



**DAYA HAMBAT EKSTRAK SARANG LEBAH *Trigona* sp TERHADAP
PERTUMBUHAN *Porphyromonas gingivalis***

SKRIPSI

Oleh:

Leni Damayanti Harahap

NIM 151610101062

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS JEMBER

2019



**DAYA HAMBAT EKSTRAK SARANG LEBAH *Trigona* sp TERHADAP
PERTUMBUHAN *Porphyromonas gingivalis***

SKRIPSI

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

Oleh:

Leni Damayanti Harahap

NIM 151610101062

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

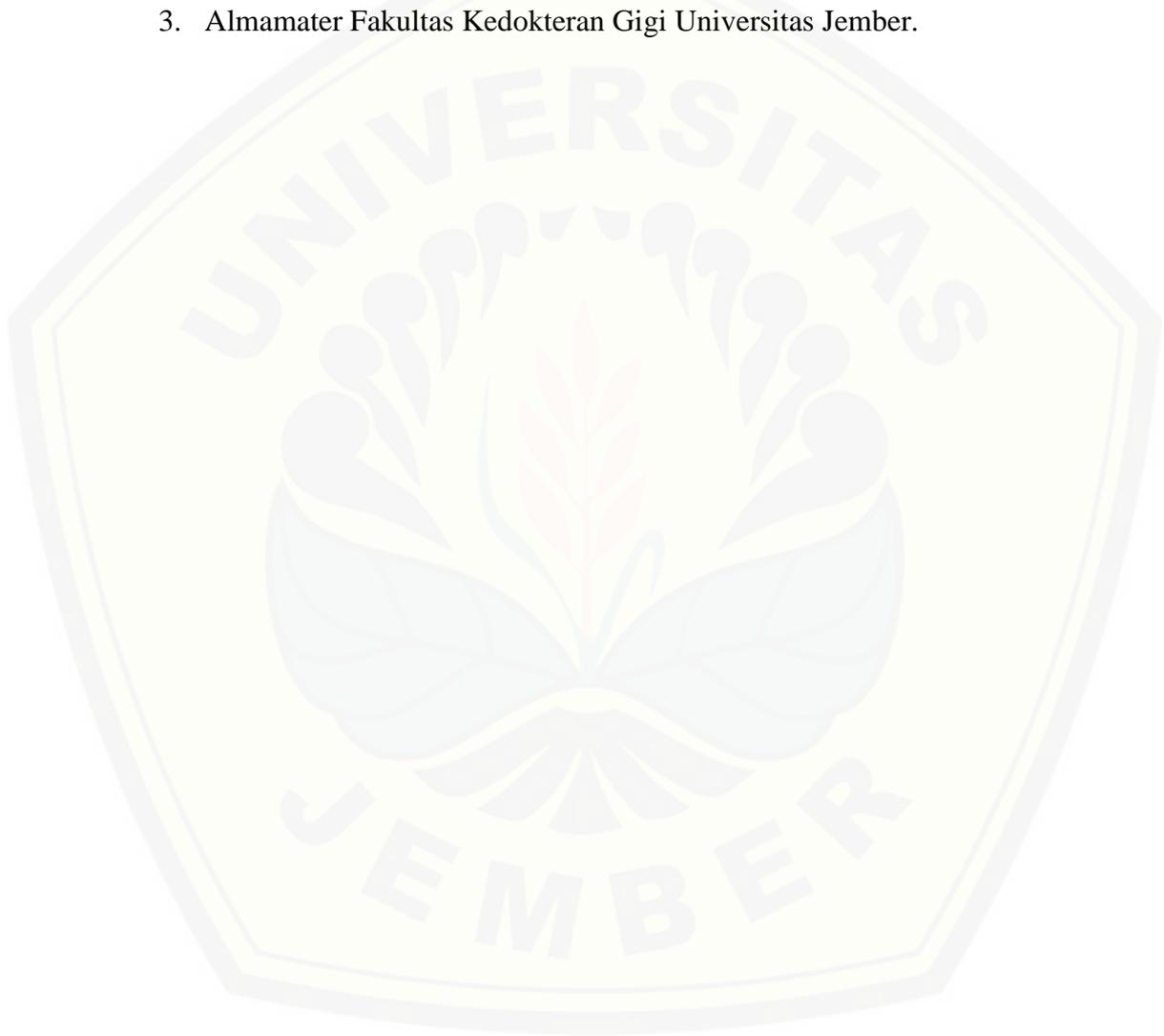
UNIVERSITAS JEMBER

2019

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ibunda Lena Dumasari Siregar dan Ayahanda Ali Dinar Harahap tercinta;
2. Guru-guru sejak TK hingga SMA, dosen, dan seluruh civitas akademika Universitas Jember khususnya Fakultas Kedokteran Gigi;
3. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.



MOTO

Maka sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan. Sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan.
(Q.S. Al Insyirah : 5-6)*

Dan apabila hamba-hamba-Ku bertanya kepadamu (Muhammad) tentang Aku, maka sesungguhnya Aku dekat. Aku kabulkan permohonan orang yang berdoa apabila dia berdoa kepada-Ku dan beriman kepada-Ku agar mereka memperoleh kebenaran. (Q.S. Al- Baqarah: 186)*

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

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Leni Damayanti Harahap

NIM : 151610101062

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Daya Hambat sarang lebah *Trigona* sp terhadap Pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, 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 manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 9 Mei 2019

Yang menyatakan,

Leni Damayanti Harahap

NIM 151610101062

SKRIPSI

**DAYA HAMBAT EKSTRAK SARANG LEBAH *Trigona* sp
TERHADAP PERTUMBUHAN
*Porphyromonas gingivalis***

Oleh:

Leni Damayanti Harahap

151610101062

Pembimbing :

Dosen Pembimbing Utama : drg. Amandia Dewi Permana Shita, M. Biomed

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

PENGESAHAN

Skripsi berjudul "Daya Hambat Ekstrak Sarang Lebah *Trigona* sp terhadap Pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*" telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Kamis, 9 Mei 2019

tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Penguji Utama,

Penguji Anggota,

drg. Depi Praharani, M.Kes.

drg. Tantin Ermawati, M.Kes.

NIP 196801221997022001

NIP 198003222008122003

Pembimbing Utama,

Pembimbing Anggota,

drg. Amandia Dewi P.S., M.Biomed.

drg. Peni Pujiastuti, M.Kes.

NIP 198006032006042002

NIP 196705171996012001

Mengesahkan,

Dekan,

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

NIP. 196901121996011001

RINGKASAN

Daya Hambat Ekstrak Sarang Lebah *Trigona* sp Terhadap Pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*; Leni Damayanti Harahap, 151610101062; 2019; 77 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Penyakit periodontal merupakan salah satu penyakit gigi dan mulut yang sering terjadi di Indonesia. Penyakit periodontal yang sering terjadi adalah gingivitis dan periodontitis. Periodontitis yang umumnya terjadi adalah periodontitis kronis. Penyebab primer yang menginisiasi terjadinya periodontitis kronis adalah adanya akumulasi plak. Komposisi utama dari plak adalah mikroorganisme sebesar 70-80% dan matriks interseluler.

Mikroba penyebab terjadinya periodontitis kronis yang memiliki prevalensi yang lebih besar dibandingkan mikroba lain adalah *P. gingivalis* yaitu sebesar 53,8% dan pada penyakit periodontal *P. gingivalis* menjadi “*keystone pathogen*” diantara patogen periodontal lain. Bakteri ini dapat mengeluarkan faktor virulensi yang dapat mendestruksi sel host yaitu berupa endotoksin, enzim kolagenase, enzim proteolitik, dan induksi mediator peradangan. Salah satu cara untuk menghambat pertumbuhan *P. gingivalis* adalah dengan memanfaatkan bahan alami yang efektif dan aman, misalnya adalah sarang lebah *Trigona* sp. Senyawa antibakteri yang terkandung dalam sarang lebah *Trigona* sp adalah asam lemak, flavonoid, asam fenolat, dan tanin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya hambat ekstrak sarang lebah *Trigona* sp terhadap pertumbuhan *P. gingivalis* dan konsentrasi ekstrak sarang lebah *Trigona* sp yang memiliki daya hambat efektif terhadap pertumbuhan *P. gingivalis*.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian yaitu *the post-test only control group design*. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah difusi sumuran (*Well diffusion method*) dengan menggunakan 4 sampel pada setiap kelompok. Sampel terdiri dari (2 kelompok kontrol dan 4 kelompok perlakuan). Kelompok kontrol terdiri dari kontrol positif yaitu *chlorhexidine gluconate* 0,2%, dan kontrol negatif yaitu

propilen glikol. Kelompok perlakuan terdiri dari ekstrak sarang lebah *Trigona* sp konsentrasi 100% (P1), 75% (P2), 50% (P3) dan 25% (P4). Bahan uji pada setiap kelompok penelitian diberikan sebanyak 20 μ l di lubang sumuran pada media BHI-A yang telah diinokulasi *P. gingivalis* dengan metode *pour plate*. Cawan petri yang telah diberi perlakuan dibalik dan dimasukkan ke dalam desikator dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Setelah 48 jam, cawan petri dikeluarkan dan dilakukan pengukuran zona hambat dengan jangka sorong digital.

Hasil penelitian ini membuktikan bahwa ekstrak sarang lebah *Trigona* sp mempunyai daya hambat terhadap pertumbuhan *P. gingivalis*. Konsentrasi ekstrak sarang lebah *Trigona* sp yang mampu menghambat pertumbuhan *P. gingivalis* yaitu konsentrasi 75%, 50% dan 25%, sedangkan pada konsentrasi 100% tidak nampak adanya zona hambat. Ekstrak sarang lebah *Trigona* sp mempunyai daya hambat terhadap pertumbuhan *P. gingivalis* disebabkan karena kandungan yang terdapat didalamnya yaitu asam lemak, flavonoid, tanin, asam fenolat dan tanin. Kandungan atau zat-zat tersebut bekerja menghambat bakteri dengan mekanisme yang berbeda-beda.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak sarang lebah *Trigona* sp memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan *P. gingivalis*. Konsentrasi ekstrak sarang lebah *Trigona* sp yang memiliki daya hambat efektif terhadap pertumbuhan *P. gingivalis* adalah 50% dan 25%.

PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT karena atas berkat rahmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi yang berjudul “Daya Hambat Ekstrak Sarang Lebah *Trigona* sp Terhadap Pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*”. Skripsi ini diajukan untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan, bimbingan, serta dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Ibunda Lena Dumasari Siregar dan Ayahanda Ali Dinar Harahap yang telah memberikan doa, semangat, kasih sayang dan dorongan kepada penulis baik secara moral dan materi;
2. Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes, Sp.Pros. atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi ini;
3. drg. Amandia Dewi Permana Shita, M.Biomed. selaku Dosen Pembimbing Utama dan drg. Peni Pujiastuti, M.Kes. selaku Dosen Pembimbing Anggota yang penuh kesabaran memberi bimbingan, dorongan, meluangkan waktu, pikiran, perhatian dan saran kepada penulis selama proses penyusunan skripsi;
4. drg. Depi Praharani, M.Kes. selaku Dosen Penguji Utama dan drg. Tantin Ermawati, M. Kes. selaku Dosen Penguji Anggota yang telah meluangkan waktu untuk membaca, memberikan kritik dan saran dalam penulisan skripsi ini;
5. Seluruh dosen Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember yang mendidik dan memberikan bekal ilmu kepada penulis;
6. Seluruh staf Akademik dan Kemahasiswaan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember yang membantu kelancaran penulisan skripsi;

7. Kepada Kakak Diana Sari Harahap, Dina Agustina Harahap, Reni Angraini Harahap yang selalu memberikan dukungan serta curahan semangat kepada penulis untuk segera menyelesaikan skripsi ini;
8. Kepada teman-teman Mega, Mia, Shela, Maya, Fiolina Firyal, Eriska, Hana, Nosya, Sania, Inge, Besti yang telah memberi semangat kepada penulis;
9. Kepada teman-teman satu kelompok penelitian Ogis, Anisa, Swandari, Meryam yang telah membantu selama proses penyusunan skripsi;
10. Seluruh teman-teman Fakultas Kedokteran Gigi angkatan 2015, terimakasih atas motivasi, kerja sama, dan kekompakannya selama ini;
11. Pihak lain yang tidak bisa disebutkan satu-persatu.
12. Demi perbaikan selanjutnya, saran dan kritik yang membangun sangat penulis terima dengan senang hati. Penulis berharap, semoga tulisan ini nantinya dapat bermanfaat bagi pembaca dan penelitian selanjutnya.

Jember, 9 Mei 2019

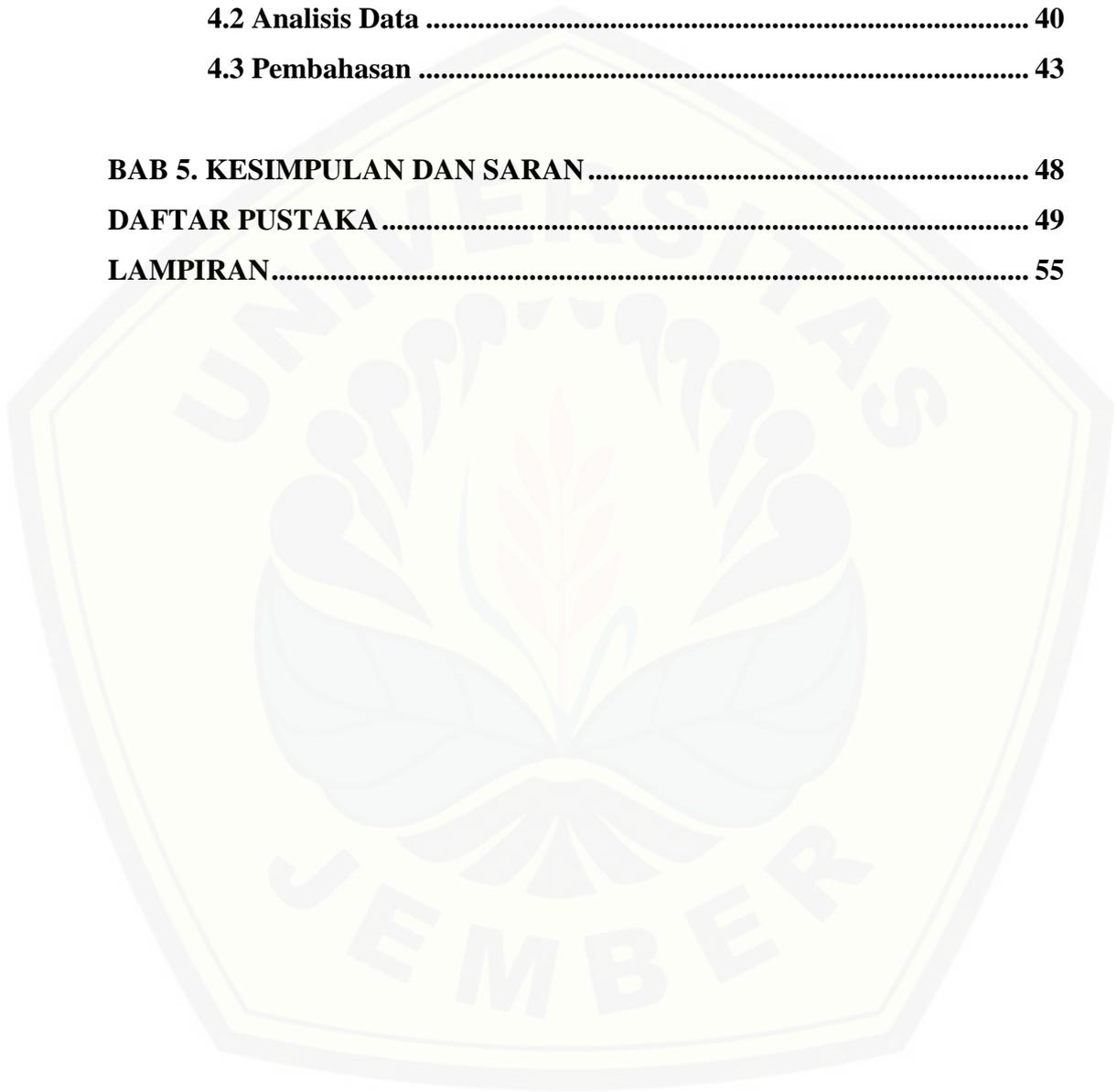
Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
COVER	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBING	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	vii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TIJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Penyakit Periodontal	5
2.2 <i>Porphyromonas gingivalis</i>	7
2.2.1 Klasifikasi <i>Porphyromonas gingivalis</i>	7
2.2.2 Morfologi <i>Porphyromonas gingivalis</i>	7
2.2.3 Pertumbuhan <i>Porphyromonas gingivalis</i>	8
2.2.4 Invasi dan Virulensi <i>Porphyromonas gingivalis</i>	9

2.3 Lebah <i>Trigona</i> sp.....	11
2.3.1 Klasifikasi lebah <i>Trigona</i> sp	11
2.3.2 Ciri fisik lebah <i>Trigona</i> sp	11
2.3.3 Habitat lebah <i>Trigona</i> sp.....	13
2.3.4 Sarang lebah <i>Trigona</i> sp	14
2.4 <i>Chlorhexidine</i>	19
2.5 Antibakteri.....	20
2.6 Metode Ekstraksi	21
2.7 Kerangka Konsep.....	23
2.8 Penjelasan Kerangka Konsep Penelitian	24
2.9 Hipotesis	25
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	26
3.1 Jenis Penelitian	26
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	26
3.2.1 Tempat Penelitian.....	26
3.2.2 Waktu Penelitian	26
3.3 Variabel Penelitian.....	26
3.3.1 Variabel Bebas	26
3.3.2 Variabel Terikat	26
3.3.3 Variabel Terkendali.....	27
3.4 Definisi Operasional.....	27
3.5 Sampel Penelitian	28
3.6 Alat dan Bahan Penelitian.....	29
3.6.1 Alat Penelitian	29
3.6.2 Bahan Penelitian.....	29
3.7 Prosedur Penelitian.....	29
3.7.1 Tahap Persiapan	29
3.7.2 Tahap Uji Daya Antibakteri	34
3.7.3 Tahap Pengukuran.....	35
3.8 Analisa Data.....	36

3.9 Alur Penelitian.....	37
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	38
4.1 Hasil	38
4.2 Analisis Data	40
4.3 Pembahasan	43
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	48
DAFTAR PUSTAKA	49
LAMPIRAN.....	55



DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Perbedaan fisik dan fungsi lebah madu.....	12
4.1 Rerata diameter zona hambat pertumbuhan <i>P. gingivalis</i>	39
4.2 Hasil uji <i>Saphiro-Wilk</i> zona hambat ekstrak sarang lebah <i>Trigona</i> sp terhadap pertumbuhan <i>P. gingivalis</i>	41
4.3 Hasil <i>Levene's test</i> diameter zona hambat ekstrak sarang lebah <i>Trigona</i> sp terhadap pertumbuhan <i>P. gingivalis</i>	41
4.4 Hasil <i>Kruskall Wallis</i> diameter zona hambat ekstrak sarang lebah <i>Trigona</i> sp terhadap pertumbuhan <i>P. gingivalis</i>	42
4.5 Hasil <i>Mann Whitney</i> diameter zona hambat ekstrak sarang lebah <i>Trigona</i> sp terhadap pertumbuhan <i>P. gingivalis</i>	43

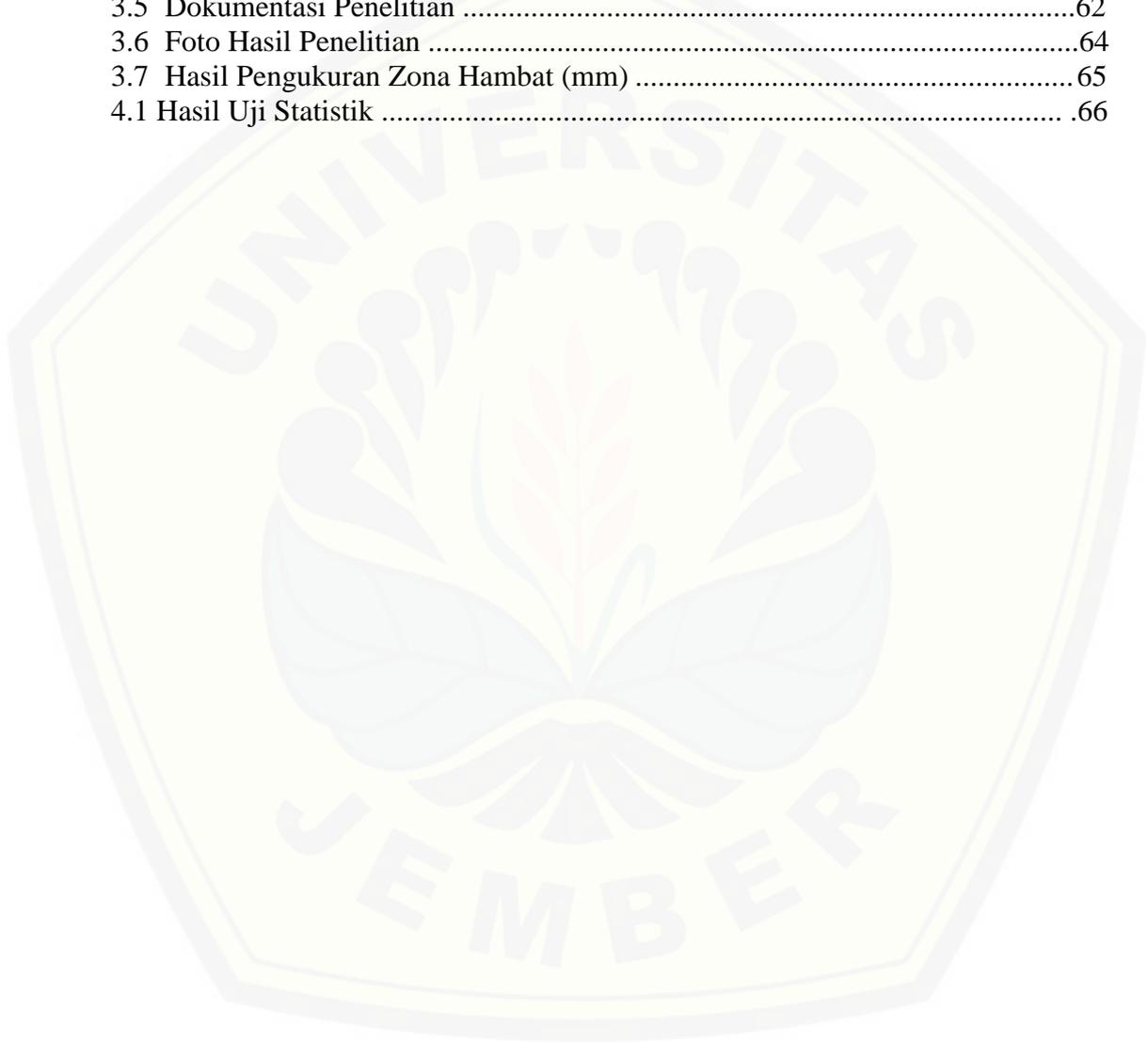


DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1	Gambaran klinis gingivitis yang disebabkan bakteri plak..... 5
2.2	A. Gambaran klinis periodontitis kronis, B. Gambaran radiografis pasien....6
2.3	Pemeriksaan <i>P. gingivalis</i> dengan mikroskop cahaya perbesaran 1000x8
2.4	Kurva pertumbuhan <i>Porphyromonas gingivalis</i> 9
2.5	Ciri fisik lebah <i>Trigona</i> sp.....12
2.6	Strata lebah <i>Trigona</i> sp.....13
2.7	Ciri sarang lebah <i>Trigona</i> sp.....14
2.8	Propolis pada sarang lebah <i>Trigona</i> sp.....15
2.9	(a) kumpulan kantong madu dan kantong polen (b) kantung telur 16
2.10	Gambar generic struktur dari flavonoid.....17
2.11	Tanin terkondensasi17
2.12	Tanin terhidrolisis18
2.13	Struktur asam fenolat.....19
2.14	Kerangka konsep23
2.15	Lubang sumuran pada media kultur35
3.2	Pengukuran daya hambat.....36
3.3	Alur penelitian37
4.1	Zona hambat yang terbentuk di sekitar lubang sumuran38
4.2	Histogram rerata diameter zona hambat 40

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
3.1 Alat dan Bahan Penelitian	55
3.2 Surat Keterangan Identifikasi sarang lebah <i>Trigona</i> sp.....	58
3.3 Surat Keterangan Identifikasi <i>Porphyromonas gingivalis</i>	60
3.4 Penghitungan Rendemen Ekstrak <i>Trigona</i> sp.....	61
3.5 Dokumentasi Penelitian	62
3.6 Foto Hasil Penelitian	64
3.7 Hasil Pengukuran Zona Hambat (mm)	65
4.1 Hasil Uji Statistik	66



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Di Indonesia, persentase penduduk yang mengalami masalah gigi dan mulut menurut RISKESDAS dari tahun 2007 sampai tahun 2013 terjadi peningkatan yaitu dari 23,2% menjadi 25,9% (Kemenkes, 2014). Penyakit periodontal merupakan salah satu penyakit gigi dan mulut yang sering dijumpai di Indonesia (Mawaddah dkk., 2017). Penyakit periodontal merupakan penyakit yang sering dijumpai pada populasi dewasa di dunia dengan insidensi mencapai 5% - 20% (Dwipriastuti dkk., 2017).

Penyakit periodontal yang sering terjadi adalah gingivitis dan periodontitis (Mawaddah dkk., 2017). Gingivitis merupakan inflamasi pada gingiva yang ditandai dengan tanpa adanya kehilangan perlekatan pada gigi. Gingivitis bisa berlanjut menjadi periodontitis disebabkan oleh beberapa faktor seperti perubahan komposisi bakteri dan kuantitas biofilm, kerentanan, lingkungan dan genetik. Periodontitis merupakan penyakit inflamasi pada jaringan pendukung gigi yang disebabkan oleh adanya bakteri yang dapat menyebabkan rusaknya tulang alveolar dan ligamen periodontal (Newman dkk., 2015).

Periodontitis yang umumnya terjadi adalah periodontitis kronis. Penyebab primer yang menginisiasi terjadinya periodontitis kronis adalah akumulasi plak pada permukaan *dentogingival junction*. Perkembangan penyakit periodontitis kronis bisa disebabkan karena faktor lokal, faktor sistemik yang dapat mempengaruhi pertahanan *host* dan faktor lingkungan yang dapat mempengaruhi respon *host* terhadap akumulasi plak. Plak merupakan suatu deposit lunak yang secara klinis berwarna kuning keabu-abuan yang melekat pada permukaan gigi dan permukaan keras pada rongga mulut termasuk restorasi cekat dan lepasan. Komposisi utama dari plak adalah mikroorganisme sebesar 70-80% dan matriks interseluler yang terdiri bahan organik dan anorganik yang berasal dari saliva, cairan krevikular gingiva dan produk bakteri (Newman dkk., 2015).

Mikroorganisme penyebab terjadinya periodontitis kronis adalah bakteri Gram negatif anaerob seperti *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Campylobacter rectus*, *Eikenella corrodens*, *Prevotella intermedia*, *Fusoacterium nucleatum* dan *Petostretococcus micros*, spesies *Treponema* dan *Eubacterium*. Pada periodontitis kronis *P. gingivalis* memiliki prevalensi mikroba yang lebih besar dibandingkan dengan mikroba lain yaitu sebesar 53,8% dan pada penyakit periodontal *P. gingivalis* menjadi salah satu “*keystone pathogen*” yang berarti bahwa *P. gingivalis* merupakan organisme yang menjadi pusat pada proses terjadinya penyakit meskipun dalam jumlah yang relatif rendah (Newman dkk., 2015).

P. gingivalis merupakan flora normal rongga mulut dan merupakan bakteri Gram negatif anaerob yang dapat ditemukan di sulkus gingiva, plak subgingiva, lidah dan tonsil (Dwipriastusi dkk., 2017). *P. gingivalis* dapat mengeluarkan faktor virulensi yang mendekstruksi sel *host* yaitu berupa endotoksin, enzim kolagenase, enzim proteolitik, dan induksi mediator peradangan (Pratiwi dkk., 2015). Jika terjadi peningkatan jumlah koloni *P. gingivalis*, maka kerusakan jaringan periodontal juga akan meningkat. Sehingga untuk mencegah terjadinya peningkatan kerusakan jaringan periodontal, maka pertumbuhan *P. gingivalis* harus dihambat (Jandik dan Belanger, 2009).

Pencegahan penyakit periodontal selama ini dengan menggunakan obat kumur, salah satunya *chlorhexidine gluconat* yang mampu mengurangi pembentukan plak dan menghambat pertumbuhan plak. Hal ini disebabkan karena sifat dari *chlorhexidine gluconat* yaitu bakterisid dan bakteriostatik terhadap berbagai macam bakteri, termasuk bakteri yang berada dalam plak (Sinaredi dkk., 2014). Efek penggunaan jangka panjang dari *chlorhexidine gluconat* dapat menyebabkan pewarnaan gigi dan adanya sensasi atau rasa tidak enak. Mengingat efek samping yang ditimbulkan tersebut, maka berbagai penelitian telah dilakukan dalam pemanfaatan bahan alamiah yang efektif dan aman (Dwipriastusi dkk., 2017).

Salah satu bahan alami yang dapat digunakan adalah sarang lebah dari jenis lebah *Trigona* sp (Yuliana dkk., 2015). Produk dari lebah *Trigona* sp yang telah banyak dimanfaatkan adalah madu, sedangkan sarangnya dibuang dan tidak dimanfaatkan (Rahmawaty, 2017). Sarang lebah berguna sebagai tempat perlindungan bagi koloni lebah dari bakteri, jamur, virus. Sarang lebah dibentuk oleh campuran lilin yang diproduksi dari lebah dan resin atau propolis yang diambil dari tanaman (Siregar dkk., 2011).

Terdapat beberapa jenis lebah yang ada di Indonesia yaitu lebah *Apis mellifera*, *A. cerana*, *A. dorsata* dan *Trigona* sp. Lebah Apis utamanya lebih banyak memproduksi madu dan lilin yang tersusun pada sarang lebah (Sarwono, 2001). Lilin sarang lebah (*beeswax*) dapat mengganggu dalam proses ekstraksi. Oleh sebab itu jenis sarang yang digunakan pada penelitian ini adalah sarang lebah *Trigona* sp yang mampu memproduksi propolis lebih banyak. Propolis berfungsi untuk mensterilkan sarang dari organisme pengganggu seperti bakteri, candawan dan virus (Fadhilah dan Rizkika, 2015). Selain propolis, sarang lebah *Trigona* sp memiliki bagian kantung polen, kantung telur dan kantung madu yang berpotensi sebagai antimikroba (Yuliana dkk., 2015).

Berdasarkan penelitian Yuliana dkk (2015), ekstrak etanol sarang lebah *Trigona* sp memiliki kemampuan untuk menghambat mikroba patogen yaitu *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Candida albicans*. Sarang lebah *Trigona* sp mengandung senyawa kimia yaitu asam lemak, asam fenolat, tanin, dan flavonoid yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan negatif (Yuliana dkk., 2015). Berdasarkan penelitian Cindrakori (2015), ekstrak propolis lebah *Trigona* sp yang berupa gel dengan konsentrasi 10% mampu menghambat pertumbuhan *P. gingivalis*.

Perbedaan penelitian ini dengan penelitian sebelumnya, misalnya yang dilakukan oleh Cindrakori (2015) yang memfokuskan pada ekstrak propolis atau penutup sarang lebah *Trigona* sp dalam bentuk gel dan penelitian dilakukan untuk melihat perbedaan zona daya hambat akibat penurunan yang terjadi pada waktu

pengamatan 1x24 jam, 2x24 jam, dan 3x24 jam. Pada penelitian ini memfokuskan pada keseluruhan bagian sarang lebah *Trigona* sp dengan konsentrasi ekstrak sarang lebah *Trigona* sp sebesar 25%, 50%, 75%, 100%. Berdasarkan latar belakang tersebut, penulis ingin mengetahui kemampuan dari ekstrak sarang lebah *Trigona* sp dalam menghambat pertumbuhan *P. gingivalis*.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah ekstrak sarang lebah *Trigona* sp memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *P. gingivalis*?
2. Berapa konsentrasi ekstrak sarang lebah *Trigona* sp yang memiliki daya hambat efektif terhadap pertumbuhan *P. gingivalis*?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui daya hambat ekstrak sarang lebah *Trigona* sp terhadap pertumbuhan *P. gingivalis*.
2. Untuk mengetahui konsentrasi ekstrak sarang lebah *Trigona* sp yang efektif dalam menghambat pertumbuhan *P. gingivalis*.

1.4 Manfaat Penelitian

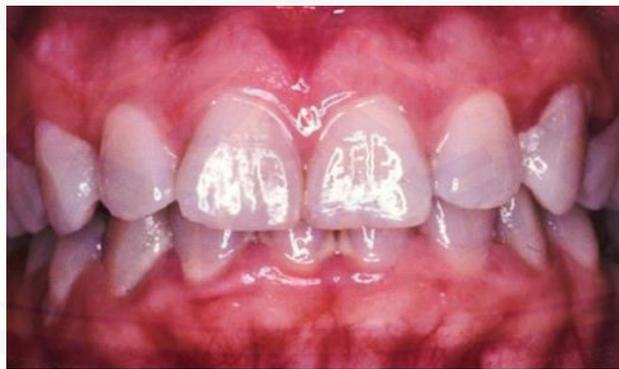
1. Memberikan informasi kepada masyarakat mengenai kemampuan ekstrak sarang lebah *Trigona* sp dalam menghambat pertumbuhan *P. gingivalis*.
2. Memberikan informasi kepada masyarakat mengenai manfaat ekstrak sarang lebah *Trigona* sp dalam bidang Kedokteran Gigi.
3. Memberikan informasi dan sumber rujukan bagi penelitian selanjutnya.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

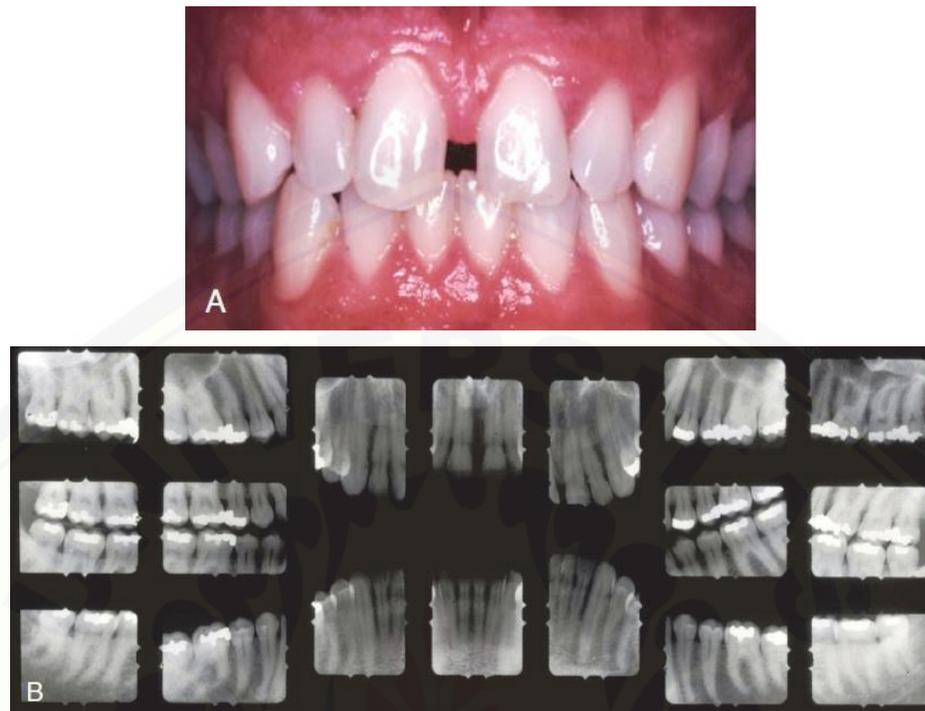
2.1 Penyakit Periodontal

Penyakit periodontal umumnya terjadi karena adanya interaksi antara kolonisasi bakteri pada permukaan gigi dan jaringan lunak penyangga gigi pada rahang (Kinane dan Mombelli, 2012). Klasifikasi penyakit periodontal yang disebabkan karena biofilm yaitu 1) gingivitis, 2) *early onset*, 3) *chronic adult*, 4) *aggressive periodontitis* (Craig dan Kamer, 2016).

Peradangan itu berkembang di gingiva dan jaringan periodontal sebagai respon perubahan yang disebabkan karena adanya bakteri. Gingivitis (Gambar 2.1) bisa berlanjut menjadi periodontitis, namun tidak semua penyakit gingivitis dapat menjadi periodontitis. Periodontitis yang umumnya terjadi adalah periodontitis kronis (Gambar 2.2). Gingivitis merupakan penyakit inflamasi yang mengenai gingiva, yang mana bisa berlanjut menjadi periodontitis disebabkan oleh proses inflamasi yang meluas ke ligamen periodontal dan tulang alveolar. Hasil dari terjadinya inflamasi ini adalah rusaknya serat ligamen periodontal yang menyebabkan terjadinya kehilangan perlekatan secara klinis dan terjadi resorpsi dari tulang alveolar (Newman dkk., 2015).



Gambar 2.1 Gambaran klinis gingivitis yang disebabkan bakteri plak (Sumber: Newman dkk., 2015)



Gambar 2.2 A. Gambaran klinis periodontitis kronis yang diinduksi oleh bakteri plak dengan kehilangan perlekatan 1-2 mm, B. Gambaran radiografis pasien (Sumber: Newman dkk., 2015)

Penyakit periodontal bisa disebabkan oleh faktor lokal dan faktor sistemik. Faktor lokal yang menyebabkan penyakit periodontal adalah adanya retensi dari plak dan pembentukan kalkulus pada permukaan akar dan mahkota gigi. Faktor sistemik yang menyebabkan penyakit periodontal adalah perubahan endokrin yang berhubungan dengan pubertas, kehamilan, menstruasi, dan diabetes yang memperparah dari respon inflamasi gingiva terhadap adanya plak. Selain juga terdapat faktor lingkungan seperti kebiasaan merokok dan stres yang mempengaruhi respon *host* terhadap akumulasi plak (Newman dkk., 2015).

Bakteri penyebab penyakit periodontal adalah *P. gingivalis*, *Treponema forsythia*, *Treponema denticola*, *A. actinomycetemcomitans*, and *Prevotella intermedia*. Pada penyakit periodontal *P. gingivalis* menjadi salah satu “*keystone*

pathogen” berarti bahwa *P. gingivalis* adalah organisme yang menjadi pusat pada proses terjadinya penyakit meskipun dalam jumlah yang relatif rendah (Newman dkk., 2015).

2.2 *Porphyromonas gingivalis*

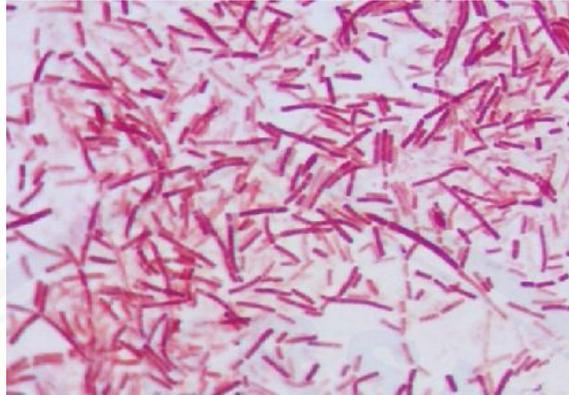
2.2.1 Klasifikasi *Porphyromonas gingivalis*

Menurut Rodriguez (2017) *P. gingivalis* diklasifikasikan sebagai berikut:

<i>Phylum</i>	: <i>Bacteroidetes</i>
<i>Class</i>	: <i>Bacteroidetes</i>
<i>Order</i>	: <i>Bacteroidales</i>
<i>Family</i>	: <i>Porphyromonadaceae</i>
<i>Genus</i>	: <i>Porphyromonas</i>
<i>Spesies</i>	: <i>Porphyromonas gingivalis</i>

2.2.2 Morfologi *Porphyromonas gingivalis*

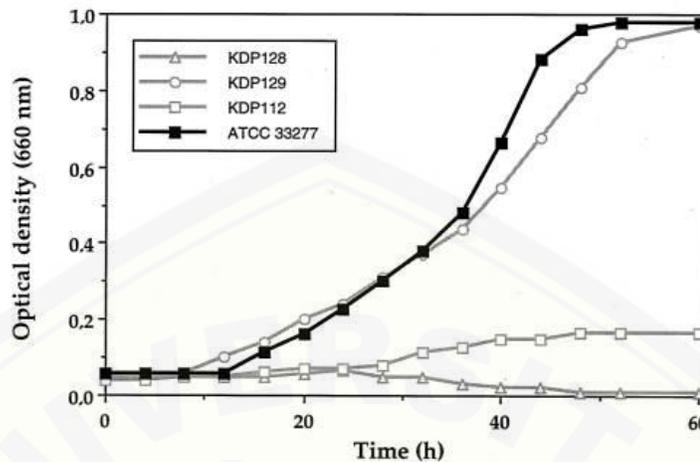
P. gingivalis merupakan bakteri Gram negatif, bersifat obligat anaerob, memiliki bentuk *cocobacillus*, dengan diameter 0,5-3,5 μm (Robinsin dan Dalton, 2011). *P. gingivalis* bersifat (*non-motil*) tidak mempunyai alat gerak, (*non-sporeforming*) tidak berspora (Gambar 2.3). Pada kultur laborator, *P. gingivalis* akan tampak berpigmen hitam ketika tumbuh pada media agar darah, hal ini terjadi karena penyimpanan besi pada permukaan bakteri dalam bentuk protoheme. Koloni bakteri tampak berkilau, cembung dengan tepi tampak basah dan sedikit berlendir (Falkow dkk., 2006).



Gambar 2.3 Pemeriksaan *P. gingivalis* dengan mikroskop cahaya perbesaran 1000x (Fitriyana dkk., 2013)

2.2.3 Pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*

P. gingivalis membutuhkan hemin dan vitamin K sebagai faktor pertumbuhan (Sebalt, 1993). Salah satu dari lingkungan bakteri yang dapat mengubah interaksi dari *P. gingivalis* dengan respon imun tubuh adalah konsentrasi dari hemin. Hemin memiliki kemampuan untuk mengikat besi dari *host* dan besi utama yang didapatkan dari *host* digunakan untuk sistem dari *P. gingivalis* (Henderson dkk., 2009). Level dari hemin mempengaruhi ekspresi dari beberapa gen pertumbuhan, kelangsungan hidup, dan patogenitas dari *P. gingivalis* seperti protease, fimbriae, LPS dan beberapa protein membran (Demuth dan Lamon, 2006). Pertumbuhan dari *P. gingivalis* meningkat dengan masa inkubasi selama 48 jam. Kurva Pertumbuhan *P. gingivalis* disajikan pada Gambar 2.4 (Grenier dkk., 2001).



Gambar 2.4 Kurva pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 dan *proteinase deficient mutan* KDP112 (*rgpA rgpB*), KDP129 (*kgp*), dan KDP128 (*rgpA rgpB kgp*) pada CDM yang dilengkapi serum albumin manusia (Grenier dkk., 2001)

2.2.4 Invasi dan Virulensi *Porphyromonas gingivalis*

Pada penyakit periodontal *P. gingivalis* berinvasi pada jaringan gingiva. Bakteri pada plak dapat memproduksi protease yang dapat merusak struktur protein pada periodonsium yaitu elastin, fibronektin dan kolagen. Protease dari bakteri mampu untuk merusak respon *host*, membahayakan integritas jaringan dan memfasilitasi invasi mikroba pada jaringan. Pada *P. gingivalis* diproduksi dua kelas protease sistein yaitu yang terlibat dalam patogenesis penyakit periodontal, yang dikenal dengan gingipain. Gingipain ini dapat memodulasi sistem imun dan merusak respon inflamatori, yang dapat meningkatkan potensi kerusakan jaringan (Newman dkk., 2015).

P. gingivalis dapat menginvasi secara lokal pada jaringan periodontal, dan dapat menghindari sistem imun dari *host* dengan menggunakan faktor virulensi yang terdiri dari :

- a) Fimbriae adalah suatu struktur peritrichous yang ada pada permukaan sel bakteri dengan panjang 0,3 – 3,0 μm dan besarnya 5 nm. Fimbriae merupakan

faktor penentu perlekatan utama pada *P. gingivalis* kebeberapa substrat pada rongga mulut seperti molekul saliva, epitel rongga mulut, makrofag, fibroblas, laktoferin, fibrinogen, fibronektin dan organisme lain (Rogers, 2008).

- b) Gingipain merupakan *trypsin-like cysteine protease* yang dianggap sebagai faktor virulensi utama pada *P. gingivalis*. Setiap aktivitas dari gingipain penting pada setiap tahap infeksiya baik aktifitas secara langsung maupun secara tidak langsung seperti pada tahap perlekatan, kolonisasi, invasi, perolehan dari nutrisi, mekanisme menghindari dari pertahanan *host*, penyebaran. Gingipain mampu mendegradasi arginin dan lisin, serta mampu mencerna protein *host*, beberapa diantaranya terdegradasi dan menyediakan peptida untuk pertumbuhan dan metabolisme dari *P. gingivalis*, beberapa protein dari *host* sebagian akan terdegradasi dan hal ini menyebabkan disregulasi dari sistem imun *host* dan kegagalan *host* untuk mengeliminasi *P. gingivalis* (Bostanci dan Belibasakis, 2018).
- c) Lipopolisakarida (LPS) merupakan pengulangan dari kumpulan unit polisakarida yang melekat pada sisi-O pada rantai dari komponen lipid yang biasanya terdapat pada membran luar dari bakteri Gram negatif. LPS merupakan antigen yang sangat tinggi dan mampu melepaskan mediator inflamasi dan sitokin seperti prostaglandin E₂ (PGE₂), interleukin 1a (IL-1 α), IL-1 β , tumor nekrosis factor-a (TNF- α), IL-8, CD14, Toll-like receptor (TLR) (Jakubovic, 2013).
- d) Kapsul dari *P. gingivalis* dapat menyebabkan penurunan dari respon inflamasi dari *host*, dan terhindar dari mekanisme fagositosis, dan dapat meningkatkan virulensi dibandingkan dengan strain yang tidak berkapsul (Bostanci dan Belibasakis, 2018).

2.3 Lebah *Trigona* sp

2.3.1 Klasifikasi lebah *Trigona* sp

Divisi	: <i>Animalia</i>
Filum	: <i>Arthropoda</i>
Klas	: <i>Insecta</i>
Order	: <i>Hymenoptera</i>
Subordo	: <i>Apocitra</i>
Superfamili	: <i>Apoidea</i>
Famili	: <i>Apidae</i>
Genus	: <i>Trigona</i> (Jaya, 2017).

2.3.2 Ciri Fisik Lebah *Trigona* sp

Trigona sp merupakan salah satu lebah tanpa sengat yang menghasilkan madu, yang umumnya menghasilkan madu lebih sedikit dari lebah bersengat. Ukuran dari lebah tanpa sengat relatif kecil yaitu 3-8 mm. Lebah *Trigona* sp mempunyai kaki yang beruas-ruas sebanyak 3 pasang. Terdapat banyak duri pada sepasang kaki lebah bagian belakang sehingga mampu “memegang” erat polen yang diperik dari bunga. Di punggung lebah *Trigona* terdapat sepasang sayap yang ukurannya lebih panjang dibandingkan badannya. Terdapat sepasang antena dibagian kepala dan mata yang sangat lebar. *Trigona* sp memiliki mulut yang berbentuk moncong panjang yang mempermudah lebah dalam menghisap madu. Ciri-ciri fisik tersebut dapat dilihat pada Gambar 2.5 (Fadhilah dan Rizkika, 2015).



Gambar 2.5 Ciri fisik lebah *Trigona* sp (Fadhilah dan Rizkika, 2015)

Berdasarkan fisik dan fungsinya lebah madu dibedakan menjadi 3 jenis, yaitu lebah ratu, lebah jantan dan lebah pekerja (Tabel 2.1) dan (Gambar 2.6).

Tabel 2.1 Perbedaan fisik dan fungsi lebah madu

Ukuran	Lebah Ratu	Lebah Jantan	Lebah Pekerja
	Besar	Sedang	Kecil
Jumlah dalam sarang	Satu	200 atau 0	20-200 ribu
Umur	Dua tahun tergantung pada jumlah telur yang dihasilkan	21-31 hari pada musim semi dan 90 hari pada musim panas atau sampai membuah	20-40 hari pada musim panas dan 140 hari pada musim gugur.
Jenis kelamin	Betina/ biseksual	Jantan	Betina steril
Fungsi/ sifat	<ul style="list-style-type: none"> - Membunuh saingannya - Menerima sperma dari lebah jantan - Bertelur 1500 butir perhari atau sekitar 200 ribu telur per tahun 	Membuahi lebah ratu	<ul style="list-style-type: none"> - Membuat sarang - Menjaga larva - Menjaga dan memberi makan lebah jantan muda - Menjaga ratu - Membersihkan sarang - Mengumpulkan nektar - Menutupi sel - Melindungi sarang - Memindahkan larva untuk dijadikan lebah ratu baru

Sumber : (Suranto, 2010)



Gambar 2.6 Strata lebah *Trigona* sp (a) lebah ratu, (b) lebah pejantan, (c) lebah pekerja (Banowu, 2016)

2.3.3 Habitat Lebah *Trigona* sp

Lebah dapat hidup di seluruh belahan bumi kecuali kutub karena tidak ada tanaman yang menjadi sumber pakan lebah. Lebah dapat berkembang biak dengan baik dan produktif sepanjang tahun pada daerah tropis karena tersedianya sumber pakan yaitu tanaman. Pada daerah subtropis lebah tidak produktif pada musim dingin (Suranto, 2004).

Lebah trigona menyukai tempat yang teduh dan terdapat berbagai jenis tanaman. Semakin banyak jenis tanaman, maka jumlah populasi semakin berkembang. Batang-batang pohon yang besar merupakan tempat yang biasanya menjadi tempat tinggal dari *Trigona* sp sebagai tempat sarang lebah trigona, ditandai dengan adanya lubang berukuran kurang lebih 3-5 cm yang menjadi “pintu” keluar masuk koloni lebah ketika akan mengumpulkan makanan (Siregar dkk., 2011).

Lebah dapat tinggal di gua-gua dalam hutan dan tebing-tebingnya yang terdapat di alam bebas. Koloni lebah dapat hidup di lubang-lubang pada pohon di hutan. Jika berada di peternakan lebah tinggal di kotak (stup) yang terbuat dari kayu

dengan suasana yang nyaman untuk tempat tinggal lebah dan dekat dengan tanaman yang berfungsi sebagai sumber pakan seperti perkebunan atau hutan (Suranto, 2004).

2.3.4 Sarang Lebah *Trigona* sp

Sarang lebah merupakan tempat produksi dari madu, *bee pollen*, tempat tumbuh kembang dari telur lebah, dan merupakan tempat berlindung bagi koloni lebah dari serangan bakteri, jamur, virus maupun predator (Yuliana dkk., 2015). Sarang lebah dapat dijumpai antara lain di bagian tengah dari bongkahan kayu yang berongga, belahan bebatuan, retakan dari dinding rumah, wadah yang kosong, pada batang pohon masih hidup yang bercelah atau berlubang, dan rongga dalam tanah bekas sarang tikus (Fadhilah dan Rizkika, 2015).



Gambar 2.7 Ciri sarang lebah *Trigona* sp (Fadhilah dan Rizkika, 2015)

Bentuk sel sarang lebah *Trigona* sp seperti bentukan pot yang tidak beraturan dan sisiran dari sarang lebah disusun secara horizontal yang dapat dilihat pada Gambar 2.7 (Siregar dkk., 2011). Spesies lebah *Trigona* memiliki beragam variasi sarang yang dapat dilihat dari struktur pintu masuknya. Pintu masuk dari sarang lebah terdiri dari susunan komponen lilin dan getah (Fadhilah dan Rizkika, 2015).

Lebah membuat sekat-sekat sarang untuk pada bagian dalam dari bentuk sisiran sarang lebah yang digunakan sebagai ruang untuk membesarkan telur dan

anakan, ruang ratu, ruang lebah pekerja, ruang lebah jantan, ruang menyimpan madu dan ruang menyimpan cadangan polen (Fadhilah dan Rizkika, 2015).

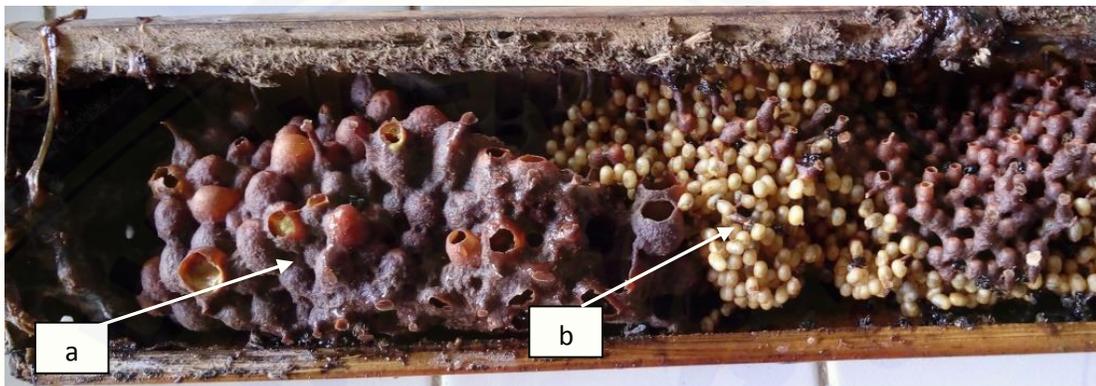
Sarang lebah dibentuk oleh campuran lilin yang diproduksi dari lebah dan resin yang diambil dari tanaman (Siregar dkk., 2011). Lilin lebah dibuat oleh lebah pekerja dengan bahan dasar madu. Lebah pekerja memiliki empat pasang kelenjar yang menghasilkan malam lebah yang terdapat pada bagian samping bawah perut. Lebah memerlukan 7-15 kg madu untuk menghasilkan 1 kg lilin lebah (Suranto, 2004). Resin atau yang biasa disebut propolis merupakan resin lengket yang didapatkan dari kulit kayu atau batang pohon diproses dengan sekresi cairan ludah lebah (Suranto, 2007). Lebah *Trigona* sp mengolahnya sehingga membentuk propolis yang berwarna hitam, kuning atau coklat tua di sarang lebah *Trigona* sp, warna tersebut tergantung dari pohon asal resin (Gambar 2.8). Lebah *Trigona* sp memproduksi propolis lebih banyak yang dapat berfungsi sebagai mekanisme pertahanan diri (Fadhilah dan Rizkika, 2015).



Gambar 2.8 Propolis pada sarang lebah *Trigona* sp (Fadhilah dan Rizkika, 2015)

Sarang lebah *Trigona* sp memiliki keunikan yaitu selalu dalam kondisi steril karena adanya kandungan senyawa antimikroba. Sarang lebah memiliki bagian yang

dapat berpotensi digunakan sebagai antimikroba, seperti bagian propolis atau penutup sarang, namun tidak hanya propolis yang dapat digunakan sebagai antimikroba, terdapat juga bagian kantong polen, kantong telur dan kantong madu yang berpotensi sebagai antimikroba (Gambar 2.9).



Gambar 2.9 (a) kumpulan kantong madu dan kantong polen pada sarang lebah *Trigona* sp (b) kantong telur pada sarang lebah *Trigona* sp (Watiniasih dkk., 2015)

Setiap bagian dari sarang lebah memiliki masing-masing komponen yang berbeda sebagai agen antimikroba. Terdapat senyawa antimikroba asam lemak baik asam lemak jenuh maupun asam lemak tak jenuh. Senyawa 2-(9,12-octadecadienyloxy) atau cis-9, 12-Octadecadienyloxy ethanol terdapat dalam kantong polen yang memiliki kemampuan sebagai antimikroba. Senyawa *oleic acid* yang terdapat pada sarang lebah *Trigona* sp yang memiliki kemampuan dalam menghambat bakteri Gram positif. Senyawa *decanoid acid (capric)* dan asam palmitat terdapat pada semua bagian sarang lebah *Trigona* sp serta terdapat *lauric acid* dan *myristic acid* dalam kantong telur yang memiliki kemampuan menghambat jamur, bakteri Gram positif dan Gram negatif. Selain itu terdapat senyawa Heptadecen-8-carbonic acid dalam kantong polen memiliki kemampuan sebagai antimikroba (Yuliana dkk., 2015). Mekanisme utama asam lemak sebagai antimikroba yaitu pada membran sel bakteri dengan cara mengganggu rantai transport elektron dan fosforilasi oksidatif. Selain mengganggu produksi energi seluler, asam

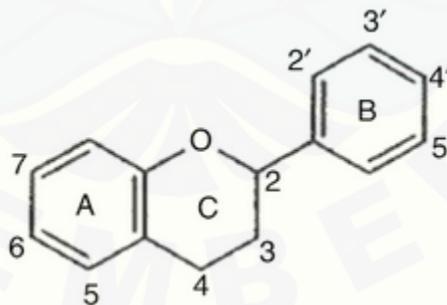
lemak juga menghambat aktifitas enzim, pembentukan peroksidasi dan produk degradasi auto-oksidasi sehingga sel mikroba lisis (Agustini dan Setyaningrum, 2018).

Sarang lebah *Trigona* sp mengandung senyawa fenolik (*Phenolic acid*, flavonoid dan tanin) yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram negatif dan positif (Yuliana dkk., 2015).

Kandungan sarang *Trigona* sp lebah yang memiliki efek antibakteri adalah sebagai berikut:

a. Flavonoid

Flavonoid termasuk dalam grup senyawa fenol yang secara normal mengikat satu atau lebih cincin aromatik dengan satu atau lebih grup hydroxyl. Flavonoid memiliki berat molekul yang rendah dan mempunyai struktur generik yang menggabungkan dua cincin aromatik (cincin A dan B), yang terhubung dengan tiga atom karbon (Gambar 2.10). Flavonoid mempunyai beberapa variasi struktur dan diklasifikasikan menjadi flavanols, anthocyanidin, flavones, flavanones, and chalcones. Variasi tersebut tergantung dari keberadaan ikatan rangka ada posisi 4 dan antara cincin karbon ketiga dan kedua (Grumezescu, 2017).



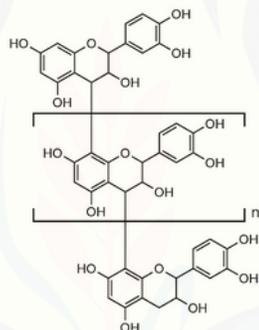
Gambar 2.10 Gambar generik struktur dari flavonoid (Grumezescu, 2017)

Flavonoid memiliki efek antibakteri dengan membentuk senyawa kompleks terhadap protein luar sel yang dapat mengganggu kekuatan dari membran sel bakteri. Selain itu flavonoid juga mampu untuk menekan sitokin yang menjadi penyebab

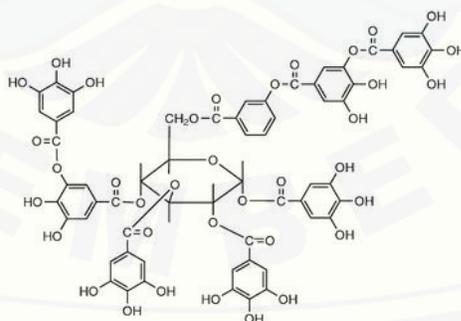
terjadinya peradangan, sehingga mengurangi terjadinya peradangan (Utami dan Puspaningtyas, 2013).

b. Tanin

Tanin merupakan polifenol yang mampu untuk mengendapkan protein dari larutan encer dan didistribusikan secara luas ke tanaman. Dari strukturnya tanin dibedakan menjadi terkondensasi (Gambar 2.11) dan terhidrolisis (Gambar 2.12). Tanin yang terkondensasi merupakan polimer dan oligomer dari flavonoid, dan tanin yang terhidrolisis merupakan polimer dan oligomer dari *glucosylated gallic acid* (Shahidi dan Naczk, 2004).



Gambar 2.11 Tanin terkondensasi (Shahidi dan Naczk, 2004)



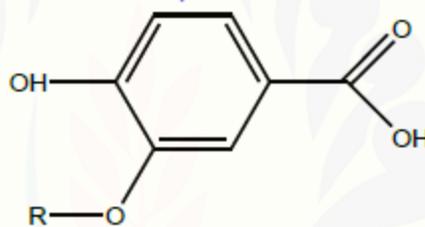
Hydrolyzable Tannin

Gambar 2.12 Tanin terhidrolisis (Shahidi dan Naczk, 2004)

Tanin memiliki efek antibakteri dengan cara menghalangi kerja enzim pada mikroba, mendeposisi substrat dan ion metal yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri atau aksi secara langsung pada membran bakteri (Gross dkk., 1999).

c. Asam fenolat

Asam fenolat adalah suatu senyawa kimia yang mempunyai satu atau lebih dari gugus hidroksil dan setidaknya terdapat satu cincin aromatik (Gambar 2.13). Senyawa asam fenolat memiliki hubungan dengan lignin yang terikat sebagai ester atau terkandung dalam daun di dalam fraksi yang tidak larut etanol maupun fraksi yang larut dalam etanol seperti glikosida sederhana (Hartini, 2017).



Gambar 2.13 Struktur asam fenolat (Hartini, 2017)

Asam fenolat bersifat bakteristatik terhadap bakteri patogen. Pada asam fenolat yang mengandung asam ferulic dan asam galic memiliki kemampuan untuk mengubah hidrofobisitas membran bakteri (muatan negatif, permeabilitas intraseluler dan ekstraseluler, dan sifat fisikokimia) dan dapat menyebabkan ruptur lokal atau dengan pembentukan pori pada membran sel bakteri yang kemudian akan menyebabkan kebocoran konstituen intraseluler esensial yang diikuti dengan kematian sel (Juneja dkk., 2017).

2.4 Chlorhexidine

Chlorhexidine merupakan salah satu obat kumur antiseptik yang efektif sebagai antiplak. *Chlorhexidine* memiliki aktivitas bakteriosid spektrum luas terhadap

bakteri Gram positif dan negatif. *Chlorhexidine* mampu berikatan dengan dinding sel bakteri, dan bermacam-macam permukaan rongga mulut termasuk hidroxyapatit pada permukaan enamel, pelikel organik pada permukaan gigi, membran mukosa dan protein saliva. *Chlorhexidine* bertahan pada permukaan gigi untuk memberikan efek bakteriosidal yang berkepanjangan, ketika konsentrasi menurun maka *chlorhexidine* akan memberi efek bakteriostatik selama beberapa jam (Murray dkk., 2003).

Aktivitas antibakteri dari *chlorhexidine* yaitu dengan meningkatkan permeabilitas membran sel bakteri dan diikuti dengan koagulasi dari makromolekul sitoplasma. *Chlorhexidine* efektif untuk bakteri aerob maupun anaerob dan jamur (Ghom dan Anii, 2014).

Pemakaian *chlorhexidine* jangka panjang dapat memberikan efek samping yaitu sensasi rasa yang tidak enak yang disebabkan karena denaturasi protein pada *taste bud*, stain berwarna coklat pada permukaan gigi yang sulit dihilangkan, pembentukan kalkulus supragingiva karena terjadi peningkatan pH yang disebabkan oleh penyerapan kation yang akan memberikan dampak pada integritas mikroba, rasa sakit pada mukosa, merubah sensasi rasa (Ghom dan Anii, 2014).

2.5 Antibakteri

Antibakteri adalah obat yang pembuatannya secara sintetik dan berguna untuk menghambat atau membunuh mikroorganisme (Sumardjo, 2006). Beberapa obat antibakteri bersifat nontoksik pada tubuh manusia karena bakteri memiliki banyak perbedaan biokimia dengan sel-sel manusia. Antibakteri dapat bekerja sebagai agen bakteriostatik yaitu dengan menghambat pertumbuhan bakteri, dan bakteriosida yaitu dengan membunuh bakteri (Neal, 2005). Semakin tinggi konsentrasi suatu zat antibakteri maka akan semakin tinggi daya antibakterinya dan bakteri akan terbunuh lebih cepat (Rahmawati dkk., 2014). Semakin tinggi konsentrasi bahan antimikroba maka akan semakin banyak zat aktif yang terkandung di dalamnya sehingga akan semakin efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri. Begitu juga sebaliknya

semakin rendah konsentrasi bahan antimikroba maka zat aktif yang terkandung akan semakin sedikit, sehingga kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri berkurang (Rahmah dkk., 2017).

Mekanisme kerja dari obat antibakteri utamanya menghambat sintesis materi-materi penting bakteri misalnya:

- a. Dinding sel: Terganggunya sintesis akan menyebabkan dinding sel menjadi kurang sempurna dan pecah diakibatkan tidak tahan terhadap tekanan osmotik dari plasma.
- b. Membran sel: sintesis lipoprotein yang ada dalam membran plasma (di dalam dinding sel) dikacaukan, sehingga membran sel menjadi lebih permeabel, dan zat-zat penting dari isi sel dapat merembes keluar.
- c. Terganggunya sintesis dari protein sel.
- d. Asam-asam ini (DNA dan RNA).
- e. Antagonisme saingan yaitu zat-zat penting untuk metabolisme bakteri tersaingi dengan obat sehingga proses metabolisme terhenti (Tjay dan Rahardja, 2008).

2.6 Metode Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses untuk memisahkan atau menarik satu atau beberapa komponen atau senyawa-senyawa dari sampel dengan menggunakan pelarut tertentu yang sesuai dan merupakan salah satu teknik pemisahan kimia. Terdapat 2 macam ekstraksi yaitu ekstraksi cair-cair dan ekstraksi padat cair. Ekstraksi padat-cair adalah suatu proses untuk mentransfer suatu komponen atau senyawa dari sampel yang berwujud padat ke pelarutnya (Leba, 2017).

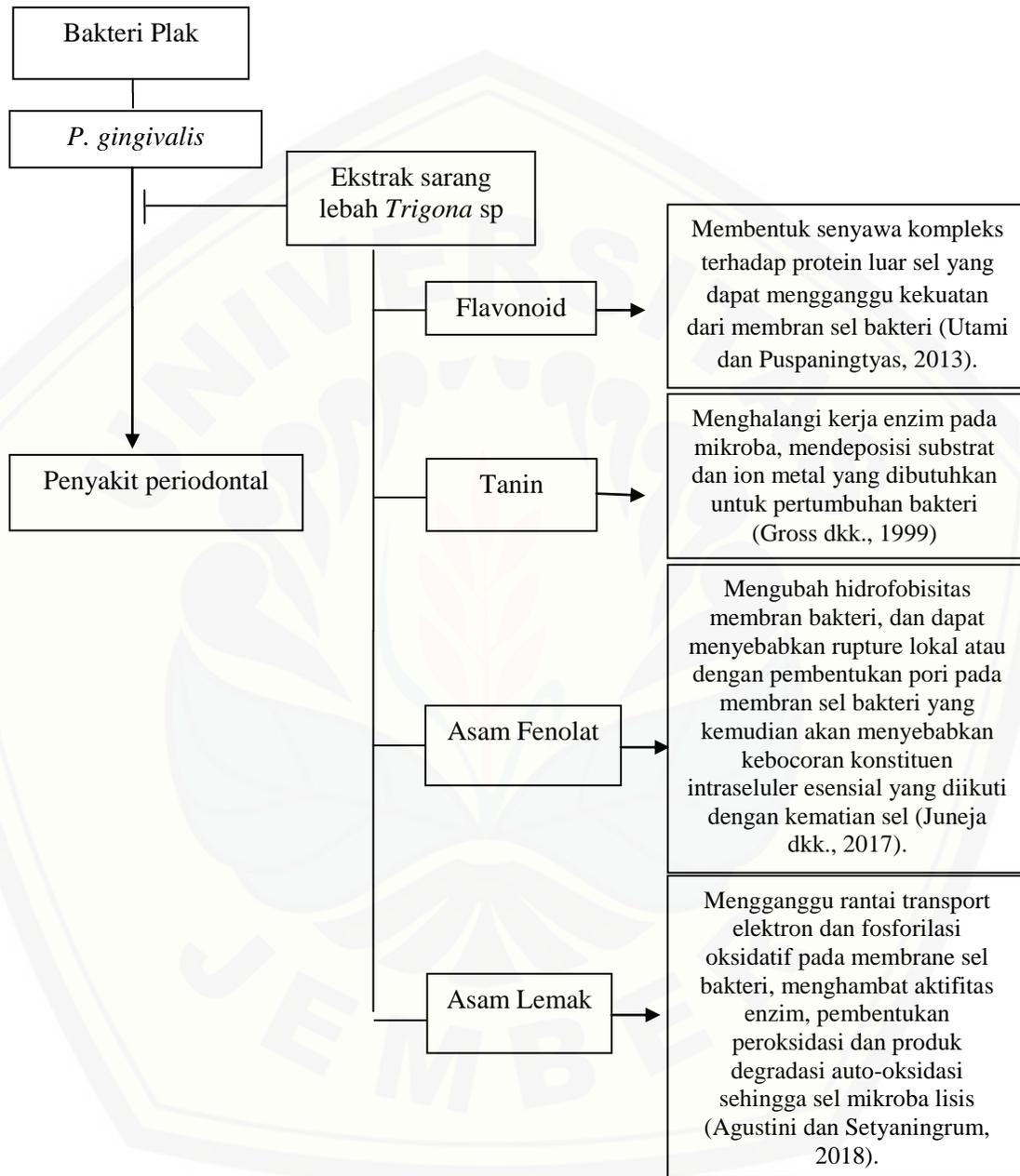
Dalam ekstraksi padat-cair, terdapat tiga metode yang dapat digunakan yaitu maserasi, perkolasi, sokletasi.

1. Maserasi merupakan jenis ekstraksi dengan cara dan alat digunakan sederhana. Ekstraksi dilakukan untuk melarutkan zat aktif dari sampel dengan

cara merendam sampel pada suhu kamar dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Proses perendaman biasanya dilakukan 3-5 hari dan diaduk sesekali untuk mempercepat larutnya zat aktif. Proses ekstraksi dilakukan berkali-kali sampai zat aktif terlarut sempurna ditandai dengan pelarut yang digunakan tidak berwarna. Kelebihan dari metode ekstraksi maserasi adalah dapat digunakan zat aktif yang tahan terhadap pemanasan maupun yang tidak tahan pemanasan. Kelemahan dari metode ekstraksi maserasi adalah memerlukan banyak pelarut.

2. Perkolasi merupakan metode ekstraksi dengan mengalirkan pelarut secara perlahan pada sampel dalam perkolator. Proses ekstraksi selalu dilakukan dengan pelarut baru dan pelarut ditambahkan secara terus menerus, dengan menggunakan pola penetes pelarut dari bejana terpisah disesuaikan dengan jumlah pelarut yang keluar atau ditambahkan pelarut dalam jumlah besar atau secara berkala. Proses ekstraksi dilakukan sampai analit dalam sampel terekstraksi sempurna, ditandai dengan pelarut yang digunakan sampai tidak berwarna.
3. Sokletasi
Sokletasi merupakan teknik pengestrakan menggunakan soklet, yang mana pelarut dan sampel ditempatkan secara terpisah. Prinsipnya adalah ekstraksi dilakukan secara terus menerus menggunakan pelarut yang relatif sedikit. Jika proses ekstraksi telah selesai maka pelarut dapat diuapkan sehingga akan diperoleh ekstrak. Pelarut yang biasanya digunakan adalah pelarut yang memiliki titik didih rendah atau mudah menguap (Leba, 2017).

2.7 Kerangka Konsep



Keterangan:

- ┌─── : Menghambat
- ←── : Menyebabkan

Gambar 2.14 Kerangka konsep

2.8 Penjelasan Kerangka Konsep Penelitian

Pembentukan plak dapat memicu terjadinya penyakit periodontal. Komposisi utama dari plak adalah mikroorganisme sebesar 70-80% dan matriks interseluler. Pada penyakit periodontal *P. gingivalis* menjadi “*keystone pathogen*” diantara patogen periodontal lain (Newman dkk., 2015). *P. gingivalis* dapat mengeluarkan faktor virulensi yang mendekstruksi sel host yaitu berupa endotoksin, enzim kolagenase, enzim proteolitik, dan induksi mediator peradangan (Pratiwi dkk., 2015). Jika terjadi peningkatan jumlah koloni *P. gingivalis*, maka kerusakan jaringan periodontal juga akan meningkat. Sehingga untuk mencegah terjadinya peningkatan kerusakan jaringan periodontal, maka pertumbuhan *P. gingivalis* harus dihambat (Jandik dan Belanger, 2009).

Salah satu bahan alami yang dapat digunakan adalah sarang lebah *Trigona* sp. Senyawa antimikroba pada sarang lebah *Trigona* sp berpotensi menjadi bahan antimikroba alami selain bahan antimikroba lain yang ada di pasaran. Sarang lebah *Trigona* sp mengandung senyawa kimia yaitu asam lemak, asam fenolat, tanin, dan flavonoid yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan negatif (Yuliana dkk., 2015).

Setiap senyawa kimia yang terkandung dalam lebah *Trigona* sp memiliki mekanisme antibakteri yang berbeda. Mekanisme utama asam lemak sebagai antimikroba yaitu pada membran sel bakteri dengan cara mengganggu rantai transport elektron dan fosforilasi oksidatif. Selain mengganggu produksi energi seluler, asam lemak juga menghambat aktifitas enzim, pembentukan peroksidasi dan produk degradasi auto-oksidasi sehingga sel mikroba lisis (Agustini dan Setyaningrum, 2018).

Flavonoid memiliki efek antibakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein luar sel yang dapat mengganggu kekuatan dari membran sel bakteri. Selain itu flavonoid juga mampu untuk menekan sitokin yang menjadi penyebab terjadinya peradangan, sehingga mengurangi terjadinya peradangan (Utami dan Puspaningtyas, 2013). Tanin memiliki efek antibakteri dengan cara menghalangi

kerja enzim pada mikroba, mendeposisi substrat dan ion metal yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri atau aksi secara langsung pada membran bakteri (Gross dkk., 1999).

Asam fenolat bersifat bakteriostatik terhadap bakteri patogen. Pada asam fenolat yang mengandung asam ferulic dan asam galic memiliki kemampuan untuk mengubah hidrofobisitas membran bakteri (muatan negatif, permeabilitas intraseluler dan ekstraseluler, dan sifat fisikokimia) dan dapat menyebabkan ruptur lokal atau dengan pembentukan pori pada membran sel bakteri yang kemudian akan menyebabkan kebocoran konstituen intraseluler esensial yang diikuti dengan kematian sel (Juneja, 2017).

2.9 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini adalah

- a) Ekstrak sarang lebah *Trigona* sp memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *P. gingivalis*.
- b) Ekstrak sarang lebah *Trigona* sp konsentrasi 100% memiliki daya hambat yang efektif terhadap pertumbuhan *P. gingivalis*.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris, dengan rancangan penelitian yaitu *the postest only control group design* yang dilakukan dengan cara mengukur pengaruh perlakuan pada kelompok eksperimen, kemudian dibandingkan dengan kelompok kontrol (Notoatmodjo, 2002).

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1 Tempat Penelitian

Identifikasi bakteri dan uji antibakteri dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Identifikasi sarang lebah dilakukan di UB Forest, Laboratorium Lapangan Terpadu dan Agro Techno Park Universitas Brawijaya. Pembuatan ekstrak dilakukan di Laboratorium *Bioscience*, Rumah Sakit Gigi dan Mulut Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

3.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan bulan November 2018 – Januari 2019.

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak sarang lebah *Trigona* sp dengan konsentrasi 100%, 75%, 50%, 25%.

3.3.2 Variabel Terikat

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

3.3.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah suspensi *P. gingivalis* (McFarland 0,5), media pembiakan bakteri (*Brain Heart Infusion/ BHI*), suhu inkubasi (37°), lama inkubasi (48 jam), metode ekstraksi sarang lebah *Trigona* sp (maserasi), sarang lebah (*Trigona* sp) yang diambil setelah madu dipanen dan sarang lebah masih dalam keadaan utuh dan segar.

3.4 Definisi Operasional

a. Ekstrak Sarang Lebah *Trigona* sp

Ekstrak sarang lebah *Trigona* sp adalah sediaan yang didapatkan dengan metode maserasi, dibuat dari sarang lebah *Trigona* sp yang ditambahkan pelarut etanol 70% dan disimpan selama 24 jam. Sisa/ampas sarang lebah *Trigona* sp dimaserasi kembali sampai pelarut etanol berwarna bening dan filtrat hasil maserasi dievaporasi, hasil akhirnya adalah suatu ekstrak sarang lebah *Trigona* sp dengan konsentrasi 100%. Konsentrasi yang digunakan pada penelitian ini adalah 25%, 50%, 75%, 100%.

b. Hambatan pertumbuhan *P. gingivalis*

Hambatan pertumbuhan *P. gingivalis* adalah terhentinya pertumbuhan *P. gingivalis* disebabkan oleh pemberian ekstrak sarang lebah *Trigona* sp. Metode yang digunakan adalah difusi sumuran (*Well diffusion method*), dimana hambatan pertumbuhan *P. gingivalis* ditandai dengan adanya zona hambat yaitu daerah jernih/bening di sekitar sumuran. Diameter dari zona hambat dapat diukur dari tepi zona bening hingga tepi zona bening sebarangnya melalui tengah-tengah lubang sumuran menggunakan jangka sorong dengan satuan milimeter (mm).

3.5 Sampel Penelitian

3.5.1 Pengelompokan Sampel

- a. Kelompok kontrol yang terdiri dari:
 - 1) Kelompok K- : kontrol negatif (propilen glikol)
 - 2) Kelompok K+: kontrol positif (*chlorhexidine gluconat* 0,2%)
- b. Kelompok perlakuan yang terdiri dari:
 - 1) Kelompok P1 : ekstrak sarang lebah *Trigona* sp konsentrasi 100%
 - 2) Kelompok P2 : ekstrak sarang lebah *Trigona* sp konsentrasi 75%
 - 3) Kelompok P3 : ekstrak sarang lebah *Trigona* sp konsentrasi 50%
 - 4) Kelompok P4 : ekstrak sarang lebah *Trigona* sp konsentrasi 25%

3.5.2 Jumlah Sampel

Jumlah sampel pada penelitian ini dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut (Daniel, 2008).

$$n = \frac{Z^2 \cdot \sigma^2}{d^2}$$

Keterangan:

n = besar sampel minimal

z = konstanta pada tingkat kesalahan tertentu, jika $\alpha = 0,05$ maka $z = 1,96$

d = konstanta yang masih dapat ditoleransi, diasumsikan $d = \sigma$

σ = standar deviasi sampel

Pada penelitian ini nilai dari σ diasumsikan sama dengan nilai d ($d = \sigma$), karena nilai σ^2 jarang diketahui, maka didapatkan perhitungan sebagai berikut :

$$n = \frac{(1,96)^2 \cdot \sigma^2}{d^2}$$

$$n = (1,96)^2$$

$$n = 3,84 = 4$$

Berdasarkan perhitungan diatas, maka jumlah sampel yang digunakan untuk penelitian setiap kelompok sebanyak 4 sampel.

3.6 Alat dan Bahan Penelitian

3.6.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *autoclave* (Handshin Medical Co., LTD), batang pengaduk (Pyrex, *Japan*), beaker glass (Pyrex, *Japan*), bunsen (Pyrex, *Japan*), cawan petri diameter 9 cm (Steriplant, *Germany*), *spektrofotometer* (DensiCHECK, *Germany*), *desicator* (Koertelli, *Italy*), gelas ukur (Pyrex, *Japan*), gunting, inkubator (Binder, *USA*), *Shaking incubator* (DAIHAN Labtech, *Korea*), jangka sorong (medesy, *Italy*), *Laminar Flow* (Dwyer Markzz, *Human Lab*), mikropipet (Eppendorf, *Italy*), *mixing vortex* (Labinco, *USA*), oven (Binder, *USA*), ose (nikrom, *Indonesia*), kompor listrik (*Cosmos*, *Indonesia*), tabung *centrifuge*, pinset (Dentica, *France*), *rotary evaporator* (IKA, *Amerika*), tabung *Erlenmeyer* (Pyrex, *Japan*), tabung reaksi dan rak tabung, *Borer*, timbangan digital (BOECO, *Germany*), corong kaca.

3.6.2 Bahan Penelitian

Bahan penelitian yang digunakan adalah sarang lebah *Trigona* sp dari Peternakan Wisata Petik Madu Lawang, propilen glikol, *yellow tip*, *blue tip*, *chlorheksidin gluconat* 0,2% (Minosep, *Indonesia*), *aquades steril*, kertas saring, aluminium foil, bubuk BHI-B/*Brain Heart Infusion Broth* (Oxoid), *P. gingivalis* ATCC 33277 dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi, etanol 70% (One med, *Indonesia*), bubuk BHI-A/*Brain Heart Infusion Agar*, ballpoin dan kertas label, Tisu (Green Soft, *Indonesia*).

3.7 Prosedur penelitian

3.7.1 Tahap Persiapan

a. Identifikasi sarang lebah

Identifikasi sarang lebah dilakukan di Laboratorium Lapangan Terpadu dan Agro Techno Park UB Forest Universitas Brawijaya.

b. Identifikasi *P. gingivalis*

Identifikasi *P. gingivalis* dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Kabupaten Jember, Jawa Timur dengan metode pewarnaan Gram.

c. Sterilisasi alat dan media

Sterilisasi media dengan menggunakan uap air bertekanan (Autoklaf). Sterilisasi dengan autoklaf digunakan untuk media yang tahan terhadap pemanasan tinggi. Sterilisasi dilakukan dengan suhu 120°C selama 10-70 menit sesuai dengan kebutuhan. Sterilisasi alat laboratorium yang terbuat dari gelas, misalnya cawan petri, tabung gelas, botol pipet, dan lain-lain disterilisasi di dalam sterilisator udara panas (Oven) selama 15 menit pada suhu 110°C (Putranto dkk., 2014).

d. Pembuatan ekstrak sarang lebah

Ekstraksi sarang lebah *Trigona* sp dilakukan dengan metode maserasi. Sarang lebah *Trigona* sp yang masih segar dan utuh sebanyak 100 gram dipotong-potong. Selanjutnya kemudian ditambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 1000 ml (perbandingan antara sampel dan pelarut yaitu 1:10), selanjutnya disimpan selama 24 jam dengan diletakkan di *shaking incubator* pada suhu 40°C dan dihindarkan dari cahaya. Campuran sarang lebah yang telah didiamkan, disaring dengan kertas saring dan corong steril untuk memisahkan filtrat dari endapan/ampas ke dalam *enlenmeyer*. Sisa/ampas hasil saringan sarang lebah dimaserasi kembali, sampai pelarut etanol tidak berwarna (bening) dan kemudian dievaporasi hingga diperoleh ekstrak kental (Yuliana dkk., 2015).

e. Pengenceran ekstrak sarang lebah

Pengenceran dilakukan untuk mendapatkan konsentrasi 25%, 50%, 75%, 100% dari ekstrak sarang lebah *Trigona* sp dengan menambahkan propilen glikol. Pengenceran dilakukan dengan rumus sebagai berikut (Mubarak dkk., 2016):

$$\% = \frac{W}{V}$$

Keterangan:

% = Persentase ekstrak yang dibutuhkan

W= Berat (gram)

V= Volume pelarut yang diinginkan (mL)

Cara pengenceran ekstrak sarang lebah *Trigona* sp yaitu:

- 1) Penghitungan berat sampel yang ditimbang dalam konsentrasi 75%

$$\% = \frac{W}{V}$$

$$\frac{75}{100} = \frac{W}{5 \text{ ml}}$$

$$\frac{375}{100} = X$$

$$X = 3,75 \text{ gram}$$

Jadi untuk mendapatkan ekstrak sarang lebah *Trigona* sp dengan konsentrasi 75% diperoleh dengan cara sebanyak 3,75 gram ekstrak ditambah dengan propilen glikol sampai tercapai volume 5 mL.

2) Penghitungan konsentrasi ekstrak 50%

$$\% = \frac{W}{V}$$

$$\frac{50}{100} = \frac{W}{5 \text{ ml}}$$

$$\frac{250}{100} = X$$

$$X = 2,5 \text{ gram}$$

Jadi untuk mendapatkan ekstrak sarang lebah *Trigona* sp dengan konsentrasi 50% diperoleh dengan cara sebanyak 2,5 gram ekstrak ditambah dengan propilen glikol sampai tercapai volume 5 mL.

3) Penghitungan konsentrasi ekstrak 25%

$$\% = \frac{W}{V}$$

$$\frac{25}{100} = \frac{W}{5 \text{ ml}}$$

$$\frac{125}{100} = X$$

$$X = 1,25 \text{ gram}$$

Jadi untuk mendapatkan ekstrak sarang lebah *Trigona* sp dengan konsentrasi 25% diperoleh dengan cara sebanyak 1,25 gram ekstrak ditambah dengan propilen glikol sampai tercapai volume 5 mL.

f. Pembuatan media pertumbuhan *P. gingivalis*1) Pembuatan media *Brain Heart Infusion Broth* (BHI-B)

Media BHI-B didapatkan dengan mencampur 3,7 gram bubuk BHI-B dan 100 ml *aquades steril* pada tabung *erlenmeyer* dan dilakukan pengadukan pada media menggunakan spatula kaca. Kemudian dilakukan pemanasan pada media di atas kompor listrik sampai homogen dan disterilkan dalam *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit. Media BHI-B diinkubasi selama 24 jam

pada suhu 37°C untuk pengujian sterilitasnya. Media BHI-B yang steril akan tetap jernih setelah diinkubasi (Pujiastuti dan Lestari, 2015).

2) Pembuatan suspensi *P. gingivalis*

Semua tahap pembuatan suspensi *P. gingivalis* dilakukan di dalam *laminar flow* agar tetap steril. Memasukkan media BHI-B sebanyak 2 ml ke dalam tabung reaksi dengan mikropipet yang telah diberi *blue tip*. Selanjutnya satu ose bakteri *P. gingivalis* dari galur murni dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi media BHI-B dan tabung reaksi ditutup. Kemudian tabung reaksi dimasukkan ke dalam *desicator* agar mendapatkan suasana anaerob kemudian diinkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam. Setelah dikeluarkan dari inkubator, selanjutnya dilakukan pengenceran pada suspensi. Pengenceran suspensi dilakukan dengan menambah *aquades steril* dan dihomogenkan dengan *mixing vortex*, kemudian diukur tingkat kekeruhannya dengan spektrofotometer sampai absorbansinya mencapai 0.5 *Mc Farland* atau sebanding dengan suspensi sel bakteri dengan konsentrasi $1,5 \times 10^8$ CFU/ml (Pujiastuti dan Lestari, 2015).

3) Pembuatan media *Brain Heart Infusion Agar* (BHI-A)

Pembuatan media BHI-A didapatkan dengan cara mencampurkan 5,2 gram BHI-A dan 100 ml *aquades steril*, dimasukkan ke dalam tabung *enlemeyer* dan diaduk dengan spatula kaca dan dilakukan pemanasan diatas kompor listrik sampai homogen, tabung *enlemeyer* ditutup dengan kapas steril. Selanjutnya media disterilkan dalam *autoclave* dengan suhu 121 °C selama 15 menit (Pujiastuti dan Lestari, 2015). Media BHI-A diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C untuk pengujian sterilitasnya. Media BHI-A yang steril akan tetap jernih setelah diinkubasi.

4) Pemberian label pada cawan petri

Setelah cawan petri disterilisasi, semua cawan petri pada bagian bawah diberi kertas label dengan tulisan 100% untuk ekstrak sarang lebah *Trigona* sp dengan konsentrasi 100%, 75% untuk ekstrak sarang lebah *Trigona* sp dengan

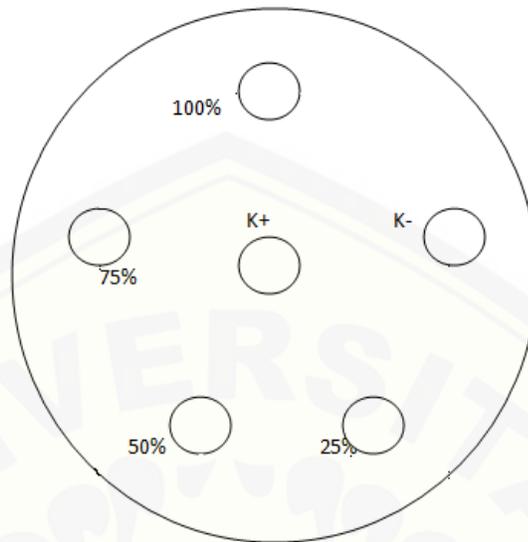
konsentrasi 75%, 50% untuk ekstrak sarang lebah *Trigona* sp dengan konsentrasi 50%, 25% untuk ekstrak sarang lebah *Trigona* sp dengan konsentrasi 25%. *Chlorhexidine gluconat* 0,2% (kontrol positif) diberi label dengan tulisan K+. Propilen glikol (kontrol negatif) diberi label dengan tulisan K-. Pada masing-masing cawan petri diberi kertas label dengan nomorurut cawan petri 1 sampai 4.

5) Inokulasi suspensi *P. gingivalis* pada media BHI-A

Inokulasi bakteri menggunakan metode *pour plate* dengan cara media BHI-A yang steril dengan suhu antara 40-45°C, dituang terlebih dahulu ke dalam cawan petri yang telah disterilkan setebal 2 mm, kemudian dilakukan inokulasi 0,5 ml suspensi *P. gingivalis* menggunakan mikropipet (Sendy dkk., 2014). Selanjutnya memutar cawan petri mengikuti pola angka delapan untuk mencampur media dengan suspensi *P. gingivalis* (Yunita dkk., 2015). Kemudian ditunggu \pm 15 menit hingga media memadat (Sendy dkk., 2014).

3.7.2 Tahap Uji Daya Antibakteri

Seluruh proses perlakuan dilakukan didalam *laminar flow* agar tidak terkontaminasi. Setelah media BHI-A padat, setiap cawan petri yang telah mengandung *P. gingivalis* dibuat 6 lubang sumuran menggunakan *borer* steril dengan diameter 5 mm, selanjutnya lubang sumuran diberi sebanyak 20 μ l ekstrak sarang lebah dengan konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%, *chlorhexidine glukonat* 0,2%, dan propilen glikol (Gambar 3.1) (Sendy dkk., 2014). Sebelum diinkubasi, media didiamkan selama 30-60 menit sampai ekstrak meresap ke media, kemudian cawan petri dibalik dan dimasukkan ke dalam *desicator* yang diberi bunsen dengan api yang menyala, dan ditunggu sampai kondisi anaerob yang ditandai dengan api bunsen yang padam. Kemudian dilakukan inkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam di dalam inkubator (Putri dkk., 2014).



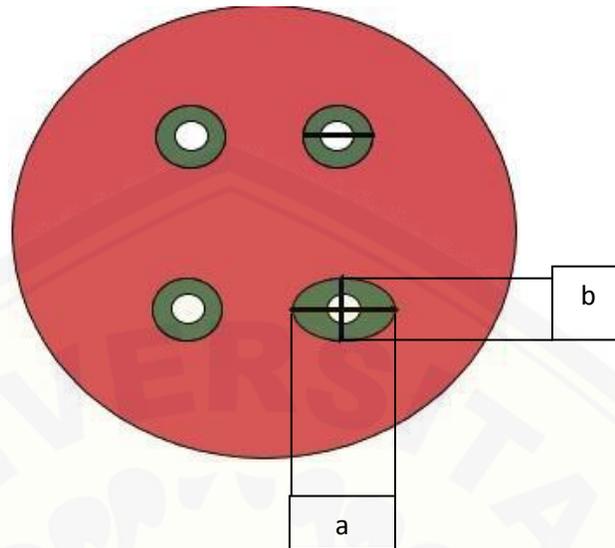
Gambar 3.1 Lubang sumuran pada media kultur

Keterangan:

- 25% : Ekstrak sarang lebah *Trigona* sp konsentrasi 25%
- 50% : Ekstrak sarang lebah *Trigona* sp konsentrasi 50%
- 75% : Ekstrak sarang lebah *Trigona* sp konsentrasi 75%
- 100% : Ekstrak sarang lebah *Trigona* sp konsentrasi 100%
- K+ : Kontrol positif (*chlorheksidin glukonat* 0,2%)
- K- : Kontrol negatif (propilen glikol)

3.7.3 Tahap Pengukuran

Setelah dilakukan inkubasi dengan suhu 37°C selama 48 jam, selanjutnya dilakukan penghitungan zona hambat. Penghitungan zona hambat dilakukan dengan cara mengukur dengan jangka sorong digital, diameter yang panjang (misal a mm) dan diameter yang paling pendek (misal b mm), selanjutnya keduanya dijumlah dan dibagi dua. Jadi diameter zona hambat (x) = $a+b/2$ (Sendy dkk., 2014). Jika zona hambat berbentuk lingkaran maka pengukuran dilakukan dengan mengukur diameter dari zona hambat (Gambar 3.2), perhitungan dilakukan sebanyak 3 kali dengan pengamat yang berbeda dan diambil rata-rata (Fatimah dkk., 2016).



Gambar 3.2 Pengukuran daya hambat

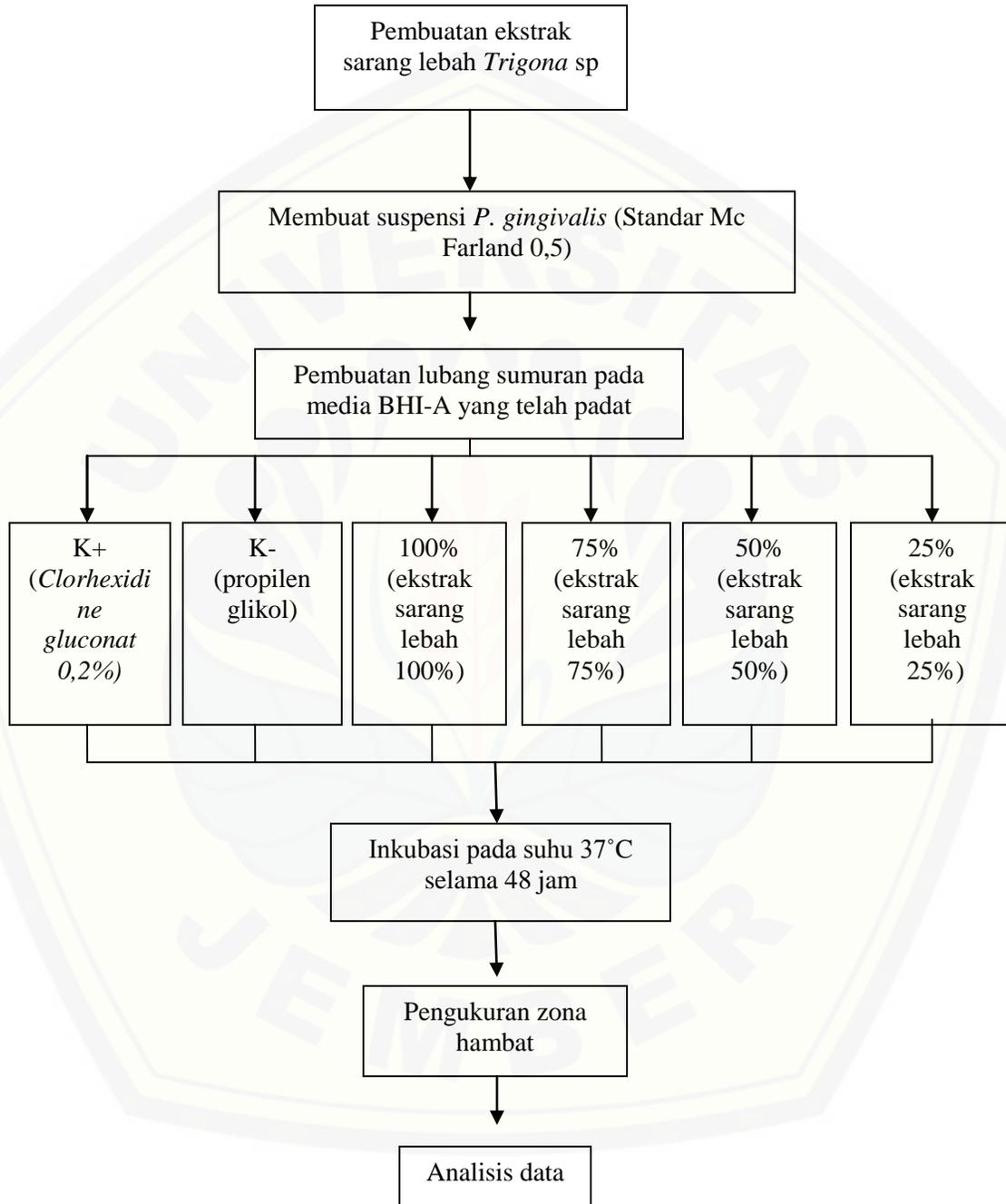
Keterangan :

- : Zona hambat
- : Lubang sumuran
- : Diameter zona hambat
- (a) : Diameter panjang zona hambat
- (b) : Diameter pendek zona hambat

3.8 Analisis Data

Analisis data hasil penelitian didahului dengan uji normalitas dan homegenitas. Uji normalitas dilakukan menggunakan uji *Saphiro-Wilk* dan uji homogenitas dilakukan dengan uji *Levene*. Data pada penelitian ini tidak terdistribusi normal dan tidak homogen, sehingga dapat dilanjutkan dengan uji statistik nonparametrik *Kruskal Wallis* dan selanjutnya dilakukan uji statistik *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 sarang lebah *Trigona* sp memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan *P. gingivalis*.
2. Konsentrasi ekstrak sarang lebah *Trigona* sp yang memiliki daya hambat efektif terhadap pertumbuhan *P. gingivalis* adalah 50% dan 25%.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai daya hambat ekstrak sarang lebah *Trigona* sp terhadap mikroflora lain di rongga mulut.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang aktivitas antimikroba ekstrak sarang lebah *Trigona* sp secara in vivo.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk uji toksisitas ekstrak sarang lebah *Trigona* sp.

Daftar Pustaka

- Agustini, N. W. S dan M. Setyaningrum. 2018. Screening Fitokimia, Uji Aktifitas Antimikroba dan Antioksidan, serta Identifikasi Senyawa dari Ekstrak Biomassa *Chlorella vulgaris*. *Journal of Agro-based Industry*, 35(1): 29-37.
- Banowu, H. 2016. Studi Perkembangan Koloni dan Produksi Lebah *Trigona* Sp. Dari Posisi Stup Yang Berbeda. *Skripsi*. Kendari: Fakultas Kehutanan dan Ilmu Lingkungan Universitas Halu Oleo.
- Bostanci, N. dan G. N. Belibasakis. 2018. *Phatogenesis of Periodontal Disease: Biological Concepts for Clinicians*. Switzerland: Springer International Publishing.
- Cindrakori, H. N. 2015. Efektivitas Ekstrak *Propolis Trigona* sp terhadap Pertumbuhan Bakteri *Porphyromonas gingivalis*. *Skripsi*. Makasar: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanudin.
- Craig, R. G. dan A. R. Kamer. 2016. *A Clinician's Guide to Systemic Effect of Periodontal Disease*. New York: Springer.
- Daniel, W. 2008. *Biostatic: A Foundation For Analysis in The Health Sciences*, Eight Edition. Georgia Wiley.
- Demuth, D. R. dan R. J. Lamon. 2006. *Bacterial Cell-To-Cell Communication Role In Virulence and Pathogenesis*. New York: Cambridge University Press.
- Dwipriastuti, D., R. R. Putranto, dan W Anggraini. 2017. Perbedaan Efektivitas *Chlorhexidine Glukonat 0,2%* dengan Teh Hijau (*Cammelia sinensis*) terhadap Jumlah *Porphyromonas gingivalis*. *Odonto Dental Jurnal*, 4(1).
- Fadhilah, K. dan K. Rizkika. 2015. *Laba: Lebah Tanpa Sengat*. Jakarta: PT Trubus Swadaya.
- Falkow, S., E. Rosenberg, H. Schleifer, dan E. Stackebrant. 2006. *The Prokaryotes Vol 7: Proteobacteria: Delta and Epsilon Subclasses Deeply Rooting Bacteria*. Singapura: Springer Science.
- Fatimah, I. A., B. Kusumawardani, dan Z. Meilawaty. 2016. Pengaruh Ekstrak Flavonoid Rendah Nikotin Limbah Daun Tembakau Kasturi (*Nicotiana*

tabaccum L.) Terhadap Pertumbuhan Mikroba Rongga Mulut. *Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa*.

Fitriyana, N., Y. M. D. Arina, H. Harmono, dan I. Susilawati. 2013. Pemaparan Bakteri *Porphyromonas gingivalis* Mempengaruhi Produksi Superoksida Nitrofil. *Dentofasial*, 12(3):152-157.

Ghom, A. G. dan S. Anii. 2014. *Text Book of Oral Medicine*. Edisi Ketiga. India: Jaypee Brothers Medical Publishers (P) LTD.

Grenier, D., Imbeault, S., Plamondon, P., Grenier G., Nakayama, K, dan Mayrand, D. 2001. Role of Gingipain in Growth of *Porphyromonas gingivalis* in the Presence of Human Serum Albumin. *Infect Immun*. 69 (8): 5166-5172.

Gross, G. G., R. W. Hemingway, dan T. Yoshida. 1999. *Plant Polyphenols 2: Chemistry, Biology, Pharmacology, Ecology*. New York: Plenum Publisher.

Grumezescu, A. M. 2017. *Antimicrobial Nanoarchitecture*. Netherlands: Elsevier.

Hartini. 2017. Uji Aktivitas Antifungi Ekstrak Sarang Lebah Dan Madu Hutan Luwu Utara Terhadap *Candida Albicans*. *Skripsi*: Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.

Haryati, S. D., S. Darmawati. W. Wilson. 2017. Perbandingan Efek Ekstrak Buah Alukat (*Persea Americana Mill*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Dengan Metode Disk Dan Sumuran. *Prosiding*. Semarang: Seminar Nasional Publikasi Hasil-hasil Penelitian dan Pengabdian Masyarakat. 30 September.

Haslina. dan S. Untari. 2017. Pengaruh Waktu Ekstrak dan Konsentrasi Ekstrak Rambut Jagung (Corn Silk) Terhadap pH, Total Fenol dan Aktivitas Antibakteri. *Pengembangan Rekayasa dan Teknologi*. 13(2): 58-64.

Henderson, B., M. Curtis, R. Seymour, dan N. Donos. 2009. *Periodontal Medicine and System Biology*. London: A John Wiley & Sons, Inc., Publication.

Hidayat, S., F. Hanum, dan A. Ismail. 2015. Efektifitas Daya Hambat dan Daya Bunuh Bakteri Ulkus Traumatikus pada Mukosa Mulut dengan Berbagai Konsentrasi Propolis (*Trigona sp*). *Medali Jurnal*. 2(1): 79-84.

Jakubovic, N.S. 2013. *Oral Microbial Ecology*. UK: Caister Academic Press.

- Jandik, K. dan A. Belanger. 2009. Invasive Differences Between Strains of *Porphyromonas gingivalis* From Healthy and Diseased Periodontal Sites. *Journal of periodontal Restorative*, 43(5): 524-530.
- Jannata, R.H., A. Gunadi, T. Ermawati. 2014. Daya Anti Bakteri Ekstrak Kulit Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mil) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus Mutans*. *E-Jurnal Pustaka Kesehatan*. 2(1): 23-28.
- Jaya, F. 2017. *Produk-Produk Lebah Madu dan Hasil Olahannya*. Malang: UB Press.
- Juneja, V. K., H. P. Dwivedi, dan J. N. Sofos. 2017. *Microbial Control and Food Preservation: Theory and Practice*. New York: Springe Science and Busines Media Lcc.
- Kementrian Kesehatan. 2014. *Situasi Kesehatan Gigi dan Mulut*. Jakarta: Pusat Data dan Informasi Kementrian Kesehatan RI.
- Kinane, D. F. dan A. Mombelli. 2012. *Periodontal Disease*. Switzerland: Karger.
- Leba, M. A. 2017. *Buku Ajar Ekstraksi dan Real Kromatogrfi*. Yogyakarta: Deepublish.
- Lutpiantina, L. 2015. Efektivitas Ekstrak Propolis Lebah Kelulut (*Trigona* sp) Dalam Menghambat Pertumbuhan *Salmolnella Typhi*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*. *Jurnal Skala Kesehatan*. 6(1).
- Maulida, N., D. Andryanti, I. Naba'atin. 2012. Potensi Flavonoid yang Terkandung dalam Propolis Lebah sebagai Terapi Periodontitis Agresif. *BIMKGI* 1(1): 31-35.
- Mawaddah, N., K. Arbianti, dan N. Ringga. 2017. Perbedaan Indeks Kebutuhan Perawatan Periodontal (CIPTN) Anak Normal dan Anak Tunarungu. *Odonto Dental Journal*. 4(1): 44-49.
- Mubarak, Z., S. Chismirina, Daulay. H. H. 2016. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Propolis Alami Dari Sarang Lebah Terhadap Pertumbuhan *Enterococcus Faecalis*. *JDS*. 1(2): 175-186.
- Murray, J., June H. N, dan James G. S. 2003. *Prevention of Oral Disease*. Edisi Keempat. New york: Oxford University Press.

- Neal, J. N. 2005. *Medical Pharmacology at Glance*. Fifth Edition. New Jersey: Blackwell publishing Ltd. Terjemahan oleh J. Surapsari. 2006. *Farmakologi Medis. Edisi kelima*. Jakarta: Erlangga.
- Newman, M. G., H. H. Takei. P. R. Klokkevold, dan F. A. Carranza. 2015. *Clinical Periodontology 12th Edition*. Canada: Elsevier.
- Notoatmodjo, S. 2002. *Metodologi Penelitian*. Edisi Revisi. Jakarta: Rineka Pustaka.
- Pratiwi, E. W., D. Praharani dan Y. M. D. Arina. 2015. Daya Hambat Daun Pepaya (*Carica Papaya L.*) terhadap Adhesi Bakteri *Porphyromonas gingivalis* pada Neutrofil. *E-Jurnal Pustaka Kesehatan*, 3(2).
- Prestanti, I., M. Baharuddin, dan S. Sappewali. 2018. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Sarang Lebah Hutan (*Apis dorsata*) terhadap *Pertumbuhan Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas aeruinoso*. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*. 14(2): 314-322.
- Pujiastuti, P dan S. Lestari. 2015. Perbedaan Efektifitas Antibakteri Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) pada *Porphyromonas gingivalis* dan *Streptococcus viridans*. *Stomatognatic*. 12(1):1-4.
- Putranto, R. H., K. Sariadji, Sunarno, dan Roselinda. 2014. *Corynebacterium diphtheriae: Diagnosis Laboratorium Bakteriologi*. Jakarta: Yayasan Pustaka Obor Indonesia.
- Putri, R. H., I. Barid, dan B. Kusumawardani. 2014. Daya Hambat Ekstrak Daun Tembakau Terhadap Pertumbuhan Mikroba Rongga Mulut. *Stomatognatic*. 11(2): 27-31.
- Rahmah, R. P. A., M. Bahar, dan Y. Harjono. 2017. Uji Daya Hambat Filtrat Zat Metabolit *Lactobacillus plantarum* Terhadap Pertumbuhan *Shigella dysenteriae* Secara *In Vitro*. *Biogenesis*. 5(1).
- Rahmawaty, L. 2017. Budidaya Lebah Trigona Bantu Lestarikan Hutan. <https://www.antaraneews.com/berita/651523/budidaya-lebah-trigona-bantu-lestarikan-hutan>. [Diakses pada 22 Mei 2019].
- Rahmawati, N., Edi. S dan Eko. W. 2014. Uji aktivitas antibakteri ekstrak herbal terhadap bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*. 24 (3): 24 – 31.

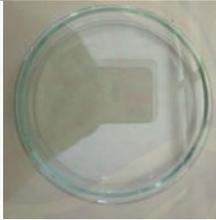
- Robinson, M. dan J. P. Dalton. 2011. *Cysteine Proteases of Pathogenic Organism*. New York: Springer Science.
- Rodriguez, M. H. M. 2017. *Microbiologi for Surgical Technologis*. USA: Cengage Learning.
- Rogers, A. H. 2008. *Molecular Oral Microbiology*. UK: Caister Academic Press.
- Sarwono, B. 2001. *Lebah Madu*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Sebalt, M. 1993. *Genetics and Molecular Biologi of Anaerobic Bacteria*. Paris: Springer Verlag.
- Sendy, V. A. A., P. Pujiastuti, dan T. Ermawati. 2014. Daya Antibakteri Ekstrak Daun Sirih Merah (*Pipper crocatum*) Terhadap *Porphyromonas gingivalis*. *Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa*.
- Shahidi, F. dan M. Naczk. 2004. *Phenolics in Food and Nutraceuticals*. New York: CRC Press.
- Sinaredi, B. R., S. Pradopo, dan T. B. Wibowo. 2014. Daya Antibakteri Obat Kumur *Chlorhexidine, Povidone Iodine, Fluoride* Suplementasi Zinc Terhadap *Streptococcus mutans* dan *Porphyromonas gingivalis*. *Dental Journal*. 47(4): 211-124.
- Siregar, H., A. M.Fuah, dan Y. Oktaviany. 2011. *Propolis; Madu Multikhasiat*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Suharsanti, R. dan FX. S. Wibowo. 2015. Uji Aktivitas Anti jamur Ekstrak Etanol Daun Som Jawa Terhadap Pertumbuhan *Candida Albicans* Untuk Menjamin Mutu Penggunaan Sebagai Obat Herbal Antikeputihan. *Media Farmasi Indonesia*. 11(2): 1067-1074.
- Sumardjo, D. 2006. *Pengantar Kima: Buku Panduan Kuliah Mahasiswa Kedokteran dan Program Strata I Fakultas Bioeksata*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Suranto, A. 2004. *Khasiat dan Manfaat Madu Herbal*. Jakarta: Agro Media Pustaka.
- Suranto, A. 2007. *Terapi Madu*. Jakarta: PT Trubus Swadaya.

- Suranto, A. 2010. *Dahsyatnya Propolis Untuk Menggempur Penyakit*. Jakarta: Agro Media Pustaka.
- Tjay, T. H. dan K. Rahardja. 2008. *Obat- Obat Penting Khasiat Penggunaan dan Efek- Efek Sampingnya. Edisi Keenam*. Jakarta: PT Elex Media Komputindo.
- Utami, P. dan D. E. Puspaningtyas. 2013. *The Miracle of Herb*. Jakarta: PT Agro Media Pustaka.
- Watiniasih, N. L., N. M. Suartini, dan I. K. Junitha. 2015. Produksi Madu Lebah Trigona Pada Beberapa Sarang Alami Di Bali. *Prosiding*. Bali: Seminar Nasional Sains dan Teknologi. 29-30 Oktober.
- Wijaya, H., Novitasari, dan S. Jubaidah. 2018. Perbandingan Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen Ekstrak Daun Rambai Laut (*Sonneratia caseolaris L. Engl*). *Jurnal Ilmiah Matungun*. 4(1): 79-83.
- Yanuarisa, R., D. Agustina, dan A. Santosa. 2016. Aktifitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Tempuyung (*Shoncus Arvensis L.*) terhadap *Salmonella Thypi* secara In Vitro. 2(2): 1-6.
- Yuliana, R., E. Sutariningsih, H. B. Santoso, K. A. Hendarto, dan S. D. Riendrasari. 2015. Daya Antimikroba Sarang Lebah Madu *Trigona* spp terhadap Mikroba pathogen. *Bioedukasi*. 8(1): 67-72.
- Yunita, M., Y. Hendrawan, dan R. Yulianingsih. 2015. Analisis Kuantitatif Mikrobiologi Pada Makanan Penerbangan (*Aerofood ACS*) Garuda Indonesia Berdasarkan TPC (*Total Plate Count*) Dengan Metode *Pour Plate*. *Jurnal Keteknik Pertanian Tropis dan Biosistem*. 3(3): 237-248.

LAMPIRAN

3.1 Alat dan Bahan Penelitian

a. Alat Penelitian

			
Autoklaf	Oven	Inkubator	<i>Laminar Flow</i>
			
Spektrofotometer	<i>Mixing vortex</i>	<i>Rotary Evaporator</i>	Batang pengaduk
			
Desicator	Cawan petri	Bunsen	<i>Borer</i>
			
Gelas ukur	<i>Beaker glass</i>	Mikropipet	Pinset

			
Tabung <i>Erlenmeyer</i>	Corong steril	Timbangan	Tabung reaksi, ose, gunting
			
Kompur listrik	<i>Shaking Incubator</i>	Jangka sorong digital	Tabung <i>centrifuge</i>

b. Bahan penelitian

			
Sarang lebah <i>Trigona sp</i>	<i>Blue tip dan yellow tip</i>	Alkohol 70%	Etanol 70%
			
Propilen glikol	Kertas saring	<i>Aquades steril</i>	<i>P. gingivalis</i>

			
<p>BHI-B</p>	<p>BHI-A</p>	<p><i>Chlorhexidine gluconat 0,2%</i></p>	<p>Aluminium foil</p>
			
<p>Ballpoint dan kertas label</p>	<p>Tissue</p>		

Lampiran 3.2 Surat Keterangan Identifikasi Sarang Lebah *Trigona* sp

KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
UB FOREST
Gd. Layanan Bersama Lt.5 Jl. MT. Haryono 169 Malang 65145. Indonesia
E-Mail : ubforest@ub.ac.id

SURAT KETERANGAN

Nomor. 001/UB.FOREST/ IX /2018

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Prof. Eko Ganis S,SE.,M.Com.Hons., Ph.D
NIP : 1964120 3200312 1 001
Pangkat / Gol : Pembina Madya / IV C
Jabatan Fungsional : Guru Besar
Jabatan Struktural : Direktur UB Forest
Unit Kerja : UB Forest
Alamat : Gd. Layanan Bersama lt. 5 Jl. MT Haryono 169 Malang 65145
No. Telp : 081 838 866 36

Dengan ini menerangkan bahwa mahasiswi di bawah ini :

Nama : Leni Damayanti Harahap
NIM : 151610101062
Fakultas : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
Perguruan Tinggi : Universitas Jember
Alamat Perguruan Tinggi : Jl. Kalimantan No. 37 Jember

Berdasarkan Surat Keterangan Identifikasi Sarang Lebah dari Wisata Petik madu telah melaksanakan penelitian dalam tahapan pengambilan sampel sarang lebah *Trigona* sp (terlampir) di Lokasi Budidaya Lebah Petik Madu.

Demikian surat keterangan ini di buat untuk digunakan dengan sebaik-baiknya



Prof. Eko Ganis S,SE.,M.Com.Hons., Ph.D
NIP 19641203 200312 1 001

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI SARANG LEBAH

1. Determinasi lebah

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Arthropoda
Klas	: Insecta
Subklas	: Pterygota
Ordo	: Hymenoptera
Subordo	: Clistogastra
Subfamili	: Apoidea
Famili	: Meliponidae
Genus	: Trigona
Spesies	: <i>Trigona leaviceps</i>

2. Deskripsi

Lebah berukuran kecil 3-8 mm, dan berwarna hitam. Sarang lebah berbentuk gundukan dan sel sarang berbentuk pot yang tidak beraturan. Sarang lebah terdiri dari kantung madu, kantung pollen, kantung sel telur dan propolis.

Referensi

- Fadhilah, K. dan K. Rizkika. 2015. *Laba: Lebah Tanpa Sengat*. Jakarta: PT Trubus Swadaya.
- Siregar, H., A. M. Fuah, dan Y. Oktavianty. 2011. *Propolis; Madu Multikhasiat*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Suranto, A. 2007. *Terapi Madu*. Jakarta: PT Trubus Swadaya.

Mengetahui,

WISATA
PETIK MADU
Aim Wandi
JURUSAN HORTIKULTURA - MALANG - JATIM
KEMENTERIAN PERTANIAN - RI

Lampiran 3.3 Surat Keterangan Identifikasi *Porphyromonas gingivalis*

LABORATORIUM MIKROBIOLOGI
BAGIAN BIOMEDIK KEDOKTERAN GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER

SURAT KETERANGAN
No. 0143/MIKRO/S.KET/2018

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

Nama : Leni Damayanti Harahap
NIM : 151610101062
Fakultas : Kedokteran Gigi Universitas Jember
Keperluan : Identifikasi Mikroorganisme

Telah melakukan uji identifikasi terhadap isolasi bakteri *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 dengan menggunakan pengecatan Gram dan diamati secara mikroskopis menunjukkan hasil *cocco-bacilli*, Gram negatif dan tidak terkontaminasi.

Jember, 6 Desember 2018

Mengetahui,

Kepala Bagian Biomedik Kedokteran Gigi

Penanggung Jawab Lab. Mikrobiologi

drg. Amandia Dewi Permanashita, M. Biomed
NIP. 198006032006042002

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

3.4 Perhitungan Rendemen Ekstrak Sarang Lebah *Trigona sp*

Rendemen adalah perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal. Nilai dari *rendemen* menggunakan satuan persen (%). Hasil dari *rendemen* ekstrak dapat dihitung dengan rumus (Wijaya dkk., 2018):

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak yang diperoleh gram (gram)}}{\text{Bobot simplisia sebelum di ekstrak (gram)}} \times 100\%$$
$$\% \text{ Rendemen} = \frac{41,7}{100} \times 100\%$$
$$= 41,7\%$$

3.5 Dokumentasi Penelitian

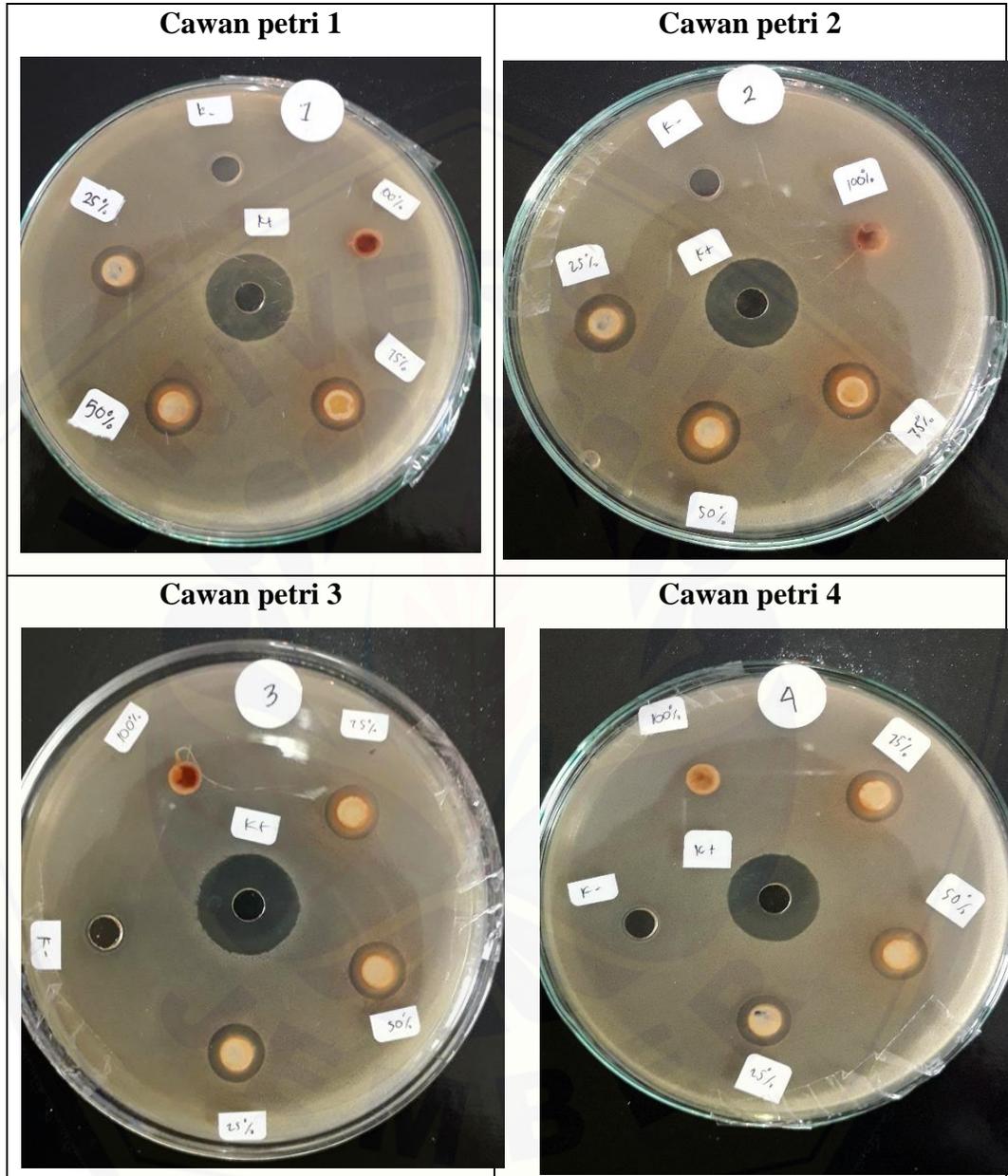
3.5.1 Pembuatan ekstrak sarang lebah *Trigona* sp

Gambar	Keterangan
	<ul style="list-style-type: none"> - Sarang lebah <i>Trigona</i> sp yang masih segar dan utuh dipotong-potong kecil sebanyak 100 gram
	<ul style="list-style-type: none"> - Dilakukan maserasi dengan sebanyak 100 gram ekstrak sarang lebah <i>Trigona</i> sp ditambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 1000 ml, selanjutnya disimpan selama 24 jam diletakkan di <i>shaking incubator</i> pada suhu 40°C. - Kemudian di remaserasi dengan prosedur yang sama
	<ul style="list-style-type: none"> - Hasil maserasi dan remaserasi disaring dengan kertas saring
	<ul style="list-style-type: none"> - Etanol diuapkan dengan <i>rotary evaporator</i> hingga diperoleh ekstrak kental

3.5.2 Tahap Uji Daya Antibakteri

Gambar	Keterangan
	<ul style="list-style-type: none">- Setelah BHI-A padat, cawan petri yang mengandung <i>P. gingivalis</i> dibuat 6 lubang sumuran dengan <i>borer</i> steril
	<ul style="list-style-type: none">- Lubang sumuran diberi ekstrak sarang lebah <i>Trigona</i> sp, <i>chlorhexidine gluconat</i> 0,2% dan propilen glikol
	<ul style="list-style-type: none">- Cawan petri di balik dan dimasukkan ke dalam desicator dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C

3.6 Foto Hasil Penelitian



3.7 Hasil Pengukuran Zona Hambat (mm) Ekstrak Sarang Lebah *Trigona* sp terhadap Pertumbuhan *P. gingivalis*

Cawan petri	P	K+		K-		100%		75%		50%		25%	
		a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
1	1	17		0		0		10,1		10,9		10,5	
	2	16,8		0		0		9,6		10,4		10	
	3	16,9		0		0		9,5		10,4		9,7	
2	1	17,5		0		0		10,5		11,5	12,3	11,2	
	2	17,3		0		0		9,7		11,2	12	11,3	
	3	17		0		0		10,1		10,9	13	10,7	
3	1	19,1		0		0		10,2		10,8		10,4	
	2	19,5		0		0		10,1		10,6		10,4	
	3	18,4		0		0		9,8		10,3		10	
4	1	17,1		0		0		10		10,8		10,4	
	2	17,2		0		0		10,1		10,6		10,2	
	3	16,6		0		0		10		10,8		10,4	
Rata-rata		17,55±0,98		0		0		9,95±0,17		10,93±0,58		10,45±0,44	

P : Pengamat
a : diameter pendek zona hambat
b : diameter panjang zona hambat

4.1 Hasil Uji Statistik

4.1.1 Hasil uji *Saphiro-Wilk* diameter zona hambat ekstrak sarang lebah *Trigona* sp terhadap pertumbuhan *P. gingivalis*

Tests of Normality^{b,c}

KELOMPOK	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
NILAI K+	.351	4	.	.771	4	.060
75%	.364	4	.	.840	4	.195
50%	.400	4	.	.689	4	.009
25%	.382	4	.	.801	4	.103

a. Lilliefors Significance Correction

b. NILAI is constant when KELOMPOK = K-. It has been omitted.

c. NILAI is constant when KELOMPOK = 100%. It has been omitted.

4.1.2 Hasil *Levene's Test* diameter zona hambat ekstrak sarang lebah *Trigona* sp terhadap pertumbuhan *P. gingivalis*

Test of Homogeneity of Variances

NILAI

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.686	5	18	.006

4.1.3 Hasil *Kruskall Wallis* diameter zona hambat ekstrak sarang lebah *Trigona* sp terhadap pertumbuhan *P. gingivalis*

	NILAI
Chi-Square	22.124
df	5
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:
KELOMPOK

4.1.4 Hasil uji *Mann Whitney* diameter zona hambat ekstrak sarang lebah *Trigona* sp terhadap pertumbuhan *P. gingivalis*

a. Hasil uji *Mann Whitney* antara kontrol positif dengan kontrol negatif

KELOMPOK	N	Mean Rank	Sum of Ranks
NILAI K+	4	6.50	26.00
K-	4	2.50	10.00
Total	8		

	NILAI
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: KELOMPOK

Test Statistics^b

	NILAI
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

- b. Hasil uji *Mann Whitney* antara kontrol positif dengan ekstrak sarang lebah *Trigona* sp konsentrasi 100%

Ranks

KELOMPOK	N	Mean Rank	Sum of Ranks
NILAI K+	4	6.50	26.00
100%	4	2.50	10.00
Total	8		

Test Statistics^b

	NILAI
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: KELOMPOK

- c. Hasil uji *Mann Whitney* antara kontrol positif dengan ekstrak sarang lebah *Trigona* sp konsentrasi 75%

Ranks

KELOMPOK	N	Mean Rank	Sum of Ranks
NILAI K+	4	6.50	26.00
75%	4	2.50	10.00
Total	8		

Test Statistics^b

	NILAI
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.323
Asymp. Sig. (2-tailed)	.020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: KELOMPOK

- d. Hasil uji *Mann Whitney* antara kontrol positif dengan ekstrak sarang lebah *Trigona* sp konsentrasi 50%

Ranks

KELOMPOK	N	Mean Rank	Sum of Ranks
NILAI K+	4	6.50	26.00
50%	4	2.50	10.00
Total	8		

Test Statistics^b

	NILAI
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.323
Asymp. Sig. (2-tailed)	.020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: KELOMPOK

- e. Hasil uji *Mann Whitney* antara kontrol positif dengan ekstrak sarang lebah *Trigona sp* konsentrasi 25%

Ranks

KELOMPOK	N	Mean Rank	Sum of Ranks
NILAI K+	4	6.50	26.00
25%	4	2.50	10.00
Total	8		

Test Statistics^b

	NILAI
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.323
Asymp. Sig. (2-tailed)	.020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: KELOMPOK

- f. Hasil uji *Mann Whitney* antara kontrol negatif dengan ekstrak sarang lebah *Trigona* sp konsentrasi 100%

Ranks

KELOMPOK	N	Mean Rank	Sum of Ranks
NILAI K-	4	4.50	18.00
100%	4	4.50	18.00
Total	8		

Test Statistics^b

	NILAI
Mann-Whitney U	8.000
Wilcoxon W	18.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: KELOMPOK

- g. Hasil uji *Mann Whitney* antara kontrol negatif dengan ekstrak sarang lebah *Trigona* sp konsentrasi 75%

Ranks

KELOMPOK	N	Mean Rank	Sum of Ranks
NILAI K-	4	2.50	10.00
75%	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^b

	NILAI
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.477
Asymp. Sig. (2-tailed)	.013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: KELOMPOK

- h. Hasil uji *Mann Whitney* antara kontrol negatif dengan ekstrak sarang lebah *Trigona* sp konsentrasi 50%

Ranks

KELOMPOK	N	Mean Rank	Sum of Ranks
NILAI K-	4	2.50	10.00
50%	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^b

	NILAI
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.477
Asymp. Sig. (2-tailed)	.013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: KELOMPOK

- i. Hasil uji *Mann Whitney* antara kontrol negatif dengan ekstrak sarang lebah *Trigona* sp konsentrasi 25%

Ranks

KELOMPOK	N	Mean Rank	Sum of Ranks
NILAI K-	4	2.50	10.00
25%	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^b

	NILAI
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.477
Asymp. Sig. (2-tailed)	.013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: KELOMPOK

- j. Hasil uji *Mann Whitney* antara ekstrak sarang lebah *Trigona* sp konsentrasi 100% dengan ekstrak sarang lebah *Trigona* sp konsentrasi 75%

Ranks

KELOMPOK	N	Mean Rank	Sum of Ranks
NILAI 100%	4	2.50	10.00
75%	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^b

	NILAI
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.477
Asymp. Sig. (2-tailed)	.013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: KELOMPOK

- k. Hasil uji *Mann Whitney* antara ekstrak sarang lebah *Trigona* sp konsentrasi 100% dengan ekstrak sarang lebah *Trigona* sp konsentrasi 50%

Ranks

KELOMPOK	N	Mean Rank	Sum of Ranks
NILAI 100%	4	2.50	10.00
50%	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^b

	NILAI
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.477
Asymp. Sig. (2-tailed)	.013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: KELOMPOK

1. Hasil uji *Mann Whitney* antara ekstrak sarang lebah *Trigona* sp konsentrasi 100% dengan ekstrak sarang lebah *Trigona* sp konsentrasi 25%

Ranks

KELOMPOK	N	Mean Rank	Sum of Ranks
NILAI 100%	4	2.50	10.00
25%	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^b

	NILAI
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.477
Asymp. Sig. (2-tailed)	.013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: KELOMPOK

- m. Hasil uji *Mann Whitney* antara ekstrak sarang lebah *Trigona* sp konsentrasi 75% dengan ekstrak sarang lebah *Trigona* sp konsentrasi 50%

Ranks

KELOMPOK	N	Mean Rank	Sum of Ranks
NILAI 75%	4	2.50	10.00
50%	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^b

	NILAI
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.337
Asymp. Sig. (2-tailed)	.019
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: KELOMPOK

- n. Hasil uji *Mann Whitney* antara ekstrak sarang lebah *Trigona* sp konsentrasi 75% dengan ekstrak sarang lebah *Trigona* sp konsentrasi 25%

Ranks

KELOMPOK	N	Mean Rank	Sum of Ranks
NILAI 75%	4	2.62	10.50
25%	4	6.38	25.50
Total	8		

Test Statistics^b

	NILAI
Mann-Whitney U	.500
Wilcoxon W	10.500
Z	-2.205
Asymp. Sig. (2-tailed)	.027
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: KELOMPOK

- o. Hasil uji *Mann Whitney* antara ekstrak sarang lebah *Trigona* sp konsentrasi 50% dengan ekstrak sarang lebah *Trigona* sp konsentrasi 25%

Ranks

KELOMPOK	N	Mean Rank	Sum of Ranks
NILAI 50%	4	5.75	23.00
25%	4	3.25	13.00
Total	8		

Test Statistics^b

	NILAI
Mann-Whitney U	3.000
Wilcoxon W	13.000
Z	-1.461
Asymp. Sig. (2-tailed)	.144
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.200 ^a

a. Not corrected for ties.