



DAYA HAMBAT EKSTRAK MINYAK ATSIRI BIJI KETUMBAR

(*Coriandrum sativum L.*) TERHADAP PERTUMBUHAN

Porphyromonas gingivalis

SKRIPSI

Oleh

Lifia Mufida

NIM 161610101003

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS JEMBER

2020



DAYA HAMBAT EKSTRAK MINYAK ATSIRI BIJI KETUMBAR
(Coriandrum sativum L.) 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

Lifia Mufida

NIM 161610101003

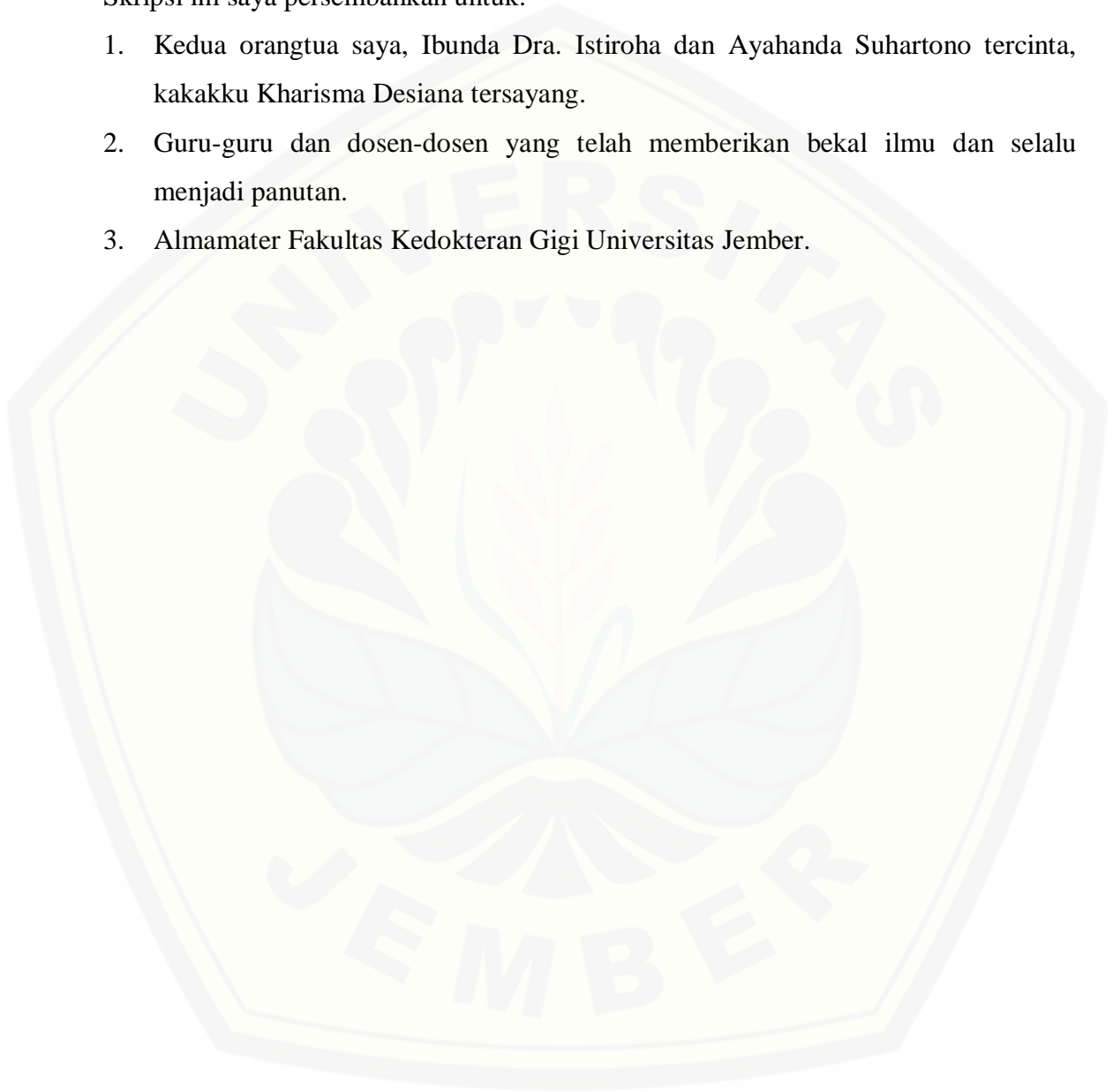
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER

2020

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Kedua orangtua saya, Ibunda Dra. Istiroha dan Ayahanda Suhartono tercinta, kakakku Kharisma Desiana tersayang.
2. Guru-guru dan dosen-dosen yang telah memberikan bekal ilmu dan selalu menjadi panutan.
3. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.



MOTTO

“Berdoalah (mintalah) kepadaKu, niscaya Aku kabulkan untukmu.”

(Q.S Al-Mukmin : 60)*

“Sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan. Maka apabila engkau telah selesai (dari sesuatu urusan), tetaplah bekerja keras (untuk urusan yang lain), dan hanya

Tuhanmulah engkau berharap.”

(Q.S Al-Insyirah : 6-8)*

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

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Lifia Mufida

NIM : 161610101003

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Daya Hambat Ekstrak Minyak Atsiri Biji Ketumbar (*Coriandrum sativum L.*) terhadap Pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*” adalah benar-benar hasil karya saya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta 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 di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 17 Januari 2020

Yang menyatakan,

Lifia Mufida

NIM. 161610101003

SKRIPSI

DAYA HAMBAT EKSTRAK MINYAK ATSIRI BIJI KETUMBAR

(Coriandrum sativum L.) TERHADAP PERTUMBUHAN

Porphyromonas gingivalis

Oleh

Lifia Mufida

NIM 161610101003

Dosen Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : drg. Depi Praharani, M.Kes.

Dosen Pembimbing Pendamping : drg. Ayu Mashartini P., Sp.PM.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Daya Hambat Ekstrak Minyak Atsiri Biji Ketumbar (*Coriandrum sativum* L.) terhadap Pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*” telah diuji dan disahkan pada:

Hari, tanggal : Jum’at, 17 Januari 2020

Tempat : Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember

Dosen Penguji Ketua

Dosen Penguji Anggota

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

NIP. 197104092005012002

drg. Tantin Ermawati, M.Kes.

NIP. 198003222008122003

Dosen Pembimbing Utama

Dosen Pembimbing Pendamping

drg. Depi Praharani, M.Kes.

NIP. 196801221997022001

drg. Ayu Mashartini Prihanti, Sp.PM.

NIP. 198412212009122006

Mengesahkan

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember,

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

NIP. 196901121996011001

RINGKASAN

Daya Hambat Ekstrak Minyak Atsiri Biji Ketumbar (*Coriandrum sativum L.*) terhadap Pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*; Lifa Mufida; 161610101003; 2020; 100 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Penyakit periodontal merupakan salah satu masalah kesehatan gigi dan mulut yang memiliki prevalensi cukup tinggi pada penduduk Indonesia yaitu mencapai 96,58%. Penyakit periodontal biasanya dimulai dari gingivitis yang bila tidak dilakukan perawatan akan berkembang menjadi periodontitis. Periodontitis memiliki gambaran klinis seperti adanya kehilangan perlekatan, kegoyangan gigi, yang pada akhirnya dapat menyebabkan gigi tanggal.

Faktor etiologi primer dari penyakit periodontal adalah bakteri plak. *Porphyromonas gingivalis* menjadi salah satu *key pathogen* pada penyakit periodontal karena mempunyai peranan yang sangat kuat dalam proses inisiasi penyakit periodontal. Bakteri ini terkandung dalam 85,75% pada plak subgingiva pasien periodontitis kronis. Oleh karena itu, perlu dilakukan upaya untuk membunuh ataupun menghambat pertumbuhan *P. gingivalis* yaitu dengan menggunakan antibiotik.

Salah satu antibiotik yang sering digunakan dalam perawatan penyakit periodontal secara lokal adalah *metronidazole gel*. Pemberian antibiotik *metronidazole* yang kurang tepat dan berlebihan dapat mengakibatkan *P. gingivalis* resisten terhadap antibiotik yang telah diberikan. Hal tersebut yang mendasari pemanfaatan obat dari bahan alam yang memiliki daya antibakteri, salah satunya yaitu tanaman ketumbar. Biji ketumbar diketahui mengandung minyak atsiri yang memiliki aktivitas antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya hambat ekstrak minyak atsiri biji ketumbar (*Coriandrum sativum L.*) terhadap pertumbuhan *P. gingivalis*.

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris dengan rancangan *the post test only group*. Penelitian ini menggunakan metode *disk-diffusion* yang terdiri

dari 7 kelompok penelitian (2 kelompok kontrol dan 5 kelompok perlakuan). Kelompok kontrol terdiri dari kontrol negatif (DMSO 10%+tween 80 0,5%) dan kontrol positif (*metronidazole gel*). Kelompok perlakuan terdiri dari konsentrasi ekstrak minyak atsiri biji ketumbar konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25%. Setiap kelompok diambil sebanyak 20 µl dan diteteskan pada cakram kertas. Cakram kertas kemudian diletakkan di atas permukaan media *plate* BHI-A yang telah diinokulasi *P. gingivalis*. *Petridish* dimasukkan ke dalam *desicator* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah 24 jam, dilakukan pengukuran diameter zona hambat di sekitar cakram kertas menggunakan jangka sorong digital.

Data hasil penelitian dianalisis menggunakan uji statistik non parametrik dengan uji Kruskal Wallis. Hasil uji Kruskal Wallis menunjukkan nilai signifikansi kurang dari 0,05 yang dapat diartikan bahwa terdapat perbedaan pada kelompok penelitian, sehingga dapat ditarik kesimpulan bahwa ekstrak minyak atsiri biji ketumbar dapat menghambat pertumbuhan *P. gingivalis*. Selanjutnya dilakukan uji Mann Whitney dengan hasil terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok kecuali antara kelompok ekstrak minyak atsiri biji ketumbar pada konsentrasi 50% dengan konsentarsi 25%, dan konsentrasi 25% dengan konsentrasi 12,5%. Hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak minyak atsiri biji ketumbar konsentrasi 50%, 25%, dan 12,5% memiliki daya yang sama dalam menghambat pertumbuhan *P. gingivalis*.

Kesimpulan hasil penelitian ini bahwa: (1) ekstrak minyak atsiri biji ketumbar (*Coriandrum sativum L.*) memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan *P. gingivalis*; (2) konsentrasi ekstrak minyak atsiri biji ketumbar yang memiliki daya hambat terbesar terhadap pertumbuhan *P. gingivalis* yaitu 100%.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala anugrah dan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Daya Hambat Ekstrak Minyak Atsiri Biji Ketumbar (*Coriandrum sativum L.*) terhadap Pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

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

1. Allah SWT atas limpahan nikmat, karunia dan hidayahNya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
2. drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes., Sp.Prost. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
3. drg. Depi Praharani, M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah meluangkan waktunya untuk membimbing, memberikan saran dan motivasi sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
4. drg. Ayu Mashartini Prihanti, Sp.PM selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah memberikan bimbingan, saran, dan memotivasi dengan menceritakan pengalaman dalam menyusun skripsi sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
5. drg. Melok Aris Wahyukundari, M.Kes., Sp.Perio, selaku Dosen Penguji Ketua dan drg. Tantin Ermawati, M.Kes., selaku Dosen Penguji Anggota yang telah berkenan menguji dengan memberikan kritik yang membangun, saran dan motivasi pada penulisan skripsi ini.
6. Ibunda Dra. Istiroha dan Ayahanda Suhartono, yang memberikan kasih sayang sepanjang masa, doa yang tak pernah putus dan peluh yang tak ternilai lagi demi masa depan.
7. Kakakku tersayang Kharisma Desiana.

8. drg. Berlian Prihatiningrum, M.DSc., Sp.KGA, selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan, saran, motivasi selama menjadi mahasiswa di FKG Universitas Jember.
9. Mas Aldiansyah Hakim, yang selalu memberikan semangat dan motivasi dengan berbagai cara untuk segera menjadi seorang dokter gigi.
10. Saudara seperjuangan Rosellina Charisma Ilman dan Rismawati Tri Kalasworjati yang selalu ada dalam segala situasi.
11. Sahabat-sahabat Ananda Regina & Oksalani Cahya Rana yang ikut serta dalam melakukan penelitian uji daya hambat.
12. Mbak Fiolina Fajar Febrianingrum dan Mas Ibnu Satria yang telah memberikan saran dan motivasi untuk menyelesaikan skripsi.
13. Sahabat-sahabat Tutorial 1 yang selama ini selalu memberikan semangat dan motivasi kepada saya selama penelitian ini berlangsung.
14. Sahabat-sahabat kos yang selalu ada dan saling memberikan semangat satu sama lain.
15. Sahabat-sahabat seperjuangan di Fakultas Kedokteran Gigi angkatan 2016.
16. Ibu Nur (teknisi Laboratorium Fisiologi Bagian Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi), Ibu Indri (teknisi Laboratorium Mikrobiologi Bagian Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi), Bapak Mistar (teknisi Laboratorium Rekayasa Ilmu Pangan Fakultas Teknologi Pertanian), dan semua teknisi yang telah turut membantu dalam penelitian saya.
17. Semua pihak yang turut terlibat baik secara langsung maupun tidak langsung yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu, terima kasih untuk kalian semua.

Jember, 17 Januari 2020

Penulis

DAFTAR ISI

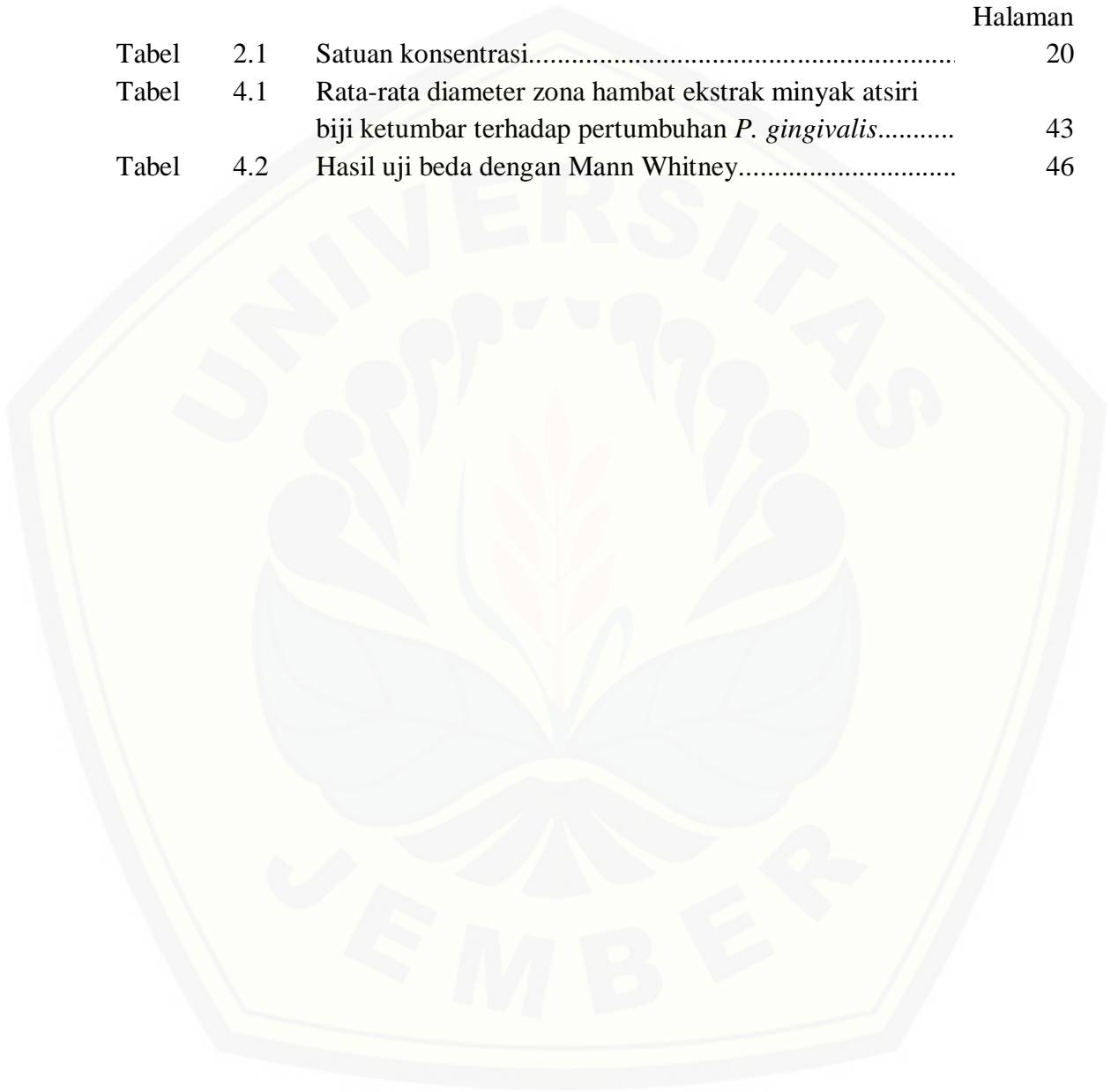
	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	ii
HALAMAN MOTTO.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN.....	v
HALAMAN PENGESAHAN.....	vi
RINGKASAN.....	vii
PRAKATA.....	ix
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvi
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Penyakit Periodontal.....	5
2.2 <i>Porphyromonas gingivalis</i>	6
2.2.1 Morfologi <i>Porphyromonas gingivalis</i>	6
2.2.2 Metabolisme <i>Porphyromonas gingivalis</i>	7
2.2.3 Fase Pertumbuhan <i>Porphyromonas gingivalis</i>	8

2.2.4	Invasi dan Virulensi <i>Porphyromonas gingivalis</i>	9
2.3	Tanaman Ketumbar.....	11
2.3.1	Klasifikasi Tanaman Ketumbar.....	11
2.3.2	Habitat Tanaman Ketumbar.....	11
2.3.3	Morfologi Tanaman Ketumbar.....	12
2.4	Biji Ketumbar.....	13
2.4.1	Manfaat Biji Ketumbar.....	13
2.4.2	Kandungan Biji Ketumbar.....	14
2.5	Minyak Atsiri Biji Ketumbar.....	14
2.5.1	Metode Isolasi Minyak Atsiri.....	17
2.6	Konsentrasi Larutan.....	19
2.7	Antibakteri.....	19
2.7.1	Metode Uji Daya Hambat.....	22
2.8	<i>Metronidazole</i>	23
2.9	Kerangka Konsep.....	24
2.10	Hipotesis.....	26
BAB 3	METODE PENELITIAN.....	27
3.1	Jenis Penelitian.....	27
3.2	Rancangan Penelitian.....	27
3.3	Tempat Penelitian dan Waktu Penelitian.....	27
3.3.1	Tempat Penelitian.....	27
3.3.2	Waktu Penelitian.....	27
3.4	Variabel Penelitian.....	27
3.4.1	Variabel Bebas.....	27
3.4.2	Variabel Terikat.....	27
3.4.3	Variabel Terkendali.....	28
3.5	Definisi Operasional Penelitian.....	28

3.5.1	Ekstrak Minyak Atsiri Biji Ketumbar.....	28
3.5.2	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	28
3.5.3	Daya Hambat.....	28
3.5.4	Kriteria Biji Ketumbar.....	29
3.6	Sampel Penelitian.....	29
3.6.1	Pembagian Kelompok Sampel Penelitian.....	29
3.6.2	Besar Sampel Penelitian.....	29
3.7	Alat dan Bahan.....	30
3.7.1	Alat Penelitian.....	30
3.7.2	Bahan Penelitian.....	30
3.8	Prosedur Penelitian.....	31
3.8.1	Tahap Persiapan.....	31
3.8.2	Tahap Uji Daya Hambat.....	37
3.8.3	Tahap Pengukuran Diameter Zona Hambat.....	39
3.9	Analisis Data.....	40
3.10	Alur Penelitian.....	41
BAB 4.	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	42
4.1	Hasil Penelitian.....	42
4.2	Analisis Data.....	44
4.3	Pembahasan.....	46
BAB 5.	KESIMPULAN DAN SARAN.....	50
5.1	Kesimpulan.....	50
5.2	Saran.....	50
	DAFTAR PUSTAKA.....	51
	LAMPIRAN.....	59

DAFTAR TABEL

			Halaman
Tabel	2.1	Satuan konsentrasi.....	20
Tabel	4.1	Rata-rata diameter zona hambat ekstrak minyak atsiri biji ketumbar terhadap pertumbuhan <i>P. gingivalis</i>	43
Tabel	4.2	Hasil uji beda dengan Mann Whitney.....	46



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1	Gambaran klinis penyakit periodontal..... 5
Gambar 2.2	Pemeriksaan <i>P. gingivalis</i> secara mikroskopis perbesaran 1000x..... 7
Gambar 2.3	Koloni <i>P. gingivalis</i> pada media agar darah..... 7
Gambar 2.4	Kurva pertumbuhan strain <i>P. gingivalis</i> 9
Gambar 2.5	Tanaman tumbuhan..... 12
Gambar 2.6	Biji ketumbar..... 13
Gambar 2.7	Bagian dari biji ketumbar..... 13
Gambar 2.8	Rantai kimia linalool..... 15
Gambar 2.9	Kerangka konsep..... 25
Gambar 3.1	Ilustrasi gerakan <i>streaking</i> 37
Gambar 3.2	Ilustrasi pengukuran diameter zona hambat..... 40
Gambar 4.1	Zona hambat terhadap pertumbuhan <i>P. gingivalis</i> 42
Gambar 4.2	Histogram rata-rata diameter zona hambat ekstrak minyak atsiri biji ketumbar terhadap pertumbuhan <i>P. gingivalis</i> 44

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran A. Surat izin penelitian.....	59
Lampiran B. Surat keterangan identifikasi tanaman ketumbar.....	60
Lampiran C. Laporan kegiatan pembuatan ekstrak minyak atsiri biji ketumbar.....	61
Lampiran D. Surat keterangan identifikasi bakteri <i>P. gingivalis</i> dengan pewarnaan Gram.....	63
Lampiran E. Foto alat dan bahan penelitian.....	65
Lampiran F. Foto prosedur penelitian.....	68
Lampiran G. Foto hasil penelitian.....	70
Lampiran H. Data hasil pengukuran diameter zona hambat.....	72
Lampiran I. Analisis data.....	73

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Hasil Riset Kesehatan Daerah (Riskesdas) di Indonesia pada tahun 2018 melaporkan, tingginya persentase masalah kesehatan gigi dan mulut yaitu sebesar 57,6% (Kemenkes, 2018). Salah satu masalah kesehatan gigi dan mulut yang memiliki prevalensi tinggi setelah karies adalah penyakit periodontal (Wahyukundari, 2009). Insiden penyakit periodontal penduduk Indonesia memiliki prevalensi yang cukup tinggi yaitu mencapai 96,58% (Tambunan *et al.*, 2015).

Penyakit periodontal merupakan suatu respons inflamasi terhadap bakteri pada jaringan pendukung gigi yang meliputi gingiva, ligamen periodontal, sementum, dan tulang alveolar. Tahap awal penyakit periodontal dimulai dari peradangan pada gusi (gingivitis) dan bila tidak dilakukan perawatan akan berkembang menjadi periodontitis. Gambaran klinis gingivitis adalah munculnya warna kemerahan pada margin gingiva, terdapat akumulasi plak dan kalkulus, tidak adanya kehilangan perlekatan, perdarahan pada gusi, dan perubahan konsistensi serta tekstur gingiva. Periodontitis dijumpai adanya akumulasi plak dan kalkulus pada supragingiva serta subgingiva, terdapat kehilangan perlekatan sehingga terbentuknya poket periodontal, perdarahan saat *probing*, kegoyangan gigi, sampai dapat terjadinya kehilangan gigi (Newman *et al.*, 2019).

Faktor etiologi primer dari penyakit periodontal adalah bakteri plak (Nield-Gehrig dan Willmann, 2011). Plak gigi merupakan deposit lunak yang melekat pada permukaan gigi atau permukaan keras dalam rongga mulut termasuk restorasi tetap dan sementara. Kandungan plak disusun oleh mikroorganisme sekitar 70-80% dan sisanya berupa matriks intraseluler yang meliputi bahan organik dan anorganik yang berasal dari saliva, cairan krevikular gingiva, dan produk bakteri (Newman *et al.*, 2019).

Plak mengandung kumpulan mikroorganisme seperti *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema forsythia*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*,

Treponema denticola, dan *Prevotella intermedia* yang merupakan periodontal patogen. Diantara periodontal patogen tersebut, *P. gingivalis* menjadi salah satu “key pathogen” pada penyakit periodontal karena mempunyai peranan yang sangat kuat dalam proses inisiasi penyakit periodontal (Newman *et al.*, 2019; Popova *et al.*, 2013). Bakteri ini terkandung dalam 85,75% pada plak subgingiva pasien periodontitis kronis (How *et al.*, 2016).

Periodontal patogen memiliki banyak faktor virulensi untuk meningkatkan kolonisasi dan menyebabkan kerusakan jaringan secara langsung atau dengan aktivasi respon inflamasi (Eid *et al.*, 2017). Oleh karena itu, perlu dilakukan upaya untuk menghambat maupun membunuh pertumbuhan bakteri yaitu dengan menggunakan antibiotik (Krismariono, 2009). Antibiotik merupakan zat yang dihasilkan oleh suatu mikroorganisme (bakteri, fungi, aktinomicetes) yang mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme jenis lain (Suardi, 2014). Penggunaan antibiotik dalam perawatan penyakit periodontal dapat dilakukan secara sistemik maupun lokal (Krismariono, 2009). Penggunaan secara lokal yaitu pada poket periodontal selain untuk membunuh periodontal patogen, juga dapat mengurangi konsumsi obat secara berkesinambungan (Setiawan *et al.*, 2013).

Salah satu antibiotik yang sering digunakan dalam perawatan penyakit periodontal secara lokal adalah *metronidazole gel*. *Metronidazole* mempunyai sifat bakterisid yang efektif terhadap bakteri anaerob yang menyebabkan penyakit periodontal seperti *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *Brotella forsythus*, *Falsiferum nucleatum*, dan sebagainya (Setiawan *et al.*, 2013). Pemberian antibiotik *metronidazole* yang kurang tepat dan berlebihan dapat mengakibatkan bakteri *P. gingivalis* resisten terhadap antibiotik yang telah diberikan (Sapara *et al.*, 2016).

Resistensi *P. gingivalis* terhadap obat antibiotik memungkinkan penggunaan obat dari bahan alam (herbal) yang memiliki daya antibakteri sebagai salah satu alternatif lain (Sapara *et al.*, 2016). Herbal merupakan tanaman yang mengandung senyawa kimia alami yang memiliki efek farmakologis dan bioaktivitas terhadap

penyakit infeksi sampai penyakit degeneratif (Suryanto dan Setiawan, 2013). *World Health Organization* (WHO) merekomendasikan penggunaan obat herbal dalam pemeliharaan, pencegahan, dan pengobatan kesehatan masyarakat (Agustina, 2016).

Salah satu tanaman yang berkhasiat obat adalah tanaman ketumbar (*Coriandrum sativum L.*) (Moradian *et al.*, 2013). Selama ini bagian tanaman ketumbar yang banyak dimanfaatkan adalah biji ketumbar yang biasanya digunakan sebagai bahan rempah-rempah dan bumbu masakan (Elshabrina, 2013). Di samping itu, biji ketumbar memiliki khasiat sebagai pengobatan hipoglikemi, antiinflamasi, antioksidan, dan antimikroba terhadap bakteri dan jamur (Pawar *et.al.*, 2013). Komposisi yang terkandung di dalam biji ketumbar meliputi, mineral, protein, lemak, pentosans, gula, dan minyak atsiri (Diederichsen, 1996).

Kandungan minyak atsiri pada biji ketumbar berkisar 1,17% yang diperoleh dari proses ekstraksi pelarut etanol. Komponen utama dalam minyak atsiri tersebut yaitu *linalool* yang berjumlah sekitar 60-70%, dengan komponen pendukung lainnya (Handayani dan Juniarti, 2012). Kandungan *linalool* memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif dengan mekanisme merusak membran sel bakteri sehingga menyebabkan kematian bakteri (Silva *et al.*, 2011).

Hasil penelitian dari Zardini *et al.* (2012) menunjukkan bahwa terdapat aktifitas antibakteri dari minyak biji ketumbar terhadap Gram positif *Staphylococcus aureus*, serta dua bakteri Gram negatif yaitu *Klebsiella pneumonia* dan *Pseudomonas*. Aktifitas antibakteri tersebut dilihat dari konsentrasi hambat minimum (KHM) yang telah diperoleh berturut-turut sebanyak 1,3%, 2,65%, dan 3,2%. Penelitian lain juga telah menguji aktifitas antibakteri dari minyak biji ketumbar terhadap *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguis*, dan *Lactobacilli*; yang diukur dari diameter zona hambat yaitu berturut-turut sebesar 25 mm, 20 mm, dan 19 mm (Pawar *et al.*, 2013).

Hingga saat ini belum terdapat penelitian yang menguji daya antibakteri ekstrak minyak atsiri biji ketumbar terhadap *P. gingivalis*. Berdasarkan uraian tersebut, penulis tertarik untuk menguji daya hambat ekstrak minyak atsiri biji ketumbar

terhadap pertumbuhan *P. gingivalis* dalam beberapa konsentrasi (100%, 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25%).

1.2 Perumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas dapat dirumuskan masalah sebagai berikut:

1. Apakah ekstrak minyak atsiri biji ketumbar mempunyai daya hambat terhadap pertumbuhan *P. gingivalis* ?
2. Berapakah konsentrasi ekstrak minyak atsiri biji ketumbar yang mempunyai kemampuan menghambat terbesar terhadap pertumbuhan *P. gingivalis* ?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui daya hambat ekstrak minyak atsiri biji ketumbar terhadap pertumbuhan *P. gingivalis*.
2. Untuk mengetahui konsentrasi ekstrak minyak atsiri biji ketumbar yang memiliki daya hambat terbesar terhadap pertumbuhan *P. gingivalis*.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Memberikan informasi tentang daya hambat minyak atsiri biji ketumbar terhadap pertumbuhan *P. gingivalis*.
2. Memberikan informasi tentang bahan alternatif alami yang bersifat antibakteri terutama terhadap bakteri patogen penyebab penyakit periodontal.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Penyakit Periodontal

Penyakit periodontal merupakan penyakit inflamasi pada jaringan pendukung gigi, meliputi gingiva, sementum, ligamen periodontal, serta tulang alveolar. Penyakit yang paling sering terjadi pada jaringan periodontal adalah gingivitis dan periodontitis (Chauhan *et al.*, 2012). Gingivitis adalah inflamasi pada gingiva tanpa adanya kehilangan perlekatan, tampak tanda-tanda peradangan pada gingiva seperti warna kemerahan pada margin gingiva (Gambar 2.1 a), perdarahan pada gingiva, dan perubahan konsistensi serta tekstur gingiva. Sedangkan pada periodontitis sudah terjadi kehilangan perlekatan, yang ditandai dengan terbentuknya poket periodontal, resesi gingiva (Gambar 2.1 b), dan kegoyangan gigi (Newman *et al.*, 2019). Apabila penyakit tersebut tidak dilakukan perawatan yang tepat dapat mengakibatkan gigi tanggal (Tani *et al.*, 2017).



Gambar 2.1 Gambaran klinis penyakit periodontal. (a) Gingivitis (b) Periodontitis (Newman *et al.*, 2019).

Timbulnya penyakit periodontal disebabkan karena adanya berbagai faktor. Bakteri plak merupakan faktor etiologi primer yang menginduksi proses inflamasi pada jaringan periodontal (Al-Ghutaimel *et al.*, 2014). Plak gigi merupakan deposit lunak yang melekat pada permukaan gigi atau permukaan keras lain dalam rongga mulut termasuk restorasi permanen atau sementara. Komponen utama plak gigi tersusun oleh mikroorganisme. Satu gram plak (berat basah) mengandung kira-kira

10^{11} bakteri. Lebih dari 400 spesies bakteri teridentifikasi pada plak yang terdiri dari bakteri aerob dan anaerob (Newman *et al.*, 2019).

Kolonisasi bakteri yang ditemukan pada plak menunjukkan adanya bakteri Gram negatif tertentu pada penyakit periodontitis spesifik seperti periodontitis kronis (Sapara *et al.*, 2016). Salah satu bakteri yang dominan pada penyakit periodontitis kronis yang terdapat pada plak subgingiva adalah *P. gingivalis* (Alibasyah *et al.*, 2018). Hasil penelitian Habasneh *et al.* (2014) menunjukkan bahwa prevalensi *P. gingivalis* pada periodontitis kronis yaitu mencapai 96,2%. Bakteri ini memproduksi berbagai faktor virulensi yaitu, fimbria, kapsul, polisakarida, lipopolisakarida, dan hemolisis yang bersifat patogen di rongga mulut (Alibasyah *et al.*, 2018).

2.2 *Porphyromonas gingivalis*

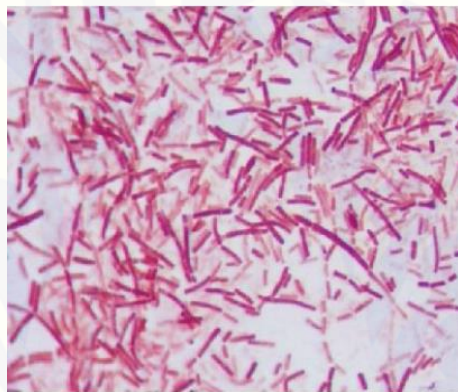
Menurut Collins *et al.* (1988), secara taksonomis *P. gingivalis* diklasifikasikan sebagai berikut:

<i>Kingdom</i>	: <i>Eubacteria</i>
<i>Superphylum</i>	: <i>Bactroidetes/Chlorabi group</i>
<i>Phylum</i>	: <i>Bacteroidetes</i>
<i>Class</i>	: <i>Bacteroides</i>
<i>Ordo</i>	: <i>Bacteroidales</i>
<i>Family</i>	: <i>Porphyromonadaceae</i>
<i>Genus</i>	: <i>Porphyromonas</i>
<i>Species</i>	: <i>Porphyromonas gingivalis</i>

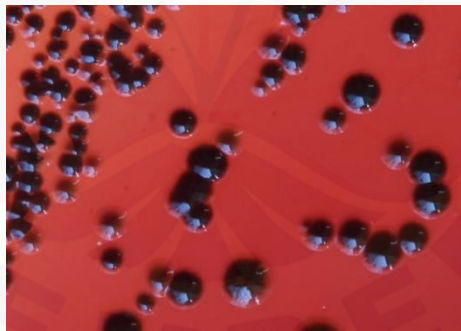
2.2.1 Morfologi *Porphyromonas gingivalis*

P. gingivalis merupakan bakteri anaerob Gram negatif yang tidak berspora (*non-spore forming*), tidak memiliki alat gerak (*non motile*), dan berbentuk *coccobacilli* dengan panjang 0,5-2 μ . Pada pewarnaan Gram *P. gingivalis* berwarna merah yang menunjukkan bahwa bakteri ini termasuk golongan bakteri Gram negatif

(Gambar 2.2) (Fitriyana *et al.*, 2013). Koloni bakteri ini bila terdapat pada agar darah membentuk diameter 1-2 mm, tampak halus dan mengkilat, yang bagian tengahnya menunjukkan gambaran lebih gelap karena produksi *protoheme*, yaitu suatu substansi yang bertanggung jawab terhadap warna khas koloni (Gambar 2.3) terkadang warna koloni berubah menjadi hitam akibat produksi yang berlebih (Kusumawardani *et al.*, 2010).



Gambar 2.2 Pemeriksaan *P. gingivalis* secara mikroskopis perbesaran 1000x (Fitriyana *et al.*, 2013)



Gambar 2.3 Koloni *P. gingivalis* pada media agar darah (Nakayama, 2015).

2.2.2 Metabolisme *Porphyromonas gingivalis*

Pertumbuhan *P. gingivalis* dipengaruhi oleh adanya substrat *nitrogenous* seperti *trypticase*, *proteose peptone*, dan ekstrak *yeast*. Temperatur maksimal untuk pertumbuhan *P. gingivalis* adalah 37°C (Balows *et al.*, 2013). Enzim bakteri pada

plak yang mendegradasi protein *host* akan memicu produksi ammonia yang nantinya digunakan bakteri sebagai sumber nitrogen. Selain itu, hemin yang berasal dari hemoglobin *host* berperan penting dalam metabolisme bakteri (Newman *et al.*, 2019). Hemin berperan dalam proses biologis *P. gingivalis* seperti sintesis lipopolisakarida dan perlindungan stress oksidatif. Penurunan kadar hemin dapat mengakibatkan penurunan ekspresi gen protein yang terlibat dalam metabolisme energi (Bergman *et al.*, 2014).

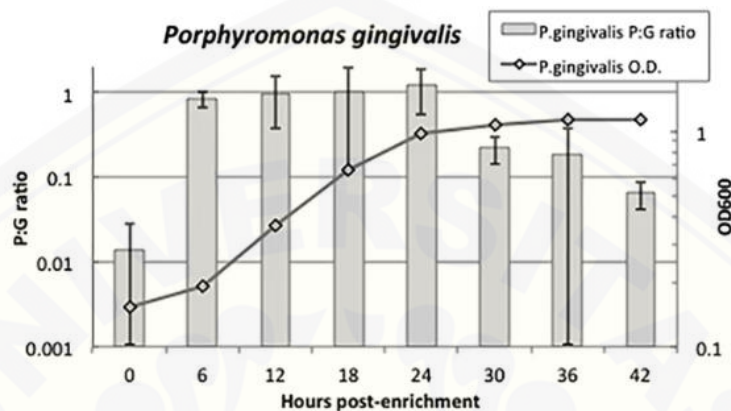
2.2.3 Fase Pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*

Pertumbuhan mikroba dapat ditandai dengan adanya peningkatan jumlah dan massa sel, sedangkan kecepatan pertumbuhan tergantung lingkungan fisik dan kimianya. Menurut Pelczar dan Chan (2008) pertumbuhan bakteri terdiri atas beberapa fase antara lain:

- a. Fase lamban atau lag yaitu fase dimana tidak adanya penambahan populasi, sel mengalami penambahan dalam jumlah komposisi kimiawi dan bertambahnya ukuran.
- b. Fase logaritma atau eksponensial yaitu sel membelah dengan laju yang konstan, aktivitas metabolik yang konstan, keadaan pertumbuhan yang seimbang, dan massa menjadi dua kali lipat dengan laju yang sama.
- c. Fase stasioner yaitu ditandai dengan kurva pertumbuhan menjadi statis karena diproduksi senyawa atau produk racun yang menyebabkan beberapa sel mati sedangkan yang lain tumbuh dan membelah sehingga jumlah sel yang hidup tetap. Selain itu, dapat terjadi karena habisnya nutrisi yang dibutuhkan oleh bakteri dalam pertumbuhannya.
- d. Fase kematian atau penurunan pertumbuhan yaitu ditandai dengan sel-sel bakteri menjadi lebih cepat mati daripada terbentuknya sel-sel baru.

Pertumbuhan bakteri diamati dengan cara mengukur *optical density* (OD) pada panjang gelombang 660 nm dengan alat spektrofotometer. Berikut ini merupakan

kurva pertumbuhan *P. gingivalis* yang diukur dalam jangka waktu 42 jam (Gambar 2.4).



Gambar 2.4 Kurva pertumbuhan strain *P. gingivalis* (Spooner *et al.*, 2016).

2.2.4 Invasi dan Virulensi *Porphyromonas gingivalis*

P. gingivalis merusak jaringan dengan interaksi langsung antara bakteri dan sel *host*. Ketika berinteraksi langsung dengan epitel di sulkus periodontal, *P. gingivalis* mampu menyerang berbagai jaringan *host* termasuk tulang alveolar (Samaranayake, 2011). Bakteri ini memproduksi faktor-faktor virulensi yang berperan dalam penetrasi gingiva serta menyebabkan destruksi secara langsung maupun tidak langsung melalui inflamasi (Hajishengallis *et al.*, 2012). Secara garis besar, faktor virulensi *P. gingivalis* diklasifikasikan menjadi dua kategori. Pertama, meningkatkan koloni dan invasi bakteri pada tubuh *host* seperti adhesin, kapsul, lipopolisakarida, dan sebagainya. Kedua, faktor yang sifatnya merusak sel *host*, yaitu endotoksin, kolagenase, proteolitik, dan induksi mediator peradangan (Praharani *et al.*, 2015).

Kontak langsung antara agen infeksius seperti *P. gingivalis* dengan sel *host* diawali adanya proses adhesi (perlekatan). Proses ini berperan penting untuk terjadinya kolonisasi, invasi sampai timbulnya suatu infeksi penyakit (Praharani *et al.*, 2015). Perlekatan *P. gingivalis* dibantu oleh berbagai faktor virulensi yang

berhubungan dengan destruksi jaringan dan mekanisme pertahanan terhadap *host*, yang meliputi :

- a. Lipopolisakarida (LPS) merupakan molekul yang tersusun dari komponen lipid dan polisakarida. Molekul ini ditemukan pada membran luar bakteri. Pada membran luar sel *host* terdapat TLRs (*tool like reseptors*) yang akan mengenali lipopolisakarida sehingga memicu respons inflamasi pada jaringan periodontal, meliputi vasodilatasi pembuluh darah, kemotaksis, hingga pelepasan sitokin dan proinflamasi. Oleh karena itu, lipopolisakarida menjadi kunci utama dalam menginisiasi respons inflamasi pada jaringan periodontal (Newman *et al.*, 2019).
- b. *Fimbriae* pada *P. gingivalis* dapat menstimulasi sitokin IL-6 (*interleukin-6*) dan berinteraksi dengan CR-3 (*complement receptors-3*) untuk menghambat produksi IL-12 yang berperan penting dalam aktivasi dari sel NK (*natural killer*) dan CD8⁺ (*cluster of differentiation 8⁺*). Hal tersebut mengakibatkan proses pembunuhan *P. gingivalis* menjadi terhambat. Salah satu komponen struktur pada *fimbriae*, yaitu FimA mampu menstimulasi NF (*nuclear factor*) dan IL-8. Oleh karena itu, *fimbriae* bakteri berperan penting dalam memicu dan mengganggu sistem imun *host* (Newman *et al.*, 2019).
- c. Hemaglutinin akan menginisiasi kolonisasi dengan cara menjadi perantara dalam proses pengikatan bakteri dengan reseptor (biasanya oligosakarida) pada sel *host*. Bakteri ini membutuhkan hemin untuk pertumbuhan, maka ikatannya dengan eritrosit sel tubuh manusia juga memberikan fungsi nutrisi (Iriano, 2008).
- d. Protease yang diproduksi oleh *P. gingivalis* mampu dalam merusak struktur protein pada jaringan periodontal seperti kolagen, fibronektin, dan elastin. Bakteri ini memproduksi dua protease yang disebut *gingipain*, yaitu *lysine spesifik gingipain* (Kgp) dan *arginin spesifik gingipain* (RgpA dan RgpB). Fungsi *gingipain* dalam penyakit periodontal antara lain; memodulasi sistem imun dan mengganggu respons inflamasi, menginaktifkan TNF- α (*tumor necrosis factor alpha*), dan meningkatkan sekresi sitokin melalui PARs (*protease activated*

receptors). Hal tersebut mengakibatkan *gingipain* berpotensi dalam meningkatkan kerusakan jaringan periodontal (Newman *et al.*, 2019).

2.3 Tanaman Ketumbar

Ketumbar diduga berasal dari Eropa Timur kemudian menyebar ke India, Marocco, Pakistan, Rumania, dan Rusia (Sari, 2012). Di beberapa daerah, ketumbar disebut dengan *dhanya* di India, Rumania menyebutnya dengan *coriándru*, sementara Rusia menyebutnya *koriandr*. India merupakan produsen, konsumen, dan ekspor terbesar di dunia (Bhat *et al.*, 2013).

2.3.1 Klasifikasi Tanaman Ketumbar

Tanaman ketumbar merupakan tanaman herbarium dengan tatanan taksonomi sebagai berikut (Cronquist, 1981):

<i>Kingdom</i>	: <i>Plantae</i>
<i>Division</i>	: <i>Magnoliophyta</i>
<i>Class</i>	: <i>Magnoliopsida</i>
<i>Subclass</i>	: <i>Rosidae</i>
<i>Ordo</i>	: <i>Apiales</i>
<i>Family</i>	: <i>Apiaceae</i>
<i>Genus</i>	: <i>Coriandrum</i>
<i>Species</i>	: <i>Coriandrum sativum L.</i>

2.3.2 Habitat Tanaman Ketumbar

Tanaman ketumbar dapat beradaptasi dengan baik pada berbagai kondisi lingkungan sehingga cocok dibudidayakan di dataran rendah sampai dataran tinggi (pegunungan), yaitu pada ketinggian antara 1-2.000 m dari permukaan laut (dpl). Sebagian besar tanaman ini dibudidayakan dari bijinya sepanjang tahun (Baht *et al.*, 2013). Kondisi iklim yang ideal untuk budidaya tanaman ketumbar adalah pada musim dingin serta tidak terlalu terkena terpaan hujan. Pada dasarnya tanaman ini

dapat tumbuh di berbagai jenis tanah yaitu tanah-tanah medium sampai berat. Jenis tanah yang paling cocok bagi tanaman ini adalah tanah lempung yang mengandung kapur dan bersifat basa. Kondisi tanah yang optimal bagi tanaman ketumbar adalah tanah yang subur, berdrainase baik, dan lembab (Sari, 2012).

2.3.3 Morfologi Tanaman Ketumbar

Secara morfologis tanaman ini memiliki tinggi sekitar 20-140 cm dengan batang ramping, bergantung pada kondisi *agrocimatic* di daerah tersebut (Gambar 2.5 a). Daunnya berbentuk bujur dan sedikit melengkung dan linear pada bagian atasnya. Bunga dari tanaman ketumbar berukuran kecil, memiliki tangkai pendek, berwarna putih, dan tersusun dalam kelompok, masing-masing terdiri dari 5 kuntum bunga. Bentuk kelopak bunga ketumbar pada bagian luarnya lebih besar dibandingkan dengan bagian dalam (Gambar 2.5 b) (Sahib *et al.*, 2012).

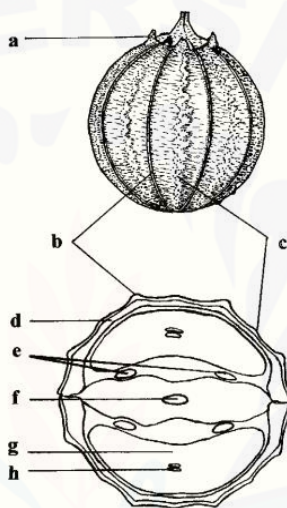


Gambar 2.5 Tanaman ketumbar. (a) Batang ketumbar (b) Bunga ketumbar (Sahib *et al.*, 2012)

Biji ketumbar memiliki bentuk bulat atau oval dengan ukuran sekitar 1,5-2,2 mm, berwarna kuning kecoklatan, dan sedikit menonjol seperti bentukan kerucut pada bagian atasnya (Gambar 2.6). Biji ketumbar terdiri dari dua bagian yaitu lapisan kulit terluar (*mericarp*) dan lapisan dinding biji (*pericarp*), dengan diameter bisa mencapai 6 mm (Gambar 2.7) (Diederichsen, 1996).



Gambar 2.6 Biji ketumbar (Sahib *et al.*, 2012).



Gambar 2.7 Bagian dari biji ketumbar. (a) *Stylopodium* (b) *Mericarp* (c) *Mericarp* (d) *Pericarp* (e) *Vita* (f) *Carpophor* (g) *Endosperm* (h) Embrio (Diederichsen, 1996).

2.4 Biji Ketumbar

2.4.1 Manfaat Biji Ketumbar

Biji ketumbar memiliki efek farmakologi, diantaranya sebagai pengobatan hipoglikemi, anti inflamasi, antioksidan, dan antimikroba terhadap bakteri dan jamur (Pawar *et al.*, 2013). Adapun manfaat dari minyak atsiri biji ketumbar antara lain dapat digunakan sebagai bahan baku parfum, aroma makanan, bahan dasar lilin, peptisida maupun insektisida (Handayani dan Juniarti, 2012). Pada konsentrasi tinggi, minyak atsiri dapat digunakan sebagai anestetik lokal, antibakteri, dan antijamur yang kuat (Pratama *et al.*, 2016).

2.4.2 Kandungan Biji Ketumbar

Biji ketumbar mengandung berbagai macam mineral. Mineral yang banyak terkandung pada biji ketumbar adalah kalsium, fosfor, magnesium, potasium, dan besi. Kalsium selain berperan sebagai mineral tulang, juga berperan menjaga tekanan darah agar tetap normal. Fosfor berperan dalam pembentukan dan pertumbuhan tulang. Fosfor juga mampu menjaga keseimbangan asam dan basa tubuh. Magnesium merupakan mineral yang berperan dalam metabolisme kalsium dan potasium, serta membantu kerja enzim dalam metabolisme energi. Potasium membantu keseimbangan cairan elektrolit dalam tubuh. Besi merupakan mineral yang dibutuhkan dalam pembentukan sel darah merah, hemoglobin, dan mioglobin otot (Astawan, 2016).

Vitamin yang banyak terkandung dalam biji ketumbar adalah vitamin C dan B. Vitamin C berperan sebagai antioksidan. Antioksidan mampu mencegah dan mengurangi bahaya yang ditimbulkan radikal bebas. Niasin adalah salah satu jenis vitamin B yang berperan penting dalam proses metabolisme tubuh, terutama metabolisme karbohidrat, protein, dan lemak menjadi bentuk energi yang dapat digunakan oleh tubuh (Sari, 2012). Kandungan vitamin dan mineral yang dimiliki biji ketumbar ini sangat berkhasiat sebagai stimulan atau membantu meningkatkan kesegaran tubuh (Astawan, 2016). Kandungan kimia terbesar dari biji ketumbar yaitu 1,1% minyak atsiri. Minyak atsiri pada biji ketumbar terletak di dalam bagian *vitae* yang berbentuk cembung dan membujur dan memiliki bau yang khas (Diederichsen, 1996).

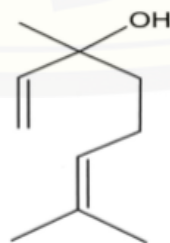
2.5 Minyak Atsiri Biji Ketumbar

Minyak atsiri adalah zat berbau yang terkandung dalam tanaman. Minyak ini dikenal dengan sebutan minyak eteris atau minyak esensial. Keberadaan minyak atsiri terutama ditemukan pada tumbuhan famili *Piperaceae*, *Umbelliferae*, *Pinaceae*, *Rutaceae*, dan *Corniferae* (Gunawan dan Mulyani, 2010).

Keadaan segar dan murni pada minyak atsiri umumnya tidak berwarna, namun pada penyimpanan yang lama minyak atsiri mudah menguap pada suhu kamar dan membentuk resin serta warnanya berubah menjadi lebih gelap. Untuk mencegah supaya tidak terjadinya perubahan warna, minyak atsiri harus terlindungi dari pengaruh cahaya, dengan cara disimpan dalam bejana gelas berwarna gelap. Bejana tersebut diisi se penuh mungkin sehingga tidak memungkinkan berhubungan langsung dengan oksigen udara, ditutup rapat serta disimpan di tempat yang dingin dan sejuk (Gunawan dan Mulyani, 2010).

Minyak atsiri terbagi dalam 3 kelompok besar sesuai dengan susunan kimiawinya yaitu, terpena, terpenoid, dan fenilpropana. Terpena merupakan rantai hidrokarbon yang terbentuk dari kombinasi beberapa unit isopren. Terpenoid merupakan terpena yang telah tersubstitusi molekul oksigen atau terpena yang telah kehilangan gugus metil. Golongan terpenoid terdiri atas beberapa macam senyawa, salah satunya yaitu monoterpenoid linalool. Fenilpropana merupakan senyawa yang mengandung suatu gugus fenol aromatik dengan 6 karbon dan suatu rantai propana dengan 3 karbon (Nazzaro *et al.*, 2013).

Kadar minyak atsiri dalam biji ketumbar adalah sekitar 0,4%-1,1% (Handayani dan Juniarti, 2012). Analisis dengan *Gas Chromatography-Mass Spectroscopy* (GCMS), ekstrak minyak atsiri biji ketumbar mengandung senyawa linalool (73,11%) (Gambar 2.8), *p-mentha-1,4-dien-7-ol* (6,51%), *γ-terpinen* (5,30%), dan *α-pinene* (3,41%). Monoterpenoid linalool merupakan kelompok terbanyak yang ditemukan dalam minyak atsiri biji ketumbar sekitar 65-70% (Zoubiri dan Baaliouamer, 2010; Handayani dan Juniarti, 2012).



Gambar 2.8 Rantai kimia linalool (Silva *et al.*, 2015)

Linalool (*3,7-dimethyl-1,6-octadien-3-ol*) termasuk senyawa terpenoid berbentuk cair, tidak berwarna, beraroma wangi, dan mempunyai rumus empiris $C_{10}H_{18}O$. Senyawa linalool dimanfaatkan sebagai komponen yang menentukan intensitas aroma harum, sehingga minyak atsiri biji ketumbar dapat digunakan untuk bahan baku parfum (Handayani dan Juniarti, 2012). Selain itu, linalool diketahui memiliki daya antibakteri, antijamur, antioksidan, dan antianxietas (Sokovic *et al.*, 2010).

Beberapa penelitian terdahulu telah dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibakteri pada minyak atsiri biji ketumbar terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif aerob maupun anaerob. Ekstrak minyak atsiri biji ketumbar menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap beberapa bakteri patogen antara lain *Streptococcus salivarius* (25 mm), *Streptococcus sanguis* (20 mm), *Lactobacilli acidophilus* (19 mm) (Pawar *et al.*, 2013). Menurut penelitian oleh Zardini *et al.* (2012) minyak atsiri biji ketumbar memiliki aktifitas antibakteri yang dilihat dari konsentrasi hambat minimum (KHM) terhadap bakteri Gram positif yaitu *Staphylococcus aureus* (1,3%), serta dua bakteri Gram negatif yaitu *Klebsiella pneumonia* (2,65%) dan *Pseudomonas* (3,2%).

Senyawa golongan terpenoid yang memiliki aktivitas antibakteri seperti, monoterpenoid linalool, diterpenoid, triterpenoid saponin, dan triterpenoid glikosida (Gunawan *et al.*, 2010). Aktivitas kerja senyawa terpenoid dalam menghambat atau membunuh bakteri diperoleh dengan cara merusak membran luar dinding sel bakteri dan membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin (pintu keluar masuknya substansi pada sel). Rusaknya porin akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri yang mengakibatkan pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Rahmawati, 2012; Widowati *et al.*, 2014).

2.5.1 Metode Isolasi Minyak Atsiri

Penyulingan (*destilasi*) merupakan metode isolasi minyak atsiri yang paling sering digunakan. Menurut Direktorat Jenderal Perkebunan (2012) terdapat tiga macam metode penyulingan minyak atsiri yaitu sebagai berikut:

a. Penyulingan dengan air (*water destilation*)

Pada penyulingan dengan air, bahan yang akan disuling kontak langsung dengan air mendidih (direbus). Bahan tersebut mengapung di atas air atau terendam secara sempurna tergantung dari bobot jenis dan jumlah bahan yang disuling. Metode ini cocok digunakan untuk bahan-bahan yang berbentuk tepung dan bunga-bunga yang mudah menggumpal jika dikenai panas. Metode ini kurang cocok untuk bahan-bahan yang mudah larut dalam air. Minyak yang dihasilkan dari penyulingan dengan air relatif kurang baik mutunya karena adanya kontak langsung antara bahan dengan air yang cenderung mengakibatkan hidrolisis bahan-bahan ester pembentuk minyak atsiri. Waktu yang diperlukan untuk penyulingan dengan air relatif lebih lama dibandingkan dengan metode penyulingan yang lain. Metode penyulingan ini sudah jarang digunakan kecuali untuk bahan-bahan yang tidak dapat disuling dengan penyulingan uap air dan penyulingan uap.

b. Penyulingan dengan uap air (*water and steam destilation*)

Pada penyulingan uap air, bahan yang akan disuling terletak pada rak/saringan berlubang yang berada di atas air yang mendidih (dikukus). Bahan yang akan disuling hanya berhubungan dengan uap dan tidak berhubungan dengan air panas. Ciri khas penyulingan adalah uap selalu dalam keadaan basah/jenuh dan tidak terlalu panas sehingga peristiwa gosong dapat dihindari. Metode penyulingan ini cocok untuk bahan-bahan berupa rumput, biji, dan daun-daunan. Dibandingkan dengan penyulingan air, metode penyulingan ini lebih unggul karena proses dekomposisi minyak (hidrolisa ester, polimerisasi, dan resinifikasi) lebih kecil. Selain itu, lebih efisien karena jumlah bahan bakar lebih sedikit,

waktu penyulingan lebih singkat, dan rendemen minyak yang dihasilkan lebih tinggi. Keuntungan metode penyulingan ini antara lain konstruksi alat sederhana, mudah dirawat, serta biaya pengoperasiannya rendah sehingga cocok untuk industri minyak atsiri skala kecil dan menengah. Kelemahannya yaitu jumlah uap yang dibutuhkan cukup besar. Sejumlah uap akan mengembun dalam jaringan tanaman, sehingga bahan bertambah basah, dan dapat menyebabkan penggumpalan bahan. Penggumpalan akan menghambat penetrasi uap ke dalam bahan dan dapat menyebabkan terbentuknya jalur uap yang mengakibatkan proses penyulingan kurang sempurna.

c. Penyulingan dengan uap (*steam distillation*)

Pada penyulingan dengan uap, sumber uap panas menggunakan steam boiler yang letaknya terpisah dari ketel penyuling. Cara penyulingan ini baik digunakan untuk bahan dari biji-bijian, akar atau kayu yang banyak mengandung komponen minyak yang bertitik didih tinggi. Selama proses penyulingan, suhu ketel diawasi agar tidak melampaui suhu superheated steam. Hal ini bertujuan untuk menghindari pengeringan bahan yang disuling, yang akan menyebabkan rendemen minyak rendah. Selain itu, tekanan dan suhu yang terlalu tinggi akan menguraikan komponen kimia dan dapat mengakibatkan proses resinifikasi minyak. Metode penyulingan ini kurang baik digunakan untuk bahan yang mengandung minyak atsiri yang mudah rusak oleh pemanasan, terutama minyak atsiri yang berasal dari bunga. Peralatan penyulingan dengan uap umumnya mempunyai konstruksi yang lebih rumit dengan biaya perawatan dan pengoperasiannya yang lebih mahal dibandingkan dengan metode penyulingan yang lain. Penerapan metode ini lebih cocok untuk industri minyak atsiri dalam skala yang besar.

2.6 Konsentrasi Larutan

Larutan adalah suatu campuran homogen yang terdiri dari dua atau lebih zat dalam komposisi yang bervariasi. Zat yang jumlahnya lebih sedikit di dalam larutan disebut zat terlarut, sedangkan zat yang jumlahnya lebih banyak daripada zat-zat lain dalam larutan disebut pelarut. Sifat-sifat suatu larutan sangat dipengaruhi oleh susunan komposisinya. Untuk menyatakan komposisi larutan tersebut maka digunakan istilah konsentrasi larutan (Putri *et al.*, 2017). Konsentrasi larutan adalah zat yang terlarut dalam setiap satuan larutan atau pelarut (Sudrayat, 2016).

Satuan konsentrasi dinyatakan dalam bentuk satuan fisika, seperti satuan berat dan satuan volume, atau dalam satuan kimia, seperti mol, massa rumus, dan ekuivalen yang dapat dilihat pada Tabel 2.1 (Sudrayat, 2016). Semakin besar konsentrasi suatu larutan maka semakin besar pula komponen zat aktif yang terkandung didalamnya (Sulistiyawati dan Mulyati, 2009). Perubahan nilai konsentrasi larutan dapat diperoleh dengan dilakukan proses pengenceran, yaitu mencampur larutan pekat (konsentrasi tinggi) pada pelarut agar didapatkan volume akhir yang lebih besar (Brady, 2000).

2.7 Antibakteri

Antibakteri adalah obat atau senyawa kimia yang digunakan untuk membasmi bakteri, khususnya bakteri yang bersifat patogen bagi manusia. Zat antibakteri dapat bersifat bakterisidal (membunuh bakteri) dan bakteriostatik (menghambat bakteri). Kemampuan suatu zat antibakteri dalam menghambat pertumbuhan bakteri dipengaruhi oleh berbagai faktor, diantaranya: 1) konsentrasi zat antimikroba, 2) jenis, jumlah, umur, dan keadaan mikroba, 3) suhu, 4) waktu, dan 5) sifat-sifat kimia dan fisik makanan termasuk kadar air, pH, jenis, dan jumlah komponen di dalamnya (Agustriana, 2011).

Tabel 2.1 Satuan konsentrasi

Lambang	Nama	Definisi
Satuan Fisika		
% b/b	Persen berat	$\frac{\text{gram zat terlarut}}{\text{gram larutan}} \times 100\%$
% v/v	Persen volume	$\frac{\text{ml zat terlarut}}{\text{ml larutan}} \times 100\%$
% b/v	Persen berat-volume	$\frac{\text{gram zat terlarut}}{\text{ml larutan}} \times 100\%$
ppm	Parts per million	$\frac{\text{mg zat terlarut}}{1 \text{ liter larutan}}$
ppb	Parts per billion	$\frac{\mu \text{ zat terlarut}}{1 \text{ liter larutan}}$
Satuan Kimia		
	Fraksi mol	$\frac{\text{mol zat terlarut}}{\text{mol zat terlarut} + \text{mol pelarut}}$
F	Formal	$\frac{\text{massa rumus zat terlarut}}{\text{liter larutan}}$
M	Molaritas	$\frac{\text{mol zat terlarut}}{\text{liter larutan}}$
m	Molalitas	$\frac{\text{mol zat terlarut}}{\text{liter larutan}}$
N	Normalitas	$\frac{\text{ekivalen zat terlarut}}{\text{liter larutan}}$

(Sudrajat, 2016)

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antibakteri dibedakan menjadi 4 yaitu:

1. Antibakteri yang menghambat pertumbuhan dinding sel

Mekanisme ini menyerang dinding sel bakteri. Dinding sel mengandung polimer kompleks peptidoglikan yang khas secara kimiawi, terdiri dari polisakarida dan polipeptida. Polisakarida tersebut biasanya mengandung gula amino N-asetilglukosamin dan asam muramat.

2. Antibakteri yang mengakibatkan perubahan permeabilitas membran sel

Sitoplasma sel hidup diikat oleh membran sitoplasma yang bekerja sebagai barier permeabilitas selektif, berfungsi sebagai transpor aktif sehingga mengontrol komposisi internal sel. Jika terdapat gangguan fungsional pada membran sitoplasma, maka makromolekul dan ion dapat keluar dari sel sehingga menyebabkan kerusakan atau kematian sel.

3. Antibakteri yang menghambat sintesis protein

Mekanisme ini menghambat translasi atau sintesis protein, bereaksi dengan ribosom mRNA. Mekanisme kerjanya antara lain dengan menghalangi terikatnya RNA pada ribosom, selama pemanjangan rantai peptida. Bakteri memiliki ribosom 70S sedangkan mamalia memiliki ribosom 80S. Setiap tipe ribosom, komposisi kimia, dan spesifitas fungsionalnya cukup berbeda untuk menjelaskan mengapa obat antibiotik dapat menghambat sintesis protein pada ribosom bakteri tanpa berpengaruh besar pada ribosom mamalia.

4. Antibakteri yang menghambat sintesis asam nukleat sel

Mekanisme ini bekerja dengan cara menghambat sintesis RNA atau DNA dari bakteri. Terdapat obat yang berikatan pada RNA polimerase, juga ada yang menghambat DNA-girase (Trisyanto, 2009).

Sifat antibakteri dapat dibedakan berdasarkan kekuatannya. Menurut Davis dan Stout dalam Jannata *et al.* (2014) mengklasifikasikan kekuatan daya antibakteri menjadi 4 tingkatan, yaitu lemah, sedang, kuat, dan sangat kuat. Kriteria kekuatan daya antibakteri dikatakan lemah jika diameter zona hambat 5 mm atau kurang, diameter zona hambat 5-10 mm dikategorikan sedang, diameter zona hambat 10-20 mm dikategorikan kuat, dan zona hambat 20 mm atau lebih dikategorikan sangat kuat.

2.7.1 Metode Uji Daya Hambat

Potensi suatu zat yang diduga atau telah memiliki aktivitas sebagai antibakteri dalam larutan terhadap bakteri dapat ditentukan menggunakan metode uji daya hambat (Jawetz *et al.*, 2001). Macam-macam metode uji daya hambat antara lain:

a) Metode difusi

Metode difusi dibedakan menjadi dua yaitu metode *disk diffusion* dan metode sumuran.

1) Metode *disk diffusion*

Metode uji daya antibakteri *disk diffusion* Kirby-Baurer dilakukan untuk menentukan sensitivitas atau resistensi bakteri patogen aerob dan anaerob terhadap senyawa antimikroba yang diberikan dapat menggunakan. Metode ini berisi agar Mueller-Hinton yang nantinya akan ditumbuhi oleh bakteri patogen disekitar kertas cakram yang sebelumnya telah diberikan bahan antibakteri. Kemudian bahan antibakteri tersebut mulai berdifusi ke dalam agar di sekitarnya. Tingkat difusi antibakteri melalui agar tergantung pada sifat difusi, kelarutan bahan antibakteri, dan berat molekul senyawa antibakteri (Hudzicki, 2009). Zona bening di sekitar cakram kertas menunjukkan adanya hambatan pertumbuhan bakteri oleh zat antibakteri pada permukaan media agar (Pratiwi, 2008). Keunggulan metode ini yaitu lebih mudah dilakukan dibandingkan dengan metode sumuran yang memerlukan keahlian dan ketelitian dalam pembuatan *ring* sumuran, sehingga kesalahan perlakuan dapat diminimalisir. Oleh karena itu, dengan metode ini dianggap lebih efisien terhadap waktu yang digunakan dalam penelitian (Syarifuddin *et al.*, 2014)

2) Metode *ring plate*

Metode ini serupa dengan metode *disk diffusion* yaitu menggunakan lempeng agar yang telah diinokulasikan dengan bakteri, namun pembedanya yaitu dibuat suatu lubang sumuran atau *ring*. Zat antibakteri diisi pada setiap lubang

sumuran tersebut dan diinkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai dengan mikroba uji. Hasil pengamatan metode ini dengan melihat ada atau tidaknya zona bening di sekeliling lubang sumuran (Bonang, 1992).

b) Metode dilusi

Metode dilusi dibedakan menjadi dua metode, yaitu metode dilusi cair dan metode dilusi padat.

1) Metode dilusi cair

Metode ini menggunakan sederetan tabung reaksi yang diisi dengan bakteri yang akan diuji dan zat antibakteri dalam berbagai konsentrasi. Zat antibakteri yang akan diuji aktivitasnya diencerkan sesuai serial dalam media cair, kemudian diinokulasikan dengan bakteri dan diinkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai dengan bakteri uji. Aktivitas zat ditentukan sebagai konsentrasi hambat minimal (KHM) (Pratiwi, 2008).

2) Metode dilusi padat

Metode ini serupa dengan metode dilusi cair, namun pembedanya yaitu zat antibakteri diencerkan dalam media agar padat kemudian dituangkan ke dalam cawan petri. Setelah agar membeku, diinokulasikan bakteri kemudian diinkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai dengan bakteri uji. Konsentrasi terendah dari zat antibakteri yang masih memberikan hambatan terhadap pertumbuhan bakteri ditetapkan sebagai konsentrasi hambat minimal (KHM) (Pratiwi, 2008).

2.8 Metronidazole

Metronidazole adalah antibiotika sintetik yang berasal dari *imidazole*. *Metronidazole gel* merupakan salah satu antibiotik yang paling sering digunakan untuk perawatan periodontal secara lokal karena memiliki kemampuan yang baik untuk mengatasi bakteri anaerob (Setiawan *et al.*, 2013). *Metronidazole* efektif terhadap bakteri anaerob seperti *Bacteroides*, *P. gingivalis*, *P. intermedia* dan *Fusobacterium nucleatum* (Krismariono, 2009). Penurunan koloni bakteri anaerob

menunjukkan bahwa *metronidazole* merupakan zat yang efektif terhadap infeksi bakteri anaerob pada penyakit periodontal (Tani *et al.*, 2017).

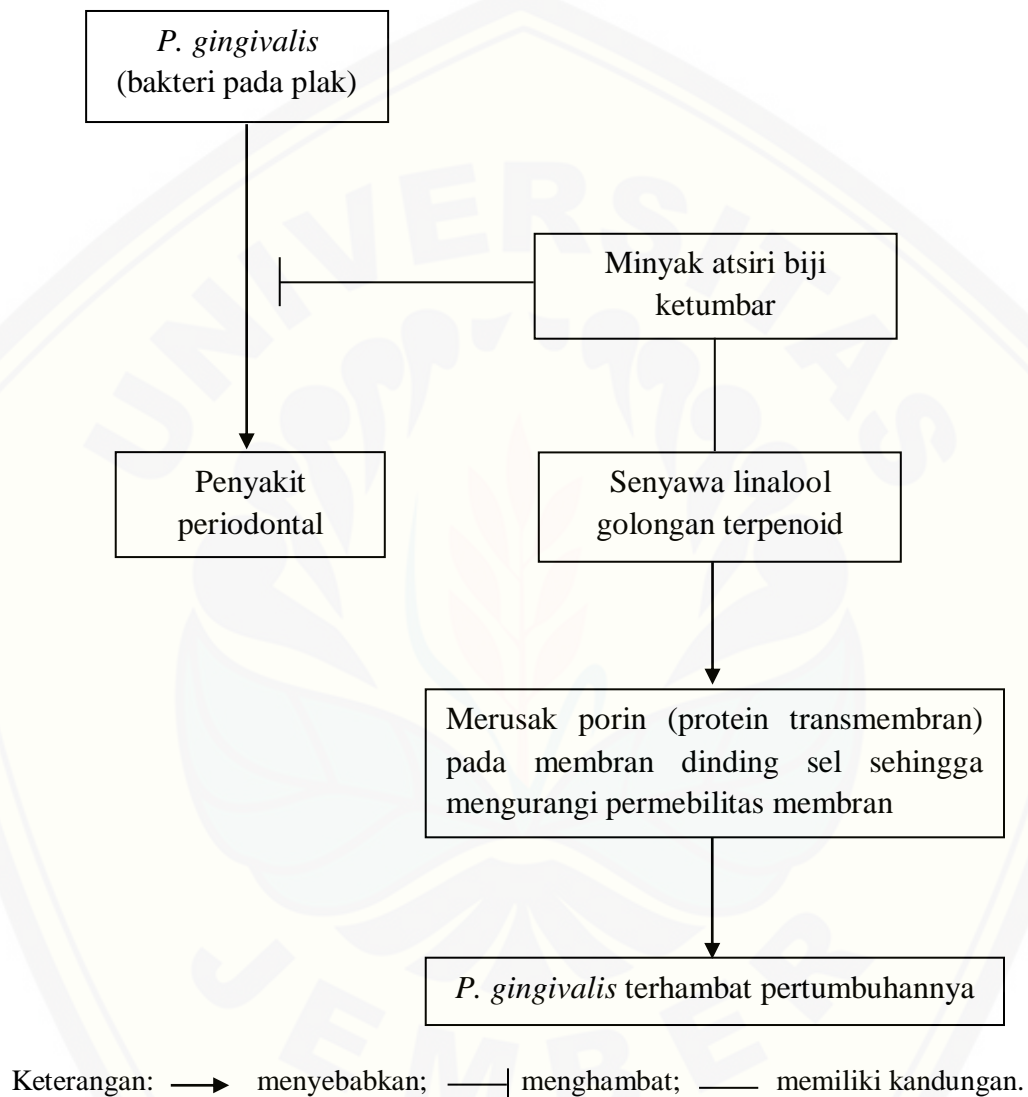
Mekanisme *metronidazole* dalam membunuh bakteri ini yaitu dengan cara masuk ke dalam mikroorganisme dan bereduksi menjadi produk polar yang menghasilkan *2-hydroxymethyl metronidazole* yang akan berikatan dengan DNA bakteri dan mengganggu struktur heliksnya, kemudian menghambat sintesis asam nukleatnya dan mengakibatkan kematian sel bakteri (Tani *et al.*, 2017). Pada penggunaan jangka panjang didapat efek samping seperti resistensi, kulit kemerahan, keluhan pusing, dan urin berwarna merah kecoklatan (Krismariono, 2009).

2.9 Kerangka Konsep

Bakteri plak merupakan penyebab utama yang menginisiasi proses inflamasi pada jaringan periodontal. Salah satu bakteri yang menimbulkan penyakit periodontal adalah *P. gingivalis* (Newman *et al.*, 2019). Oleh karena itu, untuk mencegah timbulnya penyakit periodontal, pertumbuhan bakteri ini perlu dihambat dengan antibakteri.

Antibakteri merupakan zat yang mampu membunuh (bakterisid) atau menghambat pertumbuhan bakteri (bakteriostatik). Zat ini dapat diperoleh dari bahan kimia sintetis atau dari bahan alami. Bahan alami yang berpotensi memiliki daya antibakteri dengan efek samping minimal adalah biji ketumbar. Biji ketumbar memiliki kandungan minyak atsiri sekitar 1,1% (Handayani dan Juniarti, 2012). Penyusun utama dalam minyak atsiri biji ketumbar adalah senyawa linalool yang termasuk dalam golongan terpenoid (Nazzaro *et al.*, 2013).

Mekanisme kerja antibakteri oleh senyawa terpenoid dengan cara merusak membran luar dari dinding sel bakteri dan membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin (pintu keluar masuknya substansi pada sel). Rusaknya porin akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri yang mengakibatkan bakteri mati atau terhambat pertumbuhannya (Gambar 2.9) (Rahmawati, 2012).

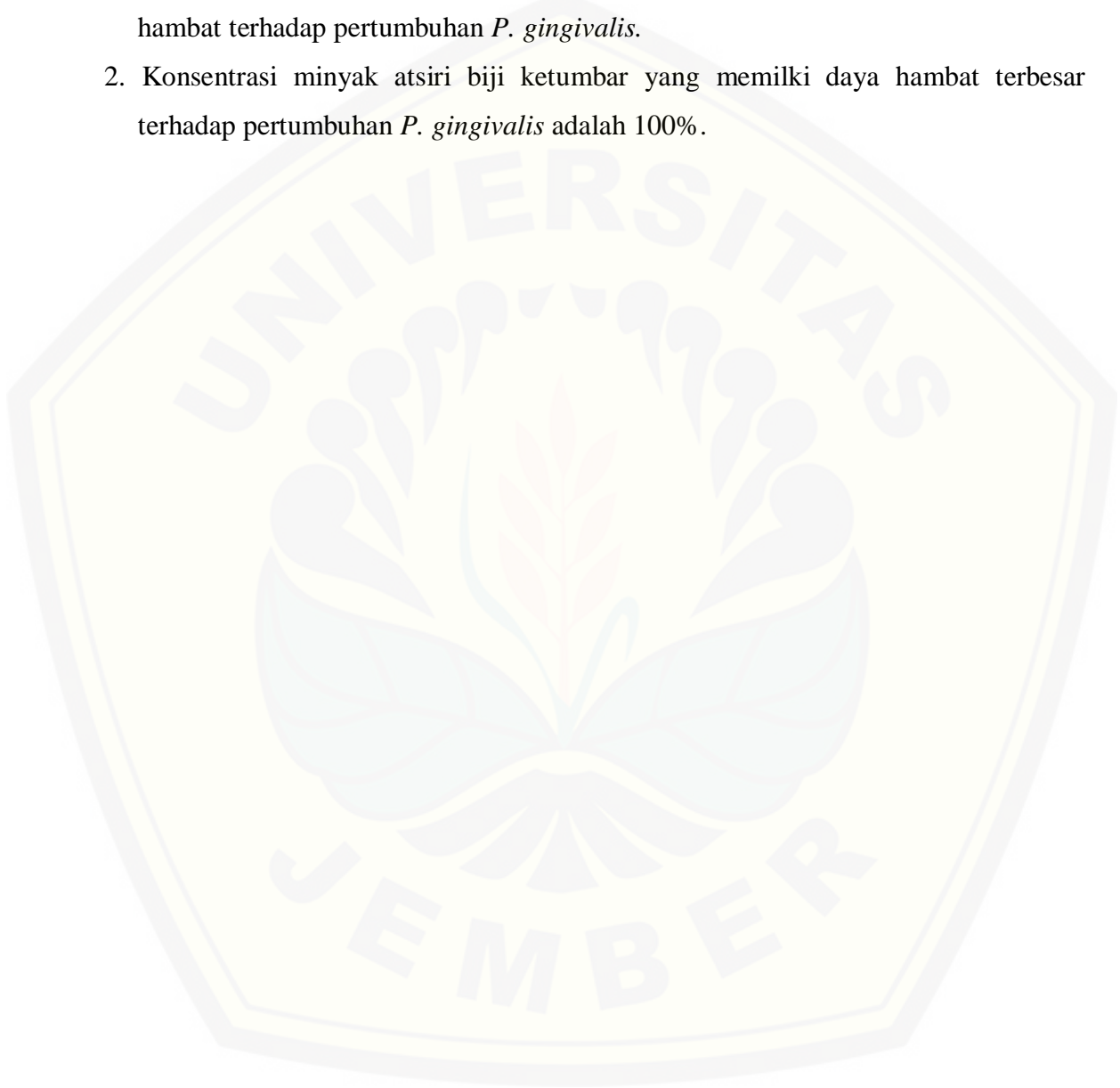


Gambar 2.9 Kerangka konsep.

2.10 Hipotesis

Hipotesis pada penelitian ini yaitu:

1. Ekstrak minyak atsiri biji ketumbar (*Coriandrum sativum L.*) memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *P. gingivalis*.
2. Konsentrasi minyak atsiri biji ketumbar yang memiliki daya hambat terbesar terhadap pertumbuhan *P. gingivalis* adalah 100%.



BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris (Notoatmodjo, 2012).

3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah *the post test only control group design* untuk mengetahui perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan dan kelompok kontrol (Sugiyono, 2009).

3.3 Tempat Penelitian dan Waktu Penelitian

3.3.1 Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Bagian Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Ekstraksi minyak atsiri dilakukan di Laboratorium Rekayasa Proses dan Pengolahan Hasil Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember.

3.3.2 Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Agustus 2019.

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak minyak atsiri biji ketumbar dengan konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25%.

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah daya hambat ekstrak minyak atsiri biji ketumbar terhadap pertumbuhan *P. gingivalis*.

3.4.3 Variabel Terkendali

Variabel terkendali dalam penelitian ini sebagai berikut:

- a. Suspensi *P. gingivalis* (0,5 Mc Farland).
- b. Media pertumbuhan *P. gingivalis* (Brain Heart Infusion/BHI).
- c. Suhu inkubasi (37°C).
- d. Lama inkubasi (24 jam).
- e. Strain *P. gingivalis* (ATCC 33277)
- f. Kriteria biji ketumbar

3.5 Definisi Operasional

3.5.1 Ekstrak Minyak Atsiri Biji Ketumbar

Ekstrak minyak atsiri biji ketumbar adalah minyak atsiri dari biji ketumbar yang diekstraksi menggunakan metode destilasi uap air (*water steam*). Destilasi uap air merupakan metode pemisahan substansi kimia yang didasarkan dari perbedaan tingkat kemudahannya untuk menguap pada suhu dan tekanan tertentu. Minyak atsiri yang didapat tersebut digunakan sebagai minyak atsiri 100%, kemudian diencerkan dengan pelarut DMSO 10% + tween 80 0,5% untuk mendapatkan konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25%.

3.5.2 *Porphyromonas gingivalis*

P. gingivalis merupakan bakteri anaerob Gram negatif yang tidak memiliki alat gerak (*non motil*), tidak berspora (*non spora forming*), berbentuk batang pendek (*cocobacillus*), dan berwarna merah/merah muda pada pemeriksaan mikroskopis.

3.5.3 Daya Hambat

Daya hambat ekstrak minyak atsiri biji ketumbar terhadap *P. gingivalis* merupakan kemampuan ekstrak minyak atsiri biji ketumbar dalam menghambat pertumbuhan *P. gingivalis* yang diuji menggunakan metode *disk diffusion*.

3.5.4 Kriteria Biji Ketumbar

Kriteria biji ketumbar yang digunakan pada penelitian ini adalah biji ketumbar siap pakai yang didapatkan dari Pasar Tradisional (Pasar Tanjung, Jember) dan telah dilakukan identifikasi (Lampiran B).

3.6 Sampel Penelitian

Sampel pada penelitian ini adalah cakram kertas yang diletakkan pada *media plate* BHI-A yang telah diinokulasi *P. gingivalis*.

3.6.1 Pembagian Kelompok Sampel Penelitian

Sampel penelitian dibagi menjadi 7 kelompok yaitu:

- a. Kelompok kontrol negatif (K-) : DMSO 10% + tween 80 0,5%
- b. Kelompok kontrol positif (K+) : *metronidazole gel* 25%
- c. Kelompok ekstrak minyak atsiri biji ketumbar konsentrasi 100% (E100)
- d. Kelompok ekstrak minyak atsiri biji ketumbar konsentrasi 50% (E50)
- e. Kelompok ekstrak minyak atsiri biji ketumbar konsentrasi 25% (E25)
- f. Kelompok ekstrak minyak atsiri biji ketumbar konsentrasi 12,5% (E12,5)
- g. Kelompok ekstrak minyak atsiri biji ketumbar konsentrasi 6,25% (E6,25)

3.6.2 Besar Sampel Penelitian

Besar sampel yang digunakan dalam penelitian ini berdasarkan rumus penghitungan jumlah sampel menurut Federer (Wahyuningrum dan Purbosari, 2012) sebagai berikut:

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

Keterangan :

n: jumlah pengulangan

t: jumlah perlakuan

Penghitungan jumlah pengulangan minimal berdasarkan rumus di atas sebagai berikut:

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

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

$$6n-6 \geq 15$$

$$6n \geq 21$$

$$n \geq 4,2$$

Hasilnya didapatkan jumlah sampel minimum (pengulangan) sebanyak 4 kali untuk setiap kelompok. Sehingga jumlah sampel keseluruhan dari 7 kelompok adalah 28 sampel.

3.7 Alat dan Bahan Penelitian

3.7.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah: *blender* (Miyako, Indonesia), *oven* (Binder, Germany), *Petridish* tidak bersekat, ose (Nikrom, Indonesia), bunsen (Pyrex, Japan), tabung reaksi (Pyrex, Japan), tabung erlenmeyer (Schoot Duran, Germany), jangka sorong (Inoki, Japan), *thermolyne* (Maxi Mix II, Dubuque, IOWA, USA), mikropipet (Eppendorf, Germany), *syringe* (OneMed, Indonesia), inkubator (Labtech, Indonesia), spektrofotometer (Milton Roy, Spectronic 20+, Germany), *laminar flow* (tipe HF-100, Korea), *autoclave* (Mettler, Germany), *desicator* (Kartell, Italy), *object glass*, *deck glass*, dan satu set alat destilasi (tabung destilasi, kondensator dan tabung pendingin balik).

3.7.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: biji ketumbar didapat dari Pasar Tanjung Jember yang telah teridentifikasi, *P. gingivalis* ATCC 33277 (Laboratorium Mikrobiologi Bagian Biomedika Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember), dimetil sulfoksida (DMSO), tween 80, *Brain Heart Infusion Broth*/BHI-B (Merck, Germany), *Brain Heart Infusion Agar*/BHI-A (Merck,

Germany), metronidazole gel 50% (Ti-Es, Indonesia), cakram kertas (*paper disk*) diameter 5 mm (Oxoid, UK) pewarna Gram, alkohol 70%, akuades steril (Otsuka, Indonesia), kertas label, kertas saring (Whatman, UK), *cotton swab*, *yellow tip*, *blue tip*, masker dan sarung tangan (One Med, Indonesia).

3.8 Prosedur Penelitian

3.8.1 Tahap Persiapan

a. Identifikasi biji ketumbar

Biji ketumbar yang didapatkan dari Pasar Tanjung Jember dilanjutkan ke UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi, Pasuruan, Jawa Timur untuk dilakukan identifikasi (Lampiran B).

b. Identifikasi *P. gingivalis*

P. gingivalis yang didapatkan dari di Laboratorium Mikrobiologi Bagian Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember untuk dilakukan identifikasi (Lampiran D).

c. Sterilisasi alat

Semua peralatan yang terbuat dari kaca dibersihkan terlebih dahulu dan disterilkan menggunakan *oven* pada suhu 160°C selama 1 jam, sedangkan alat yang terbuat dari plastik dicuci bersih dan dikeringkan kemudian diulas alkohol 70%.

d. Pembuatan kontrol positif

Kontrol positif yang digunakan pada penelitian ini adalah *metronidazole gel* 50%. Pada pengenceran kontrol kontrol positif diencerkan menjadi 25% dari sediaan. Cara pengenceran, *metronidazole gel* menggunakan akuades steril dengan perbandingan 1:1 (0,5 gram : 0,5ml).

e. Pembuatan kontrol negatif

Kontrol negatif yang digunakan pada penelitian ini adalah larutan DMSO 10% + tween 80 0,5%. Larutan DMSO pada konsentrasi 10% dan tween 80 0,5% tidak

menghambat pertumbuhan bakteri, serta digunakan sebagai larutan emulsifier pada saat pengenceran minyak atsiri (Djiuardi dan Nugraha, 2017). Larutan DMSO 10% + tween 80 0,5% dibuat berdasarkan perhitungan berikut ini:

a. Volume DMSO 10% $= \frac{10}{100} \times 4000 \mu\text{l}$
 $= 400 \mu\text{l}$

b. Volume tween 80 0,5% $= \frac{0,5}{100} \times 4000 \mu\text{l}$
 $= 20 \mu\text{l}$

c. Volume akuades steril yang dibutuhkan
 $= 4000 \mu\text{l} - (\text{Volume DMSO 10\%} + \text{volume tween 80 0,5\%})$
 $= 4000 \mu\text{l} - (400 \mu\text{l} + 20 \mu\text{l})$
 $= 3580 \mu\text{l}$

f. Pembuatan ekstrak minyak atsiri biji ketumbar

Metode ekstraksi yang digunakan adalah destilasi uap air (*water steam*). Biji ketumbar yang kering ditimbang sebanyak 5 kg. Setelah itu dihancurkan dengan *blender* sampai halus, proses pengecilan ukuran ini bertujuan agar kelenjar minyak dapat terbuka sebanyak mungkin. Kemudian bahan dibungkus dengan kertas saring. Tabung destilasi diisi air sebanyak $\frac{3}{4}$ tinggi tabung destilasi yaitu 6 liter. Biji ketumbar yang telah dibungkus dengan kertas saring diletakkan di atas saringan berlubang dalam tabung destilasi yang telah berisi air, lalu tabung ditutup rapat agar menghindari kebocoran. Kemudian tabung destilasi dihubungkan dengan kondensor dan tabung pendingin balik. Lalu kompor dinyalakan dan diatur besar kecilnya api pemanasan. Pendingin balik dialiri air kran secara terus menerus sampai proses destilasi selesai. Proses destilasi ini berjalan selama 5 sampai 6 jam. Selanjutnya uap yang timbul akibat pemanasan air akan mengalir melalui lubang-lubang loyang dan terus mengalir melewati bahan sambil membawa minyak. Kemudian uap akan dikondensasi atau dibawa ke pendingin balik agar kembali menjadi cair sehingga minyak dan air dapat

dipisahkan. Hasil minyak atsiri diambil dan dimasukkan ke tabung corong pemisah, air berada pada bagian bawah dan minyak berada di bagian atas, kran corong dibuka kecil agar airnya dikeluarkan terlebih dahulu. Setelah air habis, minyak atsiri dikeluarkan dan ditampung dalam botol gelap yang tertutup rapat kemudian disimpan dalam lemari es.

g. Pengenceran ekstrak minyak atsiri biji ketumbar

Pengenceran ekstrak minyak atsiri biji ketumbar dengan metode *serial dilution* dilakukan menggunakan larutan DMSO 10% + tween 80 0,5% untuk mendapatkan konsentrasi yang diinginkan yaitu 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25%. Setiap tabung dikocok dengan *thermolyne* agar ekstrak minyak atsiri biji ketumbar dan pengencernya dapat tercampur dan homogen. Pengenceran dilakukan dengan rumus berikut (Permadani *et al.*, 2015):

$$N1 \times V1 = N2 \times V2$$

Keterangan:

N1 = konsentrasi 100%

V1 = volume ekstrak dengan konsentrasi 100% yang diperlukan (ml)

N2 = konsentrasi yang diinginkan (%)

V2 = volume konsentrasi yang diinginkan (ml)

Cara pengenceran ekstrak minyak atsiri biji ketumbar yaitu:

1) Untuk memperoleh ekstrak minyak atsiri biji ketumbar dengan konsentrasi

50% sebanyak 1000 μ l:

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

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

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

Volume pelarut yang ditambahkan adalah:

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

$$= 500 \mu\text{l DMSO 10\% + tween 80 0,5\%}$$

Maka, untuk mendapatkan ekstrak minyak atsiri biji ketumbar konsentrasi 50% diperoleh dengan cara menambahkan larutan DMSO 10% + tween 80 0,5% sebanyak 500 μ l ke dalam 500 μ l ekstrak minyak atsiri biji ketumbar konsentrasi 100%.

- 2) Untuk memperoleh ekstrak minyak atsiri biji ketumbar dengan konsentrasi 25% sebanyak 1000 μ l:

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

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

$$V1 = 250 \mu\text{l}$$

Volume pelarut yang ditambahkan adalah:

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

$$= 750 \text{ DMSO } 10\% + \text{tween } 80 \text{ } 0,5\%$$

Maka, untuk mendapatkan ekstrak minyak atsiri biji ketumbar konsentrasi 25% diperoleh dengan cara menambahkan larutan DMSO 10% + tween 80 0,5% sebanyak 750 μ l ke dalam 250 μ l ekstrak minyak atsiri biji ketumbar konsentrasi 100%.

- 3) Untuk memperoleh ekstrak minyak atsiri biji ketumbar dengan konsentrasi 12,5% sebanyak 1000 μ l:

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

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

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

Volume pelarut yang ditambahkan adalah:

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

$$= 875 \mu\text{l DMSO } 10\% + \text{tween } 80 \text{ } 0,5\%$$

Maka, untuk mendapatkan ekstrak minyak atsiri biji ketumbar konsentrasi 12,5% diperoleh dengan cara menambahkan larutan DMSO 10% + tween 80

0,5% sebanyak 875 μ l ke dalam 125 μ l ekstrak minyak atsiri biji ketumbar konsentrasi 100%.

- 4) Untuk memperoleh ekstrak minyak atsiri biji ketumbar dengan konsentrasi 6,25% sebanyak 1000 μ l:

$$100\% \times V1 = 6,25\% \times 1000$$

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

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

Volume pelarut yang ditambahkan adalah:

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

$$= 937,5 \mu\text{l DMSO } 10\% + \text{tween } 80 \text{ } 0,5\%$$

Maka, untuk mendapatkan ekstrak minyak atsiri biji ketumbar konsentrasi 12,5% diperoleh dengan cara menambahkan larutan DMSO 10% + tween 80 0,5% sebanyak 937,5 μ l ke dalam 62,5 μ l ekstrak minyak atsiri biji ketumbar konsentrasi 100%.

h. Pembuatan media pertumbuhan *P. gingivalis*

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

Sebanyak 3,7 gram BHI-B dicampur dengan 100 ml akuades steril. Selanjutnya bahan tersebut diaduk menggunakan *hot plate magnetic stirrer*. Kemudian campuran tersebut dipanaskan di atas kompor hingga homogen dan disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Media diuji sterilitasnya dengan dimasukkan dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Media BHI-B yang steril akan tetap jernih, tidak terjadi perubahan warna, tidak terdapat gelembung udara, dan tidak terbentuk endapan setelah diinkubasi.

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

Sebanyak 5,2 gram BHI-A dicampur dengan 100 ml akuades steril. Selanjutnya bahan tersebut diaduk hingga homogen menggunakan *hot plate magnetic stirrer*. Kemudian campuran tersebut dipanaskan di atas kompor

hingga homogen dan disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Media diuji sterilitasnya dengan dimasukkan dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Media BHI-A yang steril ditandai dengan tidak adanya perubahan fisik seperti warna dan konsistensi serta tidak berbau setelah diinkubasi.

i. Pembuatan suspensi *P. gingivalis*

Tahapan pembuatan suspensi *P. gingivalis* dilakukan dalam *laminar flow* untuk mencegah kontaminasi dari lingkungan luar. Media BHI-B dimasukkan dalam tabung reaksi sebanyak 2 ml. Kemudian satu ose bakteri *P. gingivalis* dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi BHI-B. Tabung reaksi tersebut ditutup dan dimasukkan dalam *desicator* untuk mendapatkan suasana fakultatif anaerob. Selanjutnya *desicator* dimasukkan ke dalam inkubator selama 24 jam dengan suhu 37°C. Pertumbuhan *P. gingivalis* ditandai dengan adanya kekeruhan pada media. Setelah dikeluarkan dari inkubator, suspensi tersebut dihomogenkan menggunakan *thermolyne* dan diukur tingkat kekeruhannya menggunakan spektrofotometer hingga mencapai skala absorban 0,5 *McFarland*.

j. Pemberian label pada *petridish*

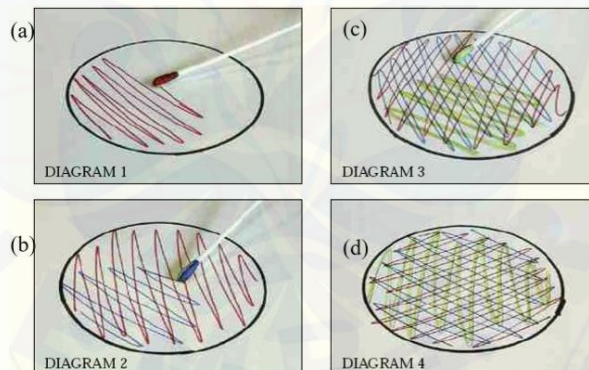
Sebanyak 16 *petridish* yang sudah steril disiapkan untuk 4 kali pengulangan. Pada setiap pengulangan terdiri dari 4 *petridish* yang masing-masing diberi label sebagai berikut:

- 1) *Petridish* 1 pada bagian bawah diberi label K+.
- 2) *Petridish* 2 pada bagian bawah diberi label E100.
- 3) *Petridish* 3 pada bagian bawah diberi label E50.
- 4) *Petridish* 4 pada bagian bawah dibagi menjadi 4 daerah sama besar dan diberi label E25; E12,5; E6,25; dan K-.

3.8.2 Tahap Uji Daya Hambat

Uji daya hambat menggunakan metode *disk diffusion* dan dilakukan sesuai protokol standard NCCLS (*National Committee for Clinical Standards*). Semua tindakan dilakukan di dalam *laminar flow* untuk mencegah kontaminasi dengan lingkungan luar.

- Media BHI-A yang masih hangat pada suhu 45°-50°C dituangkan ke dalam 4 *petridish* masing-masing sebanyak 25 ml hingga mencapai ketebalan 4 mm.
- Petridish* dibiarkan dalam suhu ruang dengan tutup terbuka sedikit, ditunggu sampai memadat dan dingin sekitar 10-30 menit.
- Suspensi *P. gingivalis* diambil dari tabung reaksi menggunakan *syringe* sebanyak 1 ml kemudian diteteskan pada *swab steril* perlahan-lahan hingga merata dan tidak ada yang menetes.
- Inokulasi bakteri dengan gerakan *streaking* pada seluruh permukaan *media plate*.
- Gerakan *streaking* diulang sebanyak 3 kali dan *petridish* diputar sekitar 60° pada setiap pengulangan (Gambar 3.2).



Gambar 3.1 Ilustrasi gerakan *streaking*. (a) Gerakan *streaking* pertama (b) Gerakan *streaking* kedua, setelah diputar 60° (c) Gerakan *streaking* ketiga, setelah diputar 60° kedua kalinya (d) Gambaran hasil *streaking* (Sarina dan Knoll, 2002).

- Tunggu hingga permukaan media kering. Tutup *petridish* dapat dibiarkan terbuka selama 3-5 menit, tapi tidak lebih dari 15 menit.

- g. Tetesi 4 cakram kertas dengan DMSO 10% + tween 80 0,5% masing-masing sebanyak 20 µl menggunakan mikropipet. Setelah tidak ada cairan yang menetes, cakram kertas diletakkan pada *media plate* BHI-A yang sudah diinokulasi *P. gingivalis* di daerah yang berlabel K- menggunakan pinset steril dengan sedikit penekanan untuk memastikan cakram kertas menempel pada permukaan media.
- h. Tetesi 4 cakram kertas dengan *metronidazole gel* 25% masing-masing sebanyak 20 µl menggunakan mikropipet. Setelah tidak ada cairan yang menetes, cakram kertas diletakkan pada *media plate* yang sudah diinokulasi *P. gingivalis* di daerah yang berlabel K+ menggunakan pinset steril dengan sedikit penekanan untuk memastikan cakram kertas menempel pada permukaan media.
- i. Tetesi 4 cakram kertas dengan ekstrak minyak atsiri biji ketumbar 100% masing-masing sebanyak 20 µl menggunakan mikropipet. Setelah tidak ada cairan yang menetes, cakram kertas diletakkan pada *media plate* yang sudah diinokulasi *P. gingivalis* di daerah yang berlabel E100 menggunakan pinset steril dengan sedikit penekanan untuk memastikan cakram kertas menempel pada permukaan media.
- j. Tetesi 4 cakram kertas dengan ekstrak minyak atsiri biji ketumbar 50% masing-masing sebanyak 20 µl menggunakan mikropipet. Setelah tidak ada cairan yang menetes, cakram kertas diletakkan pada *media plate* yang sudah diinokulasi *P. gingivalis* di daerah yang berlabel E50 menggunakan pinset steril dengan sedikit penekanan untuk memastikan cakram kertas menempel pada permukaan media.
- k. Tetesi 4 cakram kertas dengan ekstrak minyak atsiri biji ketumbar 25% masing-masing sebanyak 20 µl menggunakan mikropipet. Setelah tidak ada cairan yang menetes, cakram kertas diletakkan pada *media plate* yang sudah diinokulasi *P. gingivalis* di daerah yang berlabel E25 menggunakan pinset steril dengan sedikit penekanan untuk memastikan cakram kertas menempel pada permukaan media.
- l. Tetesi 4 cakram kertas dengan ekstrak minyak atsiri biji ketumbar 12,5% masing-masing sebanyak 20 µl menggunakan mikropipet. Setelah tidak ada cairan yang menetes, cakram kertas diletakkan pada *media plate* yang sudah diinokulasi *P.*

- gingivalis* di daerah yang berlabel E12,5 menggunakan pinset steril sedikit penekanan untuk memastikan cakram kertas menempel pada permukaan media
- m. Tetesi 4 cakram kertas dengan ekstrak minyak atsiri biji ketumbar 6,25% masing-masing sebanyak 20 μ l menggunakan mikropipet. Setelah tidak ada cairan yang menetes, cakram kertas diletakkan pada *media plate* yang sudah diinokulasi *P. gingivalis* di daerah yang berlabel E6,25 menggunakan pinset steril sedikit penekanan untuk memastikan cakram kertas menempel pada permukaan media
 - n. Cakram kertas harus diletakkan secara merata sehingga tidak lebih dekat dari 24 mm dari pusat cakram ke pusat cakram lainnya (Tendencia, 2004).
 - o. Selanjutnya *petridish* ditutup dan dimasukkan ke dalam *desicator* dengan posisi terbalik untuk mencegah jatuhnya uap air pada media sehingga tidak mengganggu pertumbuhan bakteri.
 - p. *Desicator* dimasukkan inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C.

3.8.3 Tahap Pengukuran Diameter Zona Hambat

Besar zona hambat pertumbuhan terhadap *P. gingivalis* didapatkan dengan mengukur diameter zona hambat pada bagian bawah *petridish* yang terlihat jernih (transparan) di sekitar kertas cakram. Pengukuran dilakukan oleh 3 orang pengamat yang berbeda yang sebelumnya telah dilakukan penyamaan persepsi dan diambil rata-ratanya (Rosidah *et al.*, 2014). Diameter zona hambat diukur menggunakan jangka sorong dalam satuan milimeter, dari satu sisi ke sisi lainnya yang bersebrangan melewati pusat kertas cakram (Gambar 3.2) (Majidah *et al.*, 2014).

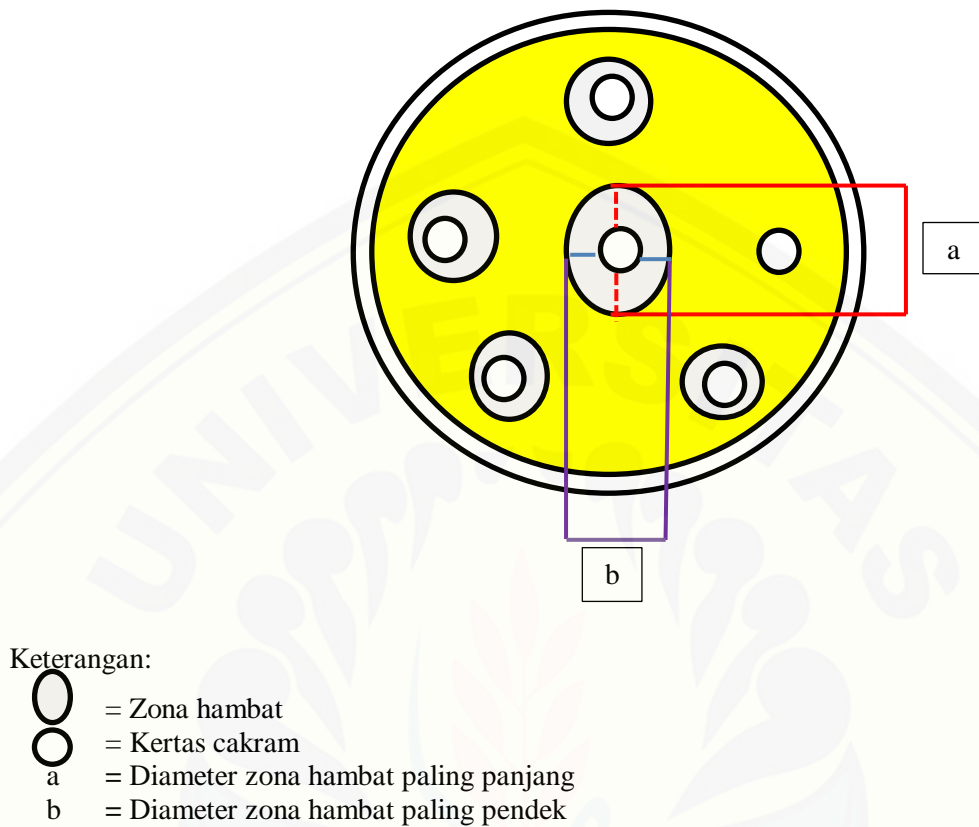
Diameter zona hambat dapat diukur dengan rumus sebagai berikut (Majidah *et al.*, 2014):

$$\Theta = \frac{a+b}{2}$$

Keterangan: Θ diameter zona hambat

(a) diameter zona hambat paling panjang

(b) diameter zona hambat paling pendek

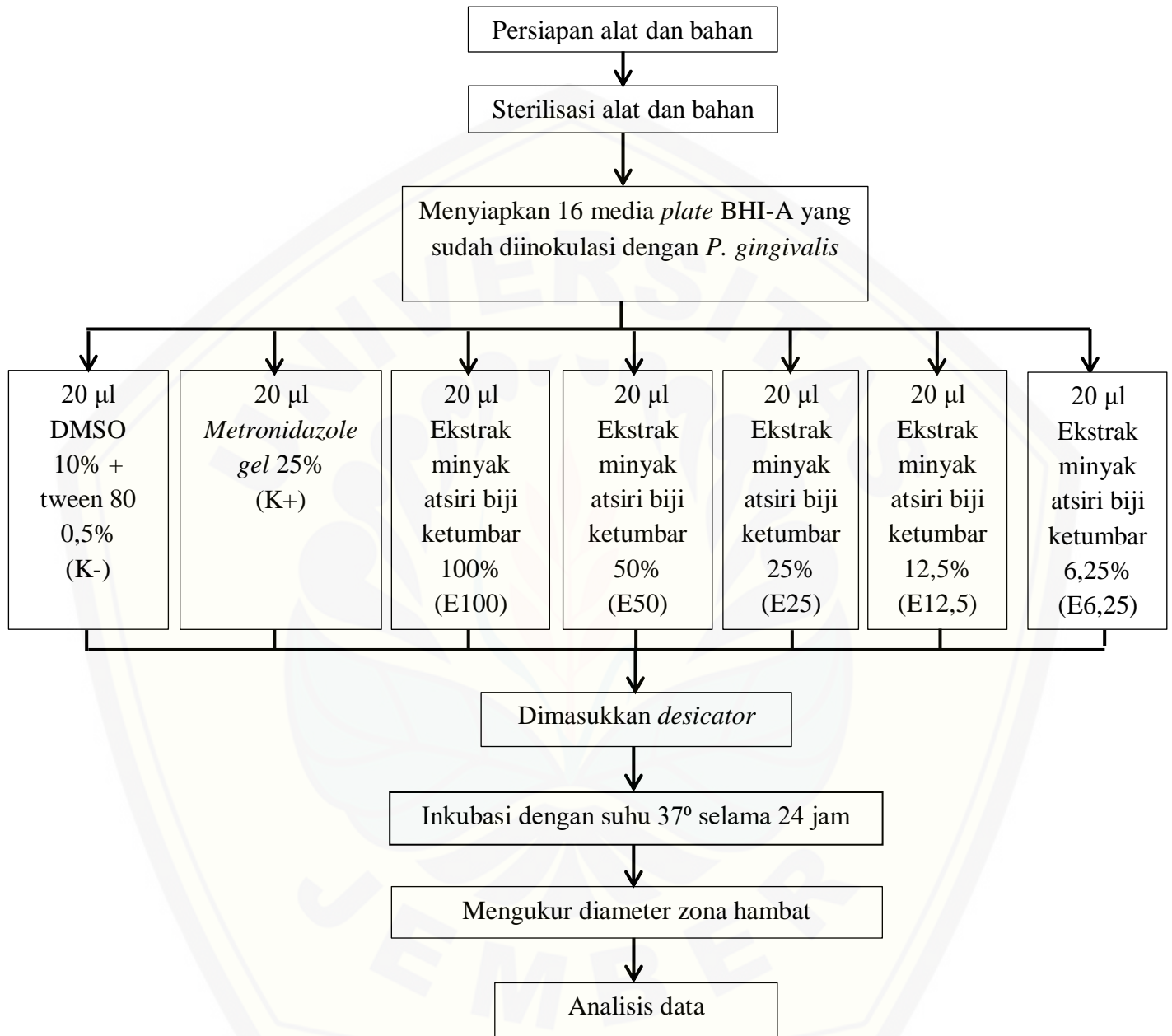


Gambar 3.2. Ilustrasi pengukuran diameter zona hambat

3.9 Analisis Data

Data yang terkumpul disusun dalam bentuk tabel, lalu dianalisis menggunakan program *Statistic and Service Solutions* (SPSS). Data hasil penelitian dilakukan uji normalitas dengan uji Shapiro Wilk dan uji homogenitas dengan uji Lavene. Selanjutnya dilakukan uji statistik non parametrik yaitu dengan uji Kruskal Wallis ($\alpha < 0,05$) & uji Mann Whitney ($\alpha < 0,05$) untuk melihat perbedaan antar kelompok.

3.10 Alur Penelitian



BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak minyak atsiri biji ketumbar (*Coriandrum sativum L.*) memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan *P. gingivalis*.
2. Konsentrasi ekstrak minyak atsiri biji ketumbar yang memiliki daya hambat terbesar terhadap pertumbuhan *P. gingivalis* yaitu 100%.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat diajukan beberapa saran sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai daya hambat minyak atsiri biji ketumbar diantara konsentrasi 50% dan konsentrasi 100%.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai daya hambat minyak atsiri biji ketumbar terhadap pertumbuhan mikroorganisme lainnya di bidang kedokteran gigi.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh minyak atsiri biji ketumbar terhadap plak gigi.
4. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai kemampuan antiinflamasi dan antioksidan dalam ekstrak minyak atsiri biji ketumbar sebagai terapi *host modulation*.
5. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai toksisitas ekstrak minyak atsiri biji ketumbar.
6. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai biokompatibilitas minyak atsiri biji ketumbar terhadap jaringan rongga mulut khususnya jaringan periodontal.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, S. 2016. The inhibition of *Typhonium flagelliforme* Lodd Blume Leaf Extract on COX-2 Expression of WiDr Colon Cancer Cells. *Asian Pasific Journal of Tropical Biomedicine*. 6(3): 2221-1691.
- Agustriana, G. 2011. Potensi Propolis Lebah Madu Apis *Mellifera Spp.* sebagai Bahan Antibakteri. *Skripsi*. Bogor: Departemen Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- Al-Ghutaimel, H., H. Riba, S. Al-Kahtani, dan S. Al-Duhaimi. 2014. Common periodontal disease of children and adolescents. *International Journal of Dentistry*. 2014: 1-7.
- Alibasyah, Z. M., D. S. Ningsih, dan S. F. Ananda. 2018. Daya hambat minuman probiotik yoghurt susu sapi terhadap *Porphyromonas gingivalis* secara in vitro. *J Siah Kuala Dent Soc*. 3(2): 65-75.
- Astawan, M. 2016. Sehat dengan Rempah dan Bumbu Dapur. Jakarta: Kompas
- Balows, A., H. G. Truper, M. Dworkin, W. Harder, dan K. H. 2013. *The Prokaryotes*. Second Edition. New York: Springer Verlag.
- Bergman, C. A., Rosato, A., dan Lewis, J. P. 2014. Iron and hemin-dependent gene expression of *Porphyromonas gingivalis*. *Molecular Oral Microbiology*. 30: 39-61.
- Bhat, S., P. Kaushal, M. Kaur and H. K. Sharma. 2013. Coriander (*Coriandrum sativum* L.): processing, nutritional and functional aspects. *African Journal of Plant Science*. 8(1): 25-33.
- Bonang, G. 1992. *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan*. Edisi 16. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Brady, J. E. 2000. *Kimia Universitas Asas dan Struktur*. Jakarta: Binarupa Aksara.
- Chauhan, V.S., Chauhan R.S., Devkar, N., Vibhute, A., dan More, S. 2012. Gingival and periodontal diseases in children and adolescents. *Journal of Dental and Allied Sciences*. 1(1): 26-29.
- Collins, M.D dan H. N Shah. 1988. Proposal for reclassification of *Bacteroidetes asacchryticus*, *Bacteriodes gingivalis*, and *Bacteroidesendodontalis* in a new genus *Porphyromonas*. *Int J Syst Bacteriol*.44: 812-826.

- Cronquist, A. 1981. *An Integrated System of Classification of Flowering Plants*. New York: Columbia University Press.
- Diederichsen, A. 1996. Coriander (*Coriandrum sativum L.*): Promoting The Conservation and Use of Underutilized and Neglected Crops. Rome: Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben/International Plant Genetic Resources Institute.
- Direktorat Jendral Perkebunan. 2012. *Pedoman Teknis Penanganan Pascapanen Nilam*. Jakarta: Direktorat Pascapanen dan Pembinaan Usaha Direktorat Jenderal Perkebunan Kementerian Pertanian.
- Djuardi, E. dan T. Nugraha. 2017. Aktivitas antibakteri dari desain mikroemulsi minyak atsiri kayu manis. *Agrointek*. 11(1): 2017.
- Eid, H. A., A. A. A. Shoun, dan R. A. M. Alkady. 2017. Microbial biodiversity and antibiotics in periodontal diseases. *Egyptian Dental Journal*. 63(1).
- Elshabrina. 2013. *Dasyatnya Daun Obat Sepanjang Masa*. Yogyakarta: Cemerlang Publishing.
- Elya, B., A. Soemiati, dan Farida. 2009. Antibakteri ekstrak kulit batang manggis hutan (*Garcinia rigida MIQ*). *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 6(1): 09-17
- Elshabrina. 2013. *Dasyatnya Daun Obat Sepanjang Masa*. Yogyakarta: Cemerlang Publishing.
- Estien, Y. 2015. *Kimia Fisika Untuk Mahasiswa Kesehatan*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Fitriyana, N., Y. M. D. Arina, H. Harmono, dan I. Susilawati. 2013. Pemaparan bakteri *Porphyromonas gingivalis* mempengaruhi produksi superoksid netrofil. *Dentofasial*. 12(3): 152-157.
- Gunawan, D., dan S. Mulyani. 2010. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi)*. Jilid 1. Jakarata: Penebar Swadaya.
- Habashnesh RA, Karashneh JA, Khader YS. 2014. Predominant microflora in chronic and generalized aggresive periodontitis in a Jordanian population. *Dentistry*. 4(2):1-6.
- Hajishengallis, R. P. Darveau, dan M. A. Curtis. 2012. The Keystone-pathogen hypothesis. *Nat. Rev. Microbiol*. 10: 717-725.

- Handayani, P.A., dan Juniarti, E.R. 2012. Ekstraksi minyak ketumbar (*Coriander oil*) dengan pelarut etanol dan n-heksana. *Jurnal Bahan Alam Terbarukan*. 1(1): 1-7.
- Hudzicki, J. 2009. *Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol*, American Society for Microbiology. <https://www.asm.org/getattachment/2594ce26-bd44-47f6-8287-0657aa9185ad/Kirby-Bauer-Disk-Diffusion-Susceptibility-Test-Protocol-pdf.pdf>. [Diakses pada 29 Agustus 2018].
- How, K. Y., P. S. Keang dan K. G. Chan. 2016. *Porphyromonas gingivalis*: an overview of periodontopathic pathogen below the gumm line. *Frontiers in Microbiology*. 7(53): 1-14.
- Iriano, A. 2008. Efek Antibakteri Aloe Vera terhadap *Porphyromonas gingivalis* In Vitro (Perbandingan Ekstraksi Maserasi dan Infundasi). *Skripsi*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia.
- Jannata, H. J., A. Gunadi, dan T. Ermawati. 2014. Daya antibakteri ekstrak kulit apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *E-Jurnal Pustaka Kesehatan*. 2(1): 23-28.
- Jawetz, E., Melnick, J. L., Adelberg, E. A. 1997. *Medical Microbiology*. 22nd Edition. Berlin: McGraw-Hill Education. Terjemahan oleh Bagian Mikrobiologi Kedokteran Universitas Airlangga. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi ke-22. Jakarta: Salemba Medika.
- Kaseng, E. S., Muhlishah, N., Irawan, S. 2016. Uji daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri uji *Staphylococcus aureus* dan *Escheria coli* ekstrak etanol daun mangrove rhizophora mucronata dan efekdiabetiknya pada mencit yang diinduksi aloksan. *Jurnal Bionature* 17(1): 1-6.
- Kemenkes. 2018. *Rencana Program Pelayanan Kesehatan Gigi dan Mulut*. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.
- Khotimah, H., E. W. Anggraeni, A. Setianingsih. 2017. Karakterisasi hasil pengolahan air menggunakan alat destilasi characterization of water processing using distillation equipment. *Jurnal Chemurgy* 1(2): 34-38.
- Krismariono, A. 2009. Antibiotika sistemik dalam perawatan penyakit periodontal. *Periodontic Journal*. 1(1):15-19.
- Kusumawardani, B., Pujiastuti, P., dan Sari, D.S. 2010. Uji biokimiawi sistem api 20 mendeteksi *Porphyromonas gingivalis* isolat klinik dari plak subgingiva pasien periodontitis kronis. *Jurnal PDGI*. 59(3): 110-114.

- Majidah, D., D.W.A. Fatmawati, dan A. Gunadi. 2014. Daya Antibakteri Ekstrak Daun Seledri (*Apium graveolens L.*) terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans* Sebagai Alternatif Obat Kumur. *Skripsi*. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Moradian, H., A. Bazargani, A. Rafiee, dan A. Nazarialam. 2013. In vitro comparison of antimicrobial activity of aqueous decoction of *Coriandrum sativum L.*, and dental drop with chlorhexidine on *Streptococcus mutans*. *Iran J. Microbiol.* 5(3): 239-43.
- Nakayama K. 2015. *Porphyromonas gingivalis* and related bacteria: from colonial pigmentation to the type IX secretion system and gliding motility. *J Periodont Res.* 50: 1–8.
- Nazzaro, F., F. Fratianni, L. D. Martino, R. Coppola, dan V. D. Feo. 2013. Review. Effect of essential oils on pathogenic bacteria. *Pharmaceuticals.* 6: 1451-1474.
- Newman, M. G., H. H. Takei, P. R. Klokkvold dan F. A Carranza. 2019. *Newman and Carranza's Clinical Periodontology 13th Edition*. Los Angeles: Elsevier Inc.
- Nield-Gehrig J. S., D. E. Willman. 2011. *Foundations of Periodontics for the Dental Hygienist 3rd Edition*. Amerika Serikat: Wolters Kluwer Health.
- Notoatmodjo, S. 2012. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: Rineka Cipta
- Park, S.N., Lim, Y.K., Freire, M.O., Cho, E., dan Jin, D. 2012. Antimicrobial effect of linalool and α -terpineol against periodontopathic and cariogenic bacteria. *Journal Anaerobe.* 18: 369-372.
- Pawar, V.A., Bhagat, T.B., Toshniwal, M.R., Mokashi, N.D., dan Khandelwal, K.R.. 2013. Formulation and evaluation of dental gel containing essential oil of coriander against oral pathogens. *Int. Res. J. Pharm.* 4(10): 48-54.
- Pelczar, M. J., dan Chan E. C. S. 1988. *Elements of microbiology. 1st Edition*. New Delhi: McGraw-Hill Education. Terjemahan oleh R. S. Hadioetomo. 2008. *Dasar-Dasar Mikrobiologi I*. Cetakan Pertama. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Permadani, I. A., P. Surjowardojo dan Sarwiyono. 2015. Daya Hambat Ekstrak Daun Beluntas (*Pluchea indica L.*) menggunakan Pelarut Etanol terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Penyebab Mastitis Pada Sapi Perah. *Skripsi*. Malang: Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya.

- Popova, C., V. D. Panova, dan V. Panov. 2013. Microbiology of periodontal diseases. *Biotechnol. & Biotechnol. Eq.* 27(3): 3754-3759.
- Praharani D., E. W. Pratiwi, 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): 193-198.
- Pratama, D. G. A. Y., I. G. A. G. Bawa, dan I. W. G. Gunawan. 2016. Isolasi dan identifikasi senyawa minyak atsiri dari tumbuhan semburan (*Paederia Foetida L.*) dengan metode kromatografi gas-spektroskopi massa (Gc-Ms). *Jurnal Kimia.* 10(1): 149-154.
- Pratiwi, S. T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi.* Jakarta: Penerbit Airlangga.
- Putri, L. M. A, T. Prihandono, dan B. Supriadi. 2017. Pengaruh konsentrasi larutan terhadap laju kenaikan suhu larutan. *Jurnal Pembelajaran Fisika.* 6(2):147-152.
- Rahmawati, W. 2012. Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Kopi Robusta (*Coffea canephora*) terhadap Pertumbuhan *Candida albicans* Secara In Vitro. *Skripsi.* Malang: Program Studi Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
- Rosidah, A. N., P. E. Lestari dan P. Astuti. 2014. Daya Antibakteri Ekstrak Daun Kendali (*Hippobroma longiflora G. Don*) terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans.* *Skripsi.* Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Rumopa, P. M. E., H. Awaloei, C. Mambo. 2016. Uji daya hambat ekstrak biji pala (*Myristicae fragrans*) terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Streptococcus pyogene.* *Jurnal e-Biomedik (eBm)* 4(2).
- Sahib, N. G., F. Anwar, A. H. Gilani, A. A. Hamid, N. Saari, dan K. M. Alkharfy. 2012. Coriander (*Coriandrum sativum L.*): A Potential Source of High-Value Components for Functional Foods and Nutraceuticals. *Phytotherapy Research.* <https://sci-hub.tw/10.1002/ptr.4897>. [Diakses pada 19 Maret 2019]
- Samaranayake, Lakhsman. 2011. *Essential Microbiology for Dentistry 4th Edition.* London: Churcill Livingstone Elsevier.
- Sapara, T. U., O. Waworuntu, dan Juliatri. 2016. Efektivitas antibakteri ekstrak daun pacar air (*Impatiens balsamina L.*) terhadap pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis.* *Jurnal Ilmiah Farmasi.* 5(4): 10-17.
- Sari, S. A. 2012. Pengaruh Pemberian Biji Ketumbar (*Coriandrum sativum L*) Terhadap Organ Dalam Ayam Broiler. *Skripsi.* Bogor: Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor.

- Sarina, M. Dan B. Knoll. 2002. Comparative Study of an Amies System Incorporating New Easy-Flow Swab Applicators (Copan Diagnostic Inc.), Designed for Improved Sample Release, with a Transport System Utilizing Regular Rayon Swab. https://www.copanusa.com/wp-content/uploads/2019/04/291439223628_Comparative_Study_of_an_Amies_Transport_System_Incorporating_New_Easy_Flow_Swab_Applicators.pdf. [Diakses pada 12 April 2019].
- Setiawan, A., S. P. Lastianny, dan D. Herawati. 2013. Efektivitas aplikasi madu murni terhadap penyembuhan jaringan periodontal pada perawatan periodontitis penderita hipertensi. *Jurnal Kedokteran Gigi*. 4(4): 228-235.
- Setyaningsih, P. 1992. Studi Fenologi dan Pengaruh Posisi Payung terhadap Viabilitas Benih Ketumbar. *Skripsi*. Bogor: Jurusan Budidaya Pertanian, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Silva, F., Ferreira, S., Queiroz, J.A., dan Domingues, F.C. 2011. Coriander (*Coriandrum sativum* L.) essential oil: its antibacterial activity and mode of action evaluated by flow cytometry. *Journal of Medical Microbiology*. 60: 1479-1486.
- Silva, V.A., Sousa, J.P., Guerra F. Q. S., Pessôa H. L. F., Freitas A. F. R., Coutinho, H.D.M., Alves L. B. N., dan Lima E. O. 2015. Antibacterial activity of the monoterpene linalool: alone and in association with antibiotics against bacteria of clinical importance. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*. 7(5): 1022-1026.
- Sokovic, M., Glamoclija, J., Marin, P.D., Brkic, D., dan Griensven, L.J.L.D., 2010. Antibacterial effect of the essential oils of commonly consumed medicinal herbs using an in vitro model. *Molecules*. 15(10): 7532-7546.
- Suardi, H. N. 2014. Antibiotik dalam Dunia Kedokteran Gigi. *Cakradonya Dent J*. 6(2): 678-744.
- Sudrajat, Y. 2016. *Kimia Dasar*. Jakarta: Kementrian Kesehatan Republik Indonesia.
- Spooner, R., Weigel, K. M., Harrison, P. L., Lee, K., Cangelosi, G. A., & Yilmaz, Ö. 2016. In situ anabolic activity of periodontal pathogens *Porphyromonas gingivalis* and filifactor alocis in chronic periodontitis. *Scientific Reports*. 6(1): 1-8.
- Sugiyono. 2009. *Metode Penelitian Kuantitatif, Kualitatif, dan R&D*. Bandung: Alfabeta.

- Sulistiyawati, D dan Mulyati. 2009. Uji aktivitas antijamur infusa daun jambu mete (*Anacardium occidentale, L.*) terhadap *Candida albicans*. *Biomedika*. 2(1): 47-51.
- Suryanto dan Setiawan. 2013. Struktur data datawarehouse tanaman obat Indonesia dan hasil penelitian obat tradisional. *Jurnal Ilmiah Farmasi-UNSRAT*. 5(2): 2302-2493.
- Syarifuddin, N. I., Badruzsaufari dan M. Ni'mah. 2014. Perbandingan daya hambat antibakteri ekstrak kulit batang katsuuri (*Mangifera casturi Kosterm*) dengan ekstrak daun sirih (*Piper betle L.*) terhadap pertumbuhan *Streptococcus mutans* 2302-Unr secara in vitro. *Jurnal Pharmascience*. 1(2):46-53.
- Tambunan, E. G. R., K. Pandelaki, dan C. N. Mintjelunga. 2015. Gambaran penyakit periodontal pada penderita diabetes melitus di Rumah Sakit Umum Pusat Prof. Dr. R. D Kandou Manado. *Jurnal e-GiGi*. 3(2): 534-541.
- Tani, P. G., P. M. Wowor, dan J. A. Khoman. 2017. Uji daya hambat daging buah sirsak (*Annona muricata L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Porphyromonas gingivalis*. *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 6(3): 99-104
- Tedjasulaksana, R. 2016. Metronidasol sebagai salah satu obat pilihan untuk periodontitis marginalis. *Jurnal Kesehatan Gigi*. 4(1): 19-23.
- Tendencia, E. A. 2004. Disk Diffusion Method. In *Laboratory Manual of Standardized Methods for Antimicrobial Sensitivity Test for Bacteria Isolated from Aquatic Animals and Enviroment*. Philipines: Aquaculture Departement Southeast Asian Fisheries Development Center.
- Trisyanto. 2009. Studi Aktivitas Antibakteri dan Identifikasi Golongan Senyawa Ekstrak Aktif Antibakteri Buah Gambas (*Luffa acutangula Roxb.*). *Skripsi*. Surakarta: Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret.
- Wahyukundari, M. A. 2009. Perbedaan kadar matrix metalloproteinase-8 setelah scalling dan pemberian tetrasiklin pada penderita periodontitis kronis. *JURN PDGI*. 58(1): 1-6.
- Wahyuningrum, M. R., dan E. Probosari. 2012. Pengaruh pemberian buah pepaya (*Carica papaya L.*) terhadap kadar trigesilerida pada tikus sprague Dawley dengan hiperkolesteromia. *Journal of Nutrition College*. 1(1): 192-198
- Widowati, I., S. Efiyati, dan S. Wahyuningtyas. 2014. Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) terhadap bakteri pembusuk ikan segar (*Pseudoonas aeruginosa*). *PELITA*. 9(1): 146-156.

- Zardini, H. Z., B. Tolueinia, Z. Momeni, Z. Hasani, dan M. Hasani. 2012. Analysis of antibacterial and antifungal activity of crude extracts from seeds of *Coriandrum sativum*. *Gomal Journal of Medical Sciences*. 10(2): 167-171.
- Zoubiri, S. dan A. Baaliouamer. 2010. Essential oil composition of coriandrum sativum seed cultivated in algeria as food grains protectant. *Food Chemistry*. 122: 1226–1228.



LAMPIRAN


Lampiran A. Surat izin penelitian

	KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI UNIVERSITAS JEMBER FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI Jl. Kalimantan No. 37 Jember ☎(0331) 333536, Fak. 331991	
Nomor Perihal	: 560 /UN25.8.TL/2019 : Izin Penelitian	28 AUG 2019
Kepada Yth Kepala Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember Di Jember		
Dalam rangka pengumpulan data penelitian guna penyusunan skripsi maka, dengan hormat kami mohon bantuan dan kesediaannya untuk memberikan izin penelitian bagi mahasiswa kami dibawah ini:		
1	Nama	: Lilia Mufida
2	NIM	: 161610101003
3	Semester/Tahun	: 2019/2020
4	Fakultas	: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
5	Alamat	: Jl. Mastrip 1 No. 61, Tegalgede, Sumbersari, Kabupaten Jember, Jawa Timur
6	Judul Penelitian	: Daya Hambat Ekstrak Biji Ketumbar (<i>Coriandrum sativum</i>) Terhadap Pertumbuhan <i>Porphyromonas gingivalis</i>
7	Lokasi Penelitian	: Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
8	Data/alat yang dipinjam	: Laminar flow, Oven, Spektrofotometer, Inkubator, Autoklaf, dll
9	Waktu	: September 2019 s/d Selesai
10	Tujuan Penelitian	: Untuk Menganalisis Daya Hambat Ekstrak Minyak Biji Ketumbar (<i>Coriandrum sativum</i>) Terhadap Pertumbuhan <i>Porphyromonas gingivalis</i>
11	Dosen Pembimbing	: 1. drg. Depi Praharani, M.Kes 2. drg. Ayu Mashartini Prihanti, Sp.PM
Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih		
an. Dekan Wakil Dekan I,   Dr. drg. Masniari Novita M.Kes Sp. OF FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI UNIVERSITAS JEMBER No. 11251999032001		

Lampiran B. Surat keterangan identifikasi tanaman ketumbar

 LIPI	<p align="center">LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA (INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES) BALAI KONSERVASI TUMBUHAN KEBUN RAYA PURWODADI Jl. Raya Surabaya - Malang Km. 65 Purwodadi - Pasuruan 67163 Telp. (+62 343) 615033, Faks. (+62 341) 426046 website : http://www.krpurwodadi.lipi.go.id</p>	
<u>SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TUMBUHAN</u>		
No: 527/IPH.06/HM/V/2019		
Kepala Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi LIPI dengan ini menerangkan bahwa material tumbuhan yang dibawa oleh:		
Nama	:	Lifia Mufida
NIM	:	161610101003
Instansi	:	Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
Tanggal material diterima	:	22 April 2019
Telah diidentifikasi/determinasi berdasarkan koleksi herbarium dan koleksi kebun serta referensi ilmiah, dengan hasil sebagai berikut:		
Kingdom	:	Plantae
Division	:	Magnoliophyta
Class	:	Magnoliopsida
Subclass	:	Rosidae
Ordo	:	Apiales
Family	:	Apiaceae
Genus	:	Coriandrum
Species	:	<i>Coriandrum sativum</i> L.
Referensi:		
1.	Backer CA & Bakhuizen van den Brink RC. 1965 .Flora of Java Vol.II. NVP Noordhoff, Groningen, The Netherlands. Hal. 174	
2.	Cronquist A. 1981. An Integrated System of Classification of Flowering Plants. Columbia University Press, New York, USA. Hal. XVI	
3.	C.C.de Guzman dan J.S. Siemonsma.1999. (esd) . PROSEA (Plants Resources of South-East Asia) No 13; Spices Hal.105	
Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.		
Purwodadi, 2 Mei 2019 An. Kepala Kepala Seksi Eksplorasi dan Koleksi Tumbuhan		
  Ronyl Fawanto, S.Si.,M.T.		

Lampiran C. Laporan kegiatan pembuatan ekstrak minyak atsiri biji ketumbar

	LAPORAN KEGIATAN PLP	Kode Dokumen : 02
	UNSUR PENGELOLAAN LABORATORIUM	Revisi : 0
	LABORATORIUM REKAYASA PROSES HASIL PERTANIAN	Tanggal Terbit : 8 Juli 2019
	FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN	Halaman : 27-18 (12)

Nama Kegiatan : Memberikan penjelasan dan melakukan supervisi pengoperasian peralatan kategori 3/2* dan penggunaan bahan khusus/umum* pada kegiatan penelitian

Kode Butir Kegiatan : II.B.2.a/ II.B.2.b/ II.B.2.c/ II.B.2.d*

Nama Peneliti : Lifia Mufida

NIM/NIP/Fakultas : 161610101003?FKG/Unej

Judul Penelitian : Daya Hambat Ekstrak Minyak Atsiri Biji Ketumbar (*Coriandrum sativum*) Terhadap Pertumbuhan *Porphyromonas gingivalis*.

Semester : Ganjil Ta. 2019/2020

Waktu Pelaksanaan : Juli 2019

Nama Laboratorium : Rekayasa Proses Hasil Pertanian

Nama PLP : Akhmad Mistar, S.P.

NIP : 19700710 199303 1002

Pangkat/Gol.Ruang/Jabatan : Penata /III/d/PLP Muda

Angka Kredit Acuan : 0,8/0,55/0,44/0,42*

Kegiatan Jenjang : SESUAI/DI ATAS/DI BAWAH *

Angka Kredit Terhitung : $1/6 \times 0,42 = 0,07$

* coret yang tidak perlu

Nama Alat	: 1. Alat Distilasi Minyak Atsiri 2. Timbangan Digital
Bahan Khusus	: Biji Ketumbar 5 kg
A. Penjelasan dan supervisi pengoperasian alat Distilasi Minyak Atsiri :	
1	Memberikan penjelasan kepada mahasiswa/peneliti tentang cara pengoperasian alat distilasi minyak atsiri
2	Menyiapkan bahan yang akan di ekstraksi (diperkecil ukurannya/dipotong)
3	Menyiapkan atau setting alat distilasi minyak atsiri (tabung sample, gas elpiji, kondensator dan pendingin balik)
4	Tabung sample detelah dibersihkan diisi air kurang lebih 6 liter (3/4 bagian dari bawah ke batas Loyang (tempat sample)
5	Kemudian bahan yang telah disiapkan dimasukkan ke dalam tabung sample, lalu ditutup rapat pakai baut jangan ada yang kendur harus rata agar tidak bocor
6	Lalu tabung dihubungkan dengan kondensator dan pendingin balik, selanjutnya kompor dinyalakan dan diatur besarnya api yang menyala

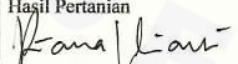
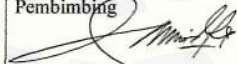

7	Air pendingin dibuka krannya agar air mengalir pada pendingin balik sampai proses distilasi selesai (proses distilasi berjalan selama 5 sampai 6 jam)
8	Setelah selesai proses distilasi minyak atsiri diambil, air ada dibagian bawah dan minyak berada dibagian atas. Kran dibuka kecil air dikeluarkan dulu, setelah air habis baru minyak atsiri dikeluarkan dan di tampung pada botol/wadah.
9	Hitung rendemen minyak atsiri yang diperoleh dengan rumus : $\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat minyak atsiri (gr)}}{\text{Berat bahan/sample (gr)}} \times 100 \%$
10	Setelah selesai matikan kompor gas dan bersihkan peralatan distilasi minyak atsiri lalu simpan pada tempat yang aman

Jadwal kegiatan Penelitian yang dilakukan :

No	Kegiatan	Juli 2019				Agustus 2019				September 2019			
		I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV
1.	Mempersiapkan alat dan bahan		v										
2.	Produksi Minyak Atsiri dari Ketumbar		v										

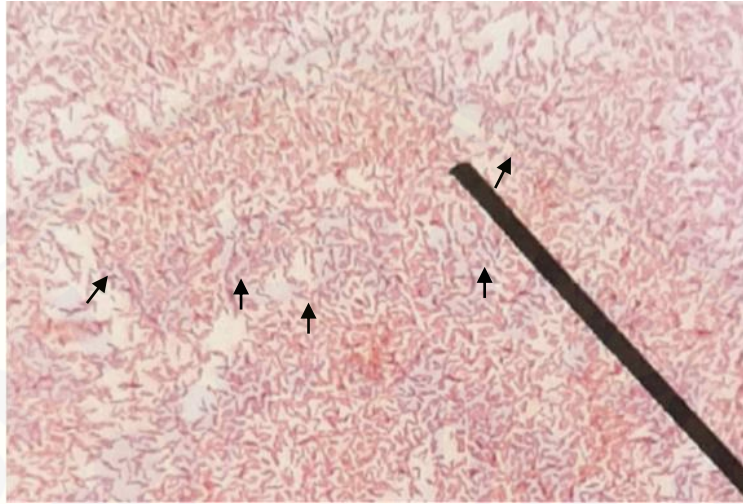


Gambar : Alat Distilasi Minyak Atsiri

Disahkan oleh: Ka. Lab. Rekayasa Proses Hasil Pertanian  Dr. Triana Lindriati, ST., MP. NIP. 19680814 199803 2 001	Diverifikasi oleh : Ketua Peneliti/Dosen Pembimbing  drg. Depi Praharani, M. Kes NIP. 196801221997022001	Jember, 30 Juli 2019 Dibuat Oleh : PLP Ahli Muda  Akhmad Mistar, SP. NIP. 197007101993031002
---	---	---

Lampiran D. Surat keterangan identifikasi bakteri *P. gingivalis* dengan pewarnaan Gram

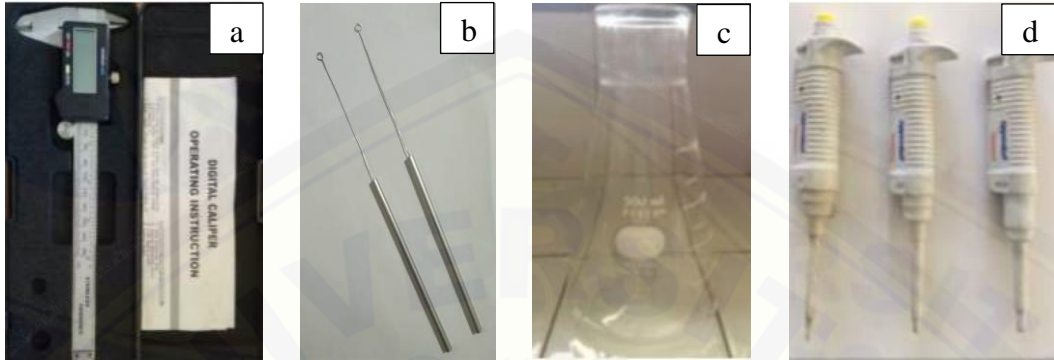
	LABORATORIUM MIKROBIOLOGI BAGIAN BIOMEDIK KEDOKTERAN GIGI FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI UNIVERSITAS JEMBER
<hr/>	
<u>SURAT KETERANGAN</u> No. 0175/ MIKRO / S.KET / 2019	
Sehubungan dengan keperluan identifikasi mikroorganisme, maka kami menerangkan bahwa mahasiswa berikut:	
Nama	: Lifia Mufida
NIM	:161610101003
Fakultas	: Kedokteran Gigi Universitas Jember
Keperluan	: Identifikasi Mikroorganisme
Telah melakukan uji identifikasi terhadap isolasi bakteri <i>Porphyromonas gingivalis</i> ATCC 33277 dengan menggunakan pengecatan Gram dan diamati secara mikroskopis menunjukkan hasil basil Gram negatif dan tidak terkontaminasi.	
Jember, 25 Oktober 2019	
Mengetahui, Kepala Bagian Biomedik Kedokteran Gigi	Menanggung Jawab Lab. Mikrobiologi
	
(drg. Amandia Dewi Pernama Shita, M. Biomed) NIP. 198006032006042002	(drg. Pujiana Endah Lestari, M. Kes) NIP. 197608092005012002



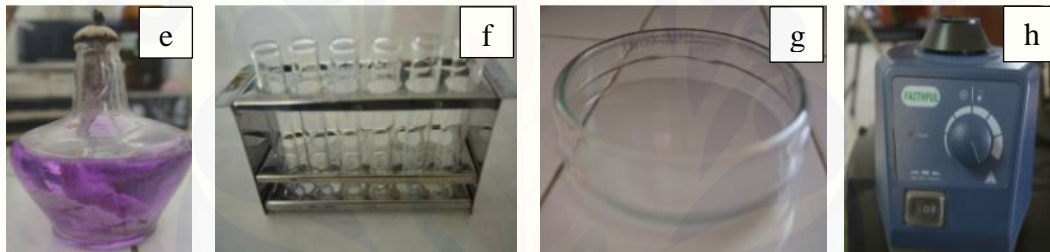
Gambaran hasil perwarnaan Gram dari sel bakteri *P. gingivalis* dengan perbesaran 1000x tampak sel berwarna merah, berbentuk batang pendek atau *coccobacillus* (tanda panah).

Lampiran E. Alat dan bahan penelitian

E.1 Alat penelitian



(a) Jangka sorong digital (b) Ose (c) Tabung erlenmeyer (d) Mikropipet



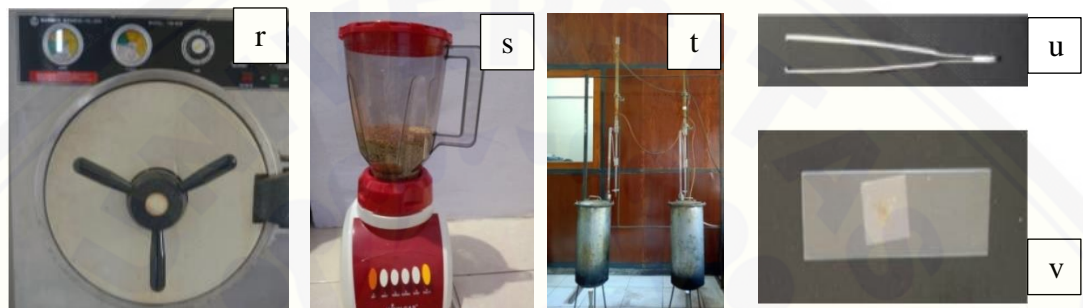
(e) Bunsen (f) Tabung reaksi (g) *Petridish* tidak bersekat (h) *Thermolyne*



(i) Spektrofotometer (j) *Desicator* (k) *Laminar flow* (l) Mikroskop binokuler

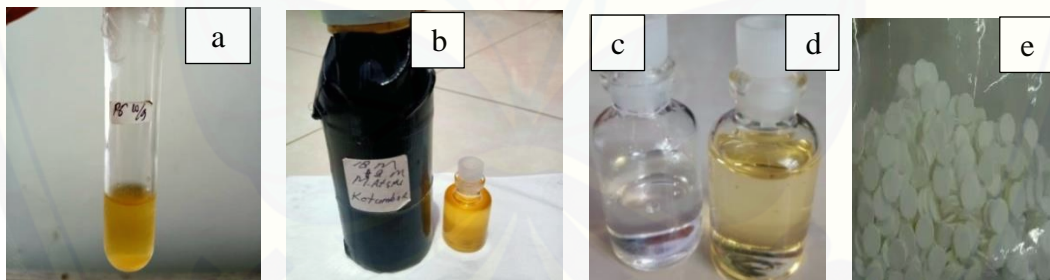


(m) Inkubator (n) Oven (o) Kompor listrik (p) Spatula (q) Disposable syringe



(r) Autoklaf (s) Blender (t) Satu set alat destilasi (u) Pinset steril (v) Object glass dan deck glass

E.2 Bahan penelitian



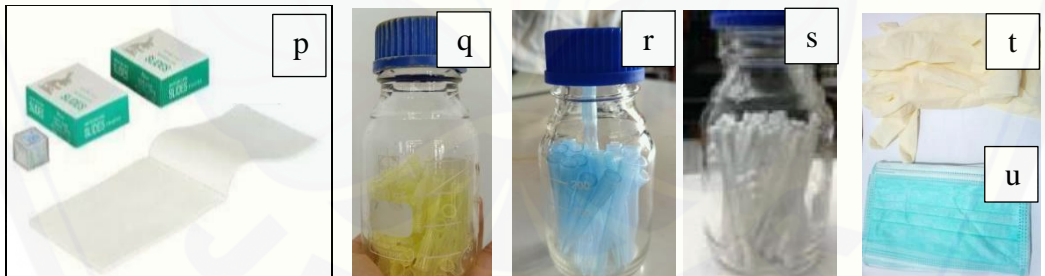
(a) Kultur murni bakteri *P. gingivalis* (b) Ekstrak minyak atsiri biji ketumbar (c) Dimetil sulfoksida (DMSO) (d) Tween 80 (e) Cakram kertas



(f) Alkohol 96% (g) Larutan saline (h) Akuades steril (i)BHI-A (*Brain Heart Infusion-Agar*) (j) BHI-B (*Brain Heart Infusion–Broth*) (k) Kapas steril



(l) Bahan pewarna Gram (*crystal violet, iodine, decolorizer solution, safranin*) (m) Kertas label (n) Minyak imersi (o) *Metronidazole gel*



(p) Kertas saring (q) *Yellow tip* (r) *Blue tip* (s) *Cotton swab* (t) Sarung tangan (u) Masker

Lampiran F. Prosedur Penelitian

F.1 Pembuatan ekstrak minyak atsiri biji ketumbar



Biji ketumbar ditimbang sebanyak 5 kg



Biji ketumbar dihaluskan dengan menggunakan *blender*



Biji ketumbar yang sudah halus dibungkus dengan kertas saring



Dilakukan pengisian air sebanyak $\frac{3}{4}$ tabung destilasi.



Pengambilan minyak atsiri biji ketumbar.



Api pemanas dinyalakan & dilakukan proses destilasi uap air selama 6 jam.



Biji ketumbar dimasukkan ke dalam tabung destilasi dengan posisi tepat di atas loyang berlubang.



Tabung destilasi ditutup menggunakan loyang berlubang.



Didapatkan ekstrak minyak atsiri biji ketumbar sebanyak 18 ml

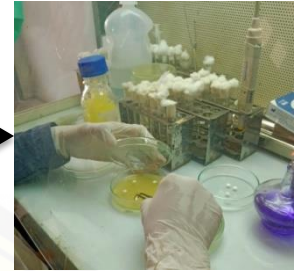
F.2 Tahap perlakuan



Inokulasi *P. gingivalis* menggunakan metode *streaking* pada permukaan media *plate* BHI-A



Ekstrak minyak atsiri biji ketumbar konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25% diteteskan masing-masing sebanyak 20 μ l dengan berbagai konsentrasi menggunakan mikropipet pada cakram kertas

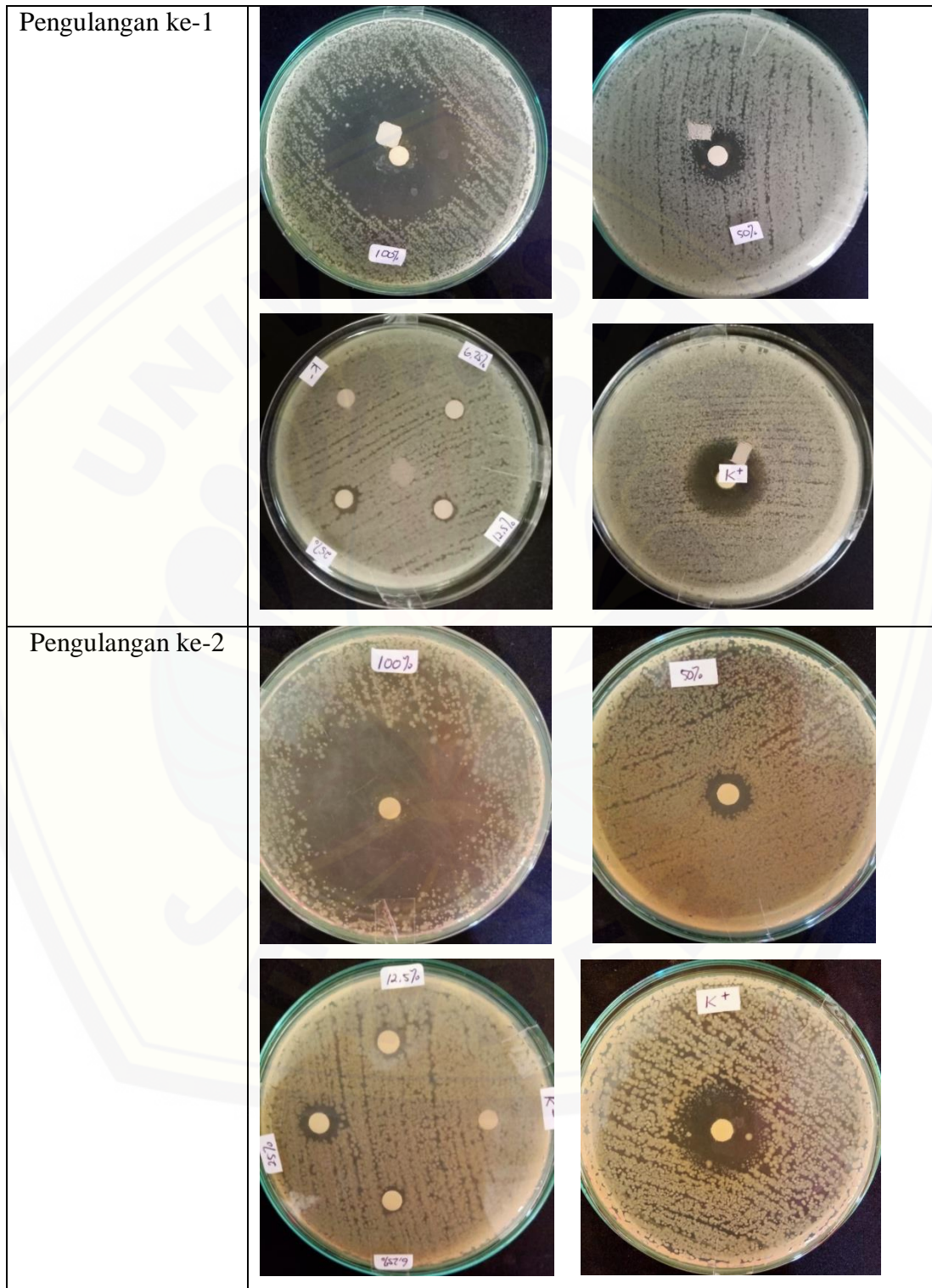


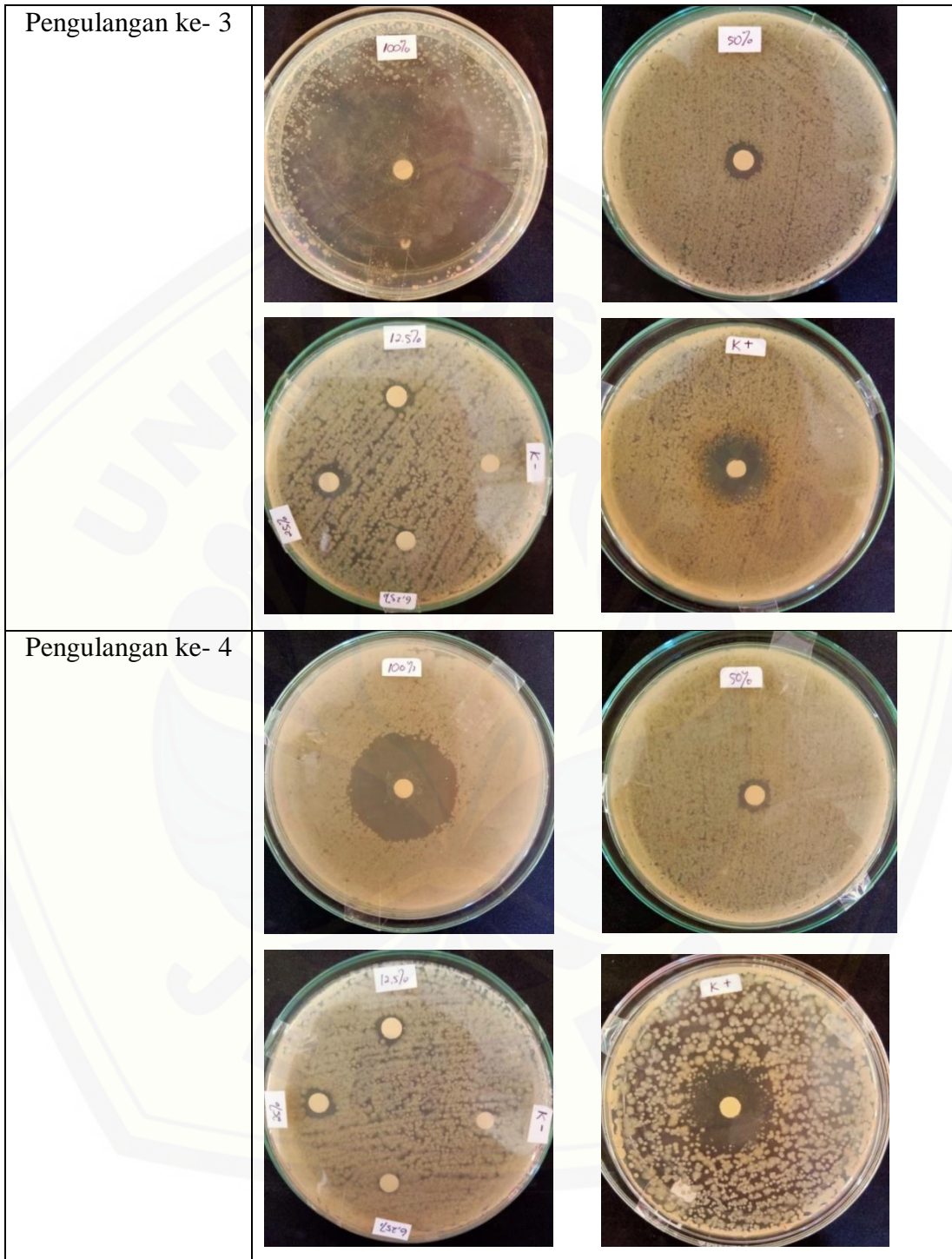
Cakram kertas yang sudah ditetesi ekstrak minyak atsiri biji ketumbar diletakkan pada *media plate* BHI-A yang sudah diinokulasi *P. gingivalis*



Petridish dimasukkan *desicator* dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°.

Lampiran G. Foto hasil penelitian





Lampiran H. Data hasil pengukuran diameter zona hambat (mm)

Pengulangan	Kelompok						
	K-	K+	E100	E50	E25	E12,5	E6,25
1	0	26,29	48,02	15,48	8,99	8,08	6,77
2	0	24,52	50,83	12,40	12,35	9,10	8,50
3	0	19,31	59,04	10,96	10,26	9,09	7,16
4	0	23,50	35,39	10,75	9,53	8,80	6,03

K- = Kontrol negatif

K+ = Kontrol positif

E100 = Ekstrak minyak atsiri biji ketumbar 100%

E50 = Ekstrak minyak atsiri biji ketumbar 50%

E25 = Ekstrak minyak atsiri biji ketumbar 25%

E12,5 = Ekstrak minyak atsiri biji ketumbar 12,5%

E6,25 = Ekstrak minyak atsiri biji ketumbar 6,25%

Lampiran I. Analisis data

I.1 Hasil uji normalitas dengan uji Shapiro Wilk

Tests of Normality^a

	Shapiro Wilk		
	Statistic	df	Sig.
Kontrol +	,936	4	,632
Konsentrasi 100%	,969	4	,836
Konsentrasi 50%	,853	4	,236
Konsentrasi 25%	,907	4	,468
Konsentrasi 12,5%	,816	4	,133
Konsentrasi 6,25%	,966	4	,815

a. Kontrol - is constant. It has been omitted.

b. Lilliefors Significance Correction

I.2 Hasil uji homogenitas dengan uji Levene

Test of Homogeneity of Variances

zona hambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3,241	6	21	,021

I.3 Hasil uji non parametrik dengan Uji Kruskal Wallis

Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank
zona hambat	Kontrol -	4	2,50
	Kontrol +	4	22,50
	Konsentrasi 100%	4	26,50
	Konsentrasi 50%	4	18,00
	Konsentrasi 25%	4	14,50
	Konsentrasi 12,5%	4	10,75
	Konsentrasi 6,25%	4	6,75
	Total		28

Test Statistics^{a,b}

	zona hambat
Chi-Square	25,985
df	6
Asymp. Sig.	,000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Sampel

I.4 Hasil uji Mann Whitney (Beda Antar Kelompok Perlakuan)

a. Antara kontrol negatif dan kontrol positif

Ranks

	variabel perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona hambat	Kontrol -	4	2,50	10,00
	Kontrol +	4	6,50	26,00
	Total	8		

Test Statistics^a

	zona hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,460
Asymp. Sig. (2-tailed)	,014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: Sampel

b. Not corrected for ties.

b. Antara kontrol negatif dan ekstrak minyak atsiri biji ketumbar 100%

Ranks

	variabel perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona hambat	Kontrol -	4	2,50	10,00
	Konsentrasi 100%	4	6,50	26,00
	Total	8		

Test Statistics^a

	zona hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,460
Asymp. Sig. (2-tailed)	,014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: Sampel

b. Not corrected for ties.

c. Antara kontrol negatif dan ekstrak minyak atsiri biji ketumbar 50%

Ranks

	variabel perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona hambat	Kontrol -	4	2,50	10,00
	Konsentrasi 50%	4	6,50	26,00
	Total	8		

Test Statistics^a

	zona hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,460
Asymp. Sig. (2-tailed)	,014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: Sampel

b. Not corrected for ties.

d. Antara kontrol negatif dan ekstrak minyak atsiri biji ketumbar 25%

Ranks

	variabel perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona hambat	Kontrol -	4	2,50	10,00
	Konsentrasi 25%	4	6,50	26,00
	Total	8		

Test Statistics^a

	zona hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,460
Asymp. Sig. (2-tailed)	,014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: Sampel

b. Not corrected for ties.

e. Antara kontrol negatif dan ekstrak minyak atsiri biji ketumbar 12,5%

Ranks

	variabelperlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	Kontrol -	4	2,50	10,00
zona hambat	Konsentrasi 12,5%	4	6,50	26,00
	Total	8		

Test Statistics^a

	zona hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,460
Asymp. Sig. (2-tailed)	,014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: Sampel

b. Not corrected for ties.

f. Antara kontrol negatif dan ekstrak minyak atsiri biji ketumbar 6,25%

Ranks

	variabelperlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	Kontrol -	4	2,50	10,00
zona hambat	Konsentrasi 6,25%	4	6,50	26,00
	Total	8		

Test Statistics^a

	zona hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,460
Asymp. Sig. (2-tailed)	,014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: Sampel

b. Not corrected for ties.

g. Antara kontrol positif dan ekstrak minyak atsiri biji ketumbar 100%

Ranks

	variabel perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	Kontrol +	4	2,50	10,00
zona hambat	Konsentrasi 100%	4	6,50	26,00
	Total	8		

Test Statistics^a

	zona hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: Sampel

b. Not corrected for ties.

h. Antara kontrol positif dan ekstrak minyak atsiri biji ketumbar 50%

Ranks

	variabel perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	Kontrol +	4	6,50	26,00
zona hambat	Konsentrasi 50%	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics^a

	zona hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: Sampel

b. Not corrected for ties.

i. Antara kontrol positif dan ekstrak minyak atsiri biji ketumbar 25%

Ranks

	variabel perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	Kontrol +	4	6,50	26,00
zona hambat	Konsentrasi 25%	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics^a

	zona hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: Sampel

b. Not corrected for ties.

j. Antara kontrol positif dan ekstrak minyak atsiri biji ketumbar 12,5%

Ranks

	variabel perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	Kontrol +	4	6,50	26,00
zona hambat	Konsentrasi 12,5%	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics^a

	zona hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: Sampel

b. Not corrected for ties.

k. Antara kontrol positif dan ekstrak minyak atsiri biji ketumbar 6,25%

Ranks

	variabel perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	Kontrol +	4	6,50	26,00
zona hambat	Konsentrasi 6,25%	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics^a

	zona hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: Sampel

b. Not corrected for ties.

l. Antara ekstrak minyak atsiri biji ketumbar 100% dan ekstrak minyak atsiri biji ketumbar 50%

Ranks

	variabel perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	Konsentrasi 100%	4	6,50	26,00
zona hambat	Konsentrasi 50%	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics^a

	zona hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: Sampel

b. Not corrected for ties.

m. Antara ekstrak minyak atsiri biji ketumbar 100% dan ekstrak minyak atsiri biji ketumbar 25%

Ranks

	variabel perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	Konsentrasi 100%	4	6,50	26,00
zona hambat	Konsentrasi 25%	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics^a

	zona hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: Sampel

b. Not corrected for ties.

n. Antara ekstrak minyak atsiri biji ketumbar 100% dan ekstrak minyak atsiri biji ketumbar 12,5%

Ranks

	variabel perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	Konsentrasi 100%	4	6,50	26,00
zona hambat	Konsentrasi 12,5%	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics^a

	zona hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: Sampel

b. Not corrected for ties.

o. Antara ekstrak minyak atsiri biji ketumbar 100% dan ekstrak minyak atsiri biji ketumbar 6,25%

Ranks

	variabel perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	Konsentrasi 100%	4	6,50	26,00
zona hambat	Konsentrasi 6,25%	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics^a

	zona hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: Sampel

b. Not corrected for ties.

p. Antara ekstrak minyak atsiri biji ketumbar 50% dan ekstrak minyak atsiri biji ketumbar 25%

Ranks

	variabel perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	Konsentrasi 50%	4	6,00	24,00
zona hambat	Konsentrasi 25%	4	3,00	12,00
	Total	8		

Test Statistics^a

	zona hambat
Mann-Whitney U	2,000
Wilcoxon W	12,000
Z	-1,732
Asymp. Sig. (2-tailed)	,083
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,114 ^b

a. Grouping Variable: Sampel

b. Not corrected for ties.

q. Antara ekstrak minyak atsiri biji ketumbar 50% dan ekstrak minyak atsiri biji ketumbar 12,5%

Ranks

	variabelperlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	Konsentrasi 50%	4	6,50	26,00
zona hambat	Konsentrasi 12,5%	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics^a

	zona hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: Sampel

b. Not corrected for ties.

r. Antara ekstrak minyak atsiri biji ketumbar 50% dan ekstrak minyak atsiri biji ketumbar 6,25%

Ranks

	variabel	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	Konsentrasi 50%	4	6,50	26,00
zona hambat	Konsentrasi 6,25%	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics^a

	zona hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: Sampel

b. Not corrected for ties.

s. Antara ekstrak minyak atsiri biji ketumbar 25% dan ekstrak minyak atsiri biji ketumbar 12,5%

Ranks

	variabel	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	Konsentrasi 25%	4	6,00	24,00
zona hambat	Konsentrasi 12,5%	4	3,00	12,00
	Total	8		

Test Statistics^a

	zona hambat
Mann-Whitney U	2,000
Wilcoxon W	12,000
Z	-1,732
Asymp. Sig. (2-tailed)	,083
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,114 ^b

a. Grouping Variable: Sampel

b. Not corrected for ties.

t. Antara ekstrak minyak atsiri biji ketumbar 25% dan ekstrak minyak atsiri biji ketumbar 6,25%

Ranks

	variabel	N	Mean Rank	Sum of Ranks
	Konsentrasi 25%	4	6,50	26,00
zona hambat	Konsentrasi 6,25%	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics^a

	zona hambat
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: Sampel

b. Not corrected for ties.

u. Antara ekstrak minyak atsiri biji ketumbar 12,5% dan ekstrak minyak atsiri biji ketumbar 6,25%

Ranks

	variabelperlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
zona hambat	Konsentrasi 12,5%	4	6,25	25,00
	Konsentrasi 6,25%	4	2,75	11,00
	Total	8		

Test Statistics^a

	zona hambat
Mann-Whitney U	1,000
Wilcoxon W	11,000
Z	-2,021
Asymp. Sig. (2-tailed)	,043
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,057 ^b

a. Grouping Variable: Sampel

b. Not corrected for ties.