imun innate dalam bentuk PMN dan makrofag, fibroblas, sel epitelial dan sel dendritik yang secara normal terus menerus merespon bakteri plak (Nibali, 2014). PMN memegang peran penting dalam respon imun host, defisiensi kualitas dan kuantitas PMN dapat meningkatkan kerusakan periodontal (Joshiyura dkk. 2015).

Beberapa spesies bakteri seperti *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa), *Porphyromonas gingivalis* (Pg), *Prevotella intermedia* (Pi), dan *Bacterioides forsythus* meningkat jumlahnya. Pertumbuhan bakteri ini dikaitkan dengan gangguan mekanisme regulasi sistem imun, yaitu terdapat defek fungsional pada polymorphonuclear leukocytes (PMNs), monosit, atau keduanya. Defek ini dapat merusak, baik kemotaksis PMN terhadap daerah infeksi ataupun kemampuan fagositosis dan mengeliminasi mikroorganisme. Defek pada PMN, monosit dan faktor genetik memungkinkan infeksi bakteri (Andrena dkk, 2008). Perubahan hormonal pada masa pubertas akan mempengaruhi endotelium dan menyebabkan meningkatnya permeabilitas vaskular yang mempengaruhi leukosit pada jaringan

yang terinflamasi. Perubahan ini akan memfasilitasi komposisi mikroflora subgingival sebagai bukti bertambahnya spesies Gram negatif (Aberg, 2013).

2.2 *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

A.actinomycetemcomitans merupakan bakteri Gram-negative yang bersifat patogen oportunistik dan merupakan bagian flora normal yang berkolonisasi di rongga mulut, gigi dan orofaring (Ridwan, 2012). Prevalensi bakteri ini bervariasi tergantung pada suku, usia dan gaya hidup pada setiap populasi. *A. actinomycetemcomitans* biasanya ditemukan di plak gigi, poket periodontal dan sulkus gingiva (Johansson, 2011). *A.actinomycetemcomitans* terbagi menjadi tujuh serotip (a-g) berdasarkan pada permukaan O-polysacharides (Aberg, 2013). Serotip a, b dan c merupakan serotip yang paling sering muncul pada rongga mulut. Serotip b dengan aktivitas leukotoksiknya secara dominan berhubungan dengan kasus periodontitis agresif lokalisata. Serotip c dapat ditemukan pada subjek yang sehat (Raja dkk., 2014).

2.2.1 Taksonomi *A.actinomycetemcomitans*

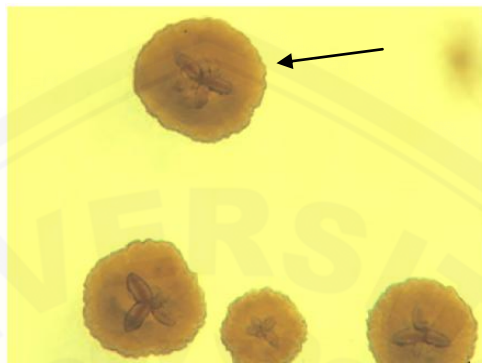
Kedudukan *A.actinomycetemcomitans* dalam tata nama bakteri dapat diklasifikasikan sebagai berikut ((Raja dkk., 2014) :

Kingdom : *Bacteria*
Phylum : *Proteobacteria*
Class : *Gammaproteobacteria*
Order : *Pasteurellales*
Family : *Pasteurellaceae*
Genus : *Aggregatibacter*
Species : *Actinomycetemcomitans*

2.2.2 Morfologi *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

A.actinomycetemcomitans adalah bakteri Gram negatif, berbentuk kokobasil, bersifat fakultatif anaerob yang berukuran $0.4 \pm 0.1 \times 0.1 \pm 0.4$ micrometers. *A.actinomycetemcomitans* memiliki fimbriae, vesikel dan materi

amorf ekstraseluler (Ragavendran dkk., 2015). Bakteri ini dapat tumbuh soliter atau berkoloni. Bakteri ini membentuk koloni dengan ukuran diameter 0,5-1,0 mm pada media agar plate. Koloni ini memiliki morfologi yang kasar dengan karakteristik *star-shaped* pada bagian tengah (lihat gambar 2.2) (Aberg, 2013).



Gambar 2.2 Koloni *A.actinomycetemcomitans* (Newman dkk., 2015)

2.2.3 Patogenitas *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

A.actinomycetemcomitans menghasilkan banyak faktor virulen yaitu leukotoksin sebagai yang terpenting, faktor penghambat kemotaksis, faktor sitotoksik, faktor immunosupresif, lipopolisakarida kolagenase, faktor penghambat fibroblas, faktor penentu resistensi antibiotik, adhesif, invasif dan faktor penghambat fungsi dari PMN (Kesic dkk., 2009). *A.actinomycetemcomitans* memainkan peran penting dalam patogenesis penyakit periodontitis agresif. Mekanisme destruktif jaringan yang ditunjukkan pada *A.actinomycetemcomitans* adalah sebagai berikut :

1. Leukotoksin: Banyak strain *A.actinomycetemcomitans* menghasilkan leukotoksin yang dapat menghancurkan leukosit polymorphonuclear leukosit dan monosit. Ini akan membahayakan kemampuan host untuk melakukan fagositosis dan menghilangkan bakteri dan produk bakteri yang menyerang.
2. Chemotaxis inhibition: Mereka menghasilkan faktor-faktor yang menghambat kemotaksis polymorphonuclear leukocyte dengan cara mencegah leukosit untuk mencapai lokasi infeksi.
3. Endotoksin: *A.actinomycetemcomitans* melepaskan endotoksin yang dapat menyebabkan reaksi Schwartzman, agregasi trombosit, aktivasi komplemen dan resorpsi tulang.

4. Enzim: *A.actinomycetemcomitans*, *Capnocytophaga* dan *Bacteroids* menghasilkan enzim proteolitik, yang dapat menurunkan jaringan ikat periodontal.
5. Sitotoksitas fibroblas: Mereka juga mempengaruhi faktor penghambat fibroblas dan mengganggu dengan sintesis kolagen, sehingga mengganggu penyembuhan gingiva.
6. Aktivasi B-Lymphocyte Polyclonal: Organisme ini memiliki aktivator B-limfosit kuat poliklonal. Mereka menginduksi pelepasan limfokin yang menengahi reaksi inflamasi dan resorpsi tulang (Singh dkk., 2013).

2.3 Pacar Air

2.3.1 Klasifikasi Pacar air

Dalam taksonomi, pacar air diklasifikasikan sebagai berikut (Lestari dan Kencana, 2015) :

<i>Divisi</i>	: <i>Magnoliophyta</i>
<i>Kelas</i>	: <i>Magnoliopsida</i>
<i>Ordo</i>	: <i>Ericales</i>
<i>Famili</i>	: <i>Balsaminaceae</i>
<i>Genus</i>	: <i>Impatiens</i>
<i>Spesies</i>	: <i>I. balsamina</i>

2.3.2 Morfologi Tanaman Pacar Air

Batang pacar air memiliki ketinggian berkisar 40-100 cm, gemuk, tegak, dan tebal. Berwarna hijau dengan semburat kemerahan. Daun tanaman ini tumbuh spiral dengan panjang tangkai daunnya sekitar 1-3 cm. Urat daunnya lateral berjumlah 5-9 pasang. Lembaran daun berbentuk meruncing di ujung seperti tombak dengan panjang 4-12 cm dan lebar 1-3 cm (lihat gambar 2.3). Bunga pacar air tumbuh tunggal dengan berkumpul dari ketiak daun dan memiliki tangkai bunga yang pendek. Berwarna merah, putih, merah muda, ungu, maupun kombinasi dari warna tersebut. Buah berbentuk kapsul berwarna hijau, penuh dengan bulu-bulu halus. Bijinya cukup banyak, berwarna hitam dan berbentuk menyerupai bola (Lestari dkk., 2015). Pacar air biasanya ditanam sebagai

tanaman hias dengan tinggi 30-80 cm. Arah tumbuhnya tegak dan percabangannya monopodial. Habitat dari tanaman pacar air yaitu pada daerah beriklim semi tropikal, namun tidak dapat hidup pada daerah yang kering dan gersang. Tanaman ini sangat peka terhadap hama, begitu terkena hama, tanaman akan langsung busuk, biasanya tumbuh di pekarangan rumah dengan hanya menebar biji dari buah tanaman pacar air (Kusuma dkk., 2014).



Gambar 2.3 Pacar Air (Dokumen pribadi, 2017)

2.3.3 Kandungan Pacar Air

Tanaman ini mempunyai biji yang mengandung saponin, bunganya mengandung antosianin (sianidin, delpinidin, pelargonidin, malpidin) dan kaemferol, akarnya mengandung sianidin dan monoglikosida, sedangkan daunnya mengandung flavonoid, saponin, steroid, dan glikosida (kumarin) (Pramudita dkk., 2015). Penelitian skrining fitokimia sebelumnya menunjukkan daun pacar air positif mengandung flavonoid, kuinon, steroid, tanin dan saponin serta memperlihatkan terjadinya peningkatan diameter hambatan seiring dengan kenaikan konsentrasi (Nurdin, dkk., 2013)

a. Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan di dalam jaringan tanaman. Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa phenolik dengan struktur kimia C6-C3-C6. Kerangka

flavonoid terdiri atas satu cincin aromatik A, satu cincin aromatik B, dan cincin tengah berupa heterosiklik yang mengandung oksigen dan bentuk teroksidasi cincin ini dijadikan dasar pembagian flavonoid ke dalam sub-sub kelompoknya (Redha, 2010). Mekanisme flavonoid sebagai antibakteri dibagi menjadi 3 yaitu menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sel dengan mengganggu permeabilitas membran sel, dan menghambat metabolisme energi (Cushnie dan Lamb, 2005).

b. Tanin

Tanin adalah senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada beberapa tanaman. Tanin pada tanaman diklasifikasikan sebagai tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin merupakan senyawa kimia yang tergolong dalam senyawa polifenol. Tanin mempunyai kemampuan mengendapkan protein, karena tanin mengandung sejumlah kelompok ikatan fungsional yang kuat dengan molekul protein yang selanjutnya akan menghasilkan ikatan silang yang besar dan kompleks yaitu protein tanin. Tanin memiliki kemampuan sebagai zat antibakteri dan jamur. Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri yaitu dengan cara menyebabkan sel bakteri menjadi lisis. (Sujarnoko, 2012).

c. Saponin

Saponin merupakan produk glikosida kompleks dengan berat molekul tinggi dan berdasarkan aglikonnya, saponin dapat dibedakan menjadi dua macam, yaitu tipe steroida dan tipe triterpenoida. Saponin dapat meningkatkan permeabilitas membran sehingga menyebabkan hemolisis sel. Ketika membran sel terganggu, zat antibakteri dapat dengan mudah masuk ke dalam sel dan mengganggu metabolisme hingga terjadi kematian bakteri (Karlina dkk., 2013).

d. Kumarin

Kumarin adalah senyawa fenol yang umumnya berasal dari tumbuhan tinggi dan jarang sekali ditemukan pada mikroorganisme. Kumarin ditemukan hampir di setiap bagian tumbuh-tumbuhan mulai dari akar, batang, daun sampai bunga dan juga buah. Kumarin banyak terdapat dalam bentuk glikosida. (Alegantina dan Isnawati, 2010). Senyawa ini memiliki kerangka dasar α -benzo pyron. Beberapa kelompok senyawa kumarin memiliki efek farmakologis dan fisiologis tertentu

seperti senyawa furanokumarin dapat menghambat efek karsinogen, turunan Psoralen digunakan secara oral untuk mempercoklat kulit yang terkena sinar matahari dan untuk mengobati vertiligo, sedangkan senyawa yang tergolong 4-hidroksi kumarin menunjukkan aktivitas anti koagulasi darah, menghambat kerja enzim, anti mikroba, anti biotik, dan dapat mengganggu sintesa DNA/RNA (Adfa, 2006).

e. Kuinon

Kuinon merupakan senyawa berwarna dan mempunyai kromofor dasar seperti kromofor pada benzokuinon, yang terdiri atas dua gugus karbonil berkonjugasi dengan dua ikatan rangkap karbon-karbon. Kuinon terdiri dari empat kelompok, yaitu benzokuinon, naftakuinon, antrakuinon, dan kuinon isoprenoid. Kuinon memiliki mekanisme kerja menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks yang bersifat *irreversible* dengan residu asam amino nukleofilik pada protein transmembran pada membran plasma, polipeptida dinding sel, serta enzim-enzim yang terdapat pada permukaan membran sel, sehingga mengganggu kehidupan sel bakteri (Sapara dkk., 2016).

f. Steroid

Senyawa steroid terdapat dalam setiap makhluk hidup. Steroid yang ditemukan dalam jaringan tumbuhan disebut fitosterol, sedangkan yang ditemukan dalam jaringan hewan disebut kolesterol. Mekanisme kerja steroid sebagai antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri berhubungan dengan membran lipid dan sensitivitas terhadap komponen steroid yang menyebabkan kebocoran pada liposom bakteri. Steroid dapat berinteraksi dengan membran fosfolipid sel yang bersifat permeabel terhadap senyawa-senyawa lipofilik sehingga menyebabkan integritas membran menurun serta morfologi membran sel berubah menyebabkan sel rapuh dan lisis (Madduluri dkk, 2011).

2.4 Chlorhexidine

Chlorhexidine merupakan suatu antiseptik dan desinfektan yang mempunyai efek bakterisidal terhadap Gram positif dan Gram negatif. *Chlorhexidine* merupakan derivat bis-biguanite yang efektif dan mempunyai spektrum luas, bekerja cepat

dan toksisitas rendah. *Chlorhexidine* dipercaya sebagai obat kumur yang mampu mengurangi pembentukan plak, menghambat pertumbuhan plak dan mencegah terjadinya penyakit periodontal. Hal ini dikarenakan sifat dari *chlorhexidine* sendiri, yaitu bakterisid dan bakteriostatik terhadap berbagai macam bakteri, termasuk bakteri yang berada di dalam plak (Mervrayano, 2015). Namun penggunaan dalam jangka panjang dapat menimbulkan efek samping seperti adanya perubahan persepsi rasa, perubahan warna pada gigi dan menimbulkan reaksi hipersensitivitas (Kaplowitz dan Marilyn C., 2008)

2.5 Daya Antibakteri

Daya antibakteri merupakan kemampuan suatu zat atau senyawa dalam membunuh atau menekan pertumbuhan atau reproduksi bakteri (Dorland, 2012). Berdasarkan sifat toksisitas selektif, daya antibakteri dibagi menjadi dua kelompok, yaitu antibakteri yang mempunyai sifat menghambat pertumbuhan bakteri (aktivitas bakteriostatik) dan antibakteri yang mempunyai sifat membunuh bakteri (aktivitas bakterisid) (Prayoga, 2013).

Kemampuan zat antimikroba dalam menghambat pertumbuhan bakteri dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya : 1) Konsentrasi zat antimikroba, 2) jenis, jumlah, umur, dan keadaan mikroba, 3) suhu, 4) waktu, dan 5) sifat-sifat kimia fisik dan makanan termasuk kadar air, pH, jenis dan jumlah komponen di dalamnya (Agustrina, 2011).

2.6 Metode Pengujian Aktivitas Antibakteri

Metode pengujian aktivitas antibakteri dilakukan untuk mengetahui respon mikroorganisme terhadap antibakteri yang diujikan, sehingga pengobatan yang dilakukan dapat efektif dan efisien. Cara pengujian antibakteri dapat menggunakan metode difusi dan metode dilusi. Pada metode difusi penentuan aktivitas antibakteri didasarkan pada kemampuan difusi dari zat antimikroba dalam lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan mikroba uji (Prayoga, 2013).

Salah satu metode difusi yang sering digunakan adalah metode kertas cakram. Metode ini lebih dikenal dengan metode Kirby-Bauer. Pada cara ini digunakan suatu cakram kertas saring (*paper disc*) yang berfungsi sebagai tempat menampung antimikroba. Kertas tersebut kemudian diletakkan pada lempeng agar yang telah diinokulasi mikroba, kemudian diinkubasi pada waktu dan suhu tertentu sesuai dengan kondisi optimum mikroba uji (Prayoga, 2013). Metode cakram kertas memiliki kelebihan dan kelemahan. Kelebihannya adalah mudah dilakukan, tidak memerlukan peralatan khusus dan relatif murah. Sedangkan kelemahannya adalah ukuran zona bening yang terbentuk tergantung oleh kondisi inkubasi, inokulum, predifusi dan preinkubasi serta ketebalan medium. Apabila keempat faktor tersebut tidak sesuai maka hasil dari metode cakram kertas relatif sulit untuk diinterpretasikan (Murray, 2007).

2.7 Metode Ekstraksi Tanaman Obat

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair (Ditjen POM, 2000). Metode ekstraksi menggunakan pelarut ada dua macam yaitu cara dingin dan cara panas.

a. Cara dingin :

1) Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar) (Ditjen POM, 2000). Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserasi pertama, dan seterusnya (Pratiwi, 2010).

2) Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (*exhaustive extraction*) yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Proses ini terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan/penampungan ekstrak), terus menerus sampai diperoleh ekstrak

(perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan awal (Pratiwi, 2010; Mukhriani, 2014).

b. Cara panas

1) Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga dapat termasuk ekstraksi sempurna.

2) Soxhlet

Soxhlet adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi continue dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

3) Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan continue) pada temperatur ruangan, yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50 °C.

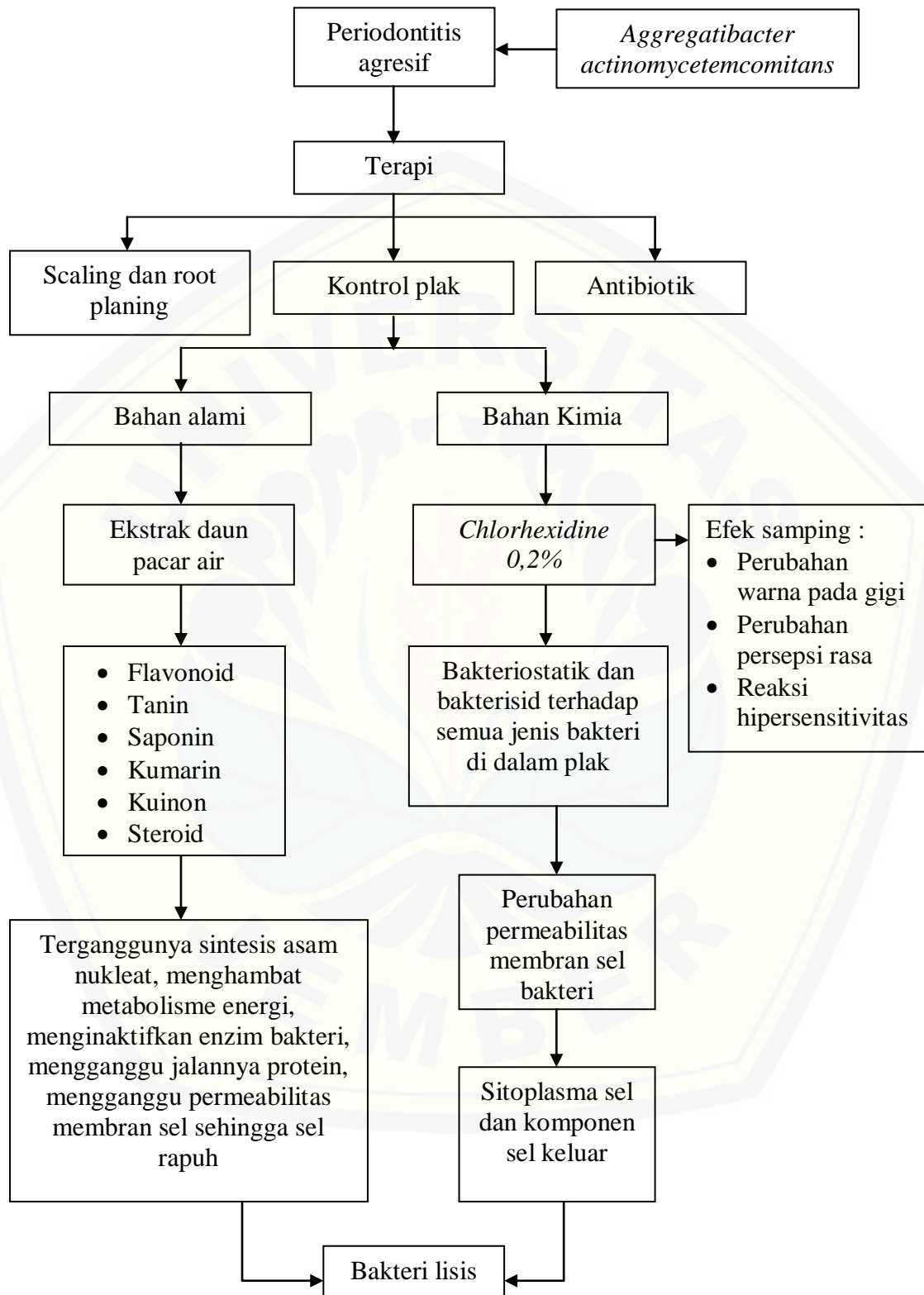
4) Infusa

Infusa adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air, temperatur terukur 96-98 °C) selama waktu tertentu (15-20 menit).

5) Dekok

Dekok adalah infusa pada waktu yang lebih lama (≥ 30 menit) dan temperatur sampai titik didih air (Mukhriani, 2014).

2.8 Kerangka Konsep



Gambar 2.4 Kerangka Konsep

2.9 Hipotesis

2.9.1 Ekstrak daun pacar air (*Impatiens balsamina* L.) memiliki daya antibakteri terhadap pertumbuhan *A.actinomyetemcomitans*.

2.9.2 Semakin besar konsentrasi yang digunakan, semakin efektif daya hambat ekstrak daun pacar air terhadap pertumbuhan *A.actinomyetemcomitans*.



BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *the post-test only control group design* yaitu suatu metode dengan melakukan pengamatan dan pengukuran pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan pada waktu yang telah ditentukan. Tujuan dari rancangan penelitian ini adalah untuk mengetahui dampak yang ditimbulkan oleh suatu perlakuan.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Bagian Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Laboratorium Bioscience Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember dan Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi Kabupaten Pasuruan. Penelitian ini dilakukan pada bulan November 2017 sampai Januari 2018.

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak daun pacar air (*Impatiens balsamina L.*) dengan konsentrasi 100%, 75%, 50%, 25%, 12,5% dan 6,25%.

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah daya hambat ekstrak daun pacar air (*Impatiens balsamina L.*) terhadap pertumbuhan *A.actinomycetemcomitans*.

3.3.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah media biakan bakteri, metode pengukuran, suhu inkubator, waktu inkubasi, pengukuran zona hambat, suspensi *A.actinomycetemcomitans* dan ekstrak daun pacar air.

3.4 Definisi Operasional

3.4.1 Ekstrak Daun Pacar Air

Ekstrak daun pacar air adalah sediaan yang diperoleh dari daun pacar air (*Impatiens balsamina* L.) yang telah diidentifikasi sebelumnya. Daun dikeringkan dan dihaluskan kemudian diekstrak dengan pelarut etanol 96% dengan metode maserasi. Maserat diuapkan sampai didapatkan ekstrak kental dengan konsentrasi 100% kemudian ekstrak diencerkan untuk mendapat konsentrasi 75%, 50%, 25%, 12,5% dan 6,25%.

3.4.2 Daya Hambat Pertumbuhan *A.actinomycetemcomitans*

Daya hambat pertumbuhan *A.actinomycetemcomitans* adalah kemampuan suatu zat dalam menghambat pertumbuhan *A.actinomycetemcomitans* dengan cara mengukur diameter zona hambat yaitu daerah yang bening di sekitar paper disc menggunakan jangka sorong digital (mm). Diameter zona hambat dihitung dari tepi (*break point*) yang berseberangan melewati pusat paper disc. Apabila tidak terdapat zona hambat di sekitar *paper disc* maka dinyatakan diameter zona hambatnya adalah 0.

3.4.3 *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

Aggregatibacter actinomycetemcomitans adalah bakteri Gram negatif berbentuk kokobasil yang dapat tumbuh soliter atau berkoloni dan bersifat fakultatif anaerob. Dalam penelitian ini *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* yang digunakan didapat dari Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga yang dikultur pada media agar slant.

3.5 Sampel Penelitian

3.5.1 Besar Sampel

Besar sampel dihitung dengan menggunakan rumus perhitungan sesuai dengan rumus Steel dan Torrie (1995). Adapun perhitungannya sebagai berikut :

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

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)

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

Perhitungan jumlah sampel adalah sebagai berikut :

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

$$n = \frac{(1,96 + 0,85)^2 \sigma^2}{\delta^2}$$

$$n = (1,96 + 0,85)^2$$

$$n = 7,8691 \approx 8$$

Berdasarkan hasil penghitungan di atas, diperoleh jumlah sampel minimal sebanyak 8 sampel untuk setiap kelompok. Total sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 64.

3.5.2 Pengelompokan Sampel

Sampel dibagi menjadi 8 kelompok perlakuan sebagai berikut :

- a. Kelompok K- : Akuades steril (kontrol negatif)
- b. Kelompok K+ : *Chlorhexidine* 0,2% (kontrol positif)
- c. Kelompok P6,25 : Ekstrak daun pacar air konsentrasi 6,25%
- d. Kelompok P12,5 : Ekstrak daun pacar air konsentrasi 12,5%
- e. Kelompok P25 : Ekstrak daun pacar air konsentrasi 25%
- f. Kelompok P50 : Ekstrak daun pacar air konsentrasi 50%
- g. Kelompok P75 : Ekstrak daun pacar air konsentrasi 75%
- h. Kelompok P100 : Ekstrak daun pacar air konsentrasi 100%

3.5.3 Kriteria Sampel

Sampel daun diambil dari tumbuhan pacar air (*Impatiens balsamina* L.) yang masih segar, sehingga pengambilan dilakukan pada pagi hari. Bagian tanaman yang diambil adalah daun ke 4 atau 5 ke atas dari pucuk. Daun yang dapat diambil berasal dari tanaman yang sudah berbunga (Nurdin dkk., 2013). Pemetikan daun pada nomor 4 dan 5 ke atas karena kandungan klorofil dan zat aktif daun pada bagian tengah dan pangkal lebih banyak dibandingkan dengan bagian ujung (Pratama dan Laily, 2015).



Gambar 3.1 Daun yang dipetik nomor 4 atau 5 ke atas (Dokumen pribadi, 2018)

3.6 Alat dan Bahan

3.6.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah :

- Wadah toples kaca bertutup
- Ayakan 80 mesh
- Blender (Nasional, Indonesia)
- Timbangan digital (Electronic Balance, BS 600 H, USA)
- Tabung *Erlenmeyer* (Pyrex, Japan)
- Gelas ukur (Pyrex, Japan)
- Corong kaca

- h. *Rotary flask*
- i. *Petridish* tidak bersekat dengan diameter 9 cm (Pyrex, Japan)
- j. Tabung reaksi (Pyrex, Japan)
- k. Bunsen (Pyrex, Japan)
- l. Spatula kaca (Pyrex, Japan)
- m. Ose (Nikrom, Indonesia)
- n. Mikropipet (Eppendorf, *Germany*)
- o. *Yellow tip*
- p. *Syringe*
- q. Jangka sorong digital dengan derajat ketelitian 0,01 mm (Medesy, *Italy*)
- r. Oven (Mettler GmbH +Co. KG, tipe 300, *Germany*)
- s. *Rotary evaporator* (Heidolph, Laborota 4000, *Germany*)
- t. Kompor listrik
- u. *Incubator* (WTC Binder, *Germany*)
- v. *Spektrofotometer* (Milton Roy, *Germany*)
- w. Pinset (Dentica, *France*)
- x. *Thermolyne*
- y. *Laminar flow*(Super clean Bench, HF-100, *Korea*)
- z. *Desicator* (Duran, *Germany*)
- aa. *Object glass*
- bb. *Deck glass*
- cc. Mikroskop (Olympus, X21LED, *Japan*)
- dd. *Autoclave* (Hanshin Medical Co.,Lt., HS-85E, *Korea*)

3.6.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah

- a. BHI-A/*Brain Heart Infusion Agar*
- b. BHI-B/*Brain Heart Infusion Broth*
- c. Akuades steril (Otsuka, *Indonesia*)
- d. *Chlorhexidine* 0,2% (Minosep, Bogor, *Indonesia*)
- e. Daun pacar air

- f. Bakteri *A. Actinomycetemcomitans*
- g. Etanol 96% (One med, Indonesia)
- h. Alkohol 70% (One med, Indonesia)
- i. *Blank disc 6mm* (Oxoid, UK)
- j. Cotton swab steril (One med, Indonesia)
- k. Kertas saring (Whatman No.40, UK)
- l. Larutan PZ
- m. Minyak emersi
- n. *Carbon gentian violet*
- o. *Lugol atau mordant*
- p. *Safranin atau air fuchsin*
- q. *Selective decolorizer*

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Tahap Persiapan

a. Identifikasi Tanaman Pacar Air

Tanaman pacar air yang akan digunakan dalam penelitian, diidentifikasi terlebih dahulu di Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi, Kabupaten Pasuruan, Jawa Timur.

b. Sterilisasi Alat

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

c. Pembuatan Ekstrak Daun Pacar Air

Pembuatan ekstrak dilakukan di laboratorium Bioscience Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember dengan beberapa tahapan. Daun pacar air diambil sebanyak 2,5 kg kemudian dicuci dengan air mengalir sampai bersih, ditiriskan pada tampah dan diangin-anginkan selama 3 hari untuk menghilangkan sisa air. Daun pacar air kemudian dioven pada suhu 50°C selama 24 jam. Suhu

pengeringan harus memenuhi standar yaitu tidak lebih dari 60°C (Kemenkes RI, 2009).

Daun yang sudah kering kemudian digiling menggunakan blender dan diayak dengan ayakan 80 mesh, sehingga menjadi serbuk simplisia halus. Hasil serbuk simplisia yang diperoleh sebanyak 150 gram. Serbuk simplisia dimaserasi dengan cara direndam pada etanol 96% sebagai pelarut dengan perbandingan 1:7,5 (b/v) antara serbuk simplisia dengan pelarut sehingga dibutuhkan etanol sebanyak 1,125 ml. Perendaman dilakukan selama 3x24 jam di dalam wadah toples bertutup pada suhu ruangan dengan 6 jam pertama sambil sesekali diaduk, kemudian diamkan selama 18 jam.

Hasil maserasi kemudian dipisahkan dengan cara filtrasi menggunakan corong kaca yang diberi kertas saring. Maserat yang diperoleh dari maserasi kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dengan kecepatan 180 rpm pada suhu 50°C selama 3 jam. Proses evaporasi dilakukan untuk memisahkan larutan etanol dengan zat-zat aktif yang ada di dalam ekstrak.

d. Pengenceran ekstrak daun pacar air (*Impatiens balsamina L.*)

Pengenceran dilakukan dengan menggunakan akuades steril untuk mendapatkan konsentrasi 75%, 50%, 25%, 12,5% dan 6,25% dari ekstrak daun pacar air konsentrasi 100%. Pengenceran konsentrasi ekstrak ini dilakukan di dalam *laminar flow* menggunakan mikropipet yang diberi tip dan hasil pengenceran tersebut dimasukkan pada tabung reaksi.

Rumus pengenceran yang digunakan adalah :

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

Keterangan :

V1 : Volume pertama (volume larutan ekstrak konsentrasi pertama)

V2 : Volume kedua (volume larutan ekstrak yang akan dibuat)

M1 : Konsentrasi awal (konsentrasi larutan ekstrak pertama)

M2 : Konsentrasi kedua (konsentrasi larutan ekstrak yang akan dibuat

(Lampiran 3.1)

e. Identifikasi bakteri *A.actinomycescomitans*

Proses identifikasi bakteri dilakukan dengan metode pewarnaan Gram. Identifikasi ini dilakukan untuk memastikan bahwa bakteri tersebut benar bakteri *A.actinomycescomitans*, tidak terkontaminasi dan siap digunakan untuk

penelitian. Tahap pewarnaan Gram ini dilakukan di lab mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

e. Pembuatan media BHI-B

Media BHI-B dibuat dengan mencampur 3,7 gram BHI-B dan aquades steril sebanyak 100 ml kemudian dimasukkan dalam tabung erlenmeyer, diaduk dengan spatula sampai homogen kemudian disterilkan dengan menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit (Himedia Laboratories, 2011). Media BHI-B kemudian di inkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Media BHI-B yang steril akan tetap berwarna jernih dan tidak muncul kekeruhan setelah diinkubasi. Hal ini dilakukan untuk membuktikan bahwa media BHI-B dalam keadaan steril sebelum inokulasi.

f. Pembuatan suspensi bakteri *A.actinomycetemcomitans*

Suspensi *A.actinomycetemcomitans* dibuat dengan cara menambahkan satu ose isolat *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ke dalam tabung reaksi yang berisi media cair BHI-B sebanyak 2 ml, mulut tabung dilewatkan di atas lampu spiritus yang sedang menyala kemudian dihomogenkan di atas *centrifuge*. Tabung reaksi tersebut ditutup dengan kapas lalu dimasukkan ke dalam *desicator* dan diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam. Pertumbuhan *A.actinomycetemcomitans* ditandai dengan adanya kekeruhan pada media. Setelah 24 jam, suspensi *A.actinomycetemcomitans* dalam tabung reaksi divibrasi dengan menggunakan *thermolyne* dan diukur absorbansinya dengan standar Mc Farland 0,5 dengan absorbansi 0,05 dan panjang gelombang 560 nm dengan menggunakan spektrofotometer (Hardman, 2001).

g. Pembuatan Media 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 kompor sampai homogen. Media agar tersebut kemudian ditutup kapas dan disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit (Himedia Laboratories, 2011). Media BHI-A kemudian diinkubasi selama 24 jam untuk uji sterilisasi. Media BHI-A yang steril akan tetap jernih atau tidak terdapat titik-titik putih di atasnya.

h. Pemberian Kode Label pada *Petridish*

Pemberian kode label pada 8 *petridish* yang steril dilakukan dalam *laminar flow* untuk mencegah kontaminasi dengan lingkungan luar. Masing-masing *petridish* diberi kode label nomor urut *petridish* dari 1 sampai 8. Kemudian pada bagian bawah masing-masing *petridish*, diberi keterangan label yang terdiri dari 8 macam, yakni kode K- untuk kontrol negatif (akuades steril), K+ untuk kontrol positif (*chlorhexidine* 0,2%), P100 untuk ekstrak daun pacar air dengan konsentrasi 100%, P75 untuk ekstrak dengan konsentrasi 75%, P50 untuk ekstrak dengan konsentrasi 50%, P25 untuk ekstrak dengan konsentrasi 25%, P12,5 untuk ekstrak dengan konsentrasi 12,5% dan P6,25 untuk ekstrak dengan konsentrasi 6,25%.

i. Inokulasi Suspensi *A.actinomycetemcomitans* pada Media BHI-A

Media BHI-A yang masih hangat dituangkan ke dalam 8 *petridish* masing-masing sebanyak 25 ml dengan ketebalan 4 mm. Sediaan dibiarkan hingga menjadi padat, kurang lebih 15 menit. Kemudian menginokulasikan suspensi *A.actinomycetemcomitans* dengan metode *streaking* menggunakan *swab*. *Swab* steril dicelupkan ke dalam tabung inokulum, lalu ditekan-tekan pada dinding tabung agar kelebihan cairan dapat dikeluarkan karena *swab* tidak boleh terlalu basah. Gerakan *streaking* diulang sebanyak 3 kali dan *petridish* diputar sekitar 60° pada setiap pengulangan. Langkah terakhir *swab* diusapkan mengelilingi tepi media agar (Hudzicki, 2009).

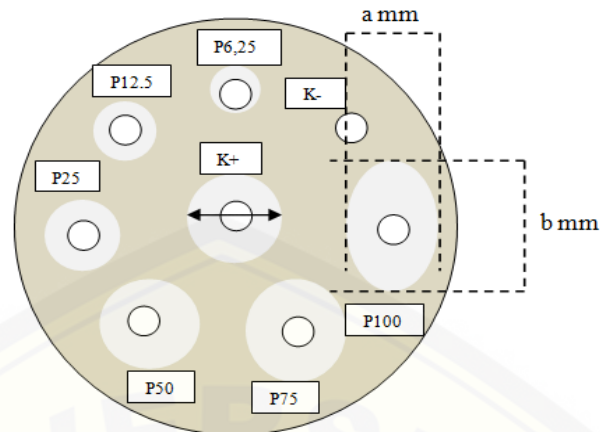
3.7.2 Tahap Uji Daya Antibakteri

- a. Semua perlakuan dilakukan di dalam *laminar flow* untuk menghindari kontaminasi.
- b. Kertas cakram ditetesi ekstrak daun pacar air dengan konsentrasi 100%, 75%, 50%, 25%, 12,5% dan 6,25% , kontrol positif *chlorhexidine* dan kontrol negatif akuades steril sebanyak 20 µL menggunakan mikropipet yang diberi tip. Tip ini selalu diganti setiap pergantian sampel.

- c. Kertas cakram yang sudah ditetesi dibiarkan mengering kemudian diletakkan pada permukaan media yang sudah diberi suspensi bakteri menggunakan pinset steril sesuai dengan label.
- d. Petridish ditutup, kemudian dimasukkan dengan posisi terbalik ke dalam desikator untuk menciptakan kondisi anaerob, lalu desikator dimasukkan ke dalam inkubator untuk diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

3.7.3 Tahap Pengukuran Zona Hambat

Setelah dilakukan inkubasi selama 24 jam, kemudian dilakukan pengukuran diameter zona hambat di sekitar *paper disc* pada masing-masing kelompok penelitian dengan menggunakan jangka sorong digital. Pengukuran diameter zona hambat pada *petridish* dilakukan pada posisi terbalik. Diameter zona hambat diukur dari tepi (*break point*) ke tepi (*break point*) zona hambat yang bersebrangan melewati pusat *paper disc*. Jika tidak terdapat zona hambat di sekitar *paper disc*, maka dapat dikatakan bahwa nilai diameter zona hambat sebesar 0,00 mm. Jika terdapat zona hambat yang saling tumpang tindih antar kelompok penelitian, maka zona hambat diukur dari pusat *paper disc* 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) = $(a+b)/2$ (lihat gambar 3.2). Pengukuran dilakukan sebanyak 3 kali oleh orang yang berbeda dan diambil rata-rata (Hardman, 2001). Tiga orang yang melakukan pengukuran, sebelumnya dilakukan penyamaan persepsi dan diberi penjelasan tentang bagaimana cara mengukur zona hambat.



Gambar 3.2 Cara pengukuran zona hambatan

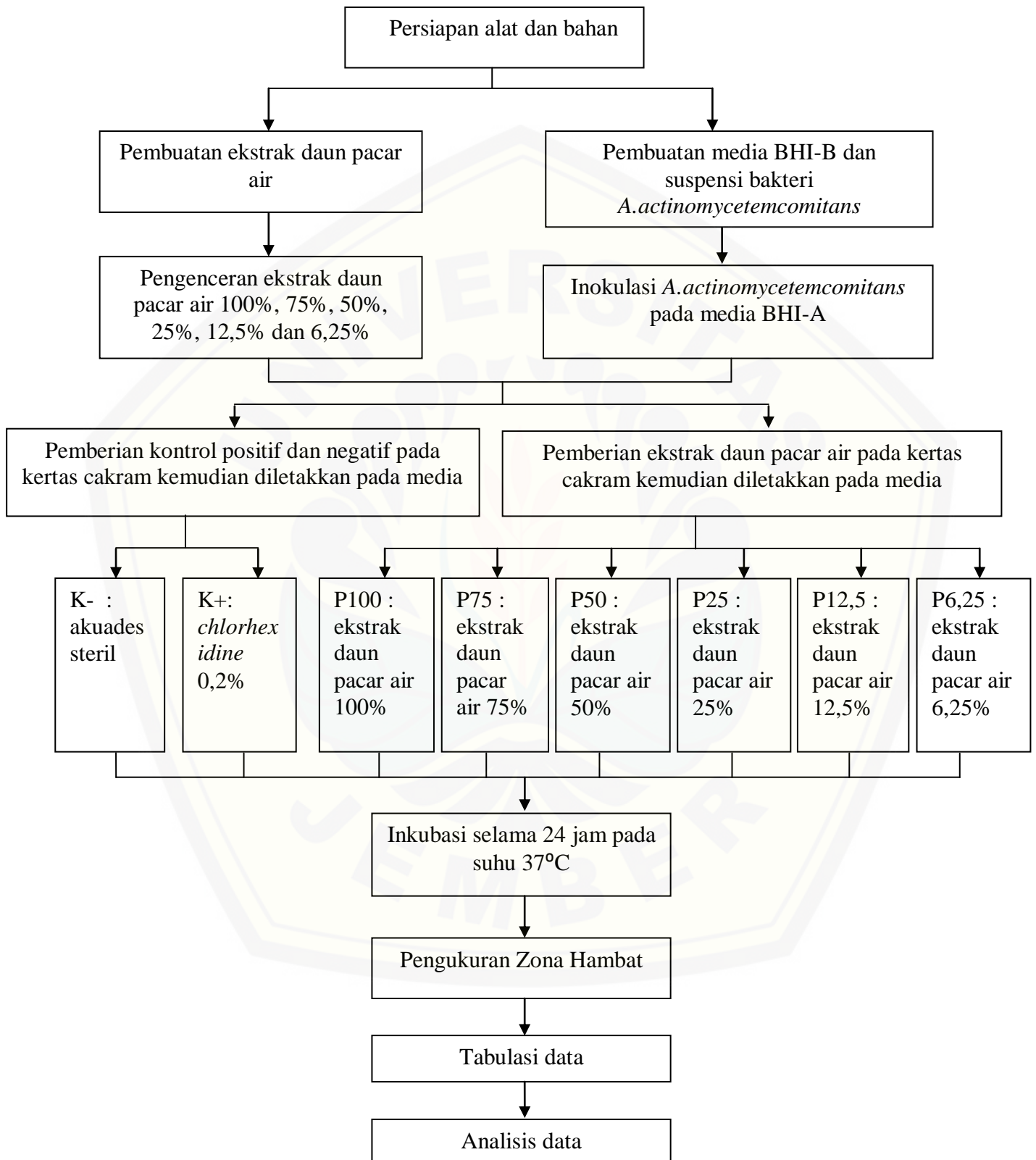
Keterangan :

- : Kertas cakram
- : Zona hambatan
- ↔ : Pengukuran zona hambatan
- a mm : Diameter panjang
- b mm : Diameter lebar

3.8 Analisis Data

Data yang diperoleh dilakukan uji normalitas menggunakan *Kolmogorov-Smirnov* untuk menguji apakah data berdistribusi normal dan uji homogenitas menggunakan *Levene Test*. Apabila data yang didapatkan tidak berdistribusi normal atau tidak homogen maka dilanjutkan dengan uji statistik nonparametrik yaitu *Kruskal-Wallis* untuk mengetahui perbedaan pada seluruh kelompok penelitian dan dilanjutkan dengan uji perbedaan antara setiap kelompok menggunakan uji statistik *Mann-Whitney* dengan kriteria apabila nilai signifikansi lebih dari 0,05 ($P > 0,05$), maka tidak ada perbedaan yang bermakna antar kelompok penelitian, dan apabila nilai signifikansi kurang dari 0,05 ($P < 0,05$) maka ada perbedaan yang bermakna antar kelompok penelitian.

3.9 Alur Penelitian



Gambar 3.3 Alur Penelitian

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun pacar air efektif dalam menghambat pertumbuhan *A.actinomyetemcomitans*. Konsentrasi ekstrak daun pacar air yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan *A.actinomyetemcomitans* adalah konsentrasi 100%

5.2 Saran

- 5.2.1 Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai uji biokompatibilitas ekstrak daun pacar air terhadap jaringan rongga mulut.
- 5.2.2 Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efektifitas ekstrak daun pacar air menggunakan metode ekstraksi yang berbeda.
- 5.2.3 Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai uji toksisitas ekstrak daun pacar air.
- 5.2.4 Perlu dilakukan isolasi terhadap zat aktif yang terkandung di dalam daun pacar air yang berguna sebagai antibakteri terhadap *Aggregatibacter actinomyetemcomitans*.

DAFTAR PUSTAKA

- Aberg, C. H. 2013. Exotoxins of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* and periodontal attachment loss in adolescent. *Thesis*. Sweden : Department of Odontology Umea University.
- Adfa, M. 2006. 6-Metoksi, 7-Hidroksi Kumarin dari Daun Pacar Air (*Impatiens balsamina* Linn). *Jurnal Gradien*. 2(2): 183-186.
- Adfa, M. 2008. Senyawa Antibakteri dari Daun Pacar Air (*Impatiens Balsamina* Lin). *Jurnal Gradien*. 4(1): 318-322.
- Agustrina, G. 2011. Potensi Propolis Lebah Madu Apis Mellifera Spp Sebagai Bahan Antibakteri. *Skripsi*. Bogor : Departemen Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- Alegantina, S., dan A. Isnawati. 2010. Identifikasi dan Penetapan Kadar Senyawa Kumarin dalam Ekstrak Metanol *Artemisia annua* L. Secara Kromatografi Lapis Tipis-Densitometri. *Buletin Penelitian Kesehatan*. 38(1): 17-28.
- Andrena, Y. Soeroso, dan E. W. Bachtiar. 2008. Evaluasi Pemberian Bahan *Allograft* dan *Alloplast* pada Penderita Periodontitis Agresif Menyeluruh dengan Genotipe Positif Alel 2 (+3954) Interleukin-1 Beta. *Indonesian Journal of Dentistry*. 15(2): 135-140.
- Andriani, I. 2012. Efektivitas Antara *Scaling Root Planing* (Srp) Dengan dan Tanpa Pemberian Ciprofloxacin Per Oral pada Penderita Periodontitis. *IDJ*. 1(2): 81-89.
- Cho C. M., H. K. You, dan S. N. Jeong. 2011. The Clinical Assessment of Aggressive Periodontitis Patients. *J Periodontal Implant Sci*. 41(3): 143-8.
- Corbella S., M. D. Fabbro, S. Taschieri, F. D. Siena, dan L. Francetti. 2011. Clinical Evaluation of an Implant Maintenance Protocol for the Prevention of Periimplant Diseases in Patients Treated with Immediately Loaded Full-arch Rehabilitations. *Journal of International Dental Hygiene*. (9): 216-222.

- Cushnie, T. P. T. Dan Lamb, A. J. 2005. "Review : Antimicrobial Activity of Flavonoids". *International Journal of Antimicrobial Agents*. 26(5) : 343-356
- Departemen Kesehatan. 2012. *Profil Kesehatan Indonesia Tahun 2011*. Jakarta: Badan Litbangkes.
- Ditjen POM. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Cetakan Pertama. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Dorland, W. A. N. 2012. *Kamus Kedokteran Dorland*. Edisi 28. Alih bahasa oleh Albertus A.M. *et al.* Jakarta: EGC.
- Gehrig, N., J. Shiffer, dan D.E. Willmann. 2011. *Foundations of Periodontics for the Dental Hygienist*. 3rd edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Hardman, J. G. 2001. *Goodman and Gillman's The Pharmacological Basic of Therapeutics*. Tenth Edition. USA: The Mc Graw-Hill Companies, inc.
- Himedia Laboratories. 2011. Technical Data: Brain Heart Infusion Agar. <http://himedialabs.com/td/m211.pdf>. [Diakses pada tanggal 17 Oktober 2017]
- Hotmauli, M. 2010. Perbandingan Efektivitas Ekstrak Daun Pacar Air (*Impatiens balsamina* Linn) dengan Ketokonazol 2% terhadap Pertumbuhan *Candida* American Type Culture Collection (ATCC) 1031 pada Media Sabouraud Dextrose Agar (SDA). *Skripsi*. Semarang : Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Hudzicki, J. 2009. Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol. *American Society for Microbiology* p.1-19
- Ismarani, D., L. Pratiwi, dan I. Kusharyanti. 2014. Formulasi Gel Pacar Air (*Impatiens Balsamina* Linn) terhadap *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermis*. *Pharmaceutical Sciences & Research*. 1(1): 30-45.

- Johansson, A. 2011. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* Leukotoxin : a Powerful Tool with Capacity to Cause Imbalance in the Host Inflammatory Response. *Toxins*. 3: 242-259.
- Joshiyura, V., U. Yadalam, dan B. Brahmavar. 2015. Aggressive Periodontitis : a Review. *Journal of the International Clinical Dental Research Organization*. 7(1) : 11-17.
- Kaplowitz, G. J., dan M. Cortell. 2008. *Chlorhexidine : A multi-functional Antimicrobial Drug*. Academic of Dental Therapeutics and Stomatology a division of PennWell.
- Karlina, C.Y., M. Ibrahim, dan G. Trimulyono. 2013. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Herba Krokot (*Portulaca oleracea* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Lentera Bio*. 2(1): 87-93.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2009. *Farmakope Herbal Indonesia*. Edisi Pertama. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Kesic, L., M. Petrovic, R. Obradovic, dan A. Pejic. 2009. The Importance of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* in Etiology of Periodontal Disease – Mini Review. *Acta Medica Medianae*. 48(3): 35-37.
- Kusuma, G.A., S. N. J. Longdong, dan R. A. Tumbol. 2014. Uji Daya Hambat Dari Ekstrak Tanaman Pacar Air (*Impatiens balsamina* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Ilmiah Platax*. 2(2): 40-47
- Lestari, G., dan I. P. Kencana. 2015. *Tanaman Hias Lanskap Edisi Revisi*. Jakarta: Penerbit Swadaya.
- Lolongan, R. A., O. Waworuntu, dan C. Mintjelungan. 2016. Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Ekstrak Daun Pacar Air (*Impatiens balsamina* L.) terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *Jurnal e-GIGI (eG)*. 4(2): 242-245.
- Madduluri S, K. B. Rao, dan B. Sitaram. 2013. In Vitro Evaluation of Antibacterial Activity of Five Indigenous Plants Extract Against Five

Bacterial Pathogens of Human. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science*. 5(4): 679-84.

Meenu B., Neeraja E.D., G. Rejimon, dan A. Varghese. 2015. Impatiens balsamina : An overview. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 7(9): 16-21.

Mevrayano, J., Rahmatini, dan E. Bahar. 2015. Perbandingan Efektivitas Obat Kumur yang Mengandung *Chlorhexidine* dengan *Povidone Iodine* terhadap *S.mutans*. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 4(1): 168-171.

Monalisa, D., T. Handayani, dan D. Sukmawati. 2011. Uji Daya Antibakteri Ekstrak Daun Tapak Liman (*Elephantopus scaber* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi*. *Jurnal BIOMA*. 9(2): 13-20.

Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*. 7(2): 361-367

Murray, P., K. S. Rosenthal, M. A. Pfaller. 2007. *Medical Microbiology*. St. Louis: Mosby

Newman, M.G., H. H. Takei, P. R. Kokkevoold, dan F. A. Carranza. 2015. *Carranza's Clinical Periodontology*. 12th edition. St. Louis: Sanders Elsevier.

Nibali, L. 2015. Agressive Periodontitis : microbes and host response, who to blame?. *Virulence*. 6(3): 223-228.

Noack, B. dan T. Hoffman. 2004. Agressive Periodontitis. *Perio*. 1(4): 335-344.

Nurdin, G. M., D. R. Husain dan Sartini. 2013. Bioaktivitas Ekstrak Daun Pacar Air *Impatiens balsamina* L. Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* Penyebab Cantengan. *Skripsi*. Makassar : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hassanudin.

Pramudita, T., L. Syafnir, dan L. Purwanti. 2015. *Isolasi Senyawa Flavonoid dari Ekstrak Daun Pacar Air (Impatiens Balsamina L.)*. *Prosiding Farmasi SPeSIA* 1(1). 11 Februari 2015. Universitas Islam Bandung: 19-24.

- Pratiwi D. A. N. 2014. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Pacar Kuku (*Lawsonia inermis* L.) dan Bioautografi terhadap *Bacillus subtilis* dan *Shigella sonnei*. *Skripsi*. Surakarta : Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Pratiwi, E. 2010. Perbandingan Metode Maserasi, Remaserasi, Perkolasi dan Reperkolasi dalam Ekstraksi Senyawa Aktif Andrographolide dari Tanaman Sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees). *Skripsi*. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor.
- Prayoga, E. 2013. Perbandingan Efek Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) Dengan Metode Difusi Disk dan Sumuran Terhadap Pertumbuhan Bakteri *S.aureus*. *Skripsi*. Jakarta: Program Studi Pendidikan Kedokteran Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Ragavendran, R., P. V. Ramya, dan Paddmanabhan. 2015. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*: its Role in Periodontitis. *Biomedical & Pharmacology Journal*. 8(Spl. Edn): 249-252.
- Raja, M., F. Ummer, dan C. P. Dhivakar. 2014. *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans* – A Tooth Killer?. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 8(8): 13-16
- Rajendran, R., A. Manikandan, K. Hemalatha, M. M. Sweety, dan P. Prabhavathi. 2014. Antimicrobial Activity of *Impatiens balsamina* Plants Extract. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 3(7): 1280-1286
- Ridwan, R. D. 2012. The Role of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* Fimbrial Adhesin on MMP-8 Activity in Aggressive Periodontitis Pathogenesis. *Dental Journal (Maj. Ked. Gigi)*. 45(4): 181-186.
- Redha, A. 2010. Flavonoid : Struktur, Sifat Antioksidatif dan Peranannya Dalam Sistem Biologis. *Jurnal Belian* 9(2): 196-202.
- Sapara, T. U., O. Waworuntu, dan Juliantri. 2016. Efektivitas Antibakteri Ekstrak Daun Pacar Air (*Impatiens Balsamina* L.) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Porphyromonas gingivalis*. *Pharmacon Jurnal Ilmiah Farmasi* 5(4): 10-17.

- Singh, B., A. Garg, dan R. K. Garg. 2013. Aggressive Periodontitis : a Review. *Dental Journal of Advance Studies*. 1(3): 129-135.
- Sonandkar, A. A., P.N. Agrawal, D.M. Madrewar, S.M. Labana, dan A.P. Jain. 2014. Simultaneous Quantification of Three Naphthaquinones from *Impatiens balsamina* L. Leaves Using Validated RP-HPLC Method. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 5(10): 4281-4287.
- Sujarnoko, T. U. P. 2012. Studi Meta-Analisis Efek Senyawa Metabolit Sekunder Tanin Terhadap Kualitas Silase. *Skripsi*. Bogor: Departemen Ilmu Nutrisi Teknologi Pakan, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor.
- Vaidya, P., V. Jindal, A. Tulli, D.K. Gautam, dan S. C. Gupta. 2012. Aggressive Periodontitis – As A Clinical Entity. *Indian Journal of Dental Sciences*. 4: 107-109.

LAMPIRAN

3.1 Rumus Pengenceran Ekstrak Daun Pacar Air

Konsentrasi ekstrak daun pacar air yang digunakan adalah 100%, 75%, 50%, 25%, 12,5% dan 6,25%. Konsentrasi tersebut didapatkan dengan pengenceran menggunakan akuades steril berdasarkan rumus sebagai berikut.

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

Keterangan :

V1 : Volume pertama (volume larutan ekstrak konsentrasi pertama)

V2 : Volume kedua (volume larutan ekstrak yang akan dibuat)

M1 : Konsentrasi awal (konsentrasi larutan ekstrak pertama)

M2 : Konsentrasi kedua (konsentrasi larutan ekstrak yang akan dibuat)

Cara pengencerannya yaitu :

1. Untuk memperoleh ekstrak daun pacar air 75% sebanyak 1000 μ l : 750 μ l ekstrak daun pacar air ditambah 250 μ l akuades steril
2. Untuk memperoleh ekstrak daun pacar air 50% sebanyak 1000 μ l :

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 \times 100\% = 1000 \mu\text{l} \times 50\%$$

$$V1 = \frac{1000 \mu\text{l} \times 50\%}{100\%}$$

$$V1 = 500 \mu\text{l}$$

Volume pelarut yang ditambahkan adalah :

$$V2 - V1 = 1000 \mu\text{l} - 500 \mu\text{l} = 500 \mu\text{l}$$

Jadi ekstrak daun pacar air konsentrasi 50% didapatkan dengan menambahkan akuades steril sebanyak 500 μ l ke dalam 500 μ l ekstrak daun pacar air konsentrasi 100%.

3. Untuk memperoleh ekstrak daun pacar air 25% sebanyak 1000 μ l :

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 \times 100\% = 1000 \mu\text{l} \times 25\%$$

$$V1 = \frac{1000 \mu\text{l} \times 25\%}{100\%}$$

$$V1 = \frac{1000 \mu\text{l} \times 25\%}{100\%} = 250 \mu\text{l}$$

Volume pelarut yang ditambahkan adalah :

$$V2 - V1 = 1000 \mu\text{l} - 250 \mu\text{l} = 750 \mu\text{l}$$

Jadi ekstrak daun pacar air konsentrasi 25% didapatkan dengan menambahkan akuades steril sebanyak 750 μl ke dalam 250 μl ekstrak daun pacar air konsentrasi 100%.

4. Untuk memperoleh ekstrak daun pacar air 12,5% sebanyak 1000 μl :

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 \times 100\% = 1000 \mu\text{l} \times 12,5\%$$

$$V1 = \frac{1000 \mu\text{l} \times 12,5\%}{100\%}$$

$$V1 = 125 \mu\text{l}$$

Volume pelarut yang ditambahkan adalah :

$$V2 - V1 = 1000 \mu\text{l} - 125 \mu\text{l} = 875 \mu\text{l}$$

Jadi ekstrak daun pacar air konsentrasi 25% didapatkan dengan menambahkan akuades steril sebanyak 875 μl ke dalam 125 μl ekstrak daun pacar air konsentrasi 100%.

5. Untuk memperoleh ekstrak daun pacar air 6,25% sebanyak 1000 μl :

$$V1 \times M1 = V2 \times M2$$

$$V1 \times 100\% = 1000 \mu\text{l} \times 6,25\%$$

$$V1 = \frac{1000 \mu\text{l} \times 6,25\%}{100\%}$$


$$V1 = 62,5 \mu\text{l}$$

Volume pelarut yang ditambahkan adalah :


$$V2 - V1 = 1000 \mu\text{l} - 62,5 \mu\text{l} = 937,5 \mu\text{l}$$

Jadi ekstrak daun pacar air konsentrasi 25% didapatkan dengan menambahkan akuades steril sebanyak 937,5 μl ke dalam 62,5 μl ekstrak daun pacar air konsentrasi 100%.

3.2 Surat Keterangan Identifikasi Tumbuhan



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)
UPT BALAI KONSERVASI TUMBUHAN
KEBUN RAYA PURWODADI
 Jl. Raya Surabaya - Malang Km. 65 Purwodadi - Pasuruan 67163
 Telp. (+62 343) 615033, Faks. (+62 341) 4266046
 website : <http://www.krpurwodadi.lipi.go.id>



SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TUMBUHAN
 No: 1056 /IPH.06/HM/VIII/2017

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

Nama : Arofah Noor Berliana
 NIM : 141610101075
 Instansi : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
 Tanggal material : 28 Agustus 2017
 diterima

Telah diidentifikasi/determinasi berdasarkan koleksi herbarium dan koleksi kebun serta referensi ilmiah, dengan hasil sebagai berikut:


Kingdom : Plantae
 Division : Magnoliophyta
 Class : Magnoliopsida
 Subclass : Rosidae
 Ordo : Geraniales
 Family : Balsaminaceae
 Genus : Impatiens
 Species : *Impatiens balsamina* L.

Referensi:

1. Backer CA & Bakhuizen van den Brink RC. 1963. Flora of Java Vol.I. NVP No ordhoff, Groningen, The Netherlands. Hal. 249
2. Cronquist A. 1981. An Integrated System of Classification of Flowering Plants. Columbia University Press, New York, USA. Hal. XVI


Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Purwodadi, 4 September 2017
 An. Kepala
 Kepala Seksi Eksplorasi dan Koleksi Tumbuhan



Deden Mudiana, S.Hut., M.Si.

3.3 Surat Keterangan Identifikasi Bakteri



LABORATORIUM MIKROBIOLOGI
BAGIAN BIOMEDIK KEDOKTERAN GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER

SURAT KETERANGAN
No. 0130 / MIKRO / S.KET / 2017

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

Nama : Arofah Noor Berliana
NIM : 141610101075
Fakultas : Kedokteran Gigi
Keperluan : Penelitian

Telah melakukan uji identifikasi terhadap isolat bakteri *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* dengan menggunakan pengecatan Gram dan diamati secara mikroskopis menunjukkan hasil cocco-bacillus, Gram negative dan tidak terkontaminasi.

Jember, 16 Januari 2018

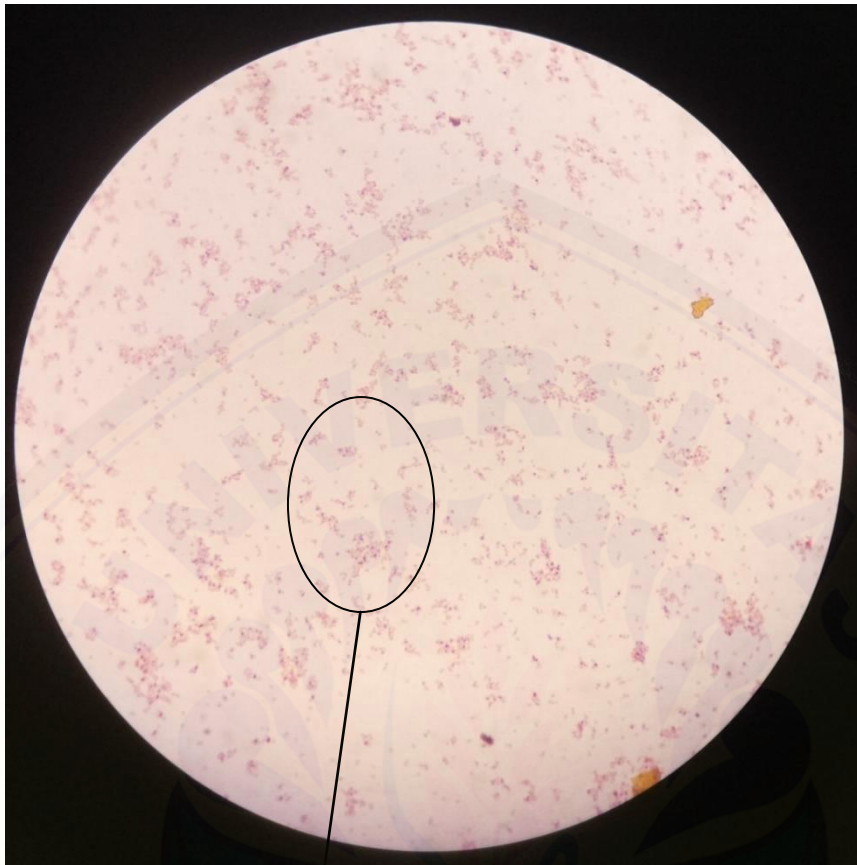
Mengetahui,
Kepala Bagian Biomedik Kedokteran Gigi

Penanggung Jawab Lab. Mikrobiologi

(drg. Amandia Dewi Permana Shita, M.Biomed)
NIP. 198006032006042002

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

Gambaran mikroskopis *A.actinomycetemcomitans* dengan perbesaran 1000x

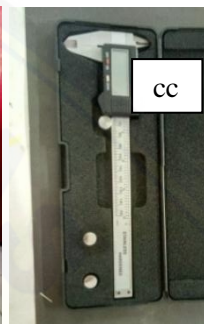
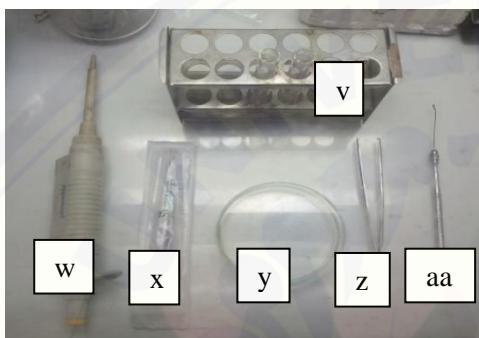


Bakteri berbentuk kokobasil
dan berwarna merah

3.4. Alat dan Bahan Penelitian

3.4.1 Alat Penelitian





Keterangan :

- | | |
|-----------------------------|------------------------------------|
| a. Oven | p. <i>Thermolyne</i> |
| b. Inkubator | q. Kompor listrik dan panci |
| c. <i>Rotary evaporator</i> | r. <i>Spektrofotometer</i> |
| d. Tabung <i>erlenmeyer</i> | s. <i>Laminar flow</i> |
| e. <i>Beaker glass</i> | t. <i>Autoclave</i> |
| f. Corong kaca | u. Mikroskop binokuler |
| g. <i>Rotary flask</i> | v. Tabung rekasi |
| h. Spatula kaca | w. Mikropipet |
| i. Nampan alumunium | x. <i>Syringe</i> |
| j. Tip kuning | y. <i>Petridish</i> tidak bersekat |
| k. Ayakan | z. Pinset |
| l. Gelas ukur | aa. Ose |
| m. Blender | bb. <i>Desicator</i> |
| n. Toples kaca | cc. Jangka sorong digital |
| o. Timbangan digital | |

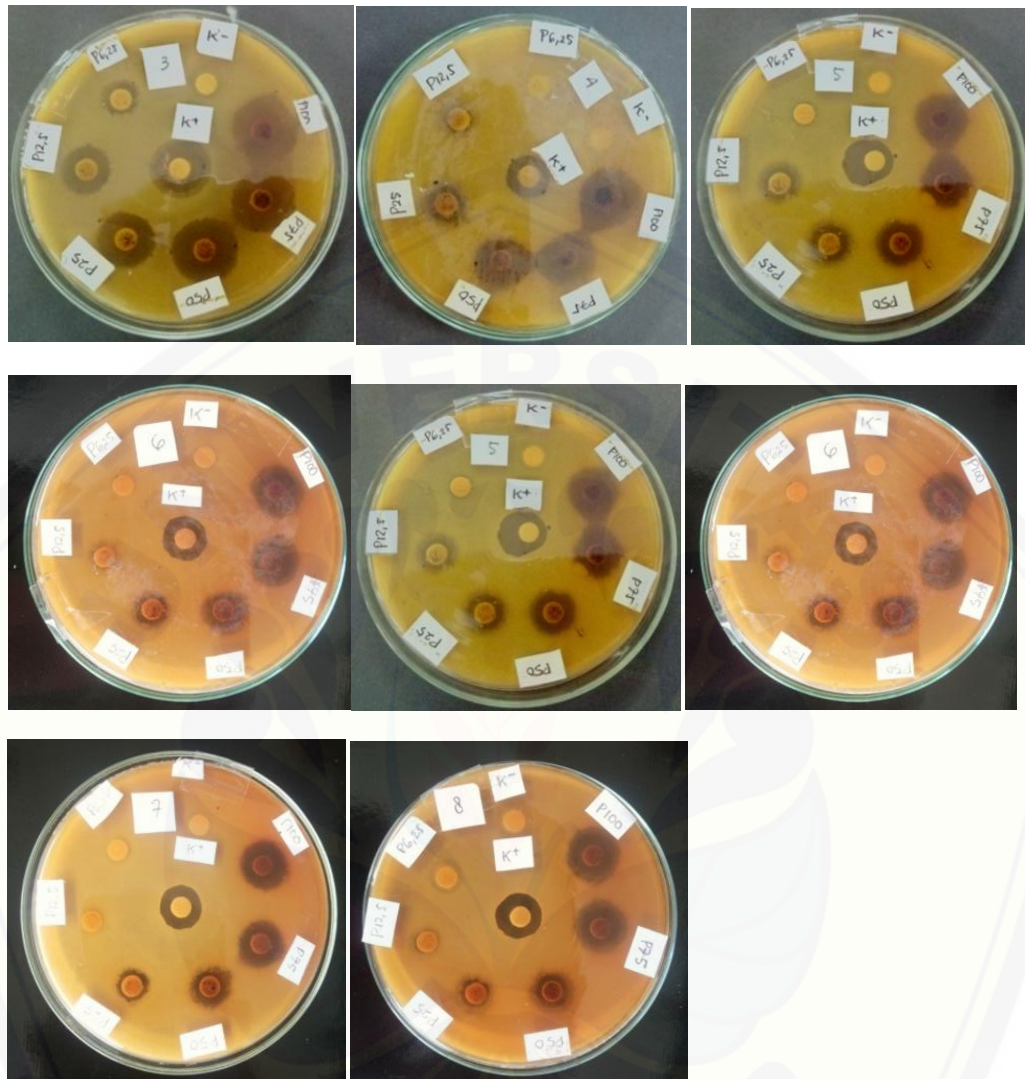
3.4.2 Bahan Penelitian



Keterangan :

- a. BHI-A
- b. BHI-B
- c. Etanol 96%
- d. Ekstrak daun pacar air
- e. Akuades steril
- f. Chlorhexidine
- g. Suspensi
A.actinomycetemcomitans
- h. Paper disc
- i. Alumunium foil
- j. Kertas saring

4.1 Hasil Penelitian



4.2 Analisis Data

4.2.1 Hasil Uji Normalitas Menggunakan *Kolmogorov-Smirnov*

		One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test							
		K -	K +	P6,25	P12,5	P25	P50	P75	P100
N		8	8	8	8	8	8	8	8
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	,00	11,9188	6,9050	9,1100	11,8925	14,1825	15,9388	16,8038
	Std. Deviation	,000 ^c	1,08200	1,24894	1,95014	1,77250	2,28133	1,81650	2,16147
Most Extreme Differences	Absolute		,202	,164	,254	,180	,125	,216	,190
	Positive		,164	,164	,254	,180	,106	,216	,190
	Negative		-,202	-,156	-,181	-,144	-,125	-,137	-,103
Test Statistic			,202	,164	,254	,180	,125	,216	,190
Asymp. Sig. (2-tailed)			,200 ^{d,e}	,200 ^{d,e}	,138 ^d	,200 ^{d,e}	,200 ^{d,e}	,200 ^{d,e}	,200 ^{d,e}

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

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

d. Lilliefors Significance Correction.

e. This is a lower bound of the true significance.

4.2.2 Hasil Uji Homogenitas Menggunakan *Levene Test*

Test of Homogeneity of Variances

Zona hambatan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
5,075	7	56	,000

4.2.3 Hasil Uji Non-Parametrik Menggunakan *Kruskal-Wallis*

Perlakuan		N	Mean Rank
Zona	K-	8	4,50
hambat	K+	8	33,50
	P6,25	8	13,63
	P12,5	8	21,88
	P25	8	33,19
	P50	8	44,81
	P75	8	52,63
	P100	8	55,88
	Total	64	

	Hasil
Chi-Square	54,515
df	7
Asymp. Sig.	,000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: perlakuan

4.2.4 Hasil Uji Non-Parametrik Menggunakan *Mann-Whitney*

A. Hasil Uji K- dengan K+

Perlakuan		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona	K-	8	4,50	36,00
hambat	K+	8	12,50	100,00
	Total	16		

	Zona hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	36,000
Z	-3,590
Asymp. Sig. (2-tailed)	,000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,000 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

B. Hasil uji K- dengan P6,25

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona	K-	8	4,50	36,00
hambat	P6,25	8	12,50	100,00
	Total	16		

Test Statistics^a

	Zona hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	36,000
Z	-3,590
Asymp. Sig. (2-tailed)	,000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,000 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

C. Hasil uji K- dengan P12,5

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona	K-	8	4,50	36,00
hambat	P12,5	8	12,50	100,00
	Total	16		

Test Statistics^a

	Zona hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	36,000
Z	-3,593
Asymp. Sig. (2-tailed)	,000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,000 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

D. Hasil uji K- dengan P25

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona	K-	8	4,50	36,00
hambat	P25	8	12,50	100,00
	Total	16		

Test Statistics^a

	Zona hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	36,000
Z	-3,590
Asymp. Sig. (2-tailed)	,000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,000 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

E. Hasil uji K- dengan P50

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona hambat	K-	8	4,50	36,00
	P50	8	12,50	100,00
	Total	16		

Test Statistics^a

	Zona hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	36,000
Z	-3,590
Asymp. Sig. (2-tailed)	,000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,000 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

F. Hasil uji K- dengan P75

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona hambat	K-	8	4,50	36,00
	P75	8	12,50	100,00
	Total	16		

Test Statistics^a

	Zona hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	36,000
Z	-3,590
Asymp. Sig. (2-tailed)	,000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,000 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

G. Hasil uji K- dengan P100

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona	K-	8	4,50	36,00
hambat	P100	8	12,50	100,00
	Total	16		

Test Statistics^a

	Zona hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	36,000
Z	-3,590
Asymp. Sig. (2-tailed)	,000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,000 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

H. Hasil uji K+ dengan P6,25

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona	K+	8	12,50	100,00
hambat	P6,25	8	4,50	36,00
	Total	16		

Test Statistics^a

	Zona hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	36,000
Z	-3,361
Asymp. Sig. (2-tailed)	,001
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,000 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

I. Hasil uji K+ dengan P12,5

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona	K+	8	11,63	93,00
hambat	P12,5	8	5,38	43,00
	Total	16		

Test Statistics^a

	Zona hambat
Mann-Whitney U	7,000
Wilcoxon W	43,000
Z	-2,627
Asymp. Sig. (2-tailed)	,009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,007 ^b

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

J. Hasil uji K+ dengan P25

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona hambat	K+	8	8,75	70,00
	P25	8	8,25	66,00
	Total	16		

Test Statistics^a

	Zona hambat
Mann-Whitney U	30,000
Wilcoxon W	66,000
Z	-,210
Asymp. Sig. (2-tailed)	,834
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,878 ^b

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

K. Hasil uji K+ dengan P50

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona hambat	K+	8	6,13	49,00
	P50	8	10,88	87,00
	Total	16		

Test Statistics^a

	Zona hambat
Mann-Whitney U	13,000
Wilcoxon W	49,000
Z	-1,995
Asymp. Sig. (2-tailed)	,046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,050 ^b

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

L. Hasil uji K+ dengan P75

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona hambat	K+	8	4,50	36,00
	P75	8	12,50	100,00
	Total	16		

Test Statistics^a

	Zona hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	36,000
Z	-3,361
Asymp. Sig. (2-tailed)	,001
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,000 ^b

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

M. Hasil uji K+ dengan P100

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona hambat	K+	8	4,50	36,00
	P100	8	12,50	100,00
	Total	16		

Test Statistics^a

	Zona hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	36,000
Z	-3,361
Asymp. Sig. (2-tailed)	,001
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,000 ^b

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

N. Hasil uji P6,25 dengan P12,5

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona hambat	P6,25	8	5,63	45,00
	P12,5	8	11,38	91,00
	Total	16		

Test Statistics^a

	Zona hambat
Mann-Whitney U	9,000
Wilcoxon W	45,000
Z	-2,417
Asymp. Sig. (2-tailed)	,016
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,015 ^b

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

O. Hasil uji P6,25 dengan P25

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona hambat	P6,25	8	4,50	36,00
	P25	8	12,50	100,00
	Total	16		

Test Statistics^a

	Zona hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	36,000
Z	-3,361
Asymp. Sig. (2-tailed)	,001
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,000 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

P. Hasil uji P6,25 dengan P50

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona hambat	P6,25	8	4,50	36,00
	P50	8	12,50	100,00
	Total	16		

Test Statistics^a

	Zona hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	36,000
Z	-3,361
Asymp. Sig. (2-tailed)	,001
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,000 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Q. Hasil uji P6,25 dengan P75

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona hambat	P6,25	8	4,50	36,00
	P75	8	12,50	100,00
	Total	16		

Test Statistics^a

	Zona hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	36,000
Z	-3,361
Asymp. Sig. (2-tailed)	,001
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,000 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

R. Hasil uji P6,25 dengan P100

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona	P6,25	8	4,50	36,00
hambat	P100	8	12,50	100,00
	Total	16		

Test Statistics^a

	Zona hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	36,000
Z	-3,361
Asymp. Sig. (2-tailed)	,001
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,000 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

S. Hasil uji P12,5 dengan P25

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona	P12,5	8	5,75	46,00
hambat	P25	8	11,25	90,00
	Total	16		

Test Statistics^a

	Zona hambat
Mann-Whitney U	10,000
Wilcoxon W	46,000
Z	-2,314
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,021 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

T. Hasil uji P12,5 dengan P50

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona	P12,5	8	4,88	39,00
hambat	P50	8	12,13	97,00
	Total	16		

Test Statistics^a

	Zona hambat
Mann-Whitney U	3,000
Wilcoxon W	39,000
Z	-3,048
Asymp. Sig. (2-tailed)	,002
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,001 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

U. Hasil uji P12,5 dengan P75

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona	P12,5	8	4,50	36,00
hambat	P75	8	12,50	100,00
	Total	16		

Test Statistics^a

	Zona hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	36,000
Z	-3,363
Asymp. Sig. (2-tailed)	,001
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,000 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

V. Hasil uji P12,5 dengan P100

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona	P12,5	8	4,50	36,00
hambat	P100	8	12,50	100,00
	Total	16		

Test Statistics^a

	Zona hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	36,000
Z	-3,363
Asymp. Sig. (2-tailed)	,001
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,000 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

W. Hasil uji P25 dengan P50

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona	P25	8	6,06	48,50
hambat	P50	8	10,94	87,50
	Total	16		

Test Statistics^a

	Zona hambat
Mann-Whitney U	12,500
Wilcoxon W	48,500
Z	-2,051
Asymp. Sig. (2-tailed)	,040
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,038 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

X. 24 Hasil uji P25 dengan P75

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona	P25	8	5,00	40,00
hambat	P75	8	12,00	96,00
	Total	16		

Test Statistics^a

	Zona hambat
Mann-Whitney U	4,000
Wilcoxon W	40,000
Z	-2,943
Asymp. Sig. (2-tailed)	,003
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,002 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Y. Hasil uji P25 dengan P100

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona	P25	8	4,63	37,00
hambat	P100	8	12,38	99,00
	Total	16		

Test Statistics^a

	Zona hambat
Mann-Whitney U	1,000
Wilcoxon W	37,000
Z	-3,258
Asymp. Sig. (2-tailed)	,001
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,000 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Z. Hasil uji P50 dengan P75

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona	P50	8	6,75	54,00
hambat	P75	8	10,25	82,00
	Total	16		

Test Statistics^a

	Zona hambat
Mann-Whitney U	18,000
Wilcoxon W	54,000
Z	-1,470
Asymp. Sig. (2-tailed)	,141
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,161 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

AA. Hasil uji P50 dengan P100

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona	P50	8	6,13	49,00
hambat	P100	8	10,88	87,00
	Total	16		

Test Statistics^a

	Zona hambat
Mann-Whitney U	13,000
Wilcoxon W	49,000
Z	-1,995
Asymp. Sig. (2-tailed)	,046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,050 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

BB. Hasil uji P75 dengan P100

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona	P75	8	7,38	59,00
hambat	P100	8	9,63	77,00
	Total	16		

Test Statistics^a

	Zona hambat
Mann-Whitney U	23,000
Wilcoxon W	59,000
Z	-,945
Asymp. Sig. (2-tailed)	,345
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,382 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.