



DAYA ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN SELEDRI (*Apium graveolens* L.) terhadap *Porphyromonas gingivalis*

SKRIPSI

Oleh
Anisa Luthfiyani
NIM 151610101035

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2019**



DAYA ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN SELEDRI (*Apium graveolens* L.) terhadap *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

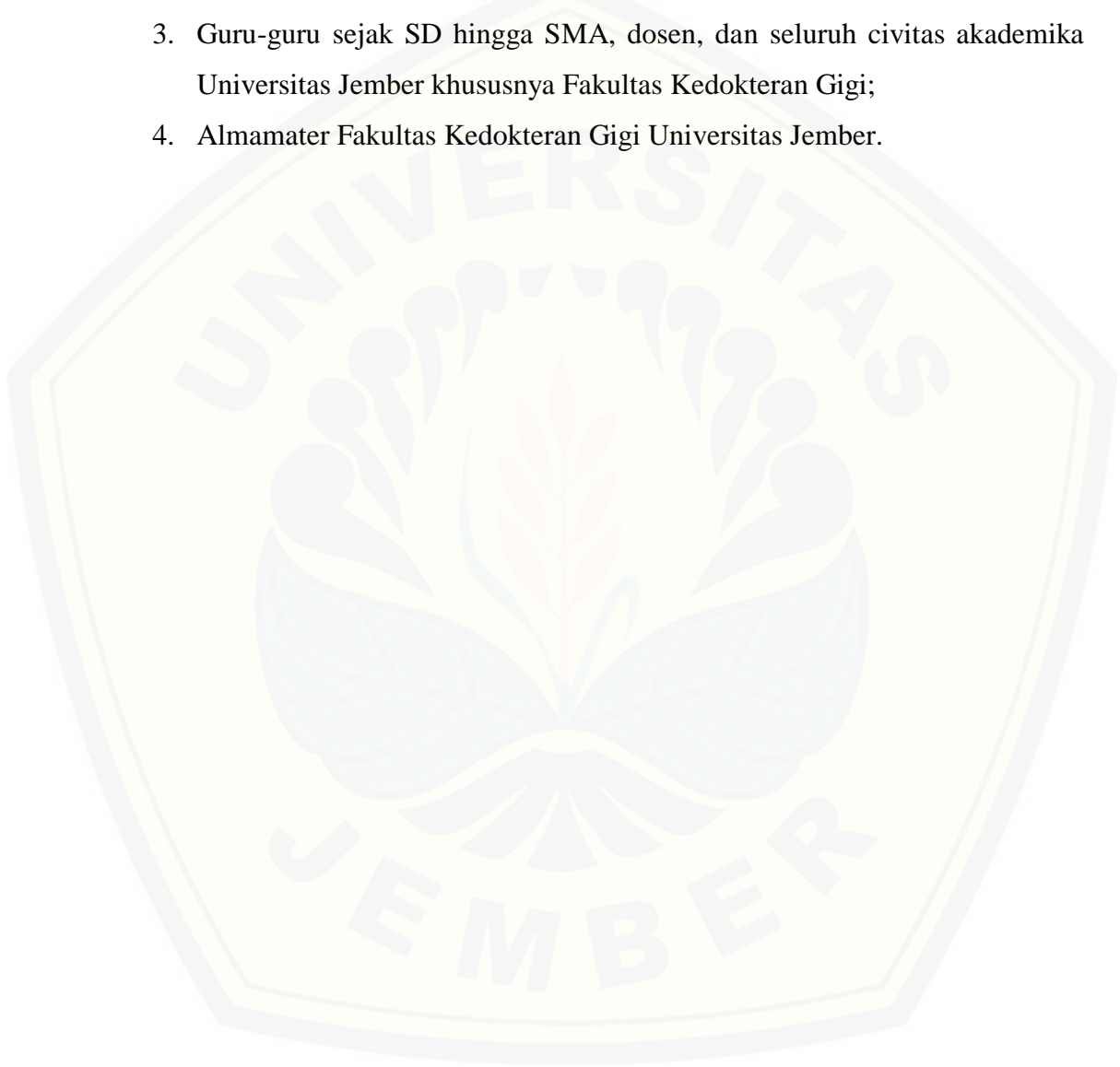
Oleh
Anisa Luthfiyani
NIM 151610101035

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2019**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ibunda Nur Ainasah dan Ayahanda Alm. Yusmianto;
2. Kakakku Muhammad Fathoni Luthfi;
3. Guru-guru sejak SD hingga SMA, dosen, dan seluruh civitas akademika Universitas Jember khususnya Fakultas Kedokteran Gigi;
4. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.



MOTO

“Sesungguhnya Allah tidak akan mengubah keadaan suatu kaum sebelum mereka mengubah keadaan mereka sendiri”

(QS. Ar-Ra’d: 11)

“Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya”

(Q.S. Al Baqarah : 286)

“Sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan”

(Q.S. Al Insyirah : 6)

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 : Anisa Luthfiyani

NIM : 151610101035

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Daya Antibakteri Ekstrak Daun Seledri (*Apium graveolens* L.) terhadap *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, 23 Mei 2019

Yang menyatakan,

Anisa Luthfiyani

NIM 151610101035

SKRIPSI

DAYA ANTIBAKTERI EKSTRAK DAUN SELEDRI (*Apium graveolens* L.) terhadap *Porphyromonas gingivalis*

Oleh
Anisa Luthfiyani
NIM 151610101035

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama : drg. Peni Pujiastuti, M. Kes
Dosen Pembimbing Pendamping : drg. Melok Aris W, M.Kes., Sp. Perio

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Daya Antibakteri Ekstrak Daun Seledri (*Apium graveolens* L.) Terhadap *Porphyromonas gingivalis*” telah diuji dan disahkan pada:

Hari, tanggal : Kamis, 23 Mei 2019

Tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Penguji Ketua,

Penguji Anggota,

drg. Pujiana Endah Lestari, M.Kes
NIP 197608092005012002

drg. Pudji Astuti, M.Kes
NIP 196810201996012001

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

drg. Peni Pujiastuti, M.Kes
NIP 196705171996012001

drg. Melok Aris Wahyukundari, M.Kes., Sp. Perio
NIP 197104092005012002

Mengesahkan
Dekan Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Jember,

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

RINGKASAN

Daya Antibakteri Ekstrak Daun Seledri (*Apium graveolens* L.) terhadap *Porphyromonas gingivalis*; Anisa Luthfiyani, 151610101035; 2019; 59 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Penyakit periodontal adalah suatu peradangan kronis pada jaringan penyangga gigi (*periodontium*). Penyakit ini memiliki prevalensi cukup tinggi di Indonesia dimana penyakit periodontal pada semua kelompok umur di Indonesia adalah sebesar 96,58% berdasarkan riset kesehatan dasar tahun 2013. Penyakit periodontal tidak bisa dianggap remeh karena apabila dibiarkan semakin parah akan merusak struktur tulang dan menyebabkan saku periodontal semakin dalam yang kemudian akan menjadi tempat bagi berbagai jenis bakteri. Penyakit periodontal dapat disebabkan oleh suatu bakteri plak yang menyerang jaringan penyangga gigi meliputi gingiva, ligamen periodontal, sementum dan tulang alveolar.

Bakteri plak penyebab penyakit periodontal salah satunya adalah *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*). Bakteri ini sangat berpengaruh dalam inisiasi dan keparahan penyakit periodontal. *P. gingivalis* dapat menyebabkan perubahan patologik pada jaringan periodontal dengan pengaktifan respons imun dan inflamatori inang, dan secara langsung mempengaruhi sel-sel periodonsium. *P. gingivalis* juga diketahui dapat memproduksi berbagai faktor virulensi patogenik, seperti lipopolisakarida dan hidrogen sulfida, yang dapat menginduksi inang untuk melepaskan *Interleukin-1* (IL-1) dan *Tumor Necrosis Factor- α* (TNF- α). Salah satu cara untuk menghambat pertumbuhan *P. gingivalis* yaitu dengan menggunakan obat kumur. Obat kumur yang sering dipakai karena efektivitasnya terhadap periodontal patogen salah satunya adalah *chlorhexidine*. Akan tetapi, penggunaan *chlorhexidine* dalam jangka waktu lebih dari 2 minggu memiliki efek samping di antaranya menyebabkan rasa terbakar pada mukosa mulut, mengganggu indera perasa, erosi mukosa mulut, dan kekeringan pada rongga mulut. Untuk itu diperlukan alternatif bahan lain sebagai pengganti obat

kumur *chlorhexidine*, salah satunya yaitu pemanfaatan bahan herbal dari daun seledri. Senyawa kimia yang terkandung dalam daun seledri antara lain flavonoid, saponin dan tanin yang bersifat antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya antibakteri ekstrak daun seledri (*Apium graveolens* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *P. gingivalis* serta konsentrasi terkecil yang masih memiliki daya antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *P. gingivalis*.

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *the post-test only control group design*. Penelitian ini menggunakan metode difusi sumuran dengan 7 kelompok penelitian (2 kelompok kontrol dan 5 kelompok perlakuan) dan setiap kelompok terdiri dari 4 sampel (pengulangan). Kelompok perlakuan terdiri dari konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5% dan 6,25%. Kontrol positif pada penelitian ini adalah *chlorhexidine gluconate* 0,2% dan kontrol negatif yaitu aquades steril. Bahan dari setiap kelompok diteteskan pada masing-masing lubang sumuran sebanyak 20 µl kemudian diletakkan pada permukaan media BHI-A yang telah diinokulasi *P. gingivalis*. Cawan petri yang sudah diberi perlakuan dimasukkan ke desikator dan diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Setelah 24 jam, cawan petri dikeluarkan kemudian dilakukan pengukuran zona hambat menggunakan jangka sorong digital.

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa ekstrak daun seledri pada semua konsentrasi yaitu konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5% dan 6,25% tidak terbentuk zona hambat pada medium biakan bakteri *P. gingivalis*. Hal ini bisa dibuktikan pada masing-masing konsentrasi tersebut tidak terbentuk daerah bening disekitar sumuran. Sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun seledri (*Apium graveolens* L.) tidak memiliki daya antibakteri terhadap *P. gingivalis*.

PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT karena atas berkat rahmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi yang berjudul “Daya Antibakteri Ekstrak Daun Seledri (*Apium graveolens* L.) terhadap *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. Almarhum bapakku Yusmianto, S.P. yang senantiasa mendukung, menyemangati, dan mendoakan dalam penyusunan skripsi ini hingga akhirnya Allah SWT panggil terlebih dahulu saat awal penelitian.
2. Ibuku Nur Ainasah yang juga selalu mendukung dan mendoakan saya. Karena doa ibulah saya bisa sampai pada tahap ini.
3. drg. Rahardyan Parnaadji, M.Kes, Sp. Pros. Selaku dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
4. drg. Peni Pujiastuti, M. Kes., selaku dosen pembimbing utama dan drg. Melok Aris Wahyukundari, M.Kes., Sp.Perio., selaku dosen pembimbing pendamping yang telah banyak meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan, saran, nasihat dan motivasi sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
5. drg. Pujiana Endah Lestari, M.Kes dan drg. Pudji Astuti, M. Kes, selaku dosen penguji skripsi yang telah memberikan kritik dan saran dalam penulisan skripsi ini;
6. Prof. drg. H. Mei Syafriadi, M.DSc, Ph.D., Sp. PMM(K) selaku dosen pembimbing akademik yang telah memberikan saran, motivasi dan bimbingan selama ini;

7. Kakakku satu-satunya Muhammad Fathoni Luthfi yang juga telah banyak membantu dan mendukung. Terima kasih atas curahan kasih sayang yang tak terkira.
8. Guru-guruku sejak bangku taman kanak-kanak hingga perguruan tinggi, terima kasih atas bimbingan dan ilmu yang telah diberikan.
9. Teman-temanku Rindang, Shela, Leni, dan Ogis yang banyak membantu, menyemangati, dan berjuang bersama dalam penelitian ini.
10. Mas Erwan dan Mbak Indri selaku teknisi dan analis yang turut membantu dan membimbing dengan sabar dalam penelitian.
11. Teman-teman angkatan 2015, yang telah berjuang bersama-sama dan melewati suka duka di almamater tercinta ini.
12. Semua pihak yang turut membantu dalam terselesaikannya skripsi ini yang tidak mungkin disebutkan satu persatu.

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, 23 Mei 2019

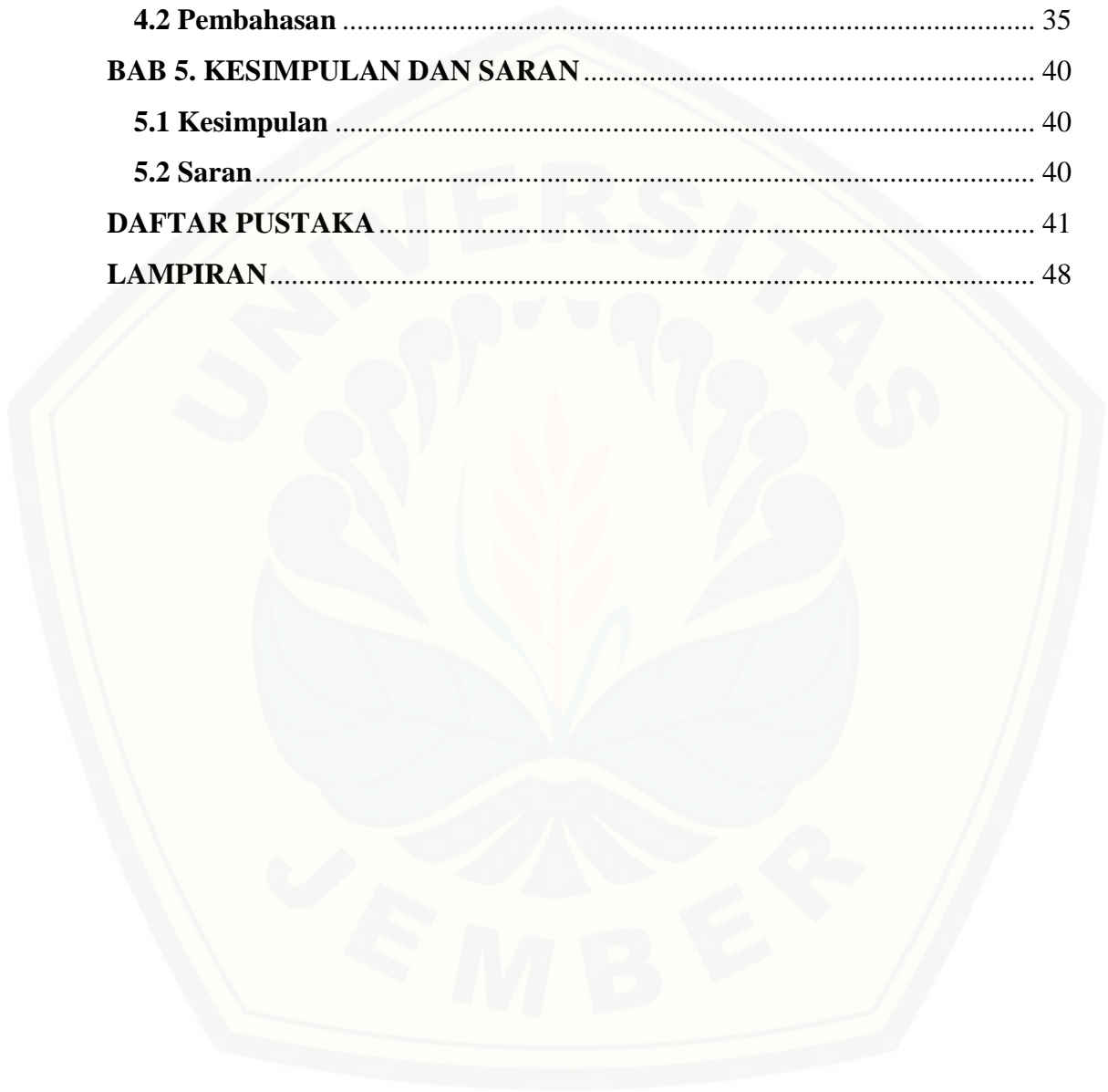
Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	iii
HALAMAN MOTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN.....	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN.....	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR TABEL.....	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	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Penyakit Periodontal	6
2.1.1 Mekanisme Terjadinya Penyakit Periodontal	7
2.1.2 Hubungan Penyakit Periodontal dengan Penyakit Sistemik.....	7
2.2 <i>Porphyromonas gingivalis</i>	8
2.2.1 Klasifikasi <i>P. gingivalis</i>	8
2.2.2 Morfologi dan Metabolisme <i>Porphyromonas gingivalis</i>	8
2.2.3 Karakteristik <i>Porphyromonas gingivalis</i>	9
2.2.4. <i>Porphyromonas gingivalis</i> Sebagai <i>Keystone Pathogen</i>	9
2.3 Seledri (<i>Apium graveolens</i> L.).....	10
2.3.1 Klasifikasi Seledri.....	10
2.3.2 Morfologi Seledri.....	10

2.3.3 Habitat Seledri	11
2.3.4 Kandungan Daun Seledri	12
2.3.5 Manfaat Daun Seledri	12
2.4 Daya Antibakteri	14
2.5 Obat Kumur	14
2.6 Metode Uji Antibakteri	15
2.7 Ekstraksi	16
2.8 Kerangka Konsep	20
2.9 Hipotesis	22
BAB 3. METODE PENELITIAN	23
3.1 Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian	23
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	23
3.3 Variabel Penelitian	23
3.3.1 Variabel Bebas	23
3.3.2 Variabel Terikat	23
3.3.3 Variabel Terkendali	24
3.4 Definisi Operasional Variabel	24
3.4.1 Ekstrak Daun Seledri	24
3.4.2 Daya Hambat Bakteri	24
3.4.3 <i>Porphyromonas gingivalis</i>	24
3.5 Sampel Penelitian	25
3.5.1 Pengelompokan Sampel	25
3.5.2 Besar Sampel	25
3.5.3 Kriteria Daun Seledri	25
3.6 Alat dan Bahan	26
3.6.1 Alat	26
3.6.2 Bahan	26
3.7 Prosedur Penelitian	26
3.7.1 Tahap Persiapan	26
3.7.2 Tahap Perlakuan	29
3.7.3 Tahap Pengukuran	31

3.8 Analisa Data	32
3.9 Alur Penelitian	33
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	34
4.1 Hasil Penelitian	34
4.2 Pembahasan	35
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	40
5.1 Kesimpulan	40
5.2 Saran	40
DAFTAR PUSTAKA	41
LAMPIRAN	48



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Morfologi Mikroskopik <i>P. gingivalis</i> dengan Perbesaran 1000x.	9
2.2 Tanaman Seledri (<i>Apium graveolens</i> L.)	11
2.3 Rumus Struktur heksana.	18
2.4 Rumus Struktur Etil asetat.	18
2.5 Rumus Struktur Etanol.....	19
2.6 Rumus Struktur Metanol.....	19
2.7 Kerangka Konsep Penelitian	20
3.1 Skema Pembagian Daerah Bagian Bawah <i>Petridish</i>	30
3.2 Pengukuran Diameter Zona Hambat terhadap Pertumbuhan <i>P. gingivalis</i>	31
3.3 Alur Penelitian.	33
4.1 Zona hambat ekstrak daun seledri (<i>Apium graveolens</i> L.) terhadap <i>P. gingivalis</i>	34
4.2 Struktur dinding sel bakteri gram negatif.....	36

DAFTAR TABEL

	Halaman
4.1 Nilai Rata-rata dan Standar Deviasi Diameter Zona Hambat Kelompok E100, E50, E12,5, E6,25, K(+) dan K(-) terhadap Pertumbuhan <i>P. gingivalis</i>	35



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Perhitungan Besar Sampel Penelitian	49
B. Rumus Pengenceran	49
C. Rendemen Ekstrak Daun Seledri.....	51
D. Dokumentasi Hasil Penelitian	52
E. Surat Keterangan Identifikasi Bakteri	53
F. Surat Keterangan Identifikasi Tanaman.....	54
G. Dokumentasi Alat dan Bahan Penelitian.....	55
H. Dokumentasi Penelitian.....	59



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penyakit periodontal adalah suatu peradangan kronis pada jaringan penyangga gigi (*periodontium*) (Pujiastuti, 2012). Penyakit ini memiliki prevalensi cukup tinggi di Indonesia dimana penyakit periodontal pada semua kelompok umur di Indonesia adalah sebesar 96,58% berdasarkan riset kesehatan dasar tahun 2013 (Tambunan *et al.*, 2015). Menurut sumber data dari Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, kelainan periodontal menduduki peringkat ke 8 dari 10 penyakit utama di rumah sakit. Penyakit periodontal juga tidak bisa dianggap remeh karena apabila dibiarkan semakin parah akan merusak struktur tulang dan menyebabkan saku periodontal semakin dalam yang kemudian akan menjadi tempat bagi berbagai jenis bakteri. Bakteri kemudian bisa masuk ke sistem peredaran darah dan menyebar ke bagian lain dari tubuh (Larasati, 2012).

Penyakit periodontal dapat disebabkan oleh suatu bakteri plak yang menyerang jaringan penyangga gigi meliputi gingiva, ligamen periodontal, sementum dan tulang alveolar. Penyakit periodontal dibagi menjadi 2 yaitu penyakit gingiva dan penyakit periodontal. Bakteri plak penyebab penyakit periodontal salah satunya adalah *P. gingivalis*. Bakteri ini sangat berpengaruh dalam inisiasi dan keparahan penyakit periodontal. *P. gingivalis* dapat menyebabkan perubahan patologik pada jaringan periodontal dengan pengaktifan respons imun dan inflamatori inang, dan secara langsung mempengaruhi sel-sel periodonsium. *P. gingivalis* juga diketahui dapat memproduksi berbagai faktor virulensi patogenik, seperti lipopolisakarida dan hidrogen sulfida, yang dapat menginduksi inang untuk melepaskan IL-1 dan TNF- α (Pujiastuti, 2012; Fitriyana *et al.*, 2013; Kusumawardani *et al.*, 2010).

P. gingivalis dapat menempel pada gigi dalam bentuk plak. Plak merupakan kumpulan bakteri yang terikat dalam suatu matriks organik dan melekat erat pada permukaan gigi. Plak terdiri atas mikroorganisme yang berkembang biak dalam suatu matriks interseluler yang berupa lengketan bakteri

beserta produk-produk bakteri. Mekanisme terjadinya plak diawali dari terbentuknya pelikel pada permukaan gigi yang berwarna transparan, kemudian bakteri akan menempel dan berproliferasi sehingga warna akan berubah menjadi kekuningan. Pelikel terdiri atas glikoprotein yang diendapkan oleh saliva yang terbentuk segera setelah penyikatan gigi. Perkembangbiakan bakteri membuat lapisan plak bertambah tebal karena adanya hasil metabolisme dan adhesi dari bakteri-bakteri pada permukaan luar plak. *P. gingivalis* merupakan contoh bakteri yang terlibat dalam kolonisasi sekunder dan pematangan plak. *P.gingivalis* akan melekat pada bakteri yang sudah melekat ke pelikel, interaksi ini disebut dengan proses koagregasi (Ladytama *et al.*, 2014; Vera, 2010).

Upaya yang dapat dilakukan untuk mengurangi terbentuknya plak adalah dengan melakukan kontrol plak. Kontrol plak dapat dilakukan secara mekanik dan kimiawi. Kontrol plak secara mekanik adalah dengan cara menyikat gigi. Kontrol plak secara kimiawi adalah dengan cara berkumur dengan cairan antibakteri. Kontrol plak secara mekanik sebaiknya dibarengi dengan kontrol plak secara kimiawi karena kontrol plak secara mekanik mempunyai kelemahan, yaitu sikat gigi sulit menjangkau daerah tertentu misalnya bagian interdental dan daerah gigi posterior. Maka diperlukan pengontrolan plak secara kimiawi dengan bantuan obat kumur (Penda *et al.*, 2015; Talumewo *et al.*, 2015).

Obat kumur yang sering dipakai karena efektivitasnya terhadap periodontal patogen salah satunya adalah *chlorhexidine*. *Chlorhexidine* dipercaya sebagai obat kumur yang mampu mengurangi pembentukan plak, menghambat pertumbuhan plak dan mencegah terjadinya penyakit periodontal. Hal ini dikarenakan sifat dari *chlorhexidine* sendiri, yaitu bakterisid dan bakteriostatik terhadap berbagai macam bakteri, termasuk bakteri yang berada di dalam plak. *Chlorhexidine* dapat menyebabkan perubahan pada permeabilitas membran sel bakteri sehingga menyebabkan keluarnya sitoplasma sel dan komponen sel dengan berat molekul rendah dari dalam sel menembus membran sel sehingga menyebabkan kematian bakteri. Akan tetapi, penggunaan *chlorhexidine* dalam jangka waktu lebih dari 2 minggu memiliki efek samping di antaranya menyebabkan rasa terbakar pada mukosa mulut, mengganggu indera perasa, erosi

mukosa mulut, dan kekeringan pada rongga mulut (Phrahasanti, 2014; Sinaredi *et al.*, 2014; Attamimi *et al.*, 2017). Untuk itu diperlukan alternatif bahan lain sebagai pengganti obat kumur *chlorhexidine*, salah satunya yaitu penggunaan obat kumur herbal dari bahan daun seledri.

Seledri (*Apium graveolens* L.) oleh masyarakat Indonesia lebih dikenal sebagai sayuran. Akan tetapi ternyata seledri bisa bermanfaat sebagai obat penyakit diantaranya mengobati hipertensi, gout, diabetes, diare, mencegah stroke dan urine keruh. Selain itu seledri juga bermanfaat untuk menurunkan kolesterol, sebagai antibakteri, antioksidan dan antiinflamasi. Kandungan dalam seledri yang bisa bermanfaat sebagai antibakteri diantaranya yaitu flavonoid, saponin dan tanin (Nadinah, 2008; Majidah, 2014; Saputra dan Fitria, 2016).

Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenol yang mempunyai kecenderungan untuk mengikat protein (Sriyono dan Andriani, 2013). Flavonoid mempunyai kemampuan untuk membentuk senyawa kompleks dengan protein melalui ikatan hidrogen sehingga struktur protein pada bakteri terganggu, dan protein tidak dapat berfungsi lagi sehingga terjadi kerusakan/denaturasi protein dan asam nukleat. Denaturasi tersebut menyebabkan koagulasi protein serta mengganggu metabolisme bakteri dan fungsi fisiologis bakteri (Heni *et al.*, 2015). Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri termasuk dalam kelompok antibakteri yang mengganggu permeabilitas membran sel bakteri (Armedita *et al.*, 2018). Senyawa ini dapat berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan, lalu mengikat membran sitoplasma dan mengganggu dan mengurangi kestabilan. Hal ini menyebabkan sitoplasma bocor keluar dari dalam sel yang kemudian mengakibatkan kematian sel (Ngajow *et al.*, 2013). Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri berhubungan dengan target penyerangan tanin terhadap kerusakan polipeptida yang terdapat pada dinding sel bakteri sehingga mengganggu sintesa peptidoglikan yang menjadikan pembentukan dinding sel tidak sempurna (Fitriah *et al.*, 2017).

Terdapat penelitian sebelumnya mengenai daun seledri diantaranya adalah penelitian mengenai daya antibakteri daun seledri yang diekstraksi menggunakan etanol 96% dengan metode ekstraksi maserasi. Penelitian ini menggunakan teknik

difusi sumuran yaitu dengan membuat sumuran pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri *Streptococcus mutans* dan diisi dengan ekstrak daun seledri dengan konsentrasi 12,5%, 25%, 50%, 100%. Penelitian ini menunjukkan hasil bahwa daun seledri dengan konsentrasi 12,5%, 25%, 50%, 100% mempunyai daya antibakteri terhadap *S. Mutans* (Majidah, 2014).

Berdasarkan penjelasan mengenai kandungan seledri diatas, penulis tertarik untuk meneliti daya antibakteri ekstrak daun seledri (*Apium graveolens* L.) terhadap *P. gingivalis* yang merupakan bakteri patogen periodontal.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut:

1. Apakah ekstrak daun seledri memiliki daya antibakteri terhadap pertumbuhan *P. gingivalis*?
2. Apabila mempunyai daya antibakteri, berapa konsentrasi minimal ekstrak daun seledri (*Apium graveolens* L.) dalam menghambat pertumbuhan *P. gingivalis*?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang dan rumusan masalah, maka tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui daya antibakteri ekstrak daun seledri terhadap pertumbuhan *P. gingivalis*.
2. Untuk mengetahui konsentrasi minimal ekstrak daun seledri (*Apium graveolens* L.) dalam menghambat pertumbuhan *P. gingivalis*

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai:

1. Sebagai informasi tambahan mengenai daya antibakteri dari ekstrak daun seledri terhadap pertumbuhan *P. gingivalis*.
2. Sebagai acuan untuk pengembangan obat kumur alternatif berbahan daun seledri.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Penyakit Periodontal

Penyakit periodontal adalah suatu kelainan yang mengenai jaringan periodontal yaitu pada gingiva, ligamen periodontal, sementum dan tulang alveolar. Penyakit periodontal merupakan salah satu penyakit yang umum terdapat pada masyarakat. Menurut sumber data dari Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, kelainan periodontal menduduki peringkat ke 8 dari 10 penyakit utama di rumah sakit. Penyakit periodontal dibagi menjadi 2 yaitu penyakit gingiva dan penyakit periodontal. Penyakit gingiva yang paling umum adalah gingivitis. Gingivitis adalah peradangan pada gingiva yang tidak diikuti adanya kehilangan perlekatan. Sedangkan periodontitis adalah peradangan pada jaringan periodontal yang ditandai migrasi *junctional epithelium* ke apikal, kehilangan perlekatan dan resorpsi puncak tulang alveolar (Pujiastuti, 2012).

Etiologi penyakit periodontal dibedakan menjadi 2 yaitu etiologi primer dan sekunder. Etiologi primer adalah etiologi utama penyebab penyakit periodontal yaitu plak/bakteri plak. Sedangkan etiologi sekunder adalah faktor-faktor yang memudahkan terjadinya penyakit periodontal atau faktor predisposisi. Etiologi sekunder dibagi 2 yaitu etiologi sekunder lokal adalah faktor-faktor yang memudahkan terjadinya akumulasi atau retensi plak misalnya kalkulus dan faktor iatrogenik, sedangkan etiologi sekunder sistemik adalah faktor-faktor yang mempengaruhi respon tubuh terhadap plak misalnya penyakit sistemik/kondisi sistemik (Pujiastuti, 2012).

Bakteri plak yang merupakan etiologi utama dari penyakit periodontal berasal dari spesies bakteri gram negatif yang berkolonisasi pada plak subgingiva antara lain *P. gingivalis*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* dan *Fusobacterium nucleatum* (Newman *et al.*, 2012).

2.1.1 Mekanisme Terjadinya Penyakit Periodontal

Menurut Lamont dan Howard (dalam Pratiwi *et al.*, 2015) penyakit periodontal merupakan infeksi pada jaringan penyangga gigi yaitu gingiva, ligamen periodontal, sementum dan tulang alveolar. Terdapat beberapa faktor penyebab penyakit periodontal salah satunya yaitu bakteri dan yang dominan sebagai penyebabnya adalah *P. gingivalis* (Griffen *et al.*, dalam Pratiwi *et al.*, 2015). Secara garis besar faktor virulensi *P. gingivalis* dapat diklasifikasikan menjadi dua kategori. Pertama yang meningkatkan kolonisasi dan invasi bakteri ke dalam tubuh *host* seperti adhesin, kapsul, lipopolisakarida dan sebagainya. Kedua adalah faktor virulensi yang sifatnya merusak sel *host*, yaitu endotoksin, enzim kolagenase, enzim proteolitik, dan induksi mediator peradangan (Brooks *et al.* dalam Pratiwi *et al.*, 2015).

P. gingivalis pertama kali berkontak dengan sel *host* diawali dengan proses adhesi (perlekatan). Adhesi bakteri pada sel *host* atau pada permukaan jaringan membutuhkan peranan dari dua faktor, yaitu adhesin pada bakteri dan reseptor pada permukaan sel (Giannasca dan Neutra dalam Pratiwi *et al.*, 2015; Santoso dalam Pratiwi *et al.*, 2015). Molekul-molekul adhesin pada bakteri *P. gingivalis* terdapat pada hemaglutinin, *fimbriae* dan kapsul lipopolisakarida (Lamont dan Howard dalam Pratiwi *et al.*, 2015; Wilson *et al.* dalam Pratiwi *et al.*, 2015; Khusnan dan Siti dalam Pratiwi *et al.*, 2015). Sementara reseptor berupa residu peptida dan karbohidrat spesifik pada permukaan sel (Santosaningsih dalam Pratiwi *et al.*, 2015).

2.1.2 Hubungan Penyakit Periodontal dengan Penyakit Sistemik

Penyakit periodontal tidak bisa diremehkan karena akan mempengaruhi seluruh tubuh. Penyakit periodontal apabila dibiarkan semakin parah akan merusak struktur tulang dan menyebabkan saku periodontal semakin dalam. Apabila saku periodontal bertambah dalam akan menjadi surga bagi berbagai jenis bakteri berbahaya. Seiring waktu, infeksi bakteri terus berkembang, bakteri bisa masuk ke sistem peredaran darah dan menyebar ke bagian lain dari tubuh,

termasuk jantung, paru-paru, ginjal dan hati. Berikut adalah efek yang bisa ditimbulkan oleh penyakit periodontal:

- a. Meningkatkan resiko serangan jantung sebesar 25%
- b. Meningkatkan resiko stroke
- c. Meningkatkan keparahan diabetes
- d. Berkontribusi terhadap kelahiran prematur dan berat bayi lahir rendah (BBLR)
- e. Berkontribusi terhadap penyakit pernafasan
- f. Mengganggu pencernaan
- g. Berperan dalam osteoporosis
- h. Stres
- i. Menurunkan ketahanan tubuh terhadap infeksi lainnya
- j. Mengurangi usia harapan hidup (Larasati, 2012).

2.2 *Porphyromonas gingivalis*

2.2.1 Klasifikasi *P. gingivalis*

Menurut Pratiwi (2012) *P. gingivalis* diklasifikasikan sebagai berikut:

<i>Kingdom</i>	: <i>Bacteria</i>
<i>Superphylum</i>	: <i>Bactroidetes/ Chlorobi group</i>
<i>Phylum</i>	: <i>Bacteroidetes</i>
<i>Class</i>	: <i>Bacteroides</i>
<i>Ordo</i>	: <i>Bacteriodales</i>
<i>Family</i>	: <i>Porphyromonadaceae</i>
<i>Genus</i>	: <i>Porphyromonas</i>
<i>Species</i>	: <i>Porphyromonas gingivalis</i>

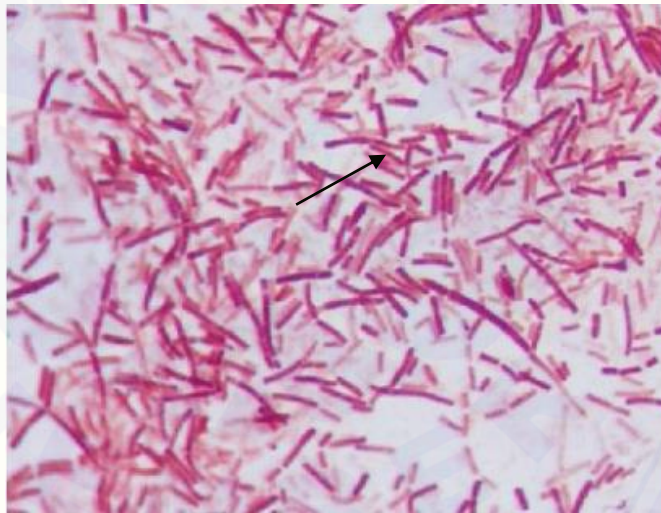
2.2.2 Morfologi dan Metabolisme *Porphyromonas gingivalis*

P. gingivalis merupakan bakteri melanogenik, nonsakarolitik, dan bagian dari koloni bakteri *Black-pigmented Gram-negative anaerobes*. *P. gingivalis*

banyak ditemukan dalam plak gigi dan bisa tumbuh dalam media kultur membentuk koloni berdiameter 1-2 mm, konveks, halus dan mengkilat, yang bagian tengahnya menunjukkan gambaran lebih gelap (Gambar 2.1) karena produksi protoheme, yaitu suatu substansi yang bertanggung jawab terhadap warna khas koloni ini (Kusumawardani *et al.*, 2010).

2.2.3 Karakteristik *Porphyromonas gingivalis*

Temperatur optimal untuk pertumbuhan *P. gingivalis* adalah 37°C. Pertumbuhan yang signifikan dapat dipengaruhi oleh adanya karbohidrat. Substrat nitrogenous seperti protease, peptone, tripsine dan ekstrak yeast dengan nyata dapat meningkatkan pertumbuhan. Pertumbuhan *P. gingivalis* dapat ditingkatkan dengan adanya 0,5-0,8% NaCl dalam darah. Dinding sel peptidoglikan mengandung lisin sebagai asam diamino (Chamidah, 2012).



Gambar 2.1 Morfologi mikroskopik *P. gingivalis* dengan perbesaran 1000x.
(Sumber: Fitriyana *et al.*, 2013)

2.2.4. *Porphyromonas gingivalis* Sebagai *Keystone Pathogen*

P. gingivalis dapat dikatakan sebagai *keystone pathogen* penyakit periodontal. *P. gingivalis* diketahui dapat mengubah keseimbangan dari

homeostasis ke *dysbiosis*. Hal ini didukung oleh penelitian terbaru terhadap tikus. Penelitian ini menunjukkan bahwa, pada tingkat kolonisasi yang sangat rendah (<0,01% dari total jumlah bakteri), *P. gingivalis* dapat menginduksi periodontitis disertai dengan perubahan signifikan dalam jumlah dan komunitas bakteri komensal oral. Perubahan ini terjadi segera setelah kolonisasi *P. gingivalis* dan kemudian menyebabkan terjadinya *bone loss*. Hal ini menunjukkan bahwa keadaan *dysbiosis* mungkin adalah penyebab penyakit periodontal (Hajisengallis *et al*, 2012).

2.3 Seledri (*Apium graveolens* L.)

2.3.1 Klasifikasi Seledri

Menurut Fazal dan Singla (2012) seledri diklasifikasikan sebagai berikut:

<i>Kingdom</i>	: <i>Plantae</i>
<i>Divisi</i>	: <i>Spermatophytes</i> .
<i>Sub-divisi</i>	: <i>Angiospermae</i>
<i>Class</i>	: <i>Mangnolisisa</i>
<i>Sub-class</i>	: <i>Rosidace</i>
<i>Ordo</i>	: <i>Apicedes</i>
<i>Family</i>	: <i>Apiceae</i>
<i>Genus</i>	: <i>Apium</i>
<i>Species</i>	: <i>graveolens</i>

2.3.2 Morfologi Seledri

Seledri adalah tanaman herba tahunan yang tumbuh hingga ketinggian 60-90 cm. Tanaman ini memiliki daun majemuk, berpangkal pada batang mendekati tanah, menyirip ganjil bentuk lekuk tangan, berujung runcing dengan tepi bergerigi, panjang 2-7,5 cm dan lebar 2-5 cm, pertulangan daun menyirip, warna hijau atau hijau keputih-putihan, berbau aromatis serta mempunyai anak daun 3-7 helai (Gambar 2.2). Batang seledri tidak berkayu, bersegi, beralur,

beruas dan bercabang tegak dengan warna hijau pucat. Berbunga majemuk, berbentuk payung dengan tangkai 2 cm berjumlah 8-12, benang sari berjumlah 5, berlepasan, berseling dengan mahkota, ujung runcing, mahkota berbagi 5 dan bagian pangkal berlekatan berwarna putih. Buah kotak berbentuk kerucut dengan panjang 1-1,5 mm, berwarna hijau kekuningan. Berakar tunggang dengan warna putih kotor (Majidah, 2014).



Gambar 2.2 Tanaman seledri (*Apium graveolens* L.)
(Sumber: Majidah, 2014)

2.3.3 Habitat Seledri

Seledri (*Apium graveolens* L.) termasuk salah satu jenis sayuran daerah subtropis yang beriklim dingin. Pertumbuhan benih seledri menghendaki keadaan temperatur minimum 9°C dan maksimum 20°C. Sementara untuk pertumbuhan dan menghasilkan produksi yang tinggi menghendaki temperatur sekitar 10°C-18°C serta maksimum 24°C. Tanaman ini cocok dikembangkan di daerah yang memiliki ketinggian tempat antara 0-1200 m dpl, udara sejuk dengan kelembapan antara 80%-90% serta cukup mendapat sinar matahari (Jannah, 2016).

Menurut Jannah (2016) untuk pertumbuhan yang optimal bibit seledri sangat dipengaruhi oleh beberapa faktor lingkungan, diantaranya intensitas cahaya, suhu dan kelembaban yang tinggi. Untuk mengurangi intensitas cahaya, suhu yang tinggi serta meningkatkan kelembaban, maka salah satu upaya yang

dapat dilakukan untuk dapat mengendalikan faktor lingkungan tersebut salah satunya dengan pemberian naungan.

2.3.4 Kandungan Daun Seledri

Daun seledri mengandung flavonoid 1,7%, saponin 0,36%, tanin 1%, minyak atsiri 0,033%, flavo-glukosida (apiin), apigenin, fitosterol, kolin, lipse, pthalides, asparagin, zat pahit, vitamin (A, B dan C), apiin, minyak menguap, apigenin dan alkaloid (Saputra dan Fitria, 2016; Dalimartha, 2000).

2.3.5 Manfaat Daun Seledri

Beberapa penelitian yang menunjukkan manfaat daun seledri antara lain :

a. Menurunkan tekanan darah

Menurut Saputra dan Fitria (2016) daun seledri dikatakan memiliki kandungan apigenin yang dapat mencegah penyempitan pembuluh darah dan pthalides yang dapat mengendurkan otot-otot arteri atau merelaksasi pembuluh darah. Zat tersebut yang mengatur aliran darah sehingga memungkinkan pembuluh darah membesar dan mengurangi tekanan darah. Selain itu, apigenin berfungsi sebagai *beta blocker* yang dapat memperlambat detak jantung dan menurunkan kekuatan kontraksi jantung sehingga aliran darah yang terpompa lebih sedikit dan tekanan darah menjadi berkurang. Manitol dan apiin, bersifat diuretik yaitu membantu ginjal mengeluarkan kelebihan cairan dan garam dari dalam tubuh, sehingga berkurangnya cairan dalam darah akan menurunkan tekanan darah.

b. Menurunkan kolesterol

Senyawa yang terkandung dalam daun seledri yang dapat menurunkan kolesterol yaitu fitosterol. Fitosterol merupakan suatu zat dalam daun seledri yang mempunyai fungsi yang berlawanan dengan kolesterol bila dikonsumsi oleh manusia. Fitosterol diketahui mempunyai fungsi menurunkan kadar kolesterol di dalam darah dan mencegah penyakit jantung, sehingga sangat bermanfaat bagi

kesehatan manusia. Khasiat ini telah dimanfaatkan dalam dunia medis, yakni ekstrak fitosterol telah diberikan kepada penderita hiperkolesterolemia (kadar kolesterol dalam plasma darah berlebihan) dalam usaha untuk mengurangi absorpsi kolesterol (Saputra dan Fitria, 2016).

c. Antibakteri

Berdasarkan penelitian Majidah (2014) daya antibakteri daun seledri menggunakan teknik difusi sumuran yaitu dengan membuat sumuran pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri *S. mutans* dan diisi dengan ekstrak daun seledri dengan konsentrasi 12,5%, 25%, 50%, 100%. Setelah perlakuan, kemudian dimasukkan kedalam desikator dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah 24 jam, dilakukan pengukuran daya antibakteri yang dilihat dari besarnya zona hambat yang nampak sebagai daerah bening disekitar sumuran. Dari hasil penelitian Majidah disimpulkan bahwa ekstrak daun seledri mempunyai aktivitas antibakteri dengan konsentrasi terendah dari ekstrak daun seledri yang masih memiliki daya antibakteri terhadap pertumbuhan *S. mutans* adalah konsentrasi 12,5 % .

d. Antioksidan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Li *et al* dalam Rusdiana (2018) flavonoid yang diambil dan dimurnikan dari ekstrak etanol daun seledri memiliki aktivitas antioksidan baik secara *in vitro* maupun secara *in vivo* pada mencit. Dilaporkan juga dalam penelitian tersebut bahwa apiin memiliki aktivitas peredaman yang sangat baik terhadap radikal bebas. Tingkat aktivitas antioksidatif dari ekstrak bergantung pada jumlah fenolik yang ada dalam ekstrak tersebut. Daun seledri kaya senyawa fenol dapat menjadi sumber antioksidan yang baik (Syahidah dan Sulistiyaningsih, 2018).

e. Antiinflamasi

Berdasarkan penelitian Wulandari *et al* (2016) ekstrak etanol seledri memiliki aktivitas antiinflamasi terhadap tikus wistar jantan yang telah diinduksi karagenan 1%. Dosis 100 mg/kg BB, 200mg/kg BB, dan 400 mg/kg BB memiliki kemampuan menghambat radang dengan persentase inhibisi 21,88%, 27,29% dan 34,40%. Dosis 400 mg/kg BB memiliki daya hambat radang lebih baik

dibandingkan pada dosis 100 mg/kg BB dan 200 mg/kg BB. Namun belum setara dengan kelompok pembanding Na diklofenak yaitu 59,74%.

2.4 Daya Antibakteri

Daya antibakteri merupakan kemampuan suatu zat atau senyawa dalam membunuh atau menekan pertumbuhan atau reproduksi bakteri (Dorland, 2011). Kandungan dalam seledri yang bisa bermanfaat sebagai antibakteri yaitu flavonoid, saponin dan tanin (Sriyono dan Andriani, 2013; Harborne dalam Ernawati *et al.*, 2015; Madduluri *et al.*, 2013; Cowan dalam Rahman *et al.*, 2017). Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenol yang mempunyai kecenderungan untuk mengikat protein (Sriyono dan Andriani, 2013). Flavonoid mempunyai kemampuan untuk membentuk senyawa kompleks dengan protein melalui ikatan hidrogen sehingga struktur protein pada bakteri terganggu, dan protein tidak dapat berfungsi lagi sehingga terjadi kerusakan/denaturasi protein dan asam nukleat. Denaturasi tersebut menyebabkan koagulasi protein serta mengganggu metabolisme bakteri dan fungsi fisiologis bakteri (Heni *et al.*, 2015).

Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri termasuk dalam kelompok antibakteri yang mengganggu permeabilitas membran sel bakteri (Armedita *et al.*, 2018). Senyawa ini dapat berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan, lalu mengikat membran sitoplasma dan mengganggu dan mengurangi kestabilan. Hal ini menyebabkan sitoplasma bocor keluar dari dalam sel yang kemudian mengakibatkan kematian sel (Ngajow *et al.*, 2013). Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri berhubungan dengan target penyerangan tanin terhadap kerusakan polipeptida yang terdapat pada dinding sel bakteri sehingga mengganggu sintesa peptidoglikan yang menjadikan pembentukan dinding sel tidak sempurna (Fitriah *et al.*, 2017).

2.5 Obat Kumur

Obat kumur adalah larutan yang biasanya mengandung bahan penyegar nafas, astringen, demulsen, atau surfaktan, atau antibakteri untuk menyegarkan

dan membersihkan saluran pernafasan yang pemakaiannya dengan berkumur. Kegunaan obat kumur yaitu untuk membunuh bakteri, menghilangkan bau tak sedap dan mencegah karies. Penggunaan obat kumur sangat efektif karena kemampuannya menjangkau tempat yang sulit dibersihkan dengan sikat gigi dan dapat mengurangi pembentukan plak (Anastasia *et al.*, 2017; Kono *et al.*, 2018).

Salah satu contoh obat kumur yang banyak digunakan oleh masyarakat adalah *chlorhexidine*. *Chlorhexidine* sebagai komponen obat kumur memiliki kemampuan untuk mengontrol bakteri plak sebab berperan sebagai *cationic bisbiguanide bioacide* spektrum luas. Kebanyakan bakteri permukaan gigi dan membran mukosa bersifat anion sehingga akan berikatan dengan kuat terhadap *chlorhexidine* yang bersifat kation. Perlekatan bakteri plak akan *mature* dalam waktu 24 jam, dan *chlorhexidine* dapat menghambat awal adesi bakteri plak pada permukaan gigi. Kemampuan *chlorhexidine* sebagai bahan yang memperlambat perlekatan bakteri pada permukaan gigi merupakan keunggulan *chlorhexidine* (Praharasanti, 2014).

2.6 Metode Uji Antibakteri

Tujuan pengukuran uji antibakteri adalah untuk menentukan potensi suatu zat yang diduga atau telah memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap suatu bakteri. Macam-macam metode uji aktivitas antimikroba antara lain :

a. Difusi agar

Metode difusi agar dibedakan menjadi dua yaitu cara Kirby Bauer dan cara sumuran.

1. Cara Kirby Bauer

Cara Kirby-Bauer merupakan suatu metode uji sensitivitas bakteri yang dilakukan dengan membuat suspensi bakteri pada media Brain Heart Infusion (BHI) cair kemudian diinkubasi 24 jam pada suhu 37°C. Hasil inkubasi bakteri diencerkan sampai sesuai dengan standar konsentrasi kuman 108 CFU/ml (CFU : Coloni Forming Unit). Suspensi bakteri diuji sensitivitas dengan meratakan suspensi bakteri tersebut pada permukaan media agar. Disk

antibiotik diletakkan di atas media tersebut dan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 19-24 jam (Wasitaningrum, 2009)

2. Cara sumuran

Metode difusi cara sumuran yaitu metode uji antibakteri dengan cara membuat lubang sumuran menggunakan cork borer pada media nutrient agar yang telah padat dan ditambahkan suspensi bakteri. Setelah lubang terbentuk kemudian dimasukkan ekstrak yang telah dibuat dengan masing-masing konsentrasi. Alasan penggunaan metode difusi dengan cara sumuran yaitu ekstrak langsung dimasukkan disetiap lubang maka efek untuk menghambat bakteri lebih kuat (Misna dan Diana, 2016).

b. Metode dilusi

Metode dilusi dapat dibedakan menjadi dua, yaitu dilusi cair (broth dilution) dan dilusi padat (solid dilution). Pada dilusi cair dan dilusi padat digunakan antimikroba dengan kadar yang menurun secara bertahap. Kemudian media diinokulasi bakteri uji dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Larutan uji antimikroba pada kadar terkecil yang tampak jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai KHM (Kadar Hambat Minimum). Larutan uji yang ditetapkan sebagai KHM selanjutnya dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan mikroba uji ataupun senyawa antimikroba dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media cair yang tetap terlihat jernih setelah inkubasi ditetapkan sebagai KBM (Kadar Bunuh Minimum) (Pratiwi, 2008).

2.7 Ekstraksi

2.7.1 Metode Ekstraksi

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut. Metode ekstraksi menggunakan pelarut terdiri dari 2 macam yaitu cara dingin dan cara panas. Salah satu contoh metode ekstraksi dengan cara dingin yaitu ekstraksi maserasi. Maserasi adalah proses pengestrakan simplisia dengan menggunakan

pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana. Proses pengerjaan dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam pelarut. Pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan di luar sel, maka larutan yang terpekat didesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel (Depkes RI, 2000; Pratiwi, 2010).

Keuntungan cara ekstraksi ini yaitu mudah dan tidak perlu pemanasan sehingga kecil kemungkinan bahan alam menjadi rusak atau terurai. Pemilihan pelarut berdasarkan kelarutan dan polaritasnya memudahkan pemisahan bahan alam dalam sampel. Pengerjaan metode maserasi yang lama dan keadaan diam selama maserasi memungkinkan banyak senyawa yang akan terekstraks. Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama, dan seterusnya (Susanti dan Bachmid, 2016).

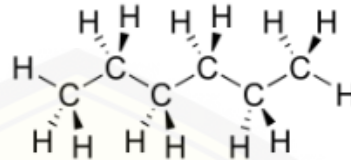
2.7.2 Pelarut yang Digunakan untuk Ekstraksi.

Proses ekstraksi biasanya menggunakan 3 jenis pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda, yaitu heksana (nonpolar), etil asetat (semipolar) dan etanol/metanol (polar). Perbedaan pelarut dalam ekstraksi dapat mempengaruhi kandungan total senyawa bioaktif. Hal ini disebabkan karena perbedaan polaritas dari pelarut (Hidayah *et al.*, 2016). Masing-masing pelarut tersebut dapat dibedakan sebagai berikut:

1. Heksana

Heksana adalah hidrokarbon alkana rantai lurus yang memiliki 6 atom karbon dengan rumus molekul C_6H_{14} (Gambar 2.3). Isomer heksana tidak reaktif dan digunakan sebagai pelarut dalam reaksi organik karena heksana bersifat sangat non polar. Heksana dibuat dari hasil penyulingan minyak mentah dimana untuk produk industrinya ialah fraksi yang mendidih pada suhu $65-70^{\circ}C$ (Aziz *et*

al., 2014). Heksana digunakan di laboratorium untuk mengekstrak minyak dan lemak. Seperti halnya senyawa-senyawa gugus alkana lainnya heksana tidak larut dalam air. Toksisitas dari heksana relatif kecil (Nasir *et al.*, 2009).

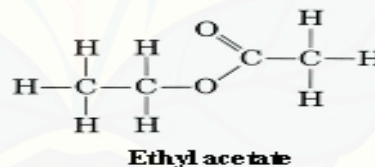


hexane

Gambar 2.3 Rumus struktur heksana
(Sumber: Soderberg, 2016)

2. Etil asetat

Etil asetat merupakan pelarut semi polar yang mudah menguap dan tidak beracun. Etil asetat memiliki rumus kimia $\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$ (Gambar 2.4), nilai polaritas 0,38 dan titik didih 77,1. Etil asetat digunakan sebagai pelarut ekstrak dikarenakan kemampuannya dalam melarutkan komponen dari golongan steroid, trepenoid, alkaloid, flavonoid, dan glikosida (Agustina *et al.*, 2018).



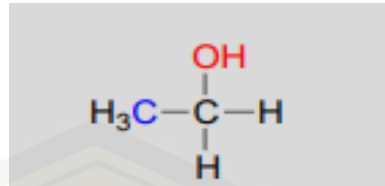
Ethyl acetate

Gambar 2.4 Rumus Struktur Etil asetat
(Sumber: Vitz *et al.*, 2016)

3. Etanol

Etanol yang juga disebut *ethyl alcohol* merupakan senyawa organik yang tersusun dari unsur-unsur karbon, hidrogen, dan oksigen. Etanol merupakan jenis pelarut yang mudah menguap, mudah terbakar, dan tidak berwarna serta memiliki aroma yang khas (Nasir *et al.*, 2009). Etanol memiliki rumus kimia $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ (Gambar 2.5). Gugus OH dalam etanol membantu melarutkan molekul polar dan ion-ion dan gugus alkilnya CH_3CH_2- dapat

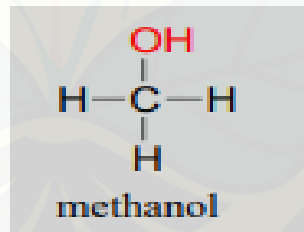
mengikat bahan non-polar. Dengan demikian etanol dapat melarutkan baik non maupun polar (Aziz *et al.*, 2009).



Gambar 2.5 Rumus Struktur etanol
(Sumber: Soderberg, 2016)

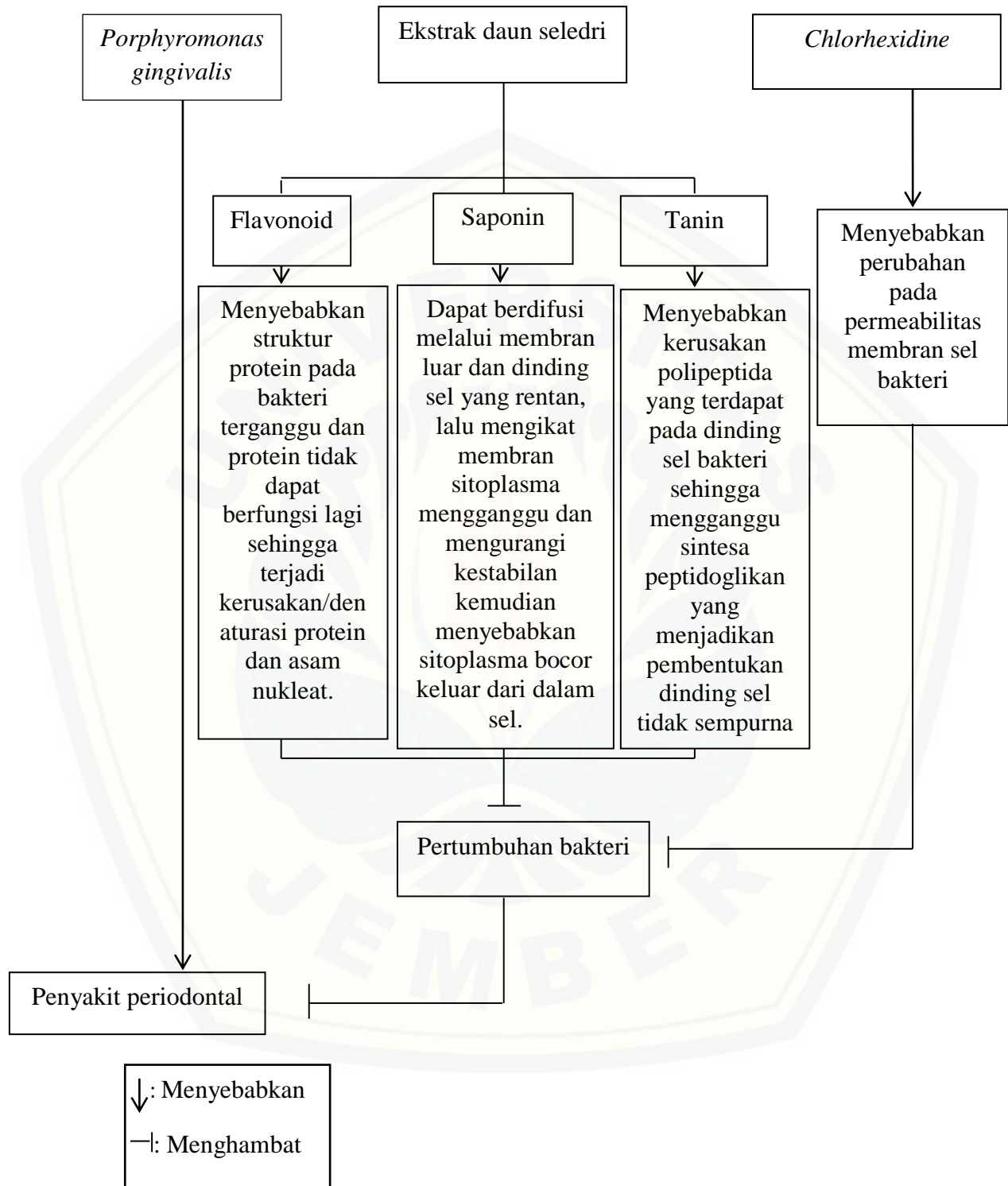
4. Metanol

Metanol dikenal sebagai pelarut universal, yakni mampu melarutkan senyawa yang memiliki sifat polar dan nonpolar. Metanol dapat menarik senyawa berupa alkaloid, steroid, saponin dan flavonoid yang berasal dari tanaman. Metanol merupakan jenis alkohol yang mempunyai struktur paling sederhana memiliki rumus kimia CH₃OH (Gambar 2.6), tetapi paling toksik pada manusia (Agustina *et al.*, 2018).



Gambar 2.6 Rumus Struktur metanol
(Sumber: Soderberg, 2016)

2.8 Kerangka Konsep



Gambar 2.7 Kerangka Konsep Penelitian

Bakteri plak penyebab penyakit periodontal salah satunya adalah *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*). Bakteri ini sangat berpengaruh dalam inisiasi dan keparahan penyakit periodontal. Salah satu upaya untuk mengendalikan mikroorganisme penyebab penyakit periodontal yaitu penggunaan agen yang bersifat antibakteri. Agen antibakteri ini terdiri dari 2 jenis yaitu alami dan sintesis. *Chlorhexidine* merupakan salah satu contoh agen antibakteri yang bersifat sintesis. *Chlorhexidine* dapat mengendalikan pertumbuhan bakteri dengan cara menyebabkan perubahan pada permeabilitas membran sel bakteri sehingga menyebabkan keluarnya sitoplasma sel dan komponen sel dengan berat molekul rendah dari dalam sel menembus membran sel sehingga menyebabkan kematian bakteri. Akan tetapi, penggunaan *chlorhexidine* dalam jangka waktu lebih dari 2 minggu memiliki efek samping diantaranya menyebabkan rasa terbakar pada mukosa mulut, mengganggu indera perasa, pewarnaan gigi, erosi mukosa mulut, dan kekeringan pada rongga mulut (Phrahasanti, 2014; Sinaredi *et al.*, 2014; Attamimi *et al.*, 2017). Untuk itu diperlukan alternatif bahan lain sebagai pengganti *chlorhexidine*, salah satunya yaitu penggunaan agen antibakteri yang bersifat alami dari bahan daun seledri.

Seledri merupakan tanaman obat yang mengandung senyawa metabolit sekunder diantaranya yaitu flavonoid, saponin dan tanin. Senyawa-senyawa yang terdapat dalam tanaman seledri dapat bersifat sebagai antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan *P. gingivalis*. Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenol yang mempunyai kecenderungan untuk mengikat protein (Sriyono dan Andriani, 2013). Flavonoid mempunyai kemampuan untuk membentuk senyawa kompleks dengan protein melalui ikatan hidrogen sehingga struktur protein pada bakteri terganggu, dan protein tidak dapat berfungsi lagi sehingga terjadi kerusakan/denaturasi protein dan asam nukleat. Denaturasi tersebut menyebabkan koagulasi protein serta mengganggu metabolisme bakteri dan fungsi fisiologis bakteri (Heni *et al.*, 2015).

Senyawa antibakteri lain yang terdapat dalam seledri yaitu saponin. Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri termasuk dalam kelompok antibakteri yang mengganggu permeabilitas membran sel bakteri (Armedita *et al.*,

2018). Senyawa ini dapat berdifusi melalui membran luar dan dinding sel yang rentan, lalu mengikat membran sitoplasma dan mengganggu dan mengurangi kestabilan. Hal ini menyebabkan sitoplasma bocor keluar dari dalam sel yang kemudian mengakibatkan kematian sel (Ngajow et al., 2013). Selain flavonoid dan saponin, senyawa antibakteri lain yang terdapat dalam seledri yaitu tanin. Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri berhubungan dengan target penyerangan tanin terhadap kerusakan polipeptida yang terdapat pada dinding sel bakteri sehingga mengganggu sintesa peptidoglikan yang menjadikan pembentukan dinding sel tidak sempurna (Fitriah *et al.*, 2017).

2.9 Hipotesis

1. Ekstrak daun seledri mempunyai daya antibakteri terhadap pertumbuhan *P. gingivalis*.
2. Konsentrasi minimal ekstrak daun seledri (*Apium graveolens L.*) memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *P. gingivalis*



BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini berjenis penelitian *experimental laboratories* yaitu metode yang digunakan untuk mencari pengaruh sebuah perlakuan tertentu terhadap objek-objek yang ingin diteliti dalam kondisi yang terkendalikan. Rancangan penelitian ini adalah *the post test only control group design* dalam desain ini terdapat dua kelompok. Kelompok pertama diberi perlakuan dan kelompok lain tidak. Kelompok yang diberi perlakuan disebut kelompok eksperimen dan kelompok yang tidak diberi perlakuan disebut kelompok kontrol. Rancangan penelitian ini digunakan untuk mengetahui perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan dan kontrol (Sugiyono, 2012).

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Pembuatan ekstrak daun seledri dilakukan di Laboratorium Bioscience dan penelitian dilakukan di Laboratorium Biomedik Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada bulan September 2018-Januari 2019.

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dari penelitian ini adalah ekstrak daun seledri (*Apium graveolens* L.) dengan konsentrasi 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, dan 100%.

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dari penelitian ini adalah daya hambat *P. gingivalis*.



3.3.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah suspensi *P. gingivalis*, media pertumbuhan *P. gingivalis*, suhu inkubasi (37°C), lama inkubasi (24 jam), prosedur kerja dan cara pengukuran zona hambat.

3.4 Definisi Operasional Variabel

3.4.1 Ekstrak Daun Seledri

Ekstrak daun seledri adalah ekstrak yang dibuat dari daun seledri yang dikeringkan dalam oven pada suhu 40°C selama 3 hari 11 jam kemudian dihaluskan hingga berbentuk serbuk (simplisia) lalu dimaserasi dengan larutan etanol 96% selama 24 jam kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh dilakukan proses remaserasi menggunakan pelarut yang sama selama 24 jam kemudian disaring. Maserat diuapkan dalam *rotary evaporator* dengan suhu 40-50°C selama 11 jam hingga diperoleh ekstrak kental.

3.4.2 Daya Hambat Bakteri

Daya hambat bakteri adalah kemampuan suatu zat atau bahan antibakteri untuk menghambat pertumbuhan bakteri dan dapat diketahui dari terbentuknya daerah bening di sekitar sumuran dengan tiap-tiap konsentrasi ekstrak daun seledri. Pengukuran daerah bening atau zona hambat dengan cara mengukur diameter daerah bening disekitar sumuran.

3.4.3 *Porphyromonas gingivalis*

P. gingivalis ATCC 33277 merupakan bakteri yang digunakan pada penelitian ini. *P. gingivalis* termasuk kedalam bakteri anaerob gram negatif. Sel bakteri apabila dilihat di mikroskop berbentuk *cocco-bacilli* dan pada pewarnaan gram berwarna merah yang menunjukkan bahwa bakteri termasuk golongan bakteri gram negatif.

3.5 Sampel Penelitian

3.5.1 Pengelompokan Sampel

Sampel dibagi menjadi 7 kelompok perlakuan sebagai berikut:

- a. Kelompok K+ : *chlorhexidine* 0,2% (kontrol positif)
- b. Kelompok K- : aquades steril (kontrol negatif)
- c. Kelompok E 6,25 % : ekstrak daun seledri konsentrasi 6,25%
- d. Kelompok E 12,5 % : ekstrak daun seledri konsentrasi 12,5%
- e. Kelompok E 25 % : ekstrak daun seledri konsentrasi 25%
- f. Kelompok E 50 % : ekstrak daun seledri konsentrasi 50%
- g. Kelompok E 100 % : ekstrak daun seledri konsentrasi 100%

3.5.2 Besar Sampel

Besar sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah berdasarkan rumus Federer diperoleh jumlah sampel minimal 4 untuk setiap kelompok. Pada penelitian ini peneliti menggunakan besar sampel minimal yakni 4, sehingga didapatkan jumlah sampel seluruhnya adalah 28 buah lubang sumuran (Lampiran A)

3.5.3 Kriteria Daun Seledri

Kriteria daun seledri yang digunakan adalah sebagai berikut:

- a. Daun seledri lokal yang baru dipetik dari desa Biting Kecamatan Arjasa Jember.
- b. Daun yang siap panen pada umur 6-8 minggu setelah tanam.
- c. Daun yang utuh atau tidak cacat dan masih segar berwarna hijau dengan panjang 2-7,5 cm dan lebar 2-5 cm.

3.6 Alat dan Bahan

3.6.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian kali ini yaitu blender, *autoclave*, *petridish* tidak bersekat, bunsen, tabung reaksi, timbangan digital, tabung *erlenmeyer*, *beaker glass*, pengaduk kaca, baki, jangka sorong digital, kompor listrik, spektrofotometer, mikropipet, ayakan 50 mesh, *rotary evaporator*, *laminar flow*, inkubator, desikator, oven, cork borer 5 mm, mikroskop, *vortex* dan corong *buncher*.

3.6.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu BHI-A (*Brain Heart Infusion Agar*), BHI-B (*Brain Heart Infusion Broth*), aquades steril, *chlorhexidine gluconate* 0,2%, ekstrak daun seledri (*Apium graveolens* L.), suspensi *P. gingivalis* ATCC 33277 yang didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi FKG Universitas Jember, alkohol 70%, etanol 96%, kertas saring, *syringe*, *filter syringe*, *blue tip*, *yellow tip*, *aluminium foil*, kertas label.

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Tahap Persiapan

A. Persiapan Daun Seledri (*Apium graveolens* L.)

1. Identifikasi Tanaman Seledri

Sebelum digunakan dalam penelitian, seledri yang akan digunakan dilakukan identifikasi terlebih dahulu di Laboratorium tanaman Politeknik Negeri Jember.

2. Pembuatan Ekstrak Daun Seledri

Pembuatan ekstrak dilakukan di Laboratorium Bioscience Rumah Sakit Gigi dan Mulut Universitas Jember dengan tahapan sebagai berikut:

- a. Daun seledri sebanyak 2 kg dicuci dengan air mengalir hingga bersih kemudian ditiriskan untuk menghilangkan sisa air cucian.

- b. Daun seledri kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 40°C selama 3 hari 11 jam (Luliana *et al.*, 2016). Setelah dikeringkan, daun ditimbang kemudian daun dihaluskan dengan cara digiling menggunakan blender lalu diayak menggunakan ayakan 50 mesh, sehingga menjadi simplisia halus.
- c. Kemudian sediaan ekstrak dibuat dengan cara maserasi, yaitu simplisia daun seledri ditimbang lalu direndam pada pelarut etanol 96% sebanyak 1700 ml sesuai perbandingan 1:10 b/v. Perendaman dilakukan selama 24 jam didalam *erlenmeyer* yang kemudian diberi tutup dan dibungkus dengan *aluminium foil* pada suhu ruangan dengan 6 jam pertama sambil sekali-sekali diaduk, kemudian diamkan selama 18 jam.
- d. Rendaman simplisia daun seledri disaring menggunakan kertas saring dengan bantuan corong *buncher*, lalu filtrat dari rendaman tersebut direndam dalam etanol seperti proses sebelumnya. Setelah proses perendaman selesai, dilanjutkan dengan penguapan maserat menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C-50°C selama 11 jam sehingga diperoleh ekstrak kental daun seledri.

B. Identifikasi *P. gingivalis*

P. gingivalis diambil dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Bakteri tersebut kemudian diidentifikasi secara mikroskopis menggunakan preparat ulas yang diberi pewarna Gram.

C. Sterilisasi Alat

Semua alat yang terbuat dari kaca dibersihkan dan disterilkan terlebih dahulu dalam *oven* selama 2 jam dengan suhu 160°C. Alat yang terbuat dari plastik dicuci bersih dan dikeringkan kemudian diulas alkohol 70%.

D. Persiapan media pertumbuhan *P. gingivalis*

Semua tahapan persiapan media dilakukan dalam *laminar flow* untuk mencegah kontaminasi dari lingkungan luar.

1. Mempersiapkan media BHI-B (*Brain Heart Infusion Broth*)

Menimbang BHI-B 0,37 gram lalu dimasukkan kedalam tabung erlenmayer dan ditambah 100 ml aquadest steril, diaduk sampai homogen dengan spatula dan dipanaskan diatas kompor listrik sampai homogen. Kemudian media

ditutup kapas dan disterilkan dalam *autoclave* selama 15 menit dengan suhu 121°C.

2. Mempersiapkan media BHI-A (*Brain Heart Infusion Agar*)

Menimbang 3,7 gram BHI-A lalu dimasukkan ke dalam tabung erlenmeyer dan ditambahkan 100 ml aquadest steril, diaduk sampai homogen dengan spatula dan dipanaskan diatas kompor listrik sampai homogen. Kemudian media ditutup kapas dan disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit.

E. Pembuatan suspensi *P. gingivalis*

Dua mililiter larutan BHI-B steril dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 1 ose *P. gingivalis* kemudian dilewatkan di atas lampu spiritus yang menyala kemudian ditutup. Tabung reaksi tersebut kemudian dimasukkan ke dalam desikator kemudian diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam dengan suhu 37°C. Pertumbuhan *P. gingivalis* ditandai dengan adanya kekeruhan pada media. Setelah itu dilakukan pengenceran dengan menambah aquadest steril, dihomogenkan dengan *vortex* dan diukur absorbansinya dengan standar *McFarland* 0,5 ekuivalen dengan suspensi sel bakteri dengan konsentrasi $1,5 \times 10^8$ CFU/mL. Kekeruhan ini yang akan dipakai standar suspensi bakteri uji (Sari *et al.*, 2016).

F. Pengenceran ekstrak daun seledri (*Apium graveolens* L)

Konsentrasi ekstrak etanol daun seledri yang digunakan adalah 6,25%, 12,5%, 25%, 50%, dan 100%. Pengenceran dilakukan di dalam *laminar flow* menggunakan metode *serial dilution* (Lampiran B) menggunakan *syringe* dan hasil pengenceran tersebut dimasukkan pada tabung reaksi.

Pengenceran ekstrak etanol daun seledri adalah sebagai berikut:

1. Ekstrak 100% diambil sebanyak 2 ml.
2. Ekstrak 50% diperoleh dari 1 ml ekstrak 100% ditambah dengan aquades 1 ml lalu dihomogenkan menggunakan *vortex*.
3. Ekstrak 25% diperoleh dari 1 ml ekstrak 50% ditambah dengan aquades 1 ml lalu dihomogenkan menggunakan *vortex*.

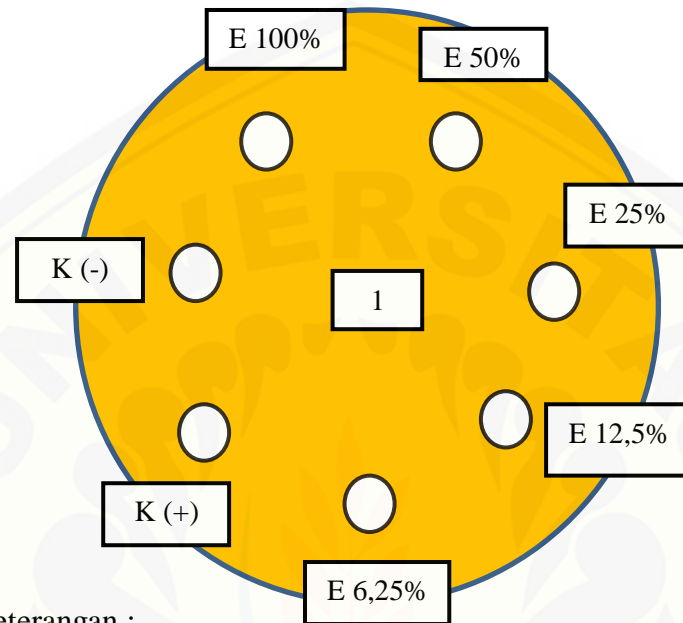
4. Ekstrak 12,5% diperoleh dari 1 ml ekstrak 25% ditambah dengan aquades 1 ml lalu dihomogenkan menggunakan *vortex*.
5. Ekstrak 6,25% diperoleh dari 1 ml ekstrak 12,5% ditambah dengan aquades 1 ml lalu dihomogenkan menggunakan *vortex*.

3.7.2 Tahap Perlakuan

Semua perlakuan dilakukan di dalam *laminar flow* untuk mencegah kontaminasi dengan lingkungan luar.

- a. Pada bagian bawah *petridish* dibagi 7 daerah sama besar menggunakan spidol dan diberi kertas label bertuliskan ekstrak 100%, ekstrak 50%, ekstrak 25%, ekstrak 12,5%, ekstrak 6,25%, K+ (kontrol positif), K- (kontrol negatif). Untuk membedakan ke-4 *petridish*, maka diberi tanda nomor urut 1 sampai 4 (Gambar 3.1).
- b. Suspensi *P. gingivalis* diambil dari tabung reaksi sebanyak 0,5 ml kemudian ditetaskan menggunakan mikropipet ke *petridish* yang telah disterilkan. Media BHI-A yang masih hangat pada suhu 40-45°C sebanyak 25 ml dituangkan ke dalam setiap *petridish*, kemudian diratakan dengan cara menggerakkan *petridish* memutar membentuk pola angka 8 dan ditunggu sampai memadat dan dingin (Yunita *et al.*, 2015).
- c. Metode pengujian yang digunakan adalah metode difusi sumuran (*Well diffusion method*). Pada media BHI-A yang telah diinokulasi dengan *P. gingivalis* dibuat satu lubang sumuran dengan menggunakan cork borer dengan diameter 5 mm pada masing-masing daerah. Pada lubang sumuran dengan label ekstrak 100% dimasukkan ekstrak daun seledri 100%, label ekstrak 50% dimasukkan ekstrak daun seledri 50%, label ekstrak 25% dimasukkan ekstrak daun seledri 25%, label ekstrak 12,5% dimasukkan ekstrak daun seledri 12,5, label ekstrak 6,25% dimasukkan ekstrak daun seledri 6,25%, label K(+) dimasukkan obat kumur *chlorhexidine gluconate* 0,2% (kontrol positif), dan label K(-) dimasukkan aquadest steril (kontrol negatif). Untuk setiap perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali.

- d. Empat *petridish* yang berisi media lempeng BHI-A yang sudah diinokulasi dengan *P. gingivalis* dan diberi perlakuan dimasukkan desikator untuk mendapatkan suasana anaerob. Kemudian desikator diletakkan dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam.



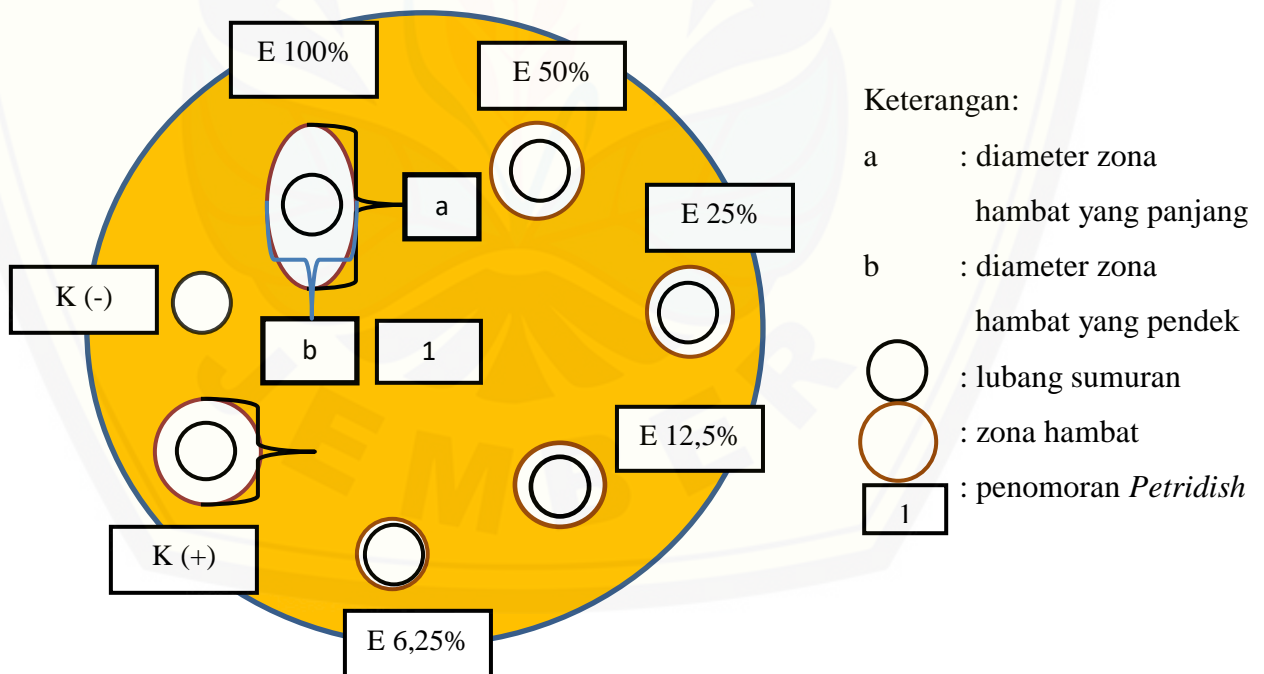
Keterangan :

1	: Penomoran <i>petridish</i> , mulai nomor 1 sampai 4
E 100%	: Kertas label untuk ekstrak daun seledri 100%
E 50%	: Kertas label untuk ekstrak daun seledri 50%
E 25%	: Kertas label untuk ekstrak daun seledri 25%
E 12,5%	: Kertas label untuk ekstrak daun seledri 12,5%
E 10%	: Kertas label untuk ekstrak daun seledri 6,25%
K (+)	: Kertas label untuk kontrol positif
K (-)	: Kertas label untuk kontrol negatif

Gambar 3.1 Skema pembagian daerah bagian bawah *petridish*

3.7.3 Tahap Pengukuran

- Setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C , *petridish* yang telah diberi perlakuan diambil kemudian dilakukan pengukuran diameter zona hambat terhadap pertumbuhan bakteri *P. gingivalis*.
- Pengukuran diameter zona hambat yaitu dengan membalikkan *petridish* sehingga terlihat daerah bening di sekitar lubang sumuran, kemudian dengan menggunakan jangka sorong digital zona hambat diukur diameternya dan dicatat. Jika zona hambat berbentuk lonjong, maka pengukuran dilakukan pada diameter yang panjang (misal a mm) dikurangi diameter lubang sumuran dan diameter yang pendek (misal b mm) dikurangi diameter lubang sumuran kemudian keduanya dijumlah dan dibagi dua (Gambar 3.2). Pengukuran dilakukan sebanyak 3 kali, dengan 3 orang pengamat yang berbeda yang sebelumnya diberi penjelasan tentang bagaimana cara mengukur zona hambat dan diambil rata-rata.

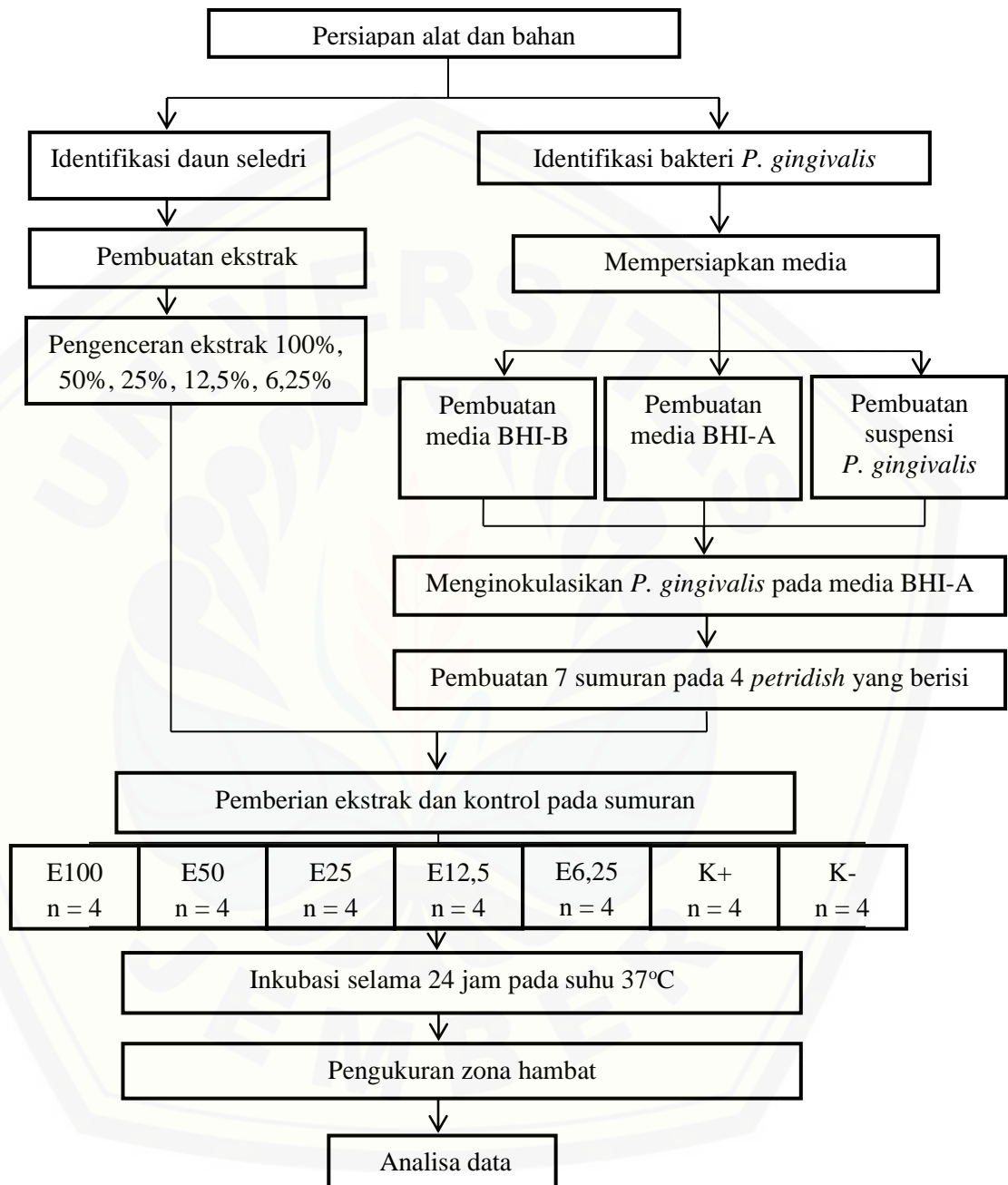


Gambar 3.2 Pengukuran diameter zona hambat terhadap pertumbuhan *P. gingivalis*

3.8 Analisa Data

Data yang diperoleh dilakukan uji normalitas menggunakan uji *Saphiro-Wilk* dan uji homogenitas menggunakan *Lavene Test*. Apabila kedua uji menunjukkan data normal dan homogen maka dilakukan uji parametrik dengan *Anova Satu Arah* kemudian apabila terdapat perbedaan dilanjutkan dengan uji *LSD* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok. Tetapi jika data yang diperoleh tidak berdistribusi normal atau variasi data yang diperoleh tidak homogen, maka dilakukan analisis menggunakan uji statistik nonparametrik *Kruskal Wallis* yang bertujuan untuk membandingkan lebih dari dua kelompok sampel bebas. Apabila data menunjukkan ada beda, maka dilanjutkan uji perbedaan antar kelompok menggunakan uji statistik nonparametrik *Mann-Whitney*. Akan tetapi pada penelitian ini tidak dilakukan analisa data dikarenakan hasil pengamatan menunjukkan tidak terbentuk zona bening disekitar sumuran.

3.9 Alur Penelitian



Gambar 3.3 Alur penelitian

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun seledri (*Apium graveolens* L.) tidak memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan *P. gingivalis* yang kemungkinan disebabkan karena kandungan zat antibakteri dalam daun seledri yang terlalu sedikit, waktu pengeringan daun seledri pada suhu 40°C yang terlalu lama dan bakteri mengalami resistensi.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan metode ekstraksi pengeringan pada suhu 40°C dengan waktu yang lebih tepat untuk mengetahui daya antibakteri ekstrak daun seledri (*Apium graveolens* L.) terhadap *P. gingivalis*.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui daya antibakteri ekstrak daun seledri (*Apium graveolens* L.) terhadap mikroflora lain di rongga mulut.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, E., F. Andiarna, N. Lusiana, R. Purnamasari, dan M. I. Hadi. 2018. Identifikasi Senyawa Aktif dari Ekstrak Daun Jambu Air (*Syzygium aqueum*) dengan Perbandingan Beberapa Pelarut pada Metode Maserasi. *BIOTROPIC The Journal of Tropical Biology*. 2(2)
- Anastasia, A., Yuliet, dan M. R. Tandah. 2016. Formulasi Sediaan *Mouthwash* Pencegah Plak Gigi Ekstrak Biji Kakao (*theobroma cacao* l) dan Uji Efektivitas pada Bakteri *Streptococcus mutans*. *Galenika Journal of Pharmacy*. 3(1): 84 – 92.
- Armedita, D., V. Asfrizal, dan M. Amir. 2018. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun, Kulit Batang, dan Getah Angsana (*Pterocarpus indicus willd*) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *Odonto Dental Journal*. 5(1).
- Attamimi, F. Z., R. Ruslami, dan A. M. Maskoen. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Umbi Sarang Semut (*Myrmecodia pendens*) Dibanding dengan Klorheksidin terhadap *Streptococcus sanguinis*. *MKB*. 49(2).
- Aziz, T., R. C. K. N, dan A. Fresca. 2009. Pengaruh Pelarut Heksana dan Etanol, Volume Pelarut, dan Waktu Ekstraksi Terhadap Hasil Ekstraksi Minyak Kopi. *Jurnal Teknik Kimia*. 16(1).
- Beales, N. 2004. Adaptation of Microorganisms to Cold Temperatures, Weak Acid Preservatives, Low pH, and Osmotic Stress: A Review. *COMPREHENSIVE REVIEWS IN FOOD SCIENCE AND FOOD SAFETY*. 3.
- Candrasari, A., M.A. Romas, M. Hasbi, dan O. R. Astuti. 2012. Uji Daya Antimikroba Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum* Ruiz & Pav.) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Eschericia coli* ATCC 11229 dan *Candida albicans* ATCC 10231 Secara In Vitro. *Biomedika*. 4(1).

Chamidah, S. 2012. Daya Antibakteri Ekstrak Kopi Robusta (*Coffea Chanepora*) terhadap Pertumbuhan *P.gingivalis*. *Skripsi*. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Dalimartha, S. 2000. Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 2. Jakarta: PT. Trubus Agriwidya.

Departemen Kesehatan Republik Indonesia (Depkes RI). 2000. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta.

Dorland, Newman. 2011. *Kamus Saku Kedokteran Dorland*. Alih Bahasa Mahode, dkk. Jakarta: EGC.

Fazal, S. S., dan R. K. Singla. 2012. Review on the Pharmacognostical & Pharmacological Characterization of *Apium Graveolens* Linn. *Indo Global Journal of Pharmaceutical Science*. 2(1): 36-42.

Fitriah, Mappiratu, dan Prismawiryanti. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Tanaman Johar (*Cassia siamea* Lamk.) dari beberapa tingkat pelarutan. *KOVALEN*. 3(3): 242-251.

Fitriyana, N., Y. M. D. Arina, H. Harmono, dan I. D. A. Susilawati. 2013. Pemaparan Bakteri *Porphyromonas gingivalis* Mempengaruhi Produksi Superoksid Netrofil. *Dentofasial*. 12(3): 152-158.

Groisman, E. A. 2000. *Principles of Bacterial Pathogenesis*. Burlington: Academic Press.

Hajisengallis, G., R. P. Darveau, M. A. Curtis. 2012. The Keystone Pathogen Hypothesis. *Nat Rev Microbiol*. 10(10): 717-725.

Heni, S. Arreneuz, dan T. A. Zaharah. 2015. Efektivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Belimbing Hutan (*Baccaurea angulata* Merr.) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherechia colli*. *JKK*. 4(1): 89-90.

- Hernani, dan R. Nurdjanah. 2009. Aspek Pengeringan dalam Mempertahankan Kandungan Metabolit Sekunder pada Tanaman Obat. *Perkembangan Teknologi TRO*. 21(2): 33-39.
- Hidayah, N., A. K. Hisan, A. Solikin, Irawati, dan D. Mustikaningtiyas. 2013. Uji Efektivitas Ekstrak *Sargassum nuticum* Sebagai Alternatif Obat Bisul Akibat Aktivitas *Staphylococcus aureus*. *Journal of Primary Education*. 2(1).
- Jannah, H. 2016. Pengaruh Paranet pada Suhu dan Kelembaban terhadap Pertumbuhan Tanaman Seledri (*Apium graveolens* L.). *Jurnal Pendidikan Mandala*. 1.
- Kaiser, G. 2018. Microbiology. Community College of Baltimore Country (Cantonsville).
[https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Microbiology/Book%3AMicrobiology_\(Kaiser\)](https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Microbiology/Book%3AMicrobiology_(Kaiser)) [Diakses pada 9 April 2019]
- Kono, S. R., P. V. Y. Yamlean, dan S. Sudewi. 2018. Formulasi Sediaan Obat Kumur Herba Patikan Kebo (*euphorbia hirta*) dan Uji Antibakteri *Porphyromonas gingivalis*. *Pharmacon Jurnal Ilmiah Farmasi Unsrat*. 7(1).
- Kusumawardani, B., P. Pujiastuti, dan D. S. Sari. 2010. Uji Biokimiawi Sistem API 20 A Mendeteksi *Porphyromonas gingivalis* Isolat Klinik dari Plak Subgingiva Pasien Periodontitis Kronis. *Jurnal PDGI*. 59(3): 110-114.
- Ladytama, Rr. S., A. Nurhapsari, dan M. 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, Semarang. *Odonto Dental Journal*. 1(1).
- Larasati, R. 2012. Hubungan Kebersihan Mulut dengan Penyakit Sistemik dan Usia Harapan Hidup. *Jurnal Skala Husada*. 9(1): 97-104.

- Luliana, S., N. U. Purwanti, dan K. N. Manihuruk. 2016. Pengaruh Cara Pengeringan Simplisia Daun Senggani (*Melastoma malabathricum* L.) Terhadap Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). *Pharm Sci Res.* 3(3).
- Madduluri, S., K.B. Rao, dan B. Sitaram. 2013. *In vitro* evaluation of antibacterial activity of five indigenous plants extract against five bacterial pathogens of human. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science.* 5(4): 679-684.
- Majidah, D. 2014. Daya Antibakteri Ekstrak Daun Seledri (*Apium graveolens* L.) terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans* . *Skripsi*. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Misna, dan K. Diana. 2016. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Bawang Merah (*Allium cepa* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Galenika Journal of Pharmacy.* 2 (2): 138 – 144.
- Muntaha, A., Haitami, dan N. Hayati. 2015. Perbandingan Penurunan Kadar Formalin pada Tahu yang Direbus dan Direndam Air Panas. *Medical Laboratory Technology Journal.* 1(2): 84-90.
- Nasir, S., Fitriyanti, dan H. Kamila. 2009. Ekstraksi Dedak Padi Menjadi Minyak Mentah Dedak Padi (*Crude Rice Bran Oil*) dengan Pelarut *N-Hexane* dan *Ethanol*. *Jurnal Teknik Kimia.* 16(2).
- Ngajow, M., J. Abidjulu, dan V. S. Kamu. 2013. Pengaruh Antibakteri Ekstrak Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* secara *In vitro*. *JURNAL MIPA UNSRAT ONLINE.* 2(2): 128-132.
- Newman, M.G., H.H. Takei, P.R. Klokkevold, and F.A. Carranza. 2012. *Carranza's Clinical Periodontology.* 11th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company.
- Penda, P. A. C., S. H. M. Kaligis, dan Juliatri. 2015. Perbedaan Indeks Plak Sebelum dan Sesudah Pengunyahan Buah Apel. *Jurnal e-GiGi (eG).* 3(2).

- Poeloengan, M., dan Andriani. 2013. Kandungan Senyawa Aktif dan Daya Antibakteri Daun Sambung Darah. *Jurnal Veteriner*. Vol. 14(2): 45-152.
- Praharasanti, C. 2014. Efektivitas Obat Kumur *Chlorhexidine*, *Essential Oil*, *Triclosan-Sodium Fluoride* dalam Pencegahan Pembentukan Bakteri Plak. *Dentofasial*. 13(1): 55-58.
- Pratiwi, E. W., D. Praharani, dan Y. M. D. Arina. 2015. Daya Hambat Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap Adhesi Bakteri *Porphyromonas gingivalis* pada Neutrofil. *e-Jurnal Pustaka Kesehatan*. 3(2.).
- Pratiwi, E. 2010. Perbandingan Metode Maserasi, Remaserasi, Perkolasi dan Reperkolasi dalam Ekstraksi Senyawa Aktif *Andrographolide* dari Tanaman Sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees). *Skripsi*. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor.
- Pratiwi, L. P. 2012. Adhesi *Porphyromonas gingivalis* pada Netrofil yang Diinkubasi Ekstrak Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa L.*). *Skripsi*. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Pratiwi, S. T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Erlangga.
- Pujiastuti, P. 2012. Obesitas dan Penyakit Periodontal. *Jurnal Kedokteran Gigi Unej*. 9(2): 82-85.
- Rahman, F.A., T. Haniastuti, T. W. Utami. 2017. Skrining fitokimia dan aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata L.*) pada *Streptococcus mutans* ATCC 35668. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*. 3(1): 1-7.
- Rusdiana, T. 2018. Telaah Tanaman Seledri (*apium graveolens l.*) Sebagai Sumber Bahan Alam Berpotensi Tinggi Dalam Upaya Promotif Kesehatan. *Indonesia Natural Research Pharmaceutical Journal*. 3(1).li
- Saputra, O., dan T. Fitria. 2016. Khasiat Daun Seledri (*Apium graveolens*) terhadap Tekanan Darah Tinggi pada Pasien Hiperkolestrolemia. *Majority*. 5(2): 120.

- 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*. *Dent. J. (Majalah Kedokteran Gigi)*. 47(4): 211–214.
- Sipailiene, A., A. Sarkinas, R. Venskutonis, V. Cypiene. 2015. Composition and Antimicrobial Activity of Celery (*Apium graveolens*) Leaf and Root Extracts Obtained with Liquid Carbon Dioxide. <https://www.researchgate.net/publication/267945326> Composition and Antimicrobial Activity of Celery Apium graveolens Leaf and Root Extracts Obtained with Liquid Carbon Dioxide. [Diakses pada 12 Juni 2019].
- Soderberg, T. 2016. Organic Chemistry with a Biological Emphasis. University of Minnesota Morris Digital Well. https://digitalcommons.morris.umn.edu/chem_facpubs/1/1 [Diakses pada 8 April 2019]
- Sriyono, R. A.N., dan I. Andriani. 2013. Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Manggis (*Garcinia mangostana linn.*) terhadap Bakteri *Porphyromonas gingivalis*. *IDJ*. 2(2).
- Sugiyono. 2012. *Metode Penelitian Kuantitatif Kualitatif dan R&D*. Bandung: Alfabeta.
- Susanti, dan F. Bachmid. 2016. Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Refluks Terhadap Kadar Fenolik dari Ekstrak Tongkol Jagung (*Zea mays L.*). *KONVERSI*. 5(2).
- Syahidah, F. M., dan Rr. Sulistyaningsih. 2018. Potensi Seledri (*Apium graveolens*) Untuk Pengobatan. *Farmaka*. 16(1).
- Talumewo, M., C. Mintjelungan, dan M. Wowor. 2015. Perbedaan Efektivitas Obat Kumur Antiseptik Beralkohol dan Non Alkohol dalam Menurunkan Akumulasi Plak. *Jurnal Ilmiah Farmasi Unsrat*. 4(4).

- Tambunan, E. G. R., K. Pandelaki, dan C. N. Mintjelungan. 2015. Gambaran Penyakit Periodontal pada Penderita Diabetes Melitus di Rumah Sakit Umum Pusat Prof. dr. R. D Kandou Manado. *Jurnal e-GiGi (eG)*. 3(2).
- Vera. 2010. Perbandingan Efektifitas Metode Pengajaran Cara Menyikat Gigi Terhadap Penurunan Indeks Plak Pada Anak Usia 3-5 Tahun di Sekolah Bodhicitta Medan. *Skripsi*. Medan: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Sumatera Utara.
- Wasitaningrum, I. D. A. 2009. Uji Resistensi Bakteri Staphylococcus Aureus dan Escherichia Coli dari Isolat Susu Sapi Segar Terhadap Beberapa Antibiotik. *Skripsi*. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Wulandari, D. I., S. P. Fitrianiingsih, dan L. Mulqie. 2016. Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Etanol Herba Seledri (*Apium graveolens L.*) terhadap Tikus Wistar Jantan. *Prosiding Farmasi*. 2(1).
- 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

A. Perhitungan Besar Sampel Penelitian

Besar sampel yang digunakan dalam penelitian ini berdasarkan rumus Federer sebagai berikut (Muntaha *et al.*, 2015):

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

Keterangan :

n = besar kelompok

t = jumlah sampel

Perhitungan jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

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

$$(n-1)(7-1) \geq 15$$

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

$$6n - 6 \geq 15$$

$$6n \geq 21$$

$$n \geq 3,5$$

Besar sampel minimal berdasarkan perhitungan tersebut adalah 3,5 sampel pada masing – masing kelompok. Penelitian ini menggunakan besar sampel sebanyak 4 pada masing-masing kelompok, sehingga jumlah keseluruhan sampel penelitian yang digunakan 28 sampel.

B. Rumus Pengenceran

Rumus persamaan yang digunakan adalah:

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

Keterangan:

V1 = Volume pertama (volume larutan asal yang akan dicampur aquades)

M1 = Konsentrasi awal (konsentrasi larutan asal yang akan dicampur aquades)

V_2 = Volume kedua (volume larutan yang akan dibuat)

M_2 = Konsentrasi kedua (konsentrasi larutan yang akan dibuat)

Pengenceran ekstrak daun seledri untuk 1ml dari ;

a. Pengenceran 100% murni ekstrak

b. Pengenceran 50%

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \cdot 100 \% = 1 \cdot 50 \%$$

$$V_1 = 50 \% : 100 \%$$

$$V_1 = 0,50 \text{ ml}$$

(0,50 ml ekstrak daun seledri, 0,50 ml aquadest)

c. Pengenceran 25%

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \cdot 100 \% = 25 \% \cdot 1$$

$$V_1 = 25 \% : 100 \%$$

$$V_1 = 0,25 \text{ ml}$$

(0,25 ml ekstrak daun seledri, 0,75 ml aquadest).

d. Pengenceran 12,5%

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \cdot 100 \% = 12,5 \% \cdot 1$$

$$V_1 = 12,5 \% : 100 \%$$

$$V_1 = 0,125 \text{ ml}$$

(0,125 ml ekstrak daun seledri, 0,875 ml aquadest).

e. Pengenceran 6,25%

$$C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2$$

$$100\% \cdot V_1 = 6,25\% \cdot 1 \text{ ml}$$

$$V_1 = 6,25\% : 100 \%$$

$$V_1 = 0,0625 \text{ ml}$$

(0,0625 ml ekstrak daun seledri, 0,9375 ml aquadest).

C. Rendemen Ekstrak Daun Seledri

Rendemen ekstrak yaitu perbandingan berat ekstrak yang diperoleh setelah proses pemekatan dengan berat simplisia awal. Penetapan rendemen bertujuan untuk mengetahui jumlah kira-kira simplisia yang dibutuhkan untuk pembuatan sejumlah tertentu ekstrak kental (Kartikasari, et al., 2014). Rendemen ekstrak didapat dengan perhitungan rumus (Wijaya dkk, 2018):

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

Perhitungan simplisia yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

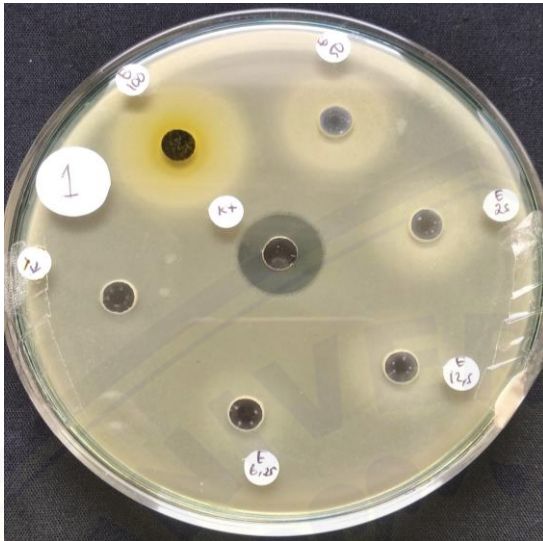
$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak diperoleh}}{\text{Bobot simplisia sebelum di ekstraksi}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{63,12 \text{ gram}}{170 \text{ gram}} \times 100\%$$

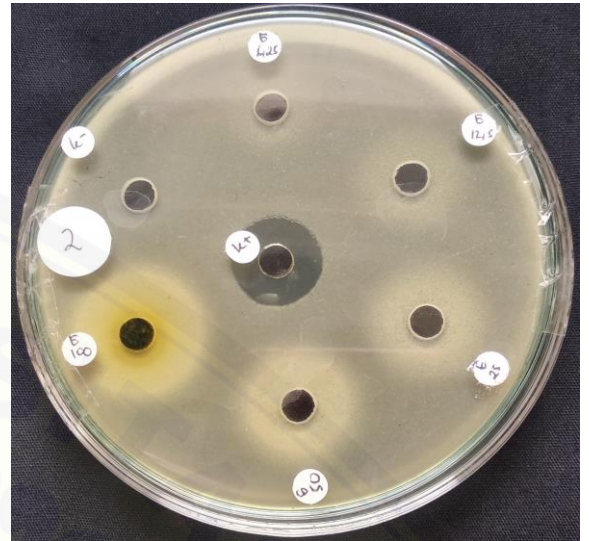
$$\% \text{ Rendemen} = 37,12\%$$

Jadi hasil rendemen ekstrak daun seledri adalah 37,12%

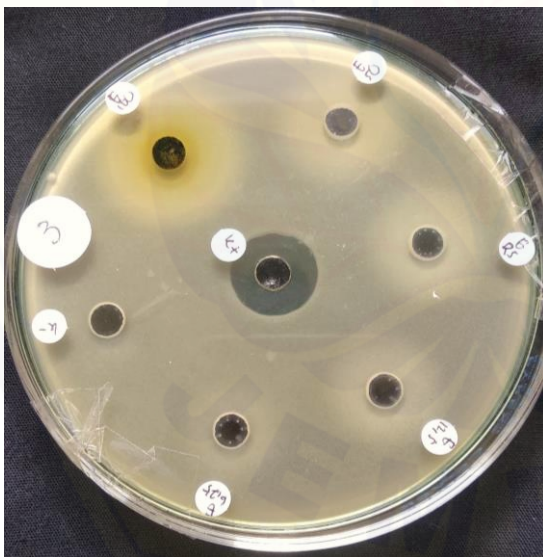
D. Dokumentasi Hasil Penelitian



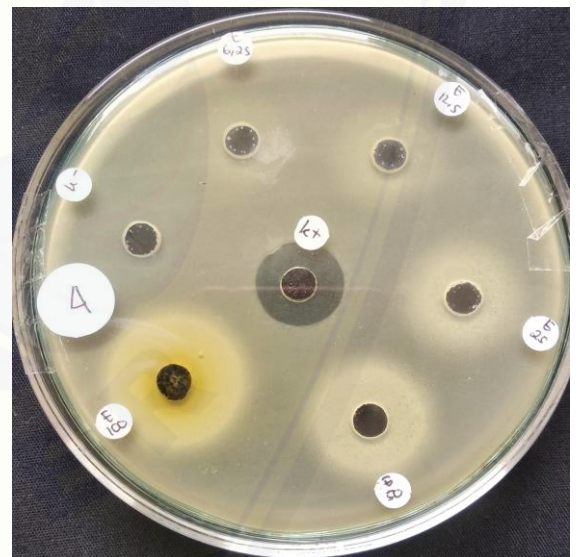
Hasil Penelitian (*Petridish 1*)



Hasil Penelitian (*Petridish 2*)



Hasil Penelitian (*Petridish 3*)



Hasil Penelitian (*Petridish 4*)

E. Surat Keterangan Identifikasi Bakteri**LABORATORIUM MIKROBIOLOGI
BAGIAN BIOMEDIK KEDOKTERAN GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER****SURAT KETERANGAN
No. 0139/MIKRO/S.KET/2018**

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

Nama : Anisa Luthfiyani
NIM : 151610101035
Fakultas : Kedokteran Gigi Universitas Jember
Keperluan : Identifikasi Mikroorganisme

Telah melakukan uji identifikasi terhadap isolasi bakteri *Porphyromonas gingivalis* ATCC 3327 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

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

Penanggung Jawab Lab. Mikrobiologi

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

F. Surat Keterangan Identifikasi Tanaman

Kode Dokumen : FR-AUK-064
Revisi : 0

**KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
POLITEKNIK NEGERI JEMBER
LABORATORIUM TANAMAN**

Jalan Mastrip Kotak Pos 164 Jember - 68101 Telp. (0331) 333532 - 333534 Fax.(0331) 333531
E-mail : Polije@polije.ac.id Web Site : <http://www.Polije.ac.id>

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TANAMAN

No: 49/PL17.3.1.02/LL/2018

Menindaklanjuti surat dari Wakil Dekan I Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember No: 2445/UN25.8.TL/2018 perihal Permohonan Identifikasi Tanaman dan berdasarkan hasil pengamatan pada spesimen tumbuhan yang dikirimkan ke Laboratorium Tanaman, Jurusan Produksi Pertanian, Politeknik Negeri Jember oleh:

Nama : Anisa Luthfiyani
NIM : 151610101035
Jur/Fak/PT : Fakultas Kedokteran Gigi/ Universitas Jember

maka dapat disampaikan hasilnya bahwa spesimen tersebut di bawah ini (terlampir) adalah:
Kingdom/Regnum: Plantae; Devisio: Spermatophyta; Sub Devisio: Magnoliophyta; Kelas: Magnoliopsida; Sub Kelas: Rosidae; Ordo: Apiales; Famili: Apiaceae; Genus: Apium; Spesies: Apium graveolens, L

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Jember, 17 Oktober 2018

Ka. Laboratorium Tanaman

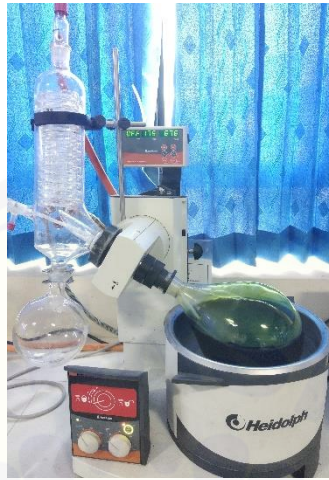
Ir. Lilik Mastuti, MP
NIP. 195808201987032001

G. Dokumentasi Alat dan Bahan Penelitian

G.1 Alat Penelitian



Blender



Rotary Evaporator



Timbangan Digital



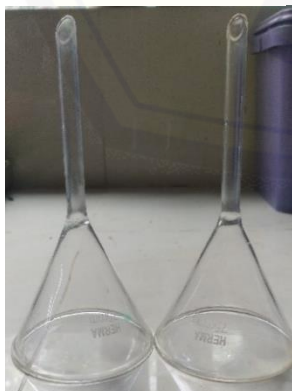
Ayakan dan Pengaduk Kaca



Labu Erlenmeyer



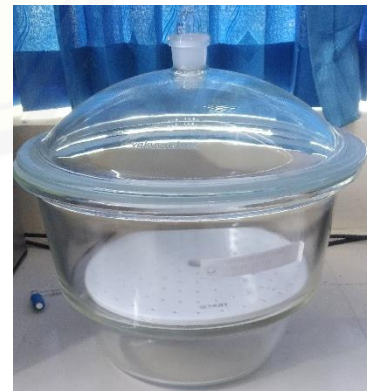
Botol Kaca Bertutup



Corong Buncher



Inkubator



Desikator



Autoklaf



Mikroskop



Oven



Spektrofotometer



Laminar Flow



Kompur Listrik



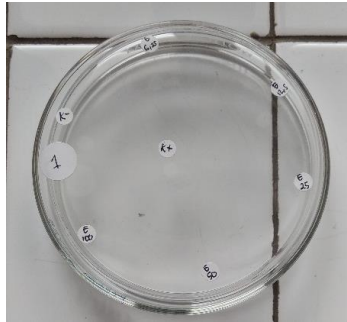
Thermolyn



Borer



Bunsen



Petridish



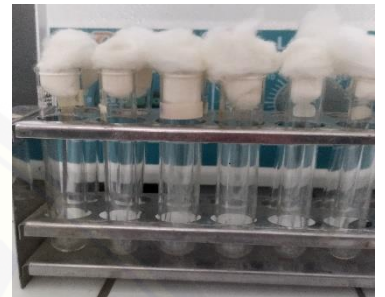
Baki



Jangka Sorong



Mikropipet



Tabung Reaksi

G.2 Bahan Penelitian



Filter Syringe



Blue tip, Yellow tip,
dan Aquades Steril



Kertas Saring



Suspensi *P. gingivalis*



Alumunium Foil dan Kertas Label



Etanol 96%



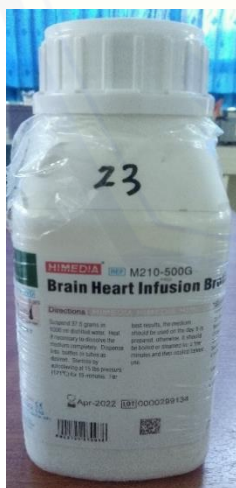
Alkohol 70%



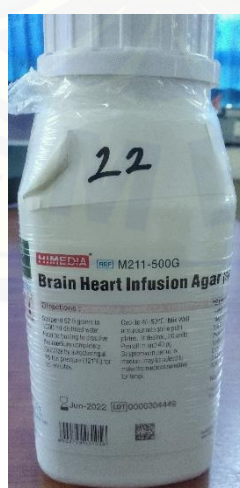
Klorheksidin



Ekstrak daun seledri



BHI-B





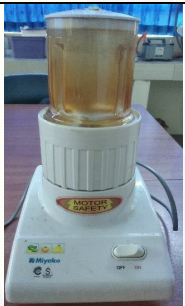


BHI-A





Syringe



H. Dokumentasi Penelitian

H.1 Pembuatan Ekstrak Daun Seledri

Gambar	Keterangan
	<p>Daun seledri sebanyak 2 kg dipotong kecil-kecil kemudian dicuci bersih dengan air mengalir dan dikeringkan dengan cara dianginkan.</p>
	<p>Daun seledri dikeringkan dalam oven selama 3 hari 11 jam dengan suhu 40°C sampai daun kering.</p>
	<p>Daun seledri yang sudah kering kemudian dihaluskan menggunakan blender sehingga didapatkan serbuk kasar. Kemudian dilanjutkan dengan mengayak serbuk kasar, sehingga didapatkan serbuk yang lebih halus.</p>
	<p>Daun seledri yang sudah berbentuk serbuk halus (simplicia) kemudian ditimbang.</p>
	<p>Simplicia daun seledri kemudian direndam dalam etanol 96% selama 24 jam dalam tabung Erlenmeyer tertutup dan dibungkus dengan <i>aluminium foil</i> supaya terhindar dari sinar matahari langsung dan dilakukan pengadukan pada 6 jam pertama</p>

	<p>Hasil maserasi disaring menggunakan kertas saring. Kemudian dilakukan remaserasi dengan prosedur yang sama persis dengan prosedur maserasi yang pertama.</p>
	<p>Etanol diuapkan menggunakan <i>rotary evaporator</i> selama 11 jam.</p>

H.2 Tahap Perlakuan

Gambar	Keterangan
	<p>Melakukan pembuatan lubang sumuran pada media menggunakan <i>borer</i> dengan diameter 5 mm.</p>
	<p>Meneteskan ekstrak sebanyak 20μl pada tiap lubang sumuran yang disesuaikan dengan tanda label.</p>