



**DAYA HAMBAT EKSTRAK BUAH DELIMA MERAH (*Punica
granatum Linn*) TERHADAP PERTUMBUHAN
*Streptococcus sanguis***

SKRIPSI

Oleh

Fadhilah Rusmaputeri

NIM 141610101008

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS JEMBER

2018



DAYA HAMBAT EKSTRAK BUAH DELIMA MERAH (*Punica granatum Linn*) TERHADAP PERTUMBUHAN *Streptococcus sanguis*

SKRIPSI

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

Oleh

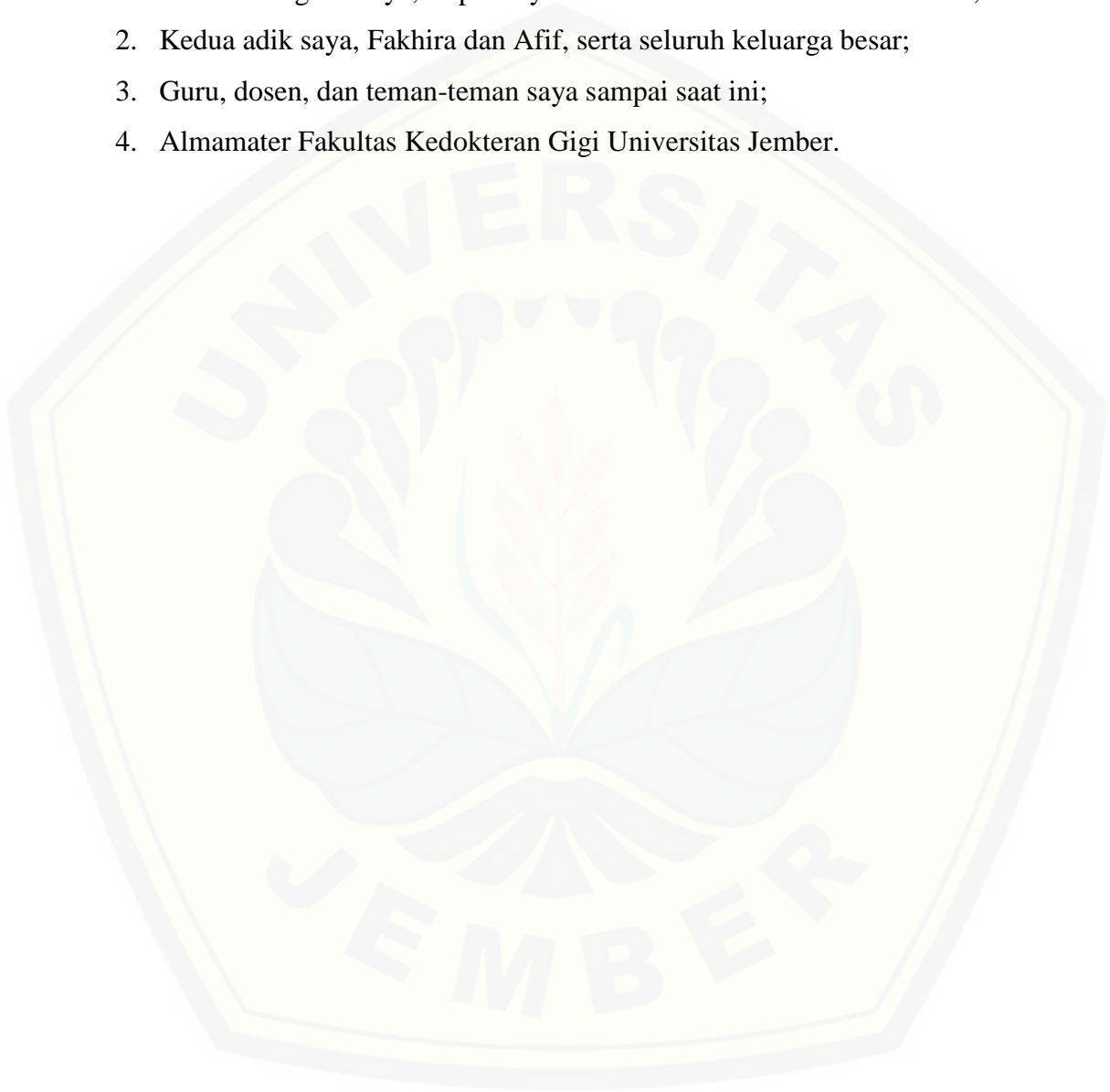
Fadhilah Rusmaputeri
NIM 141610101008

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2018

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Kedua orang tua saya, Bapak Uyus Rusana dan Ibu Nuri Susiamamik;
2. Kedua adik saya, Fakhira dan Afif, serta seluruh keluarga besar;
3. Guru, dosen, dan teman-teman saya sampai saat ini;
4. 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)



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Fadhilah Rusmaputeri

NIM : 141610101008

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul "Daya Hambat Ekstrak Buah Delima Merah (*Punica granatum* Linn) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus sanguis*" 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, 11 April 2018

Yang menyatakan,

Fadhilah Rusmaputeri

NIM 141610101008

SKRIPSI

**DAYA HAMBAT EKSTRAK BUAH DELIMA MERAH (*Punica granatum*
Linn) TERHADAP PERTUMBUHAN *Streptococcus sanguis***

Oleh

Fadhilah Rusmaputeri

NIM 141610101008

Dosen Pembimbing :

Dosen Pembimbing Utama : Dr. drg. Sri Hernawati, M.Kes.

Dosen Pembimbing Pendamping : drg. Pujiana Endah Lestari, M.Kes.

PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul “Daya Hambat Ekstrak Buah Delima Merah (*Punica granatum Linn*) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus sanguis*” telah diuji pada;

Hari, Tanggal : Rabu, 11 April 2018

Tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Dosen Penguji Ketua

Dosen Penguji Anggota

drg. Tantin Ermawati, M.Kes.

NIP 198003222008122000

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

NIP 197104092005012000

Dosen Pembimbing Utama

Dosen Pembimbing Anggota

Dr. drg. Sri Hernawati, M. Kes.

NIP 197007052003122001

drg. Pujiana Endah Lestari, M. Kes.

NIP 197608092005012002

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

drg. R. Rahardyan Parnaadji, M. Kes., Sp. Pros.

NIP 196901121996011001

RINGKASAN

Daya Hambat Ekstrak Buah Delima Merah (*Punica granatum Linn*) terhadap Pertumbuhan *Streptococcus sanguis*; Fadhilah Rusmaputeri, 141610101008; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Bakteri *Streptococcus sanguis* (*S. sanguis*) merupakan bakteri gram positif yang menginisiasi terbentuknya plak. Plak merupakan lapisan tipis biofilm yang mengandung bakteri, produk bakteri, dan sisa makanan. Lapisan ini melekat pada permukaan gigi dan berwarna putih atau putih kekuningan. Bakteri *S. sanguis* memfasilitasi bakteri lain untuk berkoloni membentuk biofilm dengan cara berikatan pada protein saliva seperti *proline-rich*. Plak terbentuk melalui sebuah proses yang terdiri dari beberapa tahap. Plak dapat terakumulasi apabila kebersihan gigi dan mulut terabaikan. Hal ini dapat memicu timbulnya infeksi rongga mulut, seperti penyakit periodontal dan karies gigi yang banyak diderita masyarakat Indonesia.

Masyarakat selama ini menjaga kebersihan dan kesehatan mulut dengan beberapa cara, baik secara mekanis maupun secara kimiawi. Umumnya, masyarakat melakukan dengan cara mekanis menggunakan sikat gigi dan benang gigi. Selain itu dapat pula ditambahkan penggunaan obat kumur untuk menghilangkan plak secara kimiawi. Obat kumur yang umum digunakan masyarakat saat ini *chlorhexidine* yang terbukti paling efektif dari agen-agen pengontrol plak teraupetik lainnya karena dapat melekat secara ionik pada permukaan gigi dan mukosa dalam konsentrasi tinggi selama beberapa jam. Namun penggunaan *chlorhexidine* secara terus-menerus dapat menimbulkan efek. Sehingga obat kumur dengan campuran bahan-bahan alami saat ini banyak digunakan oleh masyarakat, dikarenakan efek samping yang minimal.

Pemanfaatan tanaman obat di Indonesia mulai berkembang. Sebanyak 59,12% Penduduk Indonesia memanfaatkan obat tradisional sebagai salah satu pilihan dalam memelihara kesehatan. Salah satu tumbuhan yang sering dimanfaatkan sebagai obat tradisional adalah delima merah. Potensi buah delima merah sebagai pengobatan dan pencegahan penyakit sangat luas dan sudah

dikenal sejak lama. Delima mengandung *polifenol flavonoid*, *antosianin*, dan *tannin* diantaranya *ellagitannins*, *asam ellagic* dan *punicalgin* yang diduga berfungsi sebagai antibakteri.

Penelitian ini merupakan jenis eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *the post-test only control group design*. Sampel berjumlah 5 untuk setiap kelompok penelitian dan terdapat 6 kelompok penelitian yaitu, ekstrak buah delima merah yang didapatkan dengan cara maserasi dengan konsentrasi 100%, 75%, 50%, 25%, obat kumur *clorhexidine* 0,2% (kontrol positif) dan *aquadest* steril (kontrol negatif). Metode yang digunakan untuk mengetahui sifat antibakteri kelompok penelitian adalah metode *disk diffusion* (*Kirby-Bauer*). *Blank disc* ditetesi dengan bahan ekstrak konsentrasi 100%, 75%, 50%, 25%, kontrol positif, dan kontrol negatif. Diletakkan pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA) yang sudah di inokulasikan suspensi bakteri *Streptococcus sanguis*. Semua petridish kemudian di masukkan kedalam desicator dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dalam inkubator. Setelah 24 jam kemudian zona bening disekitar cakram diukur dengan menggunakan jangka sorong.

Data hasil penelitian kemudian dilakukan analisis secara statistik. Uji normalitas menggunakan *Kolmogorov-Smirnov*, uji homogenitas menggunakan *Levene's test*, kemudian dilanjutkan dengan uji *Kruskal-Wallis* dan dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*. Hasil Uji *Kolmogorov-Smirnov* $p > 0.05$ menandakan data terdistribusi normal. Uji Homogenitas $p < 0.05$ menandakan data tidak homogen, maka dilanjutkan uji non parametrik *Kruskal-Wallis* $p < 0.05$ menandakan ada perbedaan pada setiap kelompok penelitian. Dilanjutkan uji *Mann-Whitney* dan didapatkan perbedaan bermakna pada setiap kelompok penelitian kecuali kontrol positif (*clorhexidine* 0,2%) dengan ekstrak buah delima konsentrasi 100% dan 75%, dan ekstrak buah delima merah konsentrasi 100% dengan ekstrak buah delima merah konsentrasi 75%. Maka dapat disimpulkan ekstrak buah delima merah mampu menghambat pertumbuhan *Streptococcus sanguis*.

PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT karena hanya dengan ridho dan karunianya semata penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul "Daya Hambat Ekstrak Buah Delima Merah (*Punica granatum Linn*) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus sanguis*" sebagai persyaratan menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

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

1. Allah SWT atas limpahan rahmat, hidayah, kemudahan, dan berkah yang tiada habisnya.
2. Kedua orangtua; Uyus Rusana dan Nuri Susiamamik, yang selalu mendukung, memberikan semangat, kasih sayang, doa dan bimbingan, serta kepercayaan kepada penulis.
3. Kedua adik; Fakhira Rusmaputeri dan Afif Firdaus Rusma Putera, beserta seluruh keluarga besar yang selalu memberikan keceriaan dan dorongan supaya cepat menyelesaikan studi.
4. drg. Rahardyan Parnaadji, M.Kes, sp. Prost sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
5. drg. Sri Hernawati sebagai pembimbing utama yang selalu membimbing, memberikan saran, membantu, dan mendorong supaya penelitian cepat selesai.
6. drg. Pujiana Endah Lestari, M.Kes sebagai pembimbing pendamping yang selalu memberikan masukan, saran, dan semangat untuk menyelesaikan skripsi ini sebaik mungkin.
7. drg. Tantin Ermawati, M.Kes dan drg. Melok Aris Wahyukundari, M.Kes., Sp. Perio sebagai penguji yang sudah meluangkan waktu untuk membaca, memberikan kritik dan saran dalam penulisan skripsi ini.
8. Staff Laboratorium Bioscience dan staff akademik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

9. Teman-teman angkatan 2014 yang selalu mendukung dan memberi semangat untuk terus berjuang hingga selesai.
10. Teman seperjuangan ekstrak buah delima merah, Erlita dan Kholisa, yang sangat membantu dalam pelaksanaan penelitian.
11. Febby Iswayuni yang telah membantu penulis dalam menganalisis data penelitian serta memberi semangat dalam menyelesaikan skripsi.
12. Najla Irhamni Phasa selaku editor naskah skripsi penulis.
13. Teman *kost* tercinta Karunia “Abon” yang selalu siap menemani penulis kapanpun dibutuhkan.
14. Hario Prakoso yang selalu mendukung, memberikan semangat dan motivasi penulis untuk menyelesaikan studi.
15. Teman-teman “Singset”; Devica, Arin, dan Sasa, yang telah membantu penulis mempersiapkan segala keperluan penyelesaian skripsi.
16. Adik-adik BRC 3 Generasi; Risma dan Vivi, yang selalu menyemangati dan menghibur di setiap tahap penyelesaian skripsi ini.
17. Teman-teman KKN UMD 82 Desa Mengok yang selalu kompak memberi semangat dan dukungan kepada penulis.
18. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang telah memberi semangat, motivasi, inspirasi, dan banyak masukan dalam penulisan skripsi ini.

Jember, 11 April 2018

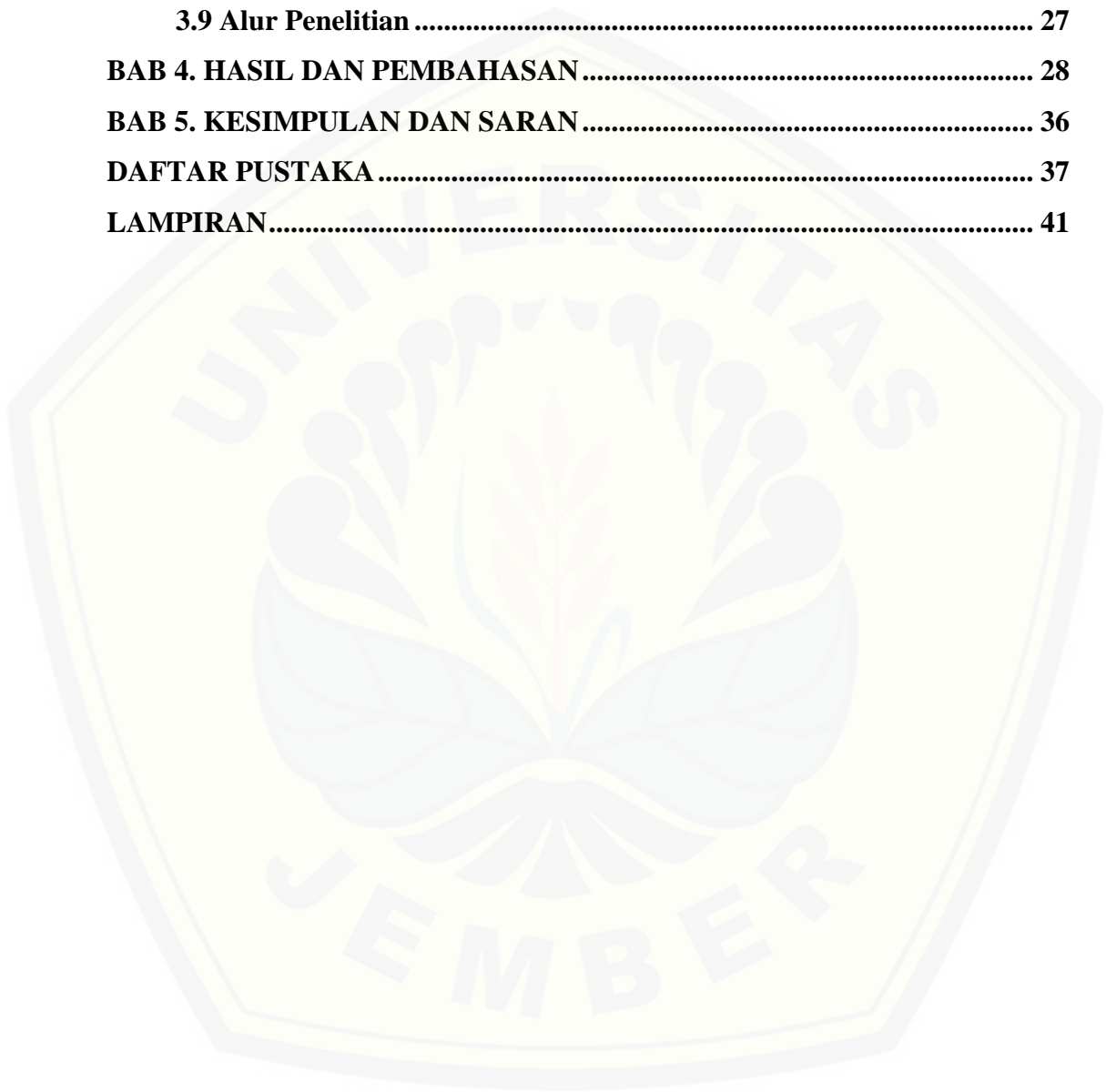
Penulis

DAFTAR ISI

	halaman
HALAMAN JUDUL	i
PERSEMBAHAN.....	iii
MOTO	iv
PERNYATAAN.....	v
PENGESAHAN.....	vii
RINGKASAN	viii
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Plak	5
2.1.1 Definisi Plak	5
2.1.2 Komposisi Plak.....	5
2.1.3 Mekanisme Pembentukan Plak.....	6
2.2 <i>Streptococcus sanguis</i>	7
2.2.1 Taksonomi dari <i>Streptococcus sanguis</i> adalah (Bolstad Al, 1996) :	7
2.2.2 Sifat Morfologi	8
2.3 Tanaman Delima.....	9
2.3.1 Karakteristik Delima.....	9
2.3.2 Taksonomi buah Delima Merah (Yuniarti, 2008)	10

2.3.3	Bahan Aktif buah Delima	10
2.3.4	<i>Flavonoid</i>	11
2.3.5	<i>Anthosianin</i>	12
2.3.6	Tannin	13
2.3.7	Penggunaan Buah Delima.....	13
2.4	Obat Kumur <i>Chlorhexidine</i>	14
2.5	Hipotesis	15
2.6	Kerangka Konsep	16
2.7	Penjelasan Kerangka Konsep.....	17
BAB 3.	METODE PENELITIAN.....	18
3.1	Jenis Penelitian.....	18
3.2	Tempat dan Waktu Penelitian.....	18
3.3	Identifikasi Variabel Penelitian.....	18
3.3.1	Variabel Bebas	18
3.3.2	Variabel Terikat	18
3.3.3	Variabel Kendali	18
3.4	Definisi Operasional	18
3.4.1	Ekstrak buah delima merah (<i>Punica granatum Linn</i>).....	18
3.4.2	Hambatan Pertumbuhan <i>Streptococcus sanguis</i>	19
3.4.3	Media Biakan Bakteri	19
3.4.4	<i>Streptococcus sanguis</i>	19
3.4.5	Suhu dan Waktu Inkubasi	19
3.4.6	Alat Ukur	20
3.5	Sampel Penelitian	20
3.5.1	Kriteria Sampel Penelitian	20
3.5.2	Besar Sampel Penelitian	20
3.5.3	Pembagian kelompok sampel	21
3.6	Alat dan Bahan Penelitian	21
3.6.1	Alat Penelitian.....	21
3.6.2	Bahan Penelitian	22
3.7	Prosedur Penelitian	22

3.7.1 Tahap Persiapan.....	22
3.7.2 Tahap Perlakuan	24
3.7.3 Tahap Pengamatan	25
3.8 Analisis data	26
3.9 Alur Penelitian	27
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	28
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	36
DAFTAR PUSTAKA	37
LAMPIRAN.....	41

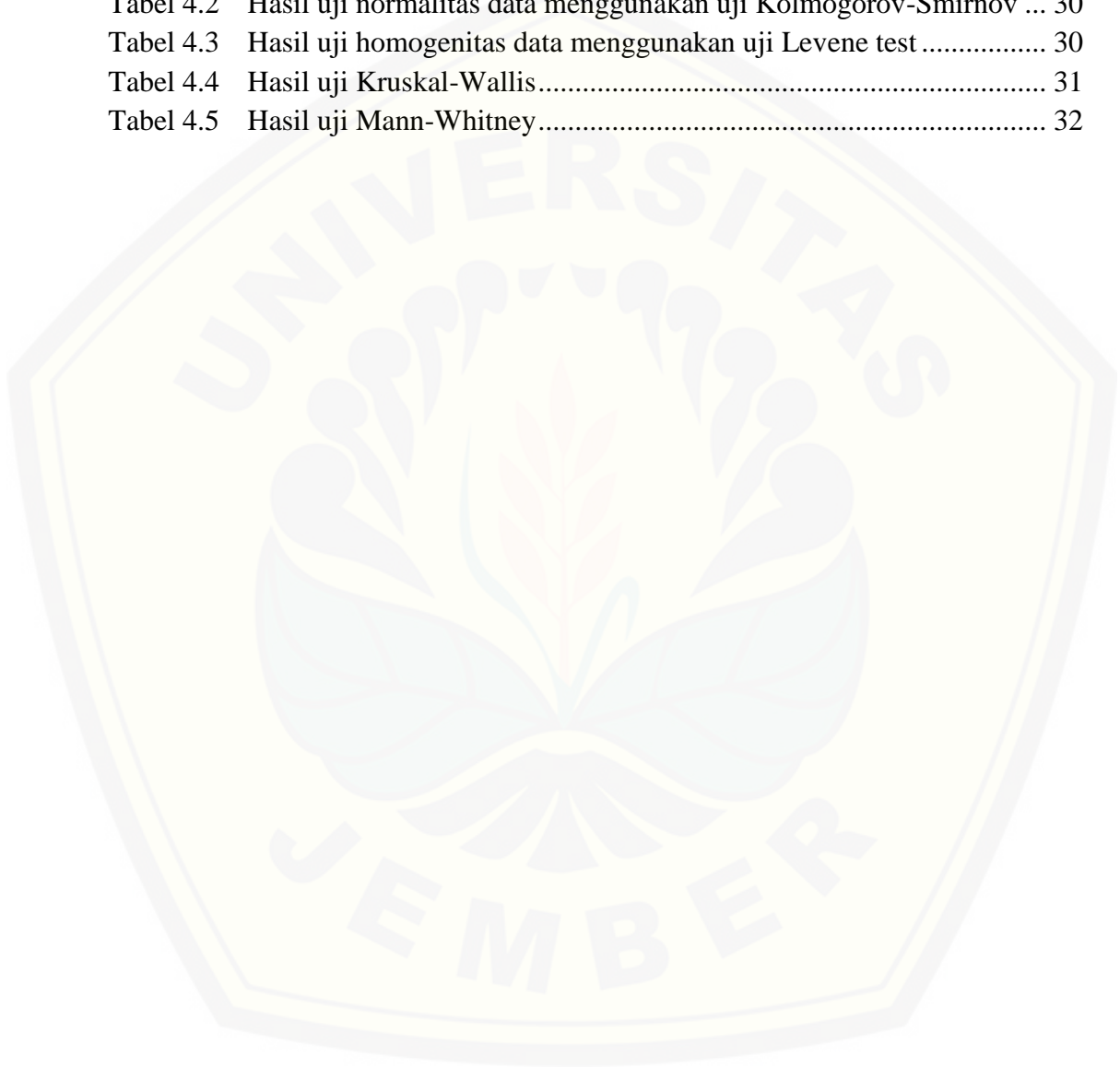


DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Koloni bakteri <i>Streptococcus sanguis</i>	9
Gambar 2.2	Buah delima merah (<i>Punicagranatum Linn</i>)	10
Gambar 2.3	Struktur dasar dari <i>flavonoid</i> yang terdiri dari 2 cincin <i>benzene</i> (A dan B) serta cincin <i>pyrene</i> (C)	12
Gambar 2.4	Struktur <i>chlorhexidine</i>	15
Gambar 2.5	Kerangka konsep.....	16
Gambar 3.1	Peletakan <i>disc</i> pada media yang sudah diinokulasikan <i>Streptococcus sanguis</i>	25
Gambar 3.2	Cara pengukuran diameter zona hambat ekstrak buah delima merah	26
Gambar 3.3	Alur penelitian	27
Gambar 4.1	Hasil penelitian daya hambat ekstrak buah delima merah (<i>Punica granatum Linn</i>) terhadap pertumbuhan <i>Streptococcus sanguis</i>	28

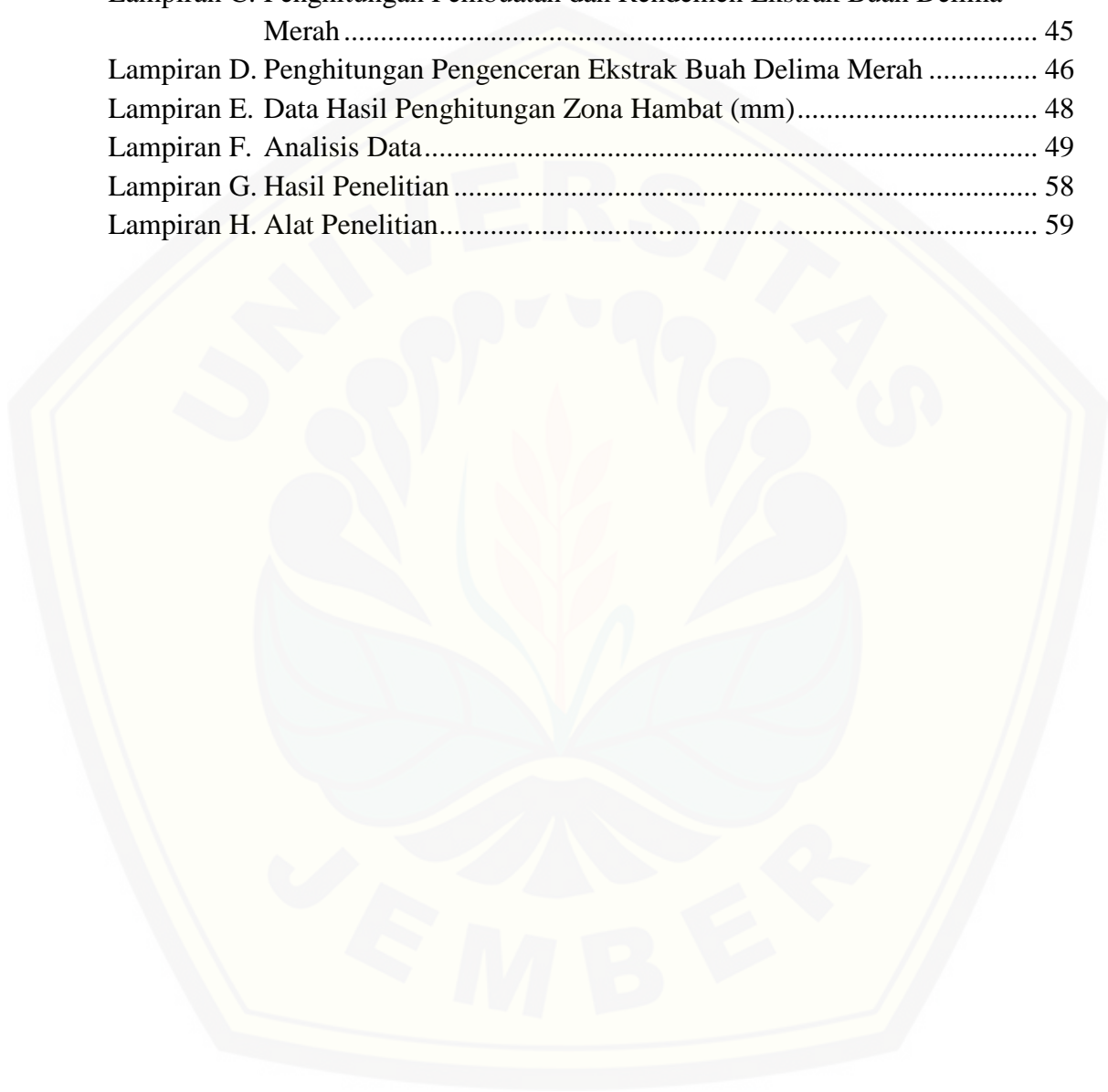
DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Kandungan zat aktif <i>Punicagranatum</i> Linn	13
Tabel 4.1	Nilai rata-rata zona hambat (mm) ekstrak buah delima merah terhadap pertumbuhan <i>Sreptococcus sanguis</i>	29
Tabel 4.2	Hasil uji normalitas data menggunakan uji Kolmogorov-Smirnov ...	30
Tabel 4.3	Hasil uji homogenitas data menggunakan uji Levene test	30
Tabel 4.4	Hasil uji Kruskal-Wallis.....	31
Tabel 4.5	Hasil uji Mann-Whitney.....	32



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran A. Surat Keterangan.....	41
Lampiran B. Identifikasi <i>Streptococcus sanguis</i>	44
Lampiran C. Penghitungan Pembuatan dan Rendemen Ekstrak Buah Delima Merah	45
Lampiran D. Penghitungan Pengenceran Ekstrak Buah Delima Merah	46
Lampiran E. Data Hasil Penghitungan Zona Hambat (mm).....	48
Lampiran F. Analisis Data.....	49
Lampiran G. Hasil Penelitian	58
Lampiran H. Alat Penelitian.....	59



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Bakteri *Streptococcus sanguis* (*S. sanguis*) merupakan bakteri gram positif yang menginisiasi terbentuknya plak. Plak merupakan lapisan tipis biofilm yang mengandung bakteri, produk bakteri, dan sisa makanan. Lapisan ini melekat pada permukaan gigi dan berwarna putih atau putih kekuningan. Bakteri *S. sanguis* memfasilitasi bakteri lain untuk berkoloni membentuk biofilm dengan cara berikatan pada protein saliva seperti *proline-rich* (Nadia dkk., 2012). Plak terbentuk melalui sebuah proses yang terdiri dari beberapa tahap (Newman dkk., 2012).

Proses pembentukan plak diawali dengan tahap pembentukan pelikel gigi, dimana pada tahap ini permukaan gigi akan dibalut oleh pelikel glikoprotein. Pelikel tersebut berasal dari saliva, cairan sulkular, produk sel bakteri, pejamu, dan debris. Kolonisasi bakteri akan dijumpai dalam waktu beberapa jam pada pelikel gigi yang didominasi oleh bakteri anaerob fakultatif gram positif *S. sanguis*. Massa plak kemudian mengalami pematangan bersamaan dengan pertumbuhan bakteri yang telah melekat, maupun kolonisasi dan pertumbuhan spesies lainnya. Tahap akhir akan berlangsung kolonisasi sekunder dan pematangan plak. Koloni sekunder adalah bakteri yang tidak turut sebagai koloni awal ke permukaan gigi, diantaranya *Prevotella intermedia*, *Prevotella loescheii*, spesies *Capnocytophaga*, *Fusobacterium nucleatum*, dan *Porphyromonas gingivalis* melekat ke sel bakteri yang telah berada dalam massa plak (Newman dkk., 2012). Plak dapat terakumulasi apabila kebersihan gigi dan mulut terabaikan. Hal ini dapat memicu timbulnya infeksi rongga mulut, seperti penyakit periodontal dan karies gigi yang banyak diderita masyarakat Indonesia (Putra dkk., 2015).

Prevalensi penyakit periodontal yang diderita masyarakat di Indonesia cukup tinggi, yaitu 96,58% pada semua kelompok usia. Penyakit ini disebabkan oleh infeksi bakteri yang berkoloni dalam lapisan plak dan dapat mengakibatkan kerusakan jaringan periodontal. Plak yang menyebabkan penyakit periodontal,

seperti gingivitis dan periodontitis, adalah plak yang berada tepat di atas margin gingiva. Bakteri dan produknya yang terakumulasi dalam plak dapat menyebar ke subgingiva sehingga terjadi proses peradangan dan menyebabkan penyakit periodontal (Newman dkk., 2012; Ladytama dkk., 2014). Oleh karena itu, perlu kesadaran tentang kebersihan dan kesehatan mulut untuk mengurangi risiko dari akumulasi plak.

Masyarakat selama ini menjaga kebersihan dan kesehatan mulut dengan beberapa cara, baik secara mekanis maupun secara kimiawi. Umumnya, masyarakat melakukan dengan cara mekanis menggunakan sikat gigi dan benang gigi. Selain itu dapat pula ditambahkan penggunaan obat kumur untuk menghilangkan plak secara kimiawi. Berkumur menggunakan obat kumur juga dapat menjangkau lokasi plak dalam rongga mulut lebih luas (Pintaulli dan Hamada, 2010). Obat kumur yang umum digunakan masyarakat saat ini *chlorhexidine* yang terbukti paling efektif dari agen-agen pengontrol plak teraupetik lainnya karena dapat melekat secara ionik pada permukaan gigi dan mukosa dalam konsentrasi tinggi selama beberapa jam. Namun penggunaan *chlorhexidine* secara terus-menerus dapat menimbulkan efek antara lain, *stain* pada gigi dan restorasi, alergi, gangguan pengecap, menghambat penyembuhan luka dan peningkatan *desquamasi* mukosa (Darmadi, 2008; Ristianti, 2015).

Obat kumur dengan campuran bahan-bahan alami saat ini banyak digunakan oleh masyarakat. Bahan obat kumur alami menggunakan berbagai macam tanaman yang memiliki sifat antibakteri dengan efek samping minimal. Salah satunya yang telah terbukti memiliki sifat antibakteri adalah buah delima merah (*Punica granatum Linn*). Delima merah merupakan *species* dominan dari *family Punicacea*. Potensi buah delima merah sebagai pengobatan dan pencegahan penyakit sangat luas dan sudah dikenal sejak zaman dahulu, diantaranya untuk terapi pencegahan kanker, penyakit kardiovaskuler, penyakit gigi dan mulut, dan proteksi terhadap radiasi sinar UV (Jurenka, 2008). Mengacu pada penelitian sebelumnya diketahui bahwa buah delima merah memiliki kandungan *flavonoid* yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri (Pristyhari, 2016). Kandungan *flavonoid* pada buah delima merah lebih tinggi dibandingkan

dengan jenis buah delima lainnya (Ashton dkk., 2006). Selain *Flavonoid*, buah delima merah juga mengandung *Polifenol*, *antosianin* dan, *tannin* diantaranya *ellagitannins*, *asam ellagic* dan *punicalgin* yang diduga berfungsi sebagai anti-bakteri (Khan dan Hanee, 2011).

Berdasarkan fenomena di atas, saat ini mulai berkembang pemanfaatan tanaman obat di Indonesia. Presentase penduduk Indonesia yang pernah mengkonsumsi jamu atau obat tradisional sebanyak 59,12%. Kondisi ini memperlihatkan kecenderungan penduduk Indonesia memanfaatkan obat tradisional sebagai salah satu pilihan dalam memelihara kesehatan, sebagaimana diperoleh hasil bahwa 95,60% merasakan manfaatnya. Di sisi lain kesadaran masyarakat terhadap gaya hidup kembali ke alam (*back to nature*) juga semakin meningkat (Kementrian Kesehatan RI, 2013). Oleh karena itu, diperlukan alternatif bahan alami obat kumur seperti penggunaan ekstrak buah delima merah.

1.2 Perumusan Masalah

- 1) Apakah ekstrak buah delima merah memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *Streptococcus sanguis*?
- 2) Jika memiliki daya hambat, berapakah konsentrasi ekstrak buah delima merah yang paling efektif untuk menghambat pertumbuhan *Streptococcus sanguis*?

1.3 Tujuan Penelitian

- 1) Mengetahui daya hambat ekstrak buah delima merah terhadap pertumbuhan *Streptococcus sanguis*.
- 2) Mengetahui konsentrasi ekstrak buah delima merah yang paling efektif untuk menghambat pertumbuhan *Streptococcus sanguis*.

1.4 Manfaat Penelitian

- 1) Sebagai sumber informasi tentang penggunaan ekstrak buah delima merah sebagai bahan antibakteri yang selanjutnya dapat dikembangkan sebagai bahan obat kumur.
- 2) Sebagai informasi tambahan dan menjadi acuan untuk melakukan penelitian lebih lanjut dalam mengembangkan pengetahuan di bidang kedokteran gigi.
- 3) Sebagai informasi kepada masyarakat dan tenaga kesehatan khususnya dalam mendukung upaya kesehatan gigi dan mulut dengan cara pemanfaatan tanaman herbal yaitu buah delima merah sebagai alternatif bahan obat kumur.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Plak

2.1.1 Definisi Plak

Plak gigi merupakan deposit lunak yang melekat erat pada permukaan gigi. Terdiri atas mikroorganisme yang berkembang biak dalam suatu matriks interseluler dan akan terus terakumulasi bila tidak dibersihkan secara adekuat. Akumulasi mikroorganisme ini tidak terjadi secara kebetulan melainkan terbentuk melalui serangkaian tahapan. Plak biasanya mulai terbentuk pada sepertiga permukaan gingiva dan pada permukaan gigi yang mengalami jejas dan kasar. Plak juga menjadi salah satu penyebab karies dan penyakit periodontal (Newman dkk., 2002; Rydengard dkk., 2010).

Berbeda halnya dengan lapisan awal yang menumpuk dan melekat pada permukaan gigi, yaitu pelikel, material alba dan debris makanan, plak gigi tidak dapat dibersihkan hanya dengan cara berkumur dan hanya dapat dibersihkan secara sempurna dengan cara mekanis. Dalam jumlah sedikit, plak tidak dapat terlihat kecuali jika telah diwarnai dengan disclosing solution yang dapat membantu melihat plak gigi. Jika menumpuk, plak akan terlihat berwarna abu-abu, abu-abu kekuningan dan kuning (Chrismarina dkk., 2006).

2.1.2 Komposisi Plak

Ada 3 komposisi yang membentuk plak dental yaitu mikroorganisme, matriks interseluler yang terdiri dari komponen organik dan komponen anorganik. Komposisi plak yang terbesar adalah mikroorganisme. Diperkirakan lebih dari 400 spesies bakteri dijumpai dalam plak dental. Mikroorganisme non-bakteri yang dijumpai dalam plak adalah spesies *Mycoplasma*, ragi, protozoa, dan virus. Mikroorganisme tersebut berada diantara matriks interseluler yang juga mengandung sedikit jaringan seperti sel-sel epitel, makrofag, dan leukosit. Bakteri yang dominan dalam semua plak gigi adalah jenis *coccus* terutama *Streptococcus* yang dapat menghasilkan asam dengan cepat dari hasil metabolisme karbohidrat.

Mikroorganisme tersebut selain mampu membentuk asam (asidogenik) juga tahan asam (asidurik) (Tahmourepour dkk., 2010).

Matriks interseluler merupakan 20-30% massa plak yang mengandung bahan organik dan bahan anorganik. Komponen organik terdiri dari bahan organik yang mencakup polisakarida, protein, glikoprotein dan lemak. Komponen anorganik yang ditemukan terutama kalsium dan fosfor yang berasal dari saliva. Kandungan organik semakin meningkat seiring dengan pembentukan kalkulus (Chrismarina dkk., 2006; Newman dkk., 2002).

2.1.3 Mekanisme Pembentukan Plak

Mekanisme pembentukan plak dibagi menjadi 3 fase, yaitu pembentukan pelikel, kolonisasi awal pada permukaan gigi dan kolonisasi sekunder dan pematangan plak. Perlekatan bakteri ke permukaan gigi diawali oleh pembentukan pelikel pada permukaan gigi. Pelikel merupakan suatu lapisan organik bebas bakteri dan terbentuk dalam beberapa detik setelah permukaan gigi yang bersih berkontak dengan saliva dan pada permukaan gigi berupa material stein yang terang apabila gigi diwarnai dengan bahan pewarna plak. Pembentukan pelikel pada dasarnya merupakan proses perlekatan protein dan glikoprotein saliva pada permukaan gigi. Pelikel tersebut berasal dari saliva cairan sulkular dan produk bakteri. Pada fase awal permukaan gigi atau restorasi akan dibalut oleh pelikel glikoprotein. Pelikel berfungsi sebagai penghalang protektif yang akan bertindak sebagai pelumas permukaan dan mencegah desikasi (pengeringan) jaringan. Selain itu, pelikel bekerja seperti perekat bersisi dua, satu sisi melekat ke permukaan gigi, sedangkan permukaan lainnya merupakan sisi yang melekatkan bakteri pada permukaan gigi (Rydengard dkk., 2010).

Kolonisasi awal pada permukaan gigi di permukaan enamel dalam 3-4 jam didominasi oleh mikroorganisme fakultatif gram positif, seperti *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus salivarius*, *Actinomyces viscosus* dan *Actinomyces naeslundii*. Pengkoloni awal tersebut melekat ke pelikel dengan bantuan adhesion, yaitu : molekul spesifik yang berada pada permukaan bakteri. Dalam perkembangannya terjadi perubahan

ekologis pada biofilm, yaitu peralihan dari lingkungan awal yang bersifat aerob dengan spesies bakteri fakultatif gram-positif menjadi lingkungan yang sangat sedikit oksigen dengan adanya spesies bakteri anaerob gram-negatif setelah 24 jam (Todar dkk., 2008).

Plak akan meningkat jumlahnya setelah kolonisasi awal permukaan gigi melalui dua mekanisme terpisah, yaitu multiplikasi dari bakteri yang telah melekat pada permukaan gigi dan multiplikasi serta perlekatan lanjut bakteri yang ada dengan bakteri baru. Dalam tiga hari, pengkoloni sekunder yang tidak turut sebagai pengkoloni awal ke permukaan gigi yang bersih meningkat, seperti *Prevotella intermedia*, *Prevotella loesheii*, spesies *Capnocytophaga*, *Fusobacterium nucleatum* dan *Prophyromonas gingivalis*. Bakteri pengkoloni sekunder akan melekat ke bakteri yang sudah melekat ke pelikel. Interaksi yang menimbulkan perlekatan bakteri pengkoloni sekunder ke bakteri pengkoloni awal dinamakan koagregasi. Fase akhir pematangan plak pada hari ke-7 ditandai dengan menurunnya jumlah bakteri gram positif dan meningkatnya bakteri gram negatif (Newman dkk., 2002; Tahmourepour dkk., 2010).

2.2 *Streptococcus sanguis*

Streptococcus sanguis merupakan bagian dari *Streptococcus viridians*. Secara tipikal, biasanya bersifat hemolitik- α , tetapi kemungkinan lain bakteri ini bersifat non-hemolitik. Pertumbuhannya tidak dihambat oleh optochin dan koloninya padat tidak dapat larut dalam empedu. *Streptococcus viridians* merupakan bakteri paling umum sebagai flora normal pada saluran pernafasan atas dan berperan penting untuk menjaga kesehatan membran mukosa (Fukushima dkk., 2012).

2.2.1 Taksonomi dari *Streptococcus sanguis* adalah (Bolstad Al, 1996) :

Kingdom : *Bacteria*
Divisio : *Firmicutes*
Class : *Bacilli*
Ordo : *Lactobacilalles*

Family : *Streptococcaceae*
Genus : *Streptococcus*
Species : *Streptococcus sanguis*.

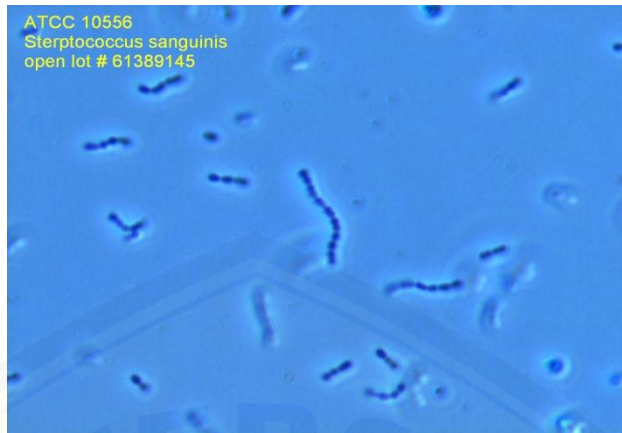
2.2.2 Sifat Morfologi

Morfologi *Streptococcus sanguis* adalah berbentuk bulat sampai oval dengan diameter 0,6 – 1,0 μm , non motil, katalase negatif, tumbuh optimum pada suhu 37^o C dengan pH antara 7,4–7,6. Morfologi koloni berwarna opak, berdiameter 0,5-1,0 mm, permukaannya kasar (hanya 7 % bersifat mukoid). *Streptococcus sanguis* termasuk jenis bakteri golongan *Streptococcus hemoliticus* tipe alpha yang secara normal dapat ditemukan dalam rongga mulut (Geo dkk., 1996).

Bakteri ini termasuk golongan hemolisis dimana ciri khas hemolisis tipe α disebut sebagai tipe strain yang nonhemolitik. Dimana bakteri ini dapat mencapai aliran darah akibat suatu trauma seperti kecelakaan sehingga dapat menyebabkan endokarditis. Pertumbuhan bakteri ini tidak dihambat oleh optokin dan koloninya yang tidak larut dalam empedu (Fukushima dkk., 2012).

Streptococcus sanguis memiliki stuktur DNA yang terdiri dari 2.388.435 bp. Organisme ini mempunyai kode 2.274 protein yang terdiri dari 61 tRNA dan rRNA. Gen dalam bakteri *Streptococcus sanguis* dapat mempertahankan sintesis protein adhesion pada permukaan sel (Notohartojo dkk., 2015).

Morfologi koloni *Streptococcus sanguis* adalah divergen, tergantung media yang digunakan walaupun pada media padat sering muncul berbentuk koloni kasar, koloni halus dan mukloid juga sering ditemukan. Pada agar mitis-salivarius *Streptococcus sanguis* bentuknya sangat cembung dan opak (Geo dkk., 1996; Volk dkk., 1990). Morfologi koloni *Streptococcus sanguis* dapat dilihat pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Koloni bakteri *Streptococcus sanguis* (Kilian dkk., 2011)

2.3 Tanaman Delima

2.3.1 Karakteristik Delima

Buah delima (*Punica granatum Linn*) merupakan tanaman yang berasal dari Persia dan daerah Himalaya di India Selatan. Ada tiga jenis yang tersebar di Indonesia yang dikelompokkan berdasarkan warna buahnya, yakni delima putih, delima merah, dan delima hitam. Jenis delima yang paling dikenal adalah delima merah karena memiliki banyak manfaat. Delima merah memiliki rasa lebih manis dan segar dibandingkan dengan jenis delima lainnya (Astawan, 2008).

Pohon delima dapat tumbuh di hampir semua iklim. Tinggi pohon delima kurang lebih 2 sampai 5 meter. Batang berkayu dengan banyak percabangan, lemah, berduri pada ketiak daunnya dan berwarna coklat (Dalimartha, 2007). Menyukai tanah yang tidak terendam air dan bahkan dapat hidup di daerah yang kering. Memiliki daun tunggal, bertangkai pendek, letaknya berkelompok, mengkilap, berbentuk lonjong dengan pangkal lancip, ujung tumpul, tepi rata, tulang menyirip, ukuran panjang daun 3-7 cm dan lebar 0,5-2,5 cm, warna hijau. Bunga tunggal bertangkai pendek, keluar di ujung ranting atau di ketiak daun paling atas. Biasanya terdapat satu sampai lima bunga, warnanya merah, putih atau ungu. Berbunga sepanjang tahun. Kulit buahnya tebal dan warnanya beragam seperti hijau keunguan, putih, coklat kemerahan atau ungu kehitaman. Buahnya berbentuk bulat dengan diameter 5-12 cm (Gambar 2.2), beratnya kurang lebih 100-300 gram, terdiri dari biji-biji kecil, tersusun tidak beraturan, berwarna putih

sampai kemerahan. Perbanyakkan dengan stek, tunas akar atau cangkok (Budka, 2008; Desmond, 2000). Pada umumnya pohon delima ditanam di pekarangan dan bermanfaat sebagai tanaman hias dan obat-obatan serta daging buahnya dapat dimakan langsung yang mempunyai rasa asam manis (Ashton dkk, 2006).



Gambar 2.2 Buah delima merah (*Punicagranatum Linn*)(Aston, 2006)

2.3.2 Taksonomi buah Delima Merah (Yuniarti, 2008)

<i>Kingdom</i>	: <i>Plantae</i>
<i>Divisi</i>	: <i>Spermatophyta</i>
<i>Sub Divisi</i>	: <i>Angiospermae</i>
<i>Kelas</i>	: <i>Dicotyledonae</i>
<i>Sub Kelas</i>	: <i>Rosidae</i>
<i>Ordo</i>	: <i>Myrtales</i>
<i>Famili</i>	: <i>Punicaceae</i>
<i>Genus</i>	: <i>Punica</i>
<i>Species</i>	: <i>Punica granatum Linn.</i>

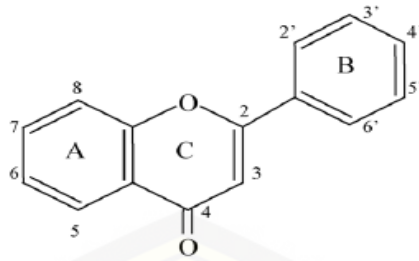
2.3.3 Bahan Aktif buah Delima

Bagian dari buah delima yang dapat dimakan (kurang lebih 50% dari berat total buah) terdiri dari 80% jus dan 20% biji. Jus segar dari buah delima mengandung 85% air, 10% gula dan 1,5% pektin, asam askorbat, flavonoid dan

senyawa fenolik yaitu antosianin yang memberikan warna merah pada buah (Eibond, 2004). Beberapa dekade terakhir, telah banyak penelitian dilakukan untuk mencari penjelasan tentang efek terapi dari ekstrak buah, dahan, akar dan daun delima serta bahan aktif yang berperan didalamnya. Senyawa Fenolik (*Ellagic acid*, *ellagitannins* termasuk *punicalgin*), *Punicic acid*, flavonoid, anthosianidin, antosianin, flavones dan flavonols memiliki efek terapi paling besar yang terdapat dalam buah delima (Jurenka, 2008). Penelitian sebelumnya tentang pengaruh daya hambat ekstrak buah delima merah terhadap pertumbuhan *Fusobacterium nucleatum* menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak, maka semakin tinggi pula kemampuan daya hambatnya. Hal ini dikarenakan semakin tinggi konsentrasi, maka semakin besar bahan-bahan aktif yang terkandung di dalamnya (Pristyhari, 2016). Bahan-bahan aktif yang terkandung dalam buah delima dapat dilihat pada Tabel 2.1.

2.3.4 *Flavonoid*

Flavonoid dapat ditemukan pada sel fotosintesis oleh karena itu dikaitkan dengan Tumbuhan. Senyawa ini dapat ditemukan di buah, sayuran, kacang, biji, batang dan bunga. Pada tumbuhan *flavonoid* berfungsi untuk memberikan warna yang berguna menarik perhatian serangga supaya terjadi penyerbukan. Senyawa ini juga dipercayai berfungsi untuk membantu tumbuhan melindungi diri dari fungi patogen dan radiasi UV-B. Struktur dasar dari *flavonoid* adalah *2-phenylbenzo[α]pyrane* atau inti *flavane*, yang terdiri dari 2 cincin *benzena* yang terhubung oleh cincin *pyrane* (Gambar 2.3). *Flavonoid* dapat diklasifikasikan berdasarkan biosintesisnya yaitu *calcones*, *flavanones*, *flavan-3-ols*, *flavan-3,4-diols* sementara klasifikasi lainnya merupakan proses akhir dari biosintesis yaitu *anthosianidin*, *proanthosianidin*, *flavones* dan *flavonol* (Cushnie dan Lamb, 2005).



Gambar 2.3 Struktur dasar dari *flavonoid* yang terdiri dari 2 cincin *benzene* (A dan B) serta cincin *pyrene* (C) (Cushnie dan Lamb, 2005)

Flavonoid merupakan senyawa yang dapat mencegah gingivitis. Senyawa ini berperan secara aktif mengurangi stres oksidatif pada rongga mulut, menyediakan aktifitas antioksidan secara langsung, anti inflamasi dan efek anti-bakteri serta pelepasan plak dari permukaan gigi. Mekanisme antibakteri dari *flavonoid* seringkali tidak dapat diketahui secara pasti. Hal ini dikarenakan berbagai reaksi terjadi secara bersamaan diantaranya gangguan pada membran yang menyebabkan kebocoran sel, gangguan transport aktif dari enzim metabolisme, menghilangkan energi. Mekanisme lainnya mengikuti dari penghambatan proses sintesis DNA dan RNA. Cincin *Benzene* (B ring) dari *flavonoid* dipercaya berinteraksi pada interkalasi atau ikatan hidrogen dari RNA dan DNA. *Quercetin* menghambat DNA *gyrase* dari beberapa bakteri. *Flavonoid* dapat menurunkan aktivitas dari enzim aspartate aminotransferase dan alpha glucosidase serta meningkatkan aktivitas dari enzim antioksidan yaitu *ceruloplasmin* (Narayan dkk, 2014; Parseh dkk, 2012; Cushnie dan Lamb, 2005).

2.3.5 *Anthosianin*

Anthosianin merupakan senyawa polifenol yang dapat ditemukan dalam beberapa buah. *Anthosianin* memberikan warna merah atau ungu. Delima yang memiliki warna merah dan ungu merupakan delima yang tinggi kandungan *anthosianin*. Senyawa ini menunjukkan aktivitas antioksidan terhadap radikal bebas buatan pada beberapa percobaan. *Anthosianin* juga mencegah oksidasi lemak yaitu *LDL* (*low density lipoprotein*) (Ashton dkk, 2006; Marja dan Heinonen, 2003).

2.3.6 Tannin

Tannin merupakan senyawa fenolik yang larut dalam air dan biasanya memiliki berat molekul tinggi. Buah delima memiliki kandungan tannin yang sangat tinggi terutama ellagic acid dan ellagitannin. Tannin memiliki aktifitas antibakteri dengan mengikat makromolekul sehingga tidak tersedia bagi bakteri (Parseh dkk, 2012). Tanin juga mengikat ion besi, mengikat hidrogen, dan interaksi non-spesifik dengan protein vital misalnya enzim. (Karou dkk., 2005).

Tabel 2.1 Kandungan zat aktif *Punicagranatum Linn.* (Jurenka, 2008; Ephraim dan Newman. 2006;)

Bagian Tumbuhan	Zat Aktif
Buah	Antosianin (<i>Cyanidin, Delphinidin</i>), Asam Askorbat, <i>Caffeic acid, Flavan-3-ols (Catechin, Epicatechin)</i> , Flavonols (<i>Quercetin, Rutin</i>), beberapa Asam Amino, Fe dan Mineral lainnya.
Biji	<i>Punicic acid</i> , Senyawa fenolik (<i>Ellagic acid</i>), Sterol dan Triterpenoids (<i>Asam Ursolic</i>)
Kulit	<i>Ellagitannins (Punicalgin, Punicalin)</i> , Tannin (<i>Asam Gallic</i>), <i>Flavan-3-ols (Catechin, Epigallocatechin gallate)</i> , Flavonols (<i>Quercetin, Kaempferol, Rutin</i>), Flavonones (<i>Luteolin</i>), Flavonones, Anthosianidin

2.3.7 Penggunaan Buah Delima

Buah delima (*Punica granatum Linn*) memiliki sejarah yang panjang sebagai agen anti-bakteri sejak jaman dahulu. Masyarakat Mesir menggunakan delima sebagai obat untuk menyembuhkan beberapa penyakit infeksi. Ekstrak delima, baik buah, batang maupun daun telah digunakan selama ribuan tahun dalam pengobatan *Ayurvedic* dan terbukti efektif terhadap penyakit diare dan disentri (Jurenka, 2008).

Berbagai penyakit yang telah menjadi target penelitian untuk mengetahui manfaat delima adalah berbagai jenis penyakit inflamasi, antioksidan, penyakit

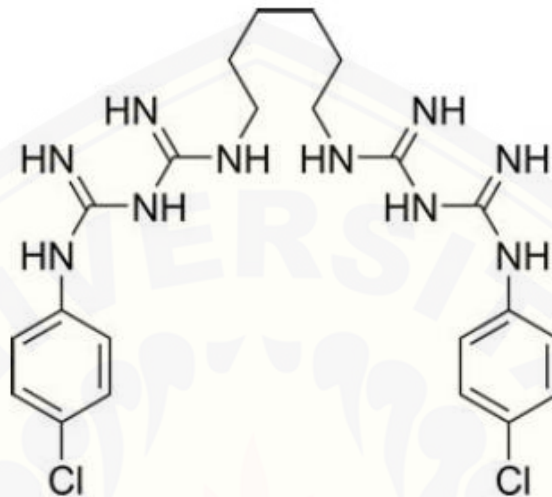
degeneratif, berbagai jenis kanker dan regulasi proses fibrosis. Sari buah dan kulit buah delima telah terbukti memiliki aktivitas antioksidan dan anti kanker. Fakta ini berhubungan dengan kemampuan kandungan dalam delima yang berperan sebagai anti inflamasi. Aksi farmakologi dan fitokimia sebagian besar komponen zat aktif kimia delima memiliki aplikasi klinis untuk terapi dan pencegahan terhadap kanker atau penyakit lain yang disebabkan oleh rekasi inflamasi kronis (Hernawati, 2012).

2.4 Obat Kumur *Chlorhexidine*

Obat kumur *chlorhexidine* merupakan golongan bisguanida yang paling dikenal dan dianggap obat kumur anti-bakteri paling efektif saat ini. *Chlorhexidine* memiliki aktivitas anti fungal dan bateriosid terhadap bakteri gram negatif dan gram positif. Bahan ini sangat potensial dalam menghambat pembentukan plak dan bertahan dalam saliva selama 7 jam. Efek anti-bakteri dari *chlorhexidine* adalah dengan mengikat membran sel bakteri, menambah permeabilitas dan menghidupkan komponen intraseluler. *Chlorhexidine* memiliki beberapa efek samping yaitu menyebabkan pewarnaan (*stain*) pada gigi serta restorasi, memicu pembentukan kalkulus, reaksi alergi, serta rasa tidak nyaman sesaat setelah berkumur (Yuliharsini, 2005).

Staining diduga terjadi karena pengendapan sulfida besi (FeS) dan dipengaruhi diet. Sulfida besi dibentuk akibat reaksi sulfur yang berasal dari kelompok tiol dari protein yang mengalami denaturasi dengan ion besi (Fe) yang berasal dari makanan dan minuman. Menurut Roth dan Calmes (1981) penggunaan *chlorhexidine* dengan konsentrasi 0,1% atau 0,2% dalam jangka waktu 4 bulan dapat menyebabkan efek toksik seperti desquamasi atau pengelupasan membran mukosa mulut. Pada beberapa pasien dapat ditemukan gangguan pengecap dan rasa tidak nyaman yang persisten dalam rongga mulut. Saat *chlorhexidine* digunakan langsung pada jaringan ikat mamalia menunjukkan adanya efek samping. *Chlorhexidine* mempengaruhi ikatan fibroblast dengan permukaan akar. Produksi protein pada fibroblast gingiva menurun dan penundaan proses penyembuhan pada penggunaan *chlorhexidine* dengan

konsentrasi 0,5% (Batista dkk, 2014; Yuliharsini, 2005; Yagiela dkk, 2010; Bagopal dan Arjunker, 2013). Struktur *chlorhexidine* dapat dilihat pada Gambar 2.4.

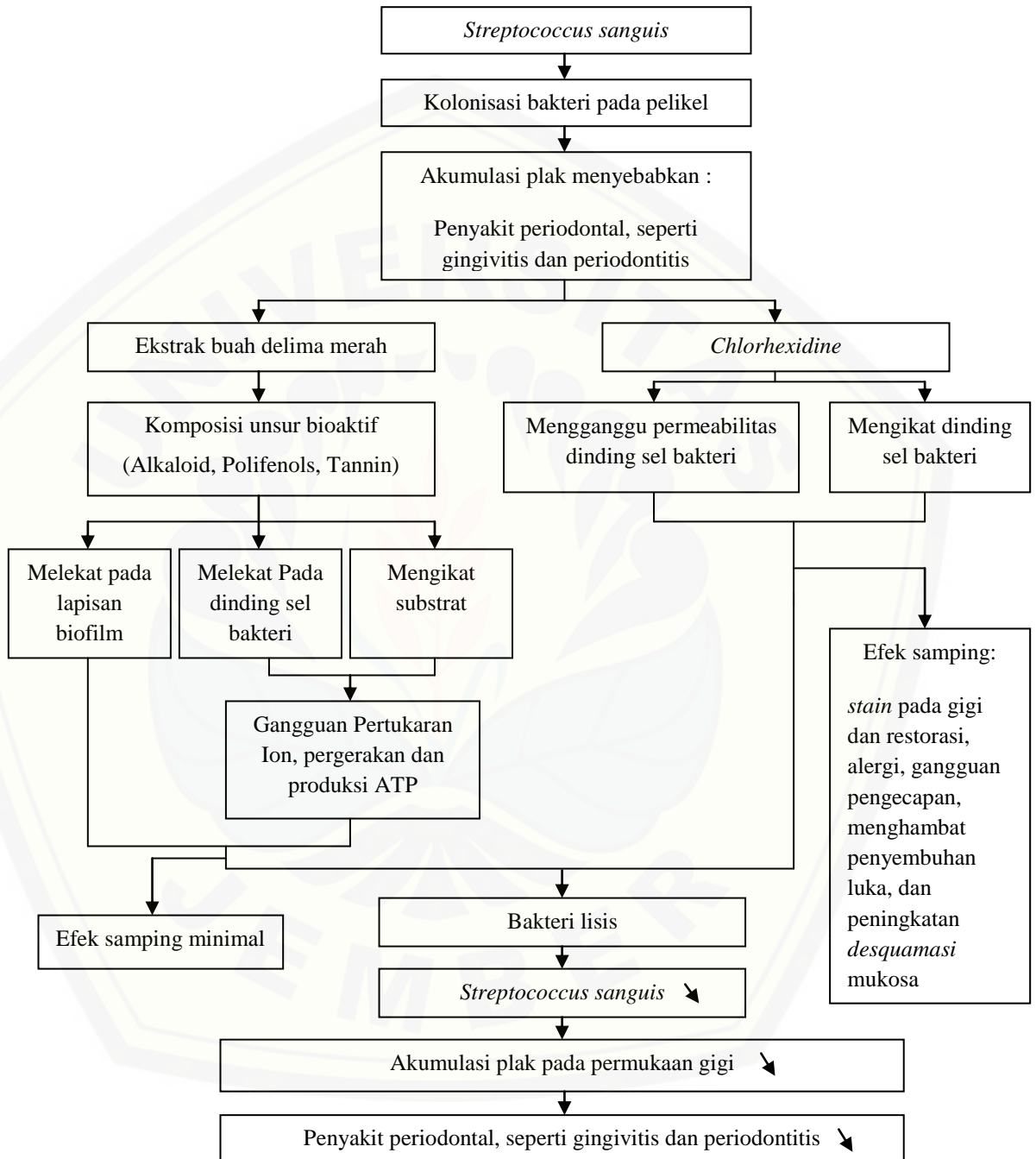


Gambar 2.4 Struktur *chlorhexidine* (Shruti, 2013)

2.5 Hipotesis

1. Ekstrak buah delima merah memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *Streptococcus sanguis*.
2. Konsentrasi ekstrak buah delima merah yang paling efektif untuk menghambat pertumbuhan *Streptococcus sanguis* adalah 100%.

2.6 Kerangka Konsep



Gambar 2.5 Kerangka konsep

2.7 Penjelasan Kerangka Konsep

Streptococcus sanguis merupakan bakteri gram positif yang pertama dan paling dominan menginisiasi terbentuknya plak. Bakteri ini memfasilitasi bakteri lain untuk berkoloni membentuk biofilm dan menyebabkan akumulasi plak. Keadaan rongga mulut yang kurang diperhatikan menyebabkan akumulasi plak menjadi tidak terkendali dan menimbulkan masalah kesehatan rongga mulut, seperti penyakit periodontal dan karies gigi.

Cara yang digunakan untuk menghambat bakteri *Streptococcus sanguis* adalah dengan menggunakan obat kumur, salah satu contohnya adalah *chlorhexidine*. Senyawa *chlorhexidine* membunuh bakteri dengan cara menambah permeabilitas membran sel bakteri dan mengikat dinding sel bakteri sehingga terjadi lisis pada sel bakteri dan akumulasi plak menurun. Namun *chlorhexidine* memiliki beberapa efek samping, antara lain *stain* pada gigi dan restorasi, alergi, gangguan pengecap, menghambat penyembuhan luka, dan peningkatan *desquamasi* mukosa rongga mulut apabila digunakan dalam jangka waktu lama.

Ekstrak buah delima merah menjadi salah satu bahan alternatif yang digunakan sebagai kandungan obat kumur. Hal ini dikarenakan ekstrak buah delima merah memiliki kandungan *flavonoid*, *tannin*, dan *polifenol* yang memiliki kemampuan anti bakteri dengan cara melekat pada dinding sel dan mengganggu pertukaran ion, pergerakan dan produksi ATP. Selain itu, kandungan ekstrak buah delima merah juga melekat pada lapisan biofilm sehingga mengganggu koagregasi bakteri. Perlekatan juga terjadi pada substrat sehingga tidak tersedianya sumber ATP bagi bakteri yang nantinya akan menyebabkan bakteri lisis dan penurunan akumulasi plak. Penurunan akumulasi plak tersebut dapat menurunkan prevalensi penyakit periodontal, seperti gingivitis dan periodontitis. Ekstrak buah delima merah juga memiliki efek samping minimal sehingga dapat digunakan secara rutin.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan merupakan penelitian *experimental laboratories* dengan menggunakan rancangan *the post test only control group design*.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Bioscience Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada bulan Oktober 2017 – Februari 2018.

3.3 Identifikasi Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dari penelitian ini adalah ekstrak buah delima merah (*Punica granatum Linn*) dengan konsentrasi 100%, 75%, 50%, dan 25%.

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dari penelitian ini adalah hambatan pertumbuhan *Streptococcus sanguis*.

3.3.3 Variabel Kendali

- a. Media biakan bakteri
- b. *Streptococcus sanguis*
- c. Suhu dan waktu inkubasi
- d. Alat ukur
- e. Prosedur penelitian

3.4 Definisi Operasional

3.3.1 Ekstrak buah delima merah (*Punica granatum Linn*)

Ekstrak buah delima merah (*Punica granatum Linn*) adalah hasil ekstraksi dari 2 kg keseluruhan bagian buah delima merah yang terdiri dari kulit luar, kulit

dalam, buah, dan biji yang menghasilkan simplisia seberat 660 gram, kemudian dimaserasi menggunakan 2 liter pelarut etanol 70%. Maserat diuapkan sampai didapatkan ekstrak kental sebanyak 125 ml dengan rendemen 12,62%. Ekstrak kental tersebut digunakan dalam penelitian sebagai konsentrasi 100%. Kemudian ekstrak diencerkan untuk mendapat konsentrasi 75%, 50%, dan 25%.

3.3.2 Hambatan Pertumbuhan *Streptococcus sanguis*

Hambatan pertumbuhan *Streptococcus sanguis* adalah terganggunya pertumbuhan bakteri pada media biakan yang dapat diukur melalui diameter zona hambat. Zona hambat merupakan daerah di sekitar cakram (*disc*) yang tidak ditumbuhi bakteri sehingga terlihat lebih bening dibandingkan daerah lainnya pada petridish. Diameter zona hambat diukur dari tepi zona hambat ke tepi zona hambat yang bersebrangan melewati pusat *disc*. Jika tidak terdapat zona hambat di sekitar cakram maka dikatakan nilai zona hambat adalah sebesar 0,00 mm.

3.3.3 Media Biakan Bakteri

Media biakan bakteri merupakan media MHA (*Meuller-Hinton Agar*) dengan perbandingan 3,8 gram bubuk dalam 100 ml *aquadest* yang disterilisasi dalam *autoclave*. Volume media MHA yang telah disterilisasi pada masing-masing petridish sebesar 25 ml.

3.3.4 *Streptococcus sanguis*

Streptococcus sanguis adalah galur murni dari *S. sanguis* yang didapatkan dari Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Jember dan dibiakan pada media MHB (*Mueller-Hinton Broth*) di Laboratorium Bioscience Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

3.3.5 Suhu dan Waktu Inkubasi

Suhu dan durasi inkubasi adalah temperatur dan lamanya waktu yang digunakan dalam memelihara kultur bakteri untuk memantau pertumbuhan bakteri yaitu 37°C selama 24 jam.

3.3.6 Alat Ukur

Alat ukur adalah alat yang digunakan untuk menentukan besar objek pengukuran. Alat ukur yang digunakan dalam penelitian ini yaitu jangka sorong dengan ketelitian 0,01 mm. Alat ini digunakan untuk mengukur besar zona hambat yang terbentuk pada media MHA yang telah diinokulasi *Streptococcus sanguis*.

3.5 Sampel Penelitian

3.5.1 Kriteria Sampel Penelitian

Kriteria sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah delima merah yang dipetik dari lereng Gunung Muria, Kabupaten Kudus, Jawa Tengah. Buah dalam keadaan matang sempurna usia 3-4 bulan setelah berbunga, menguning pada pangkal buahnya, kulit mengkilap, warna cerah, masih dalam keadaan utuh, tidak rusak karena serangan ulat atau hama lainnya, dan tidak berjamur.

3.5.2 Besar Sampel Penelitian

Besar sampel yang digunakan dalam penelitian ini didapat dari rumus Federer sebagai berikut.

$$(n-1)(t-1) \geq 15$$

Keterangan : n = Jumlah sampel

t = Jumlah kelompok perlakuan, dalam hal ini ada 6 perlakuan (kelompok kontrol positif dan negatif, serta perlakuan dengan konsentrasi ekstrak 100%, 75%, 50%, dan 25%).

$$(n-1)(6-1) \geq 15$$

$$n-1 \geq 15/5$$

$$n \geq 4$$

Berdasarkan perhitungan besar sampel tersebut, maka jumlah sampel (pengulangan perlakuan) minimal yang digunakan adalah 4. Peneliti menggunakan 5 kali pengulangan dalam penelitian ini. Sehingga pada masing-masing perlakuan (6 perlakuan) diulang sebanyak 5 kali.

3.5.3 Pembagian kelompok sampel

Sampel dibagi menjadi 6 kelompok perlakuan, yaitu :

- a. Kelompok EDM100 : ekstrak buah delima merah konsentrasi 100%
- b. Kelompok EDM75 : ekstrak buah delima merah konsentrasi 75%
- c. Kelompok EDM50 : ekstrak buah delima merah konsentrasi 50%
- d. Kelompok EDM25 : ekstrak buah delima merah konsentrasi 25%
- e. Kelompok K(+) : kontrol positif obat kumur chlorhexidine 0,2%
- f. Kelompok K(-) : kontrol negatif *aquadest* steril

Keterangan : EDM = Ekstrak Delima Merah

3.6 Alat dan Bahan Penelitian

3.6.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah : petridish diameter 12 cm, disposable syringe volume 5 ml (Terumo), *laminar flow*, *autoclave*, ose, oven (Binder), *vortex*, tabung reaksi, *rotary evaporator* (Heidolph), neraca analitik (Boeco Germany), jangka sorong dengan tingkat ketelitian 0,01 mm (Kenmaster), *thermolyne* (Labinco), spidol, inkubator (LabTech), spreader, isolasi, kertas label, wadah tertutup, gelas ukur (Duran), aluminium foil, microtube, *decicator*, mikropipet ukuran 2000 μ l (Humapette), *yellow tip*, *Blue tip*, blender (Miyako), spatula kaca, bunsen, syringe filter ukuran 0,22 μ m (Sartorius), spektrofotometer (DensiCheck Plus), *water bath*, pinset, dan *magnetic stirrer* (LabTech). Pembakar bunsen (*bunsen burner*).

3.6.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah : Media MHA (*Mueller Hinton Agar*), media MHB (*Mueller Hinton Broth*), aquades steril, kertas saring, bakteri *Streptococcus sanguis*, buah *Punica Granatum Linn*, obat kumur dengan kandungan *chlorhexidin* 0,2 %, etanol 70%, *cotton swab* dan *blank disc (Oxoid)*.

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Tahap Persiapan

a. Uji identifikasi tanaman

Buah delima merah yang dilakukan uji identifikasi sebelum diekstrak. Uji identifikasi dilakukan di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi, Pasuruan. Sehingga diketahui buah delima yang digunakan merupakan spesies *Punica granatum Linn*.

b. Sterilisasi alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini harus disterilkan dalam *autoclave* selama 20 menit dengan suhu 121° C. Alat-alat berbahan plastik dicuci bersih dan dikeringkan, kemudian diulas alkohol 70%.

c. Ekstraksi buah delima merah

Pembuatan ekstrak buah delima merah dilakukan di Laboratorium Bioscience Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Buah delima merah sebanyak 2 kg dicuci bersih dengan air mengalir kemudian dipisahkan antara buah dan kulit. Kemudian buah dan kulit delima merah di keringkan dengan cara dioven pada suhu 50°C selama 6 hari sampai kering. Buah delima yang sudah kering kemudian dipotong-potong dan di blender lalu diayak sehingga didapatkan bubuk halus. Bubuk tersebut direndam dengan etanol 70% selama 72 jam dalam toples dengan tutup dan diaduk secara manual setiap 24 jam. Hasil rendaman disaring dengan

menggunakan kertas saring. Kemudian etanol diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* selama 6 jam dan dioven pada suhu 50°C selama 12 jam. Hasil akhir didapatkan sediaan ekstrak buah delima merah konsentrasi 100% yang berwarna hitam kekuningan. Disimpan dalam wadah tertutup dengan suhu 2°C sampai pemakaian.

d. Pengenceran ekstrak buah delima merah

Setelah didapatkan ekstrak buah delima merah konsentrasi 100%, dilakukan pengenceran untuk mendapatkan konsentrasi 75%, 50%, dan 25% dengan cara sebagai berikut.

1. Ekstrak 100% diperoleh dari 2000 µl EDM yang tidak diencerkan.
2. Ekstrak 75% diperoleh dari 1500µl EDM ditambah 500µl *aquadest*.
3. Ekstrak 50% diperoleh dari 1000µl EDM ditambah 1000µl *aquadest*.
4. Ekstrak 25% diperoleh dari 500µl EDM ditambah 1500µl *aquadest*.

e. Mempersiapkan suspensi bakteri

Streptococcus sanguis yang didapat dari FMIPA Universitas Jember dilakukan penanaman pada Mueller Hinton Agar kemudian di masukkan dalam *decicator* dengan suasana anaerob selama 24 jam. Suspensi *Streptococcus sanguis* dibuat dengan cara mengambil 1 ose *Streptococcus sanguis* dari biakan ditambahkan 2 ml MHB, pembuatan suspensi dilakukan dalam *sterile bench laminar flow*, setelah itu diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C, setelah itu suspensi *Streptococcus sanguis* dikocok dengan *thermolyne*. Suspensi bakteri disesuaikan dengan standar Mc Farland 0,5 (konsentrasi sel bakteri dalam suatu suspensi $3 \times 10^8 / \text{ml}$).

f. Mempersiapkan media

Media yang digunakan Mueller-Hinton Agar (MHA) sebanyak 3,8 gram dilarutkan dalam 100ml *aquadest*, kemudian disterilisasi dalam *autoclave* pada suhu 121° selama 15 menit. Penggunaan media MHA ini dikarenakan kandungan *starch* (tepung pati) yang berfungsi untuk menyerap racun bakteri, sehingga tidak mengganggu antibiotik dan baik untuk uji antibakteri. Tiap cawan petri diisi dengan media sebanyak 25 ml dan dibiarkan beberapa saat hingga memadat. Pada media padat disebarkan suspensi bakteri yang sesuai dengan standar Mc Farland 0,5 secara merata dengan menggunakan *cotton swab* steril.

g. Mempersiapkan *Blank Disc* (*Kirby-Bauer*)

Blank disc (Oxoid) yang sudah jadi dan steril disiapkan sebanyak 30 *disc*.

3.7.2 Tahap Perlakuan

a. Pemberian suspensi kuman pada media biakan

Media biakan diberikan suspensi kuman *Streptococcus sanguis* kemudian diratakan dengan *cotton swab*.

c. Pemberian label pada bagian bawah *petridish*.

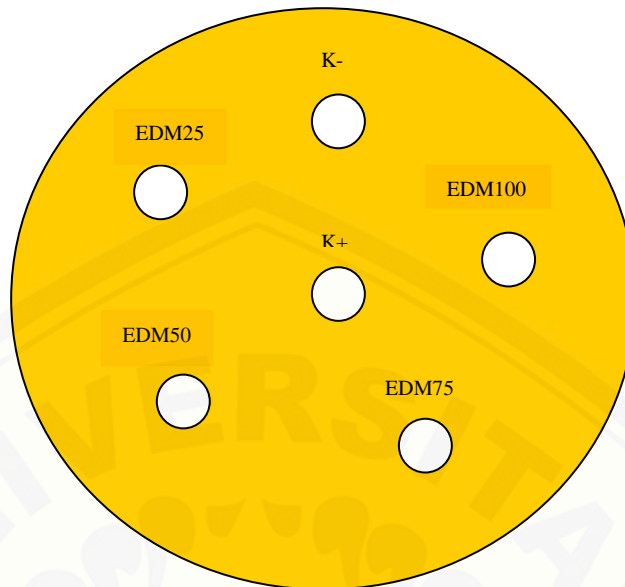
Pemberian label diletakkan pada bagian bawah *petridish* supaya tidak terjadi pergeseran posisi dan letak dari *disc* seperti pada gambar 3.1

b. Meletakkan *disc* atau cakram pada media biakan

Disc sebanyak 30 potong diletakkan pada media (masing-masing 6 *disc* pada satu media) yang sudah diberi suspensi kuman dengan menggunakan pinset steril.

d. Pemberian perlakuan pada *disc* atau cakram

Disc yang telah diletakkan pada media biakan ditetesi larutan perlakuan. Masing-masing larutan ditetaskan sebanyak 20µl pada setiap *disc*.



Gambar 3.1 Peletakan *disc* pada media yang sudah diinokulasikan *Streptococcus sanguis*

c. Inkubasi selama 24 jam

Petridish kemudian ditutup, dimasukkan ke dalam *desiccator* dengan suasana anaerob (menyalakan pembakar bunsen di dalam *desiccator* yang tertutup hingga mati, menandakan tidak tersedianya oksigen) dan posisi *petridish* terbalik untuk mencegah kondensasi, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C menggunakan inkubator.

3.7.3 Tahap Pengamatan

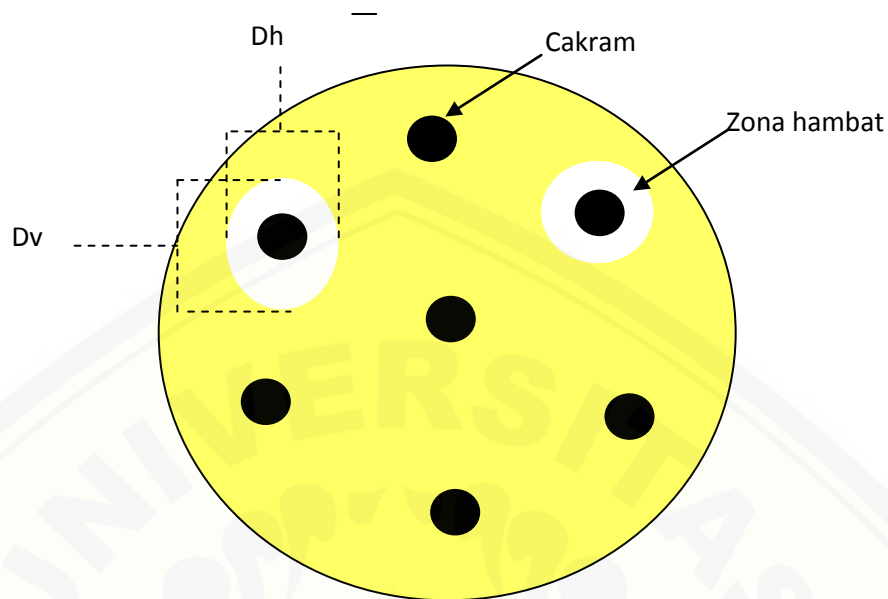
1. Dilakukan pengamatan zona hambat dan pengukuran zona hambat, menggunakan jangka sorong dan menggunakan rumus;

$$\frac{(Dv) + (Dh)}{2}$$

Keterangan (Gambar 3.2) :

Dv = Diameter vertikal

Dh = Diameter horizontal



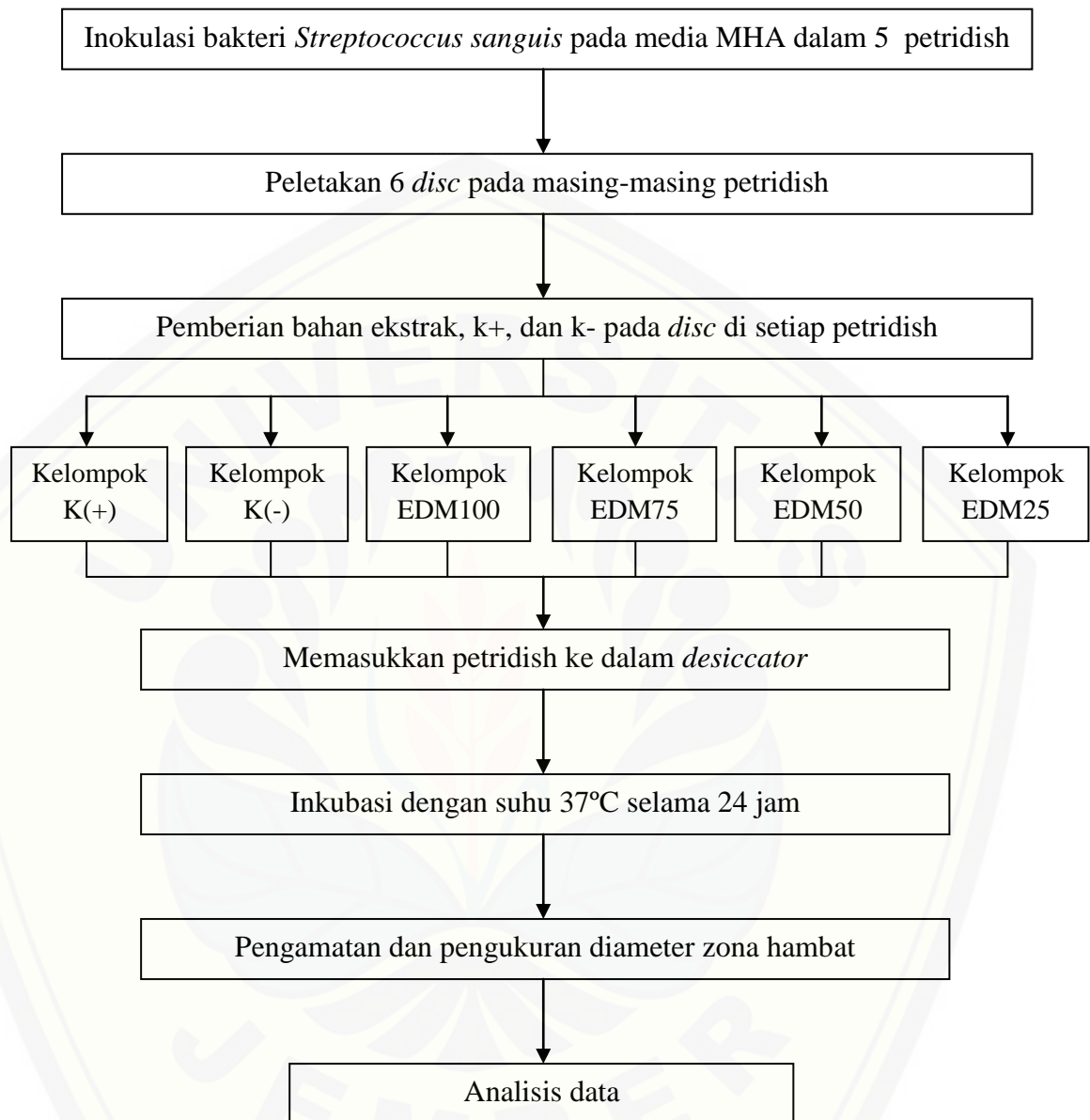
Gambar 3.2 Cara pengukuran diameter zona hambat ekstrak buah delima merah

2. Pengamatan dilakukan oleh 3 orang pengamat kemudian data yang didapat di rata-rata untuk mendapatkan hasil zona hambat.

3.8 Analisis data

Analisis data pada uji hambat ekstrak delima merah terhadap *Streptococcus sanguis* berdasarkan zona hambat yang dihasilkan disekitar *disc*. Diameter zona hambat diukur dalam milimeter (mm). Uji Normalitas data dengan menggunakan *Kolmogorov-Smirnov* dan Uji Homogenitas data dengan menggunakan *Levene's test*. Hasil menunjukkan data terdistribusi normal ($p > 0,05$) dan tidak homogen ($p < 0,05$), maka dilakukan uji statistik non parametrik *Kruskal-Wallis* dilanjutkan dengan *Mann-Whitney*.

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 :

1. Ekstrak buah delima merah memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *Streptococcus sanguis*.
2. Konsentrasi ekstrak buah delima merah yang paling efektif untuk menghambat pertumbuhan *Streptococcus sanguis* adalah 100% dan 75%.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai daya hambat ekstrak buah delima merah terhadap mikroflora lain pada rongga mulut yang mampu berkoloni di dalam plak.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai ekstrak buah delima merah secara in vivo.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang biokompabilitas ekstrak buah delima merah.
4. Perlu dilakukan sosialisasi pada masyarakat mengenai tanaman delima merah terutama manfaatnya bagi kesehatan.

DAFTAR PUSTAKA

- Adjimani, Jonathan P., Prince Asare. 2015 Antioxidant and free radical scavenging activity of iron celators. *Toxicology Reports 2*
- Ashton, Richard., Barbara Baer, David Silverstein. 2006. *The Incredible Pomegranate*. Arizona: Third Millennium Publishing: 18-24
- Astawan, M. 2008. *Sehat Dengan Buah*. Cetakan pertama. Jakarta: Penerbit Dian Rakyat. 103-104
- Chrismarina S, Tjahjani A & Brotosoetarno S. 2006. Pembentukan Mikrobial Biofilm dalam Rongga Mulut. *International Journal of Dentistry*: 55-60
- Cowan, M. M. 1999. Plant product as Antimicrobial Agents. *Clin. Microbiol. Rev.* 12 (4)
- Cushnie, T.P. Tim., Andrew J. Lamb. 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents 26*
- Darmadi. 2008. *Infeksi Nosokomial: Problematika dan Pengendaliannya*. Jakarta: Salemba Medika: 31-32
- Dwidjoseputro. 2005. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta : Djambatan
- Geo FB, Janet SB, Nicholas O, Ernest J, Joseph LM & Edward AA. 1996. *Mikrobiologi Kedokteran Ed. 3*. Jakarta: EGC ; 15
- Hernawati, Sri. 2015. Ekstrak Buah Delima sebagai Alternatif Terapi Recurrent Aphthous Stomatitis (RAS). *Stomatognathic Jurnal Kedokteran Gigi Vol.1(1)*. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
- Idris, Maryam. 2013. *Efektifitas Ekstrak Aloe vera Terhadap Pertumbuhan Bakteri Streptococcus sanguis*. Makassar: Bagian Ilmu Penyakit Mulut Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin

- Jurenka, Julie., 2008. *Therapeutic Applications of pomegranate (Punica granatum L.): A Review. Alternative Medicine Review Volume 13*. Thorne Research, Inc.: 12-15
- Kementrian Kesehatan RI. Direktorat Jendral Bina Gizi dan Kesehatan Ibu dan Anak. 2013. *Buku Saku Petunjuk Pemanfaatan TOGA Tanaman Obat Keluarga*. Jakarta: Kementrian kesehatan RI
- Khan, Jahir Alam, Sonali hanee. 2011. Antibacterial properties of Punica granatum. *Internasional Journal of applied Biology and Pharmaceutical Technology*. volume : 2
- Knonen E., A. Kanervo, K. Salminen, and H. Jousimies-somer. 1999. β -Lactamase Production and Antimicrobial Susceptibility of Oral Heterogeneous *Fusobacterium nucleatum* Populations in Young Children. *American Society for Microbiology*
- Ladytama R.S, Arlina N, Moh. Baehaqi. 2014. Efektivitas Larutan Ekstrak Jeruk Nipis (*Citrus Aurantifolia*) Sebagai Obat Kumur terhadap Penurunan Indeks Plak pada Remaja Usia 12-15 Tahun-Studi di SMP Nurul Islami, Mijen. *Odonto Dental Journal*. Vol 1(1) :39-43
- Lenny, S. 2006. Senyawa Flavanoida, Fenilpropanida dan Alkaloida. Karya Ilmiah Departemen Kimia Fakultas MIPA Universitas Sumatera Utara
- Marja P. Kahkonen, Marina Heinonen. 2003. Antioxidant Activity of Anthocyanins and their Aglycons. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51
- Nadia, Vaza, Sri Utami dan Ratna Farida. 2012. *Efek Antibakteri Ekstrak Daun Sukun Terhadap Viabilitas Biofilm Streptococcus sanguinis ATCC 10556 (in vitro)*. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia.
- Narayan T., Deshpande S., Jha A., Ramprasad VP., 2014. Punica granatum (pomegranate) fruit and its relevance in oral hygiene. *International Organization of Scientific Research Journal of Dental and Medical Sciences (IOSR-JDMS)* Volume 13(8): 7-11

Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR. 2002. Periodontal Microbiology. In *Carranza's Clinical Periodontology. 9 th ed.* Toronto: WB. Saunders.co : 82-97.

Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR. 2012. *Carranza's Clinical Periodontology. 11 th ed.* Singapore: Elsevier : 219-240.

Parseh, Hoda., Shahin Hassanpour, Zahra Emam-djome, Alireza Shahab Lavasani. 2012. *Antimicrobial properties of Pomegranate (Punica granatum L.) as a Tannin rich Fruit: a review.* The 1st International and The 4th National Congress on Recycling of Organic Waste in Agriculture.

Philip D. Marsh, Michael V. Martin, Michael A. O. Lewis, David W. Williams. 2009. *Oral Microbiology.* 5th edition. Churchill Livingstone

Pintauli S, Hamada T. 2008. *Menuju gigi dan mulut sehat: pencegahan dan pemeliharanya. Ed.I.* Medan: USU Press :4-5,21.

Pristyhari, Aditya. 2016. *Pengaruh Ekstrak Buah Delima Merah (Punica granatum Linn.) terhadap Pertumbuhan Fusobacterium nucleatum.* Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Ristianti, Nina, Jaka Kusnanta W. dan Marsono. 2015. *Perbedaan Efektifitas Obat Kumur Herbal Terhadap Akumulasi Plak di Dalam Rongga Mulut.* Semarang: Medali Jurnal: Media Dental Intelektual.

Rydengard V, Shannon O, Lundqvist K, Kacprzyk L, Chalupka A & Olsson AK. 2008. *Histidine-Rich Glikoprotein Melindungi dari Infeksi Candida Sistemik* : 1-3.

Tahmourepour A, Rooha KK., Rasoul Salehi, Nafiseh GP. 2010. Biofilm Formation Potential of Oral Streptococci Related to Some Carbohydrate Subtates. *African Journal of Microbiology Research*: 1051-1058.

Todar K. 2008. The Normal Bacteria of Humans. *Todar's Online Textbook of Bacteriology* : 1-5.

Volk WA and Wheeler MF. 1990. *Mikrobiologi Dasar*. Jakarta : Penerbit Erlangga : 31-40.

Yuniarti, T. 2008. *EnsiklopediaTananmanObatTradisional*.CetakanPertama. Yogyakarta: MedPress. 35-38.



LAMPIRAN

Lampiran A. Surat Keterangan

A. 1 Surat Identifikasi Bakteri



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN
JURUSAN BIOLOGI
Jalan Kalimantan III No. 23 FMIPA, Universitas Jember, Jawa Timur 68123

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI BAKTERI

Berdasarkan hasil identifikasi dengan pengecatan Gram pada bakteri yang digunakan
Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Jember oleh:

Nama : Fadhilah Rusmaputeri
NIM : 141610101008
Jurusan/Fakultas : Kedokteran Gigi
PT : Universitas Jember

Maka dapat disampaikan hasilnya, bahwa bakteri tersebut adalah:

Streptococcus Sanguis

Demikian, mudah-mudahan bermanfaat.

Jember, 06 November 2017
Kalab Mikrobiologi

Drs. Rudju Winarsa, M.Kes
NIP. 196008161989021001

A. 2 Surat Identifikasi Tanaman



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

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



SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TUMBUHAN

No: 1612 /IPH.06/HM/XI/2017

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

Nama : Fadhilah Rusmaputeri
NIM : 141610101008
Instansi : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
Tanggal material diterima : 20 Nopember 20017

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 : Myrtales
Family : Punicaceae
Genus : Punica
Species : *Punica granatum L.*

Referensi:

1. Backer CA & Bakhuizen van den Brink RC. 1963. Flora of Java Vol.I. NVP No ordhoff, Groningen, The Netherlands. Hal. 259
2. Cronquist A. 1981. An Integrated System of Classification of Flowering Plants. Columbia University Press, New York, USA. Hal. XVI
3. E.W.M.Verheij dan R.E. Coronel, tahun 1992 PROSEA (Plants Resources of South-East Asia) No 2; Edible fruits and nuts, Hal.270

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Purwodadi, 27 Nopember 2017

An. Kepala

Koleksi Eksplorasi dan Koleksi Tumbuhan



Sugeng, M.Sc, P.hD

A. 3 Surat Identifikasi Tanaman



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
Jl. Kalimantan No. 37 Jember ☎(0331) 333536, Fak. 331991

Nomor : 2960/UN25.8.TL/2017
Perihal : Pembuatan Ekstrak

20 OCT 2017

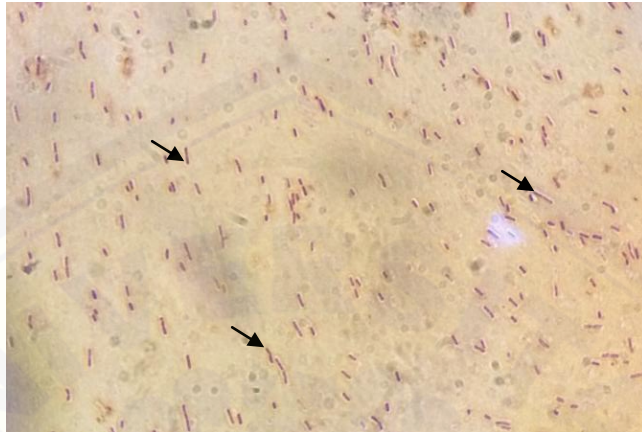
Kepada Yth
Direktur RSGM Universitas Jember
Di
Jember

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

- | | | |
|----|-------------------------|---|
| 1 | Nama | : Fadhilah Rusmaputeri |
| 2 | NIM | : 141610101008 |
| 3 | Semester/Tahun | : 2017/2018 |
| 4 | Fakultas | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember |
| 5 | Alamat | : Jln. Mastrip No.63 Jember |
| 6 | Judul Penelitian | : Daya Hambat Ekstrak Buah Delima Merah (Punica Granatum Linn) Terhadap Pertumbuhan Streptococcus Sanguis |
| 7 | Lokasi Penelitian | : Laboratorium Bioscience Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember |
| 8 | Data/alat yang dipinjam | : Oven, rotary evaporator, dll |
| 9 | Waktu | : Oktober 2017 s/d Selesai |
| 10 | Tujuan Penelitian | : Untuk Membuat Ekstrak Buah Delima Merah |
| 11 | Dosen Pembimbing | : 1. Dr. drg. Sri Hernawati, M.Kes
2. drg. Pujiana Endah Lestari, M.Kes |

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih

an Dekan
Wakil Dekan I,
Dekan I, DA Susilawati, M.Kes
NIP. 196109031986022001A

Lampiran B. Identifikasi *Streptococcus sanguis*

Gambaran mikroskopis *Streptococcus sanguis* dengan perbesaran 1000x. Tanda panah menunjukkan bakteri gram positif (berwarna ungu) berbentuk *coccus* dan berantai (*streptococcus*).

Lampiran C. Penghitungan Pembuatan dan Rendemen Ekstrak Buah Delima Merah

C.1 Penghitungan Pembuatan Ekstrak Buah Delima Merah

Penghitungan ekstrak buah delima merah (*Punica granatum Linn*) didapatkan dari :

Berat buah basah	: 2 kg
Berat buah kering	: 970 g
Berat simplisia	: 660 g
Berat ekstrak	: 83,33 g

C.2 Penghitungan Rendemen Ekstrak Buah Delima Merah

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat Ekstrak (g)}}{\text{Berat Simplisia (g)}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned}\text{Rendemen} &= \frac{83,33 \text{ g}}{660 \text{ ml}} \times 100\% \\ &= 12,62\%\end{aligned}$$

Jadi, hasil rendemen ekstrak buah delima merah sebesar 12,62%.

Lampiran D. Penghitungan Pengenceran Ekstrak Buah Delima Merah

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

Keterangan :

M1 : Konsentrasi awal ekstrak buah delima merah

V1 : Volume awal ekstrak buah delima merah

M2 : Konsentrasi akhir ekstrak buah delima merah

V2 : Volume akhir ekstrak buah delima merah

Pengenceran :

1. Ekstrak 75% sebanyak 2000 μ l

$$100\% \times V1 = 75\% \times 2000 \mu\text{l}$$

$$V1 = \frac{75\% \times 2000 \mu\text{l}}{100\%}$$

$$100\%$$

$$V1 = 1500 \mu\text{l}$$

Volume pelarut :

$$V2 - V1 = 2000 \mu\text{l} - 1500 \mu\text{l}$$

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

Maka, untuk mendapatkan ekstrak buah delima merah konsentrasi 75% diperoleh dengan cara menambahkan larutan *aquadest* sebanyak 500 μ l ke dalam 1500 μ l ekstrak buah delima merah konsentrasi 100%.

2. Ekstrak 50% sebanyak 2000 μ l

$$100\% \times V1 = 50\% \times 2000 \mu\text{l}$$

$$V1 = \frac{50\% \times 2000 \mu\text{l}}{100\%}$$

$$100\%$$

$$V1 = 1000 \mu\text{l}$$

Volume pelarut :

$$V2 - V1 = 2000 \mu\text{l} - 1000 \mu\text{l}$$

$$= 1000 \mu\text{l}$$

Maka, untuk mendapatkan ekstrak buah delima merah konsentrasi 50% diperoleh dengan cara menambahkan larutan *aquadest* sebanyak 1000 μl ke dalam 1000 μl ekstrak buah delima merah konsentrasi 100%.

3. Ekstrak 25% sebanyak 2000 μl

$$100\% \times V_1 = 25\% \times 2000 \mu\text{l}$$

$$V_1 = \frac{25\% \times 2000 \mu\text{l}}{100\%}$$

$$V_1 = 500 \mu\text{l}$$

Volume pelarut :

$$\begin{aligned} V_2 - V_1 &= 2000 \mu\text{l} - 500 \mu\text{l} \\ &= 1500 \mu\text{l} \end{aligned}$$

Maka, untuk mendapatkan ekstrak buah delima merah konsentrasi 25% diperoleh dengan cara menambahkan larutan *aquadest* sebanyak 1500 μl ke dalam 500 μl ekstrak buah delima merah konsentrasi 100%.

Lampiran E. Data Hasil Penghitungan Zona Hambat (mm)

Plate	Pengamat	Perlakuan					
		100%	75%	50%	25%	K+	K-
I	1	11,5	11,45	9,5	9,2	11,35	0
	2	12,55	11,7	10,4	9,6	10,8	0
	3	12,7	12,6	10,25	10	12,45	0
II	1	11,1	10,85	9,15	8,4	10	0
	2	12	11,9	10,6	10	10,65	0
	3	11,9	11,5	10	9,5	10,4	0
III	1	10,2	9,65	8,9	8,75	9,75	0
	2	11,6	10,65	9,75	9,5	9,7	0
	3	12,3	11	10,4	9,4	9,8	0
IV	1	11	10,25	8,7	8,25	10,3	0
	2	11,4	10,6	9,9	9,75	11	0
	3	11,9	9,8	9,5	9,1	10,6	0
V	1	10,6	10,15	8,8	8	10,85	0
	2	11,2	11	10,1	9	12	0
	3	11,8	10,15	9,6	9	11,5	0

Plate I	Perlakuan					
	100%	75%	50%	25%	K+	K-
Rata-rata	12,25	11,916	10,05	9,6	11,533	0

Plate II	Perlakuan					
	100%	75%	50%	25%	K+	K-
Rata-rata	11,666	11,416	9,916	9,3	10,35	0

Plate III	Perlakuan					
	100%	75%	50%	25%	K+	K-
Rata-rata	11,366	10,433	9,683	9,216	9,75	0

Plate IV	Perlakuan					
	100%	75%	50%	25%	K+	K-
Rata-rata	11,433	10,216	9,366	9,033	10,633	0

Plate V	Perlakuan					
	100%	75%	50%	25%	K+	K-
Rata-rata	11,2	10,433	9,5	8,666	11,45	0

Lampiran F. Analisis Data

F. 1 Hasil Uji Normalitas Kolmogorov-Smirnov

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		EDM100	EDM75	EDM50	EDM25	Kplus	Kminus
N		5	5	5	5	5	5
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	11,5833	10,8833	9,7033	9,1633	10,7433	,0000
	Std. Deviation	,40859	,74190	,28319	,34488	,75449	,00000 ^e
	Most Extreme Differences						
	Absolute	,243	,328	,174	,161	,226	
	Positive	,243	,328	,164	,146	,158	
	Negative	-,174	-,184	-,174	-,161	-,226	
Test Statistic		,243	,328	,174	,161	,226	
Asymp. Sig. (2-tailed)		,200 ^{c,d}	,084 ^{c,d}	,200 ^{c,d}	,200 ^{c,d}	,200 ^{c,d}	

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. Lilliefors Significance Correction.

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

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

F. 2 Hasil Uji Homogenitas Levene

Test of Homogeneity of Variances

zona_hambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
5,885	5	24	,001

F.3 Hasil Uji Kruskal-Wallis

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank
zona_hambat	EDM100	5	25,60
	EDM75	5	21,80
	EDM50	5	13,00
	EDM25	5	8,40
	Kplus	5	21,20
	Kminus	5	3,00
	Total		30

Test Statistics^{a,b}

	zona_hambat
Chi-Square	25,091
Df	5
Asymp. Sig.	,000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: perlakuan

F.4 Hasil Uji *Mann-Whitney*

1. EDM100 dengan EDM75

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona_hambat	EDM100	5	6,80	34,00
	EDM75	5	4,20	21,00
	Total	10		

Test Statistics^a

	zona_hambat
Mann-Whitney U	6,000
Wilcoxon W	21,000
Z	-1,362
Asymp. Sig. (2-tailed)	,173
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,222 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

2. EDM100 dengan EDM50

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona_hambat	EDM100	5	8,00	40,00
	EDM50	5	3,00	15,00
	Total	10		

Test Statistics^a

	zona_hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	15,000
Z	-2,611
Asymp. Sig. (2-tailed)	,009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,008 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

3. EDM100 dengan EDM25

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona_hambat	EDM100	5	8,00	40,00
	EDM25	5	3,00	15,00
	Total	10		

Test Statistics^a

	zona_hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	15,000
Z	-2,611
Asymp. Sig. (2-tailed)	,009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,008 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

4. EDM100 dengan K+

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona_hambat	EDM100	5	6,80	34,00
	Kplus	5	4,20	21,00
	Total	10		

Test Statistics^a

	zona_hambat
Mann-Whitney U	6,000
Wilcoxon W	21,000
Z	-1,358
Asymp. Sig. (2-tailed)	,175
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,222 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

5. EDM100 dengan K-

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona_hambat	EDM100	5	8,00	40,00
	Kminus	5	3,00	15,00
	Total	10		

Test Statistics^a

	zona_hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	15,000
Z	-2,785
Asymp. Sig. (2-tailed)	,005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,008 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

6. EDM75 dengan EDM50

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona_hambat	EDM75	5	8,00	40,00
	EDM50	5	3,00	15,00
	Total	10		

Test Statistics^a

	zona_hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	15,000
Z	-2,619
Asymp. Sig. (2-tailed)	,009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,008 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

7. EDM75 dengan EDM25

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona_hambat	EDM75	5	8,00	40,00
	EDM25	5	3,00	15,00
	Total	10		

Test Statistics^a

	zona_hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	15,000
Z	-2,619
Asymp. Sig. (2-tailed)	,009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,008 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

8. EDM75 dengan K+

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona_hambat	EDM75	5	5,60	28,00
	Kplus	5	5,40	27,00
	Total	10		

Test Statistics^a

	zona_hambat
Mann-Whitney U	12,000
Wilcoxon W	27,000
Z	-,105
Asymp. Sig. (2-tailed)	,917
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1,000 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

9. EDM75 dengan K-

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona_hambat	EDM75	5	8,00	40,00
	Kminus	5	3,00	15,00
	Total	10		

Test Statistics^a

	zona_hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	15,000
Z	-2,795
Asymp. Sig. (2-tailed)	,005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,008 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

10. EDM50 dengan EDM25

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona_hambat	EDM50	5	7,60	38,00
	EDM25	5	3,40	17,00
	Total	10		

Test Statistics^a

	zona_hambat
Mann-Whitney U	2,000
Wilcoxon W	17,000
Z	-2,193
Asymp. Sig. (2-tailed)	,028
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,032 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

11. EDM50 dengan K+

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona_hambat	EDM50	5	3,40	17,00
	Kplus	5	7,60	38,00
	Total	10		

Test Statistics^a

	zona_hambat
Mann-Whitney U	2,000
Wilcoxon W	17,000
Z	-2,193
Asymp. Sig. (2-tailed)	,028
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,032 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

12. EDM50 dengan K-

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona_hambat	EDM50	5	8,00	40,00
	Kminus	5	3,00	15,00
	Total	10		

Test Statistics^a

	zona_hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	15,000
Z	-2,785
Asymp. Sig. (2-tailed)	,005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,008 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

13. EDM25 dengan K+

Ranks

	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona_hambat	EDM25	5	3,00	15,00
	Kplus	5	8,00	40,00
	Total	10		

Test Statistics^a

	zona_hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	15,000
Z	-2,611
Asymp. Sig. (2-tailed)	,009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,008 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

14. EDM25 dengan K-

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona_hambat	EDM25	5	8,00	40,00
	Kminus	5	3,00	15,00
	Total	10		

Test Statistics^a

	zona_hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	15,000
Z	-2,785
Asymp. Sig. (2-tailed)	,005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,008 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

15. K+ dengan K-

Ranks

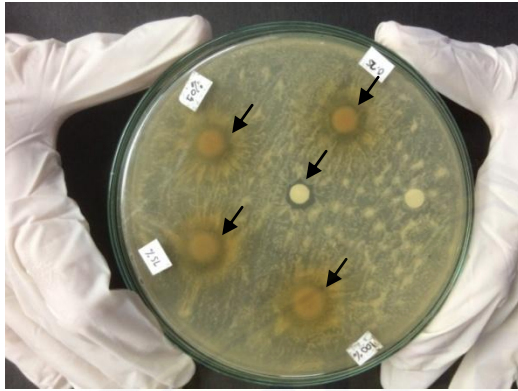
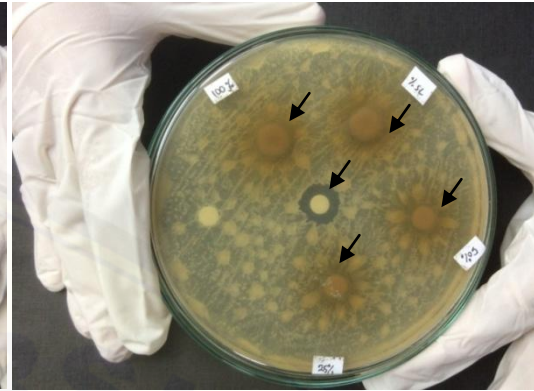
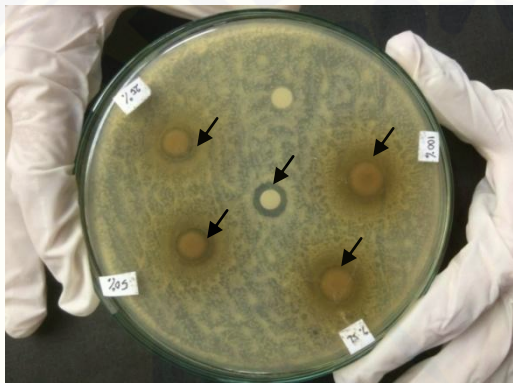
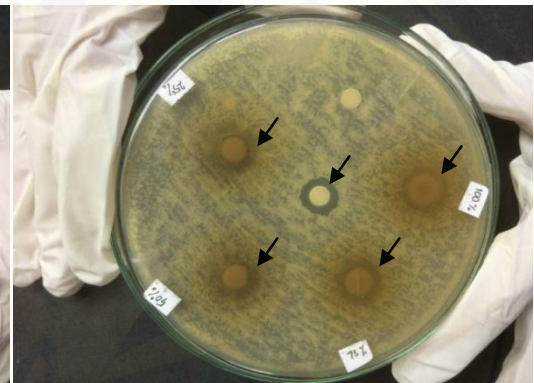
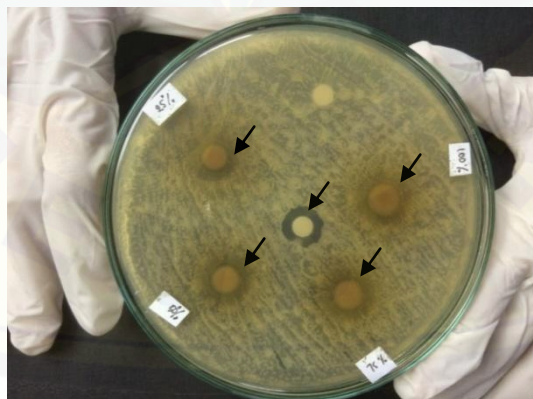
	perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona_hambat	Kplus	5	8,00	40,00
	Kminus	5	3,00	15,00
	Total	10		

Test Statistics^a

	zona_hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	15,000
Z	-2,785
Asymp. Sig. (2-tailed)	,005
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,008 ^b

a. Grouping Variable: perlakuan

b. Not corrected for ties.

Lampiran G. Hasil Penelitian*Plate 1**Plate 2**Plate 3**Plate 4**Plate 5*

Keterangan : Tanda panah hitam menunjukkan adanya zona hambat.

Lampiran H. Alat Penelitian

H.1 Alat pembuatan ekstrak buah delima merah



Loyang



Timbangan Digital



Oven



Blender



Toples



Rotary Evaporator

H.2 Bahan pembuatan ekstrak buah delima merah



Buah delima merah



Etanol 70%



Aluminum foil

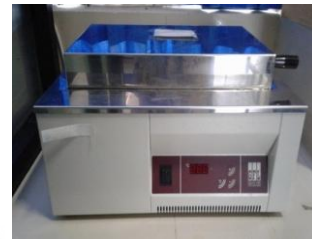
H.3 Alat penelitian zona hambat



Laminar flow



Inkubator



Water Bath



Desicator



Vortex



DensiCHECK



Ose



Tabung reaksi



Petridish

H.4 Bahan penelitian zona hambat



Ekstrak buah delima merah



Bakteri Streptococcus sanguis



Blank disc



Tabung Eppendorf



Blue Tip



Cotton Swab



Syringe filter



Media MHB



Syringe



Aquadest steril



Chlorhexidine 0,2%

H. 5 Alat pengukuran zona hambat



Jangka sorong